

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS
AMÉRICAS**

CARRERA DE FARMACIA

**“CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN
FITOQUÍMICA Y LA NATURALEZA DE LOS
PRINCIPIOS ACTIVOS DE LAS HOJAS Y FRUTOS
DEL ÁRBOL *ANACÁRDIVUM OCCIDENTALE*
(MARAÑÓN) DE COSTA RICA PARA SU
APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA”**

**TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE
LICENCIATURA**

ESTHEFANIE JIMÉNEZ MATA

**TUTOR:
FABIO GRANADOS CHINCHILLA**

**LECTOR:
ESTEBAN ZA VALETA**

SAN JOSÉ, COSTA RICA, 2017

Contenido

Tablas	20
Figuras	21
Resumen	22
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	23
Planteamiento del problema	23
Hipótesis.....	25
Objetivos	25
Objetivo General	25
Objetivos Específicos.	25
Justificación.....	25
Antecedentes	28
Internacionales.....	28
Nacionales	32
Proyecciones.....	34
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	35
Plantas medicinales	35
Etnobotánica	35
Fitofarmacología.....	36
Farmacognosia y Fitoquímica	36
Propiedades de fitoquímicos en alimentos funcionales.....	39
Polifenoles	39
Flavonoides.....	39
Fitoestrógenos.....	40
Lípidos vegetales	41
Isoprenoides.	41
Ácidos grasos esenciales.....	43

Perfil de ácidos grasos en aceites funcionales.....	44
Tipos de ácidos grasos.....	44
Ácidos grasos ω 3.....	45
Ácidos grasos saturados.....	46
Ácidos grasos monoinsaturados.....	46
Ácidos grasos trans.....	46
Ingestas recomendadas de ácidos grasos.....	46
Análisis de grasas y ácidos grasos.....	47
Especie vegetal <i>Anacardium Occidentale</i>	49
Descripción Botánica.....	49
Hojas.....	50
Flores.....	50
Fruto.....	50
Clasificación Científica.....	51
Zonas de cultivo y épocas de siembra.....	51
Variedades.....	52
Tipos criollos.....	52
Tipos introducidos.....	52
Aspectos químicos de la especie <i>Anacardium Occidentale</i>	52
Fruto.....	53
Cáscara.....	54
Corteza.....	54
Almendra.....	54
Raíz.....	55
Pseudofruto.....	55
Hojas.....	55
Aceites esenciales y compuestos volátiles.....	55

Metabolismo primario y secundario	56
Técnicas de extracción y aislamiento de Aceites Esenciales	57
Destilación con agua o hidrodestilación	58
Extracción por separación de fases	59
Extracción con solventes volátiles.....	59
Análisis de la composición de los Aceites Esenciales	59
Cromatografía en fase gaseosa	60
Cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrometría de masas	60
Características cromatográficas.	61
Espectrometría de masas.	61
Características espectroscópicas.	61
Combinación de técnicas y otros recursos.....	61
Propiedades medicinales del aceite esencial de Marañón.	62
Propiedades cicatrizantes.....	63
Propiedades Antimicrobianas	63
Propiedades Antioxidantes	64
Antioxidantes en la salud humana.....	65
Antioxidantes.....	65
Proceso de oxidación y los agentes promotores.....	65
Radicales libres, producción y acción	66
Estrés oxidativo	67
Control biológico de los procesos de óxido-reducción	67
Perspectiva de la relación antioxidantes-envejecimiento humano.....	67
Relación antioxidantes-ejercicio físico y salud human	68
Otros aportes sobre la relación antioxidante-salud	69
Cardiovasculares.....	69
Problemas metabólicos: Diabetes	69

Cáncer.....	69
Enfermedades neurodegenerativas:	70
Clasificación de los antioxidantes	70
Fuentes endógenas de antioxidantes	71
Superoxidodismutasa (SOD)	71
Función.	71
Catalasa.....	71
Glutación	71
Fuentes exógenas de antioxidantes	72
Vitamina E.....	72
Funciones.	72
Vitamina C.....	72
Funciones.	73
Betacaroteno	73
Funciones.	73
Oligoelementos.....	74
Zinc.	74
Selenio.....	75
Manganeso.	75
Hierro y Cobre.	75
Otras fuentes exógenas de antioxidantes	76
Análisis de antioxidantes.....	76
Contenido específico	77
Contenido total	77
Actividad antioxidante del alimento.....	77
Determinación de actividad antioxidante, ensayo sobre capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)	78

Expresión del valor ORAC en una muestra.....	79
Análisis del proximal químico en alimentos funcionales.....	80
Extracto Etéreo	80
Método de <i>Soxhlet</i>	81
Método de <i>Goldfish</i>	81
Humedad.....	82
Proteína Cruda por Combustión.....	82
Energía Bruta.....	82
Fibra detergente neutro - Fibra detergente ácido.....	83
Nitrógeno detergente neutro - Nitrógeno detergente ácido	83
Cenizas: Calcio y Fósforo.....	83
Método de cenizas totales.	83
Determinación de cenizas en húmedo.....	84
Lignina (Base seca).	84
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	85
Enfoque	85
Diseño.....	85
Objetos de estudio	86
Criterios de inclusión.....	86
Criterios de exclusión	86
Variables.....	87
Instrumentos y Técnicas.....	88
Fase I. Recolección y almacenamiento de la materia prima vegetal.	88
Fase II. Destilación de las hojas y pseudofruto del <i>Anacardium Occidentale</i>	88
Fase III. Extracción del aceite esencial de las hojas y pseudofruto del <i>Anacardium Occidentale</i>	88
Fase IV. Extracción del aceite esencial de la semilla del <i>Anacardium Occidentale</i>	89

Fase V. Caracterización y cuantificación de los compuestos volátiles orgánicos del <i>Anacardium Occidentale</i> .	89
Fase VI. Evaluación nutricional de los residuos-cáscaras de las semillas del <i>Anacardium Occidentale</i> .	89
Fase VII. Valoración de la Actividad Antioxidante de los aceites esenciales del <i>Anacardium Occidentale</i> .	90
Fase VIII. Determinación de los carotenoides presentes en el pseudofruto del <i>Anacardium Occidentale</i> .	90
Proceso de recolección y análisis de datos	91
Fase I. Recolección y almacenamiento de la materia prima vegetal	91
Fase II. Destilación de las hojas y pseudofruto del <i>Anacardium Occidentale</i> .	92
Fase III. Extracción del aceite esencial de las hojas y pseudofruto del <i>Anacardium Occidentale</i> .	92
Fase IV. Extracción del aceite esencial de la semilla del <i>Anacardium Occidentale</i> .	93
Fase V. Caracterización y cuantificación de los compuestos volátiles orgánicos del <i>Anacardium Occidentale</i> .	93
Fase VI. Evaluación nutricional de los residuos-cáscaras de las semillas del <i>Anacardium Occidentale</i> .	94
Determinación del extracto etéreo.	94
Determinación de la Humedad.	95
Determinación de proteína cruda por combustión.	96
Determinación de la proteína cruda.	96
Energía Bruta.	97
Análisis químicos.	97
Fase VII. Determinación de la digestibilidad in vitro.	97
Fase VIII. Análisis de los resultados obtenidos en el laboratorio	98
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS Y RESULTADOS	99
Aceites de la especie <i>Anacardium occidentale L.</i>	99
Composición fitoquímica del aceite de la semilla de marañón	100

Composición fitoquímica del aceite esencial de las hojas de marañón	111
Composición fitoquímica del aceite esencial del pseudofruto del marañón	119
Carotenoides presentes en el pseudofruto del <i>Anacardium Occidentale</i>	124
Determinación de actividad antioxidante, ensayo sobre capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) en los aceites obtenidos del marañón.	126
Análisis proximal de las cáscaras de las semillas del <i>Anacardium Occidentale</i>	127
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	130
Conclusiones	130
Recomendaciones.....	132
Referencias	134
Apéndices	138
Apéndice A. Destilación de las hojas del <i>Anacardium Occidentale</i>	138
Apéndice B. Extracción del aceite esencial de la semilla del <i>Anacardium Occidentale</i>	139
Apéndice C. Destilación del pseudofruto del <i>Anacardium Occidentale</i>	141
Apéndice D. Caracterización y cuantificación de los compuestos volátiles orgánicos del <i>Anacardium Occidentale</i>	142
Apéndice E. Evaluación nutricional de los residuos-cáscaras de las semillas del <i>Anacardium Occidentale</i>	144
Apéndice F. Análisis proximal de las cáscaras de las semillas de marañón.	147
Apéndice G. Cromatograma del aceite de las semillas de marañón.....	149
Apéndice H. Cromatograma del aceite de las hojas de marañón.	150
Apéndice I. Cromatograma del aceite del pseudofruto del marañón.	151
Apéndice K. Cromatograma de carotenoides presentes en el pseudofruto del marañón. ..	152
Apéndice L. Resultados de carotenoides totales presentes en el marañón	153

Tablas

Tabla 1. Clasificación química de los terpenos y tioles.	37
Tabla 2. Clasificación química de los fenoles.	38
Tabla 3. Terpenos representativos en especies vegetales.	41
Tabla 4. Composición química del aceite de oliva.	47
Tabla 5. Composición química del aceite de girasol.	48
Tabla 6. Taxonomía de la especie <i>Anacardium Occidentale</i>	51
Tabla 7. Composición de ácidos grasos de la almendra de marañón.	54
Tabla 8. Clasificación de los antioxidantes.	70
Tabla 9. Contenido aproximado de Vitamina E en algunos alimentos.	72
Tabla 10. Contenido aproximado de ácido ascórbico en algunos alimentos.	73
Tabla 11. Contenido aproximado de Betacaroteno de algunos alimentos.	74
Tabla 12. Variables de la Investigación	87
Tabla 13. Componentes químicos del aceite de semilla de marañón, determinados por cromatografía de gases.	103
Tabla 14. Perfil lipídico del aceite de semilla de marañón.	105
Tabla 15. Componentes químicos mayoritarios de los aceites analizados, semilla de marañón.	108
Tabla 16. Composición química del aceite de oliva y aceite de girasol.	110
Tabla 17. Componentes químicos del aceite esencial de las hojas de marañón, determinados por Cromatografía de gases.	112
Tabla 18. Componentes químicos mayoritarios de los aceites analizados, hojas de marañón.	115
Tabla 19. Componentes químicos del aceite esencial del pseudofruto del marañón, determinados por Cromatografía de gases.	121
Tabla 20. Componentes químicos mayoritarios de los aceites analizados, pseudofruto del marañón.	123
Tabla 21. Contenido aproximado de β -carotenos en algunos alimentos.	125
Tabla 22. Resultados del análisis proximal de los residuos del marañón.	126
Tabla 23. Resultados del análisis proximal de los residuos del marañón.	127
Tabla 24. Comparación del análisis proximal de algunos alimentos	129

Figuras

Figura 1. Estructura molecular de los flavonoides.	40
Figura 2. Estructura química general de isoprenoides mixtos: tocoferol y tocotrienol.....	42
Figura 3. Ácidos grasos poliinsaturados de las series: n-3, n-6 y n-9	43
Figura 4. Estructura de la especie <i>Anacardium Occidentale</i>	49
Figura 5. Estructura química del ácido anacárdico y sus derivados.....	53
Figura 6. Métodos de extracción de mezclas aromáticas.	57
Figura 7. Montaje del equipo de hidroddestilación.....	58
Figura 8. Interacción entre radicales libres y oxígeno.	66
Figura 10. Equipo de extracción de <i>Goldfish</i>	81
Figura 11. Comparación de los aceites obtenidos de la semilla de marañón.	101
Figura 12. Comparación de los aceites obtenidos de las hojas de marañón.....	117
Figura 13. Comparación de los aceites obtenidos del pseudofruto del marañón.	120

Resumen

El presente trabajo de investigación, trata sobre la “caracterización de la composición fitoquímica y la naturaleza de los principios activos de las hojas y frutos del árbol *Anacardium Occidentale* (marañón) de Costa Rica para su aplicación en la industria farmacéutica”. El objetivo es cuantificar los componentes de los aceites obtenidos y comprobar la actividad farmacológica y valor nutricional de los mismos por medio de pruebas en el laboratorio.

Por medio de este estudio, se logra alcanzar una trascendencia social importante en el ámbito medicinal, cultural y socioeconómico; teniendo en cuenta que la utilización de este potencial natural, resulta ventajoso y económico frente a la medicina convencional. Por lo tanto, este proyecto resolvió y busca seguir resolviendo las problemáticas relacionadas con el desaprovechamiento de las plantas medicinales encontradas en nuestro entorno social y natural, de manera que, se brindarán conocimientos a la comunidad sobre sus usos, aplicaciones, localización y beneficios.

La investigación tiene un enfoque cuantitativo, la recolección de los datos se fundamenta en la medición, y se analizarán los resultados siguiendo métodos estadísticos, los cuales le proveerán certeza y un alto grado de confiabilidad al estudio. Se analizarán las propiedades terapéuticas del *Anacardium Occidentale* de Costa Rica. En Costa Rica se produce en toda la provincia de Guanacaste y Puntarenas, así como en los cantones de Esparza, Puriscal, Orotina y San Mateo. Este estudio se enfocará en los árboles provenientes de la zona de Miramar de Puntarenas.

Los datos obtenidos en este estudio llevaron a la conclusión que la mayoría de las partes del árbol estudiado presentan un aporte entre intermedio y alto de fenoles totales, y entre moderada y elevada actividad antioxidante, lo que potencializa sus posibles propiedades nutraceuticas, así como sus beneficios para la salud.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Planteamiento del problema

En el presente trabajo de investigación, se aborda el estudio de la composición química y la naturaleza de los principios activos de la especie *Anacardium Occidentale*, también conocida como árbol de marañón. Tomando en cuenta que el árbol de marañón es nativo de América, y común en Costa Rica, es de interés estudiarlo con el fin de dar a conocer su caracterización y valoración, así como lo necesario para determinar su actividad farmacológica y como consecuencia, sus principales aplicaciones en el campo de la Farmacia.

Las plantas sintetizan diversos compuestos para su funcionamiento llamados metabolitos primarios (aminoácidos, carbohidratos, lípidos, glicéridos, ácidos nucleicos) y metabolitos secundarios (terpenos, fenoles, glucósidos y alcaloides) que intervienen en sus interacciones ecológicas con el ambiente. Con respecto a tales compuestos, Hernández y Pabón (2012), los describen de la siguiente manera: “Los metabolitos secundarios desempeñan funciones de defensa, actúan como agentes alelopáticos, para encantar a los polinizadores o atrayendo a los animales que utilizan los frutos como alimento y que contribuyen a la dispersión de las semillas” (pp.194-196).

El conocimiento de estos metabolitos a partir de aceites esenciales de las plantas, sustancias altamente lipofílicas de bajo peso molecular y mezclas complejas de compuestos orgánicos volátiles (López 2010, p. 9), ha favorecido el desarrollo de la fitoquímica a través de la incorporación de nuevas técnicas de extracción, purificación e identificación de moléculas activas. Según Almeida, Hermosilla, Martínez, Martínez y Soto. (2012): “Las hojas del *Anacardium Occidentale* presentan metabolitos y contenidos óptimos de minerales, electrolitos, ácidos grasos monoinsaturados, fitoesteroles y proteínas solubles, por lo que se le atribuyen propiedades medicinales como hipoglucemiante, antihipertensiva, astringentes, antihelmíntica y antiinflamatoria” (pp. 320-322).

Así mismo con los avances de la farmacología se han logrado aislar compuestos bio-activos para ser usados como principios activos de medicamentos. Según datos de la Organización mundial de la salud “El 25% de los fármacos que se prescriben contienen uno o más principios activos derivados de una planta” (OMS, 2016). Los medicamentos clásicos derivados de plantas son la digoxina, para el corazón, la ergotamina, eficaz contra la migraña,

la pilocarpina, utilizada como tratamiento para el glaucoma, la efedrina, la cual se prescribe en problemas respiratorios y la atropina, en anestesia. (Domínguez, 2014, pp.7-10).

Al mismo tiempo, el doctor Domínguez (2014) menciona: "La botánica científica y la química orgánica sentaron a finales del siglo XVIII las bases de la terapéutica farmacológica de hoy. Para encontrar sustancias en las plantas, que más tarde se convertirán en moléculas terapéuticas en el laboratorio" (pp.7-10). Por esta razón, resulta preciso caracterizar muy bien la especie botánica, identificar los principios activos de la planta y extraerlos, para luego, modificarlos químicamente con el fin de optimizar sus propiedades y su rendimiento terapéutico.

Con el interés que ha despertado la medicina natural, hoy en día, crece el número de estudios que exponen la utilidad de las plantas para el tratamiento de diversas afecciones. Sin embargo, la mayoría no están suficientemente documentadas. Son utilizadas de manera conjunta o en sustitución de la medicina convencional con la idea de que son inofensivas, y el conocimiento existente para su preparación y prescripción se ha llevado a cabo bajo bases empíricas. Así mismo, la literatura refiere información sobre la caracterización fitoquímica de las hojas y frutos del *Anacardium Occidentale*, no obstante, estas determinaciones son insuficientes.

Siendo esto un gran problema, que afecta a la sociedad en general, por inexistencia de estudios y pruebas que demuestren la actividad terapéutica de la especie del árbol de marañón, se llega al siguiente cuestionamiento: ¿Cuál es el método de extracción apropiado para la obtención del aceite esencial?, ¿Qué actividad farmacológica exhibe?, ¿Cuál es el principio activo?, ¿Qué órgano del árbol tendrá más relevancia en la medicina?, ¿Qué ganancia medicinal se podrá obtener de los desechos de la fruta?

En este se tratará de, dar respuestas a las interrogantes anteriores y a partir de lo mencionado, se visualiza el propósito planteado de la investigación formulando la siguiente pregunta: ¿Cuál es la composición fitoquímica y la naturaleza de los principios activos de las hojas y frutos del árbol *Anacardium Occidentale* (marañón) de Costa Rica para su aplicación en la industria farmacéutica?

Hipótesis

El aceite obtenido de las hojas y del receptáculo presenta actividad antioxidante por su contenido de polifenoles y terpenos.

Las semillas contienen elevados niveles de ácidos grasos monoinsaturados, entre ellos el ácido oleico, los cuales aportan beneficios para la salud y un valor nutricional importante.

Los residuos de las cáscaras de las semillas son aprovechables para la industria farmacéutica, generando aportes: nutricionales y medicinales a la sociedad.

Objetivos

Objetivo General

Analizar la composición fitoquímica y la naturaleza de los principios activos de las hojas y frutos de la especie *Anacárdium Occidentale* (marañón) de Costa Rica, para su aplicación en la Industria farmacéutica.

Objetivos Específicos.

Identificar los componentes del aceite obtenido de las hojas y frutos de la especie *Anacardium Occidentale* utilizando cromatografía de gases.

Cuantificar los componentes del aceite obtenido de las hojas y frutos de la especie *Anacardium Occidentale* utilizando cromatografía de gases.

Comprobar alguna posible propiedad activa y valor nutricional de los aceites de las hojas y frutos del *Anacardium Occidentale* por medio de pruebas en el laboratorio.

Justificación

La investigación es conveniente, debido a que la especie analizada, es un árbol nativo de Costa Rica, ampliamente conocido, así mismo, se ha observado que la población local consume el fruto: pseudofruto y semillas por su alto contenido de nutrientes; se ha utilizado como antidiarreico y nutracéutico, como alimento que aporta beneficios a la salud e incluso para prevenir enfermedades. Sin embargo, la caracterización fitoquímica de sus extractos es insuficiente por lo que resulta favorable una investigación científica que demuestre la validez de muchas de estas propiedades.

El trabajo genera provecho por el posible uso que se le dará al *Anacardium Occidentale* como fuente de medicina, además por ser un recurso natural oriundo del territorio costarricense, es factible su cultivo y producción. Consecuentemente, la población puede adquirir los frutos, flores y hojas con facilidad. Lo mencionado promovió que el estudio se enfoque en caracterizar la composición fitoquímica y la naturaleza de los principios activos de la especie vegetal para darle validez científica al conocimiento terapéutico popular, que existe actualmente en Costa Rica.

Según Almeida et al. (2012) “Las plantas medicinales son aquellas que contienen en algunos de sus órganos, principios activos” (p. 322). En la actualidad el uso de plantas medicinales es una práctica común alrededor del mundo. De acuerdo con estadísticas de la Organización Mundial de Salud, “80% de la población de los países en desarrollo recurre a distintos tipos de ellas para satisfacer o complementar sus necesidades médicas que aumentan cada año” (OMS, 2016). Lo cual hace constar que la medicina natural se ha utilizado para mantener la salud, prevenir y tratar enfermedades.

Como se mencionó anteriormente, el estudio se proyecta en dar a conocer a la población costarricense el uso y las aplicaciones medicinales del *Anacardium Occidentale*, buscando a la vez que se adopten medidas de preservación, cuidado y manejo a la hora de utilizar dicho recurso. Pretendiendo así, obtener un mejor aprovechamiento más no una pérdida de esta especie tan importante, y su utilización en la cura y prevención de enfermedades.

Por medio de este estudio, se logra alcanzar una trascendencia social importante en el ámbito medicinal, cultural y socioeconómico; teniendo en cuenta que la utilización de este potencial natural, resulta ventajoso y económico frente a la medicina convencional. Por lo tanto, este proyecto resolvió y busca seguir resolviendo las problemáticas relacionadas con el desaprovechamiento de las plantas medicinales encontradas en nuestro entorno social y natural, de manera que, se brindarán conocimientos a la comunidad sobre sus usos, aplicaciones, localización y beneficios.

En cuanto a las implicaciones prácticas de la investigación, se desarrollará una alternativa natural y efectiva que mejora la salud de la población. López (2010) menciona: “El fruto del marañón tiene alto contenido de aceite compuesto por ácidos grasos y otros lípidos fenólicos, entre ellos los ácidos anacárdicos (ácidos 6-alquil-salicílicos), los que le confieren

actividades biológicas como antioxidante, antibacteriana y antifúngicas” (p. 2). De esta manera, al obtener resultados terapéuticos positivos de los extractos, se podrá tratar diversas afecciones de una manera económica y sencilla con métodos naturales que resulten menos agresivos para el organismo humano.

En relación con el uso de las plantas como medicina natural, existe un gran desconocimiento sobre como emplearlas, sus principios tóxicos y su dosificación para lograr efectos terapéuticos, de modo que el estudio de esta especie vegetal pretende entender los beneficios y riesgos del uso de esta como medicamento, para lo cual es necesario aprender a reconocerla, aislar sus principios activos y, tóxicos y comprender sus mecanismos de acción. También, se ampliará el conocimiento que existe actualmente para contrarrestar la dificultad que presentan las personas desinformadas para correlacionar la variada sintomatología con el contacto o la ingestión de la especie vegetal a estudiar.

Las plantas medicinales contienen principios activos, que si bien son los responsables de las propiedades terapéuticas que se les atribuyen, también lo son de las intoxicaciones y reacciones adversas que pueden aparecer si se emplean en dosis inadecuadas o por períodos prolongados. (Pacheco, González, Barrios y Gurovich, 2016, pp. 2-5). La falta de información objetiva y actualizada sobre los posibles riesgos y beneficios que provoca el uso de las plantas medicinales, es una de las causas principales de la alta auto medicación por parte de la población, alegando que son inocuas y más seguras, por el simple hecho de ser naturales.

Por lo mencionado anteriormente, la investigación pretende contribuir con la educación de la comunidad y de muchos profesionales de la salud relacionados con este tema y, para de esta forma garantizar el bienestar del paciente, elevar su calidad de vida, así como también el uso eficaz, seguro y racional de la planta medicinal por analizar. Por lo trascendente que resulta el desconocimiento, existe la necesidad de la divulgación y conocimiento de aspectos importantes de la especie, de manera que se propondrá a partir de los resultados arrojados de la investigación nuevas aplicaciones para la Industria farmacéutica.

Además, cabe destacar que el estudio tendrá una metodología rigurosa, cuya finalidad es buscar validez en la información y en los resultados obtenidos, los cuales brindarán un aporte importante en la medicina natural.

Antecedentes

Para la recolección de los antecedentes nacionales e internacionales relacionados con esta investigación, se utilizaron bases de datos electrónicas tales como la base científica de datos BINASS, Pubmed, EBSCO, MEDES y BioMed Central, así como bases de universidades internacionales con gran autoridad en el tema de estudio; en cuanto a bases de datos a nivel nacional, se destacan de la Universidad de Costa Rica (UCR), la Universidad Iberoamericana (UNIBE), la Universidad Latina de Costa Rica (U latina) y la Universidad Internacional de las Américas (UIA).

Después de la búsqueda exhaustiva de la información se lograron identificar siete antecedentes internacionales y cinco antecedentes nacionales, los cuales se describirán a continuación:

Internacionales

La “Comparación de dos métodos de extracción de aceite Esencial utilizando *Piper Aduncum* (cordoncillo) procedente de la zona cafetera” de Albarracín (2003), compara las técnicas de hidrodestilación y arrastre con vapor de acuerdo al rendimiento del aceite, tiempos de extracción, propiedades evaluadas y componentes identificados. De esta manera, se valora los métodos a emplear para la extracción del aceite a analizar, así mismo se determina las ventajas y limitaciones de cada uno de ellos y se concluye que para obtener un mejor rendimiento la técnica de hidrodestilación es la más viable, la cual consta en llevar a ebullición una solución de un material vegetal aromático, y a partir de esto los vapores generados se condensan y recolectan posteriormente.

El estudio de Drago, López y Saíenz del 2007 en México “Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal” se fundamenta en la descripción de algunos fitoquímicos presentes en estos alimentos, de especial interés en la industria farmacéutica para la obtención de fármacos inocuos y efectivos para el tratamiento de diversas enfermedades. Por medio del cual, se enfatiza la aplicación racional de componentes bioactivos de plantas comestibles, además, brindará un conocimiento profundo de las propiedades farmacológicas, con el fin de estimar sus efectos terapéuticos y potencial de toxicidad.

La tesis de López realizada en el 2010 en México, titulada “Aislamiento y cuantificación de ácidos anacárdicos en la especie de *Anacardium Occidentale* (marañón) de la región de Tezonapa” de la Universidad Veracruzana, se fundamenta en extraer, purificar y

cuantificar los ácidos anácardicos presentes en el fruto del marañón, se utilizó como método de identificación la cromatografía líquida de capa fina. Lo anterior resulta provechoso, ya que se exponen limitantes del HPLC, reflejando como mejor método de cuantificación la cromatografía de gases, la cual se utilizará en esta investigación. La cromatografía de gases es una técnica de separación basada principalmente en fenómenos de partición entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria constituida por un líquido muy viscoso retenido en el interior de una columna cromatográfica.

El estudio de Núñez “Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades” realizada en el 2010 en Cuba, brinda información científico-técnica sobre los productos antioxidantes, con el fin de estimular su consumo, el autor destaca el tema del estrés oxidativo, el cual resulta aún poco conocido por una gran parte de la comunidad científica. Este material será de utilidad para dar a conocer la capacidad que presentan algunas especies vegetales de disminuir la concentración de radicales libres en el organismo humano y, por tanto, mejorar el estado de salud de quien lo consume.

El artículo científico “Un acercamiento a la teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo en el envejecimiento”, realizado por los autores Céspedes, Rodríguez y Cruz en el 2012, expone algunas teorías del envejecimiento. Este trabajo es trascendental para la comprensión de la teoría de los radicales libres, el estrés oxidativo, y su relación con el envejecimiento. Los autores destacan que durante el metabolismo aerobio se producen de forma incontrolable especies reactivas derivadas del oxígeno, por lo tanto, las macromoléculas se dañan irreversiblemente, daño que se acumula con el paso del tiempo, y que da resultado una pérdida gradual de los mecanismos homeostáticos y la pérdida de la capacidad funcional de la célula.

La investigación titulada “Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana” de los autores Delgado, Betanzos y Sumaya en el 2010 en México, establece la importancia de realizar un cambio en la dieta que incorpore alimentos con capacidad antioxidante para prevenir el daño oxidativo. Los autores explican la relación existente entre el estrés oxidativo y enfermedades crónico degenerativas. Dicho estudio resulta significativo al tomarse como referencia, para explicar el mecanismo antioxidante de muchas fuentes exógenas.

La tesis de Calderón realizada en el 2011 en Colombia, “Caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de extractos de plantas medicinales utilizadas en

Pereira y Santa Rosa de Cabal” se basó en recolectar las plantas medicinales de la región con el fin de evaluar las que más se prescribían (Cidrón, malva, ortiga y perejil). Se evaluó la actividad antibacteriana utilizando la metodología de perforación de placa de agar y se obtuvieron resultados negativos en las actividades antibacterianas y resultados positivos en la actividad antioxidante de las plantas. A partir del cual, se pretende buscar los metabolitos activos con acción antioxidante y compararlos con los obtenidos en la investigación actual.

En el estudio realizado en Cuba, 2012, “Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas de *Anacardium Occidentale* L. (marañón)” por Almeida et al. se cuantificó los compuestos de las hojas de esta especie responsables de la actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, de este modo, se comparan tales metabolitos con los obtenidos del aceite de marañón de Costa Rica y se establecen los posibles usos medicinales de la especie.

El artículo de Hernández y Pabón, “Importancia química de *Jatropha Curcas* y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales”, 2012, en la Universidad de la Salle, Colombia, se basa en una revisión exhaustiva de la importancia química y las aplicaciones farmacológicas, biológicas e industriales de la planta *Jatropha Curcas*, además expone la composición química de la planta. Dicho estudio se tomó de referencia para demostrar la importancia de la etnobotánica y los beneficios que se le pueden dar a recursos naturales provenientes del territorio nacional.

La tesis de Perone del 2012, “El uso popular de marañón (*Anacardium Occidentale* L. –franz eugen köhler– 1887) En Tabatinga (Amazonas, Brasil) y su potencial como planta cicatrizante”, se basó en evaluar cómo la población local de Brasil manipula la planta *Anacardium occidentale* L. desde su colecta hasta su aplicación como medicamento, analizando la posología, vía de administración y tiempo de tratamiento con la planta para la cicatrización de heridas. Este resulta provechoso para comparar el modo de empleo que se le da a la planta de estudio en el territorio nacional.

El estudio “Ejercicio físico y los radicales libres, ¿es necesario una suplementación con antioxidantes?”, realizado por González y García en el 2012, facilita la recopilación de información sobre los beneficios que provienen de la práctica regular de ejercicio físico y la evidencia de que, durante su práctica, aumenta la producción de radicales libres que producen daño oxidativo en el tejido muscular, hígado, sangre y, posiblemente, en otras estructuras. En

este artículo se plantea una revisión acerca de la necesidad de emplear un tipo de suplementación, así como los posibles riesgos y/o beneficios que de ella se derivan.

El estudio “El envejecimiento y el estrés oxidativo” propuesto por Zorrilla en el 2012, hizo referencia a algunos cambios físicos que aparecen con la edad, así como algunas características que evidencian la relación entre la vejez y los radicales libres. Además, se mencionan algunas de las acciones biológicas de los radicales libres de oxígeno sobre moléculas como glúcidos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Lo anterior se aprovecha en el actual estudio, ya que se refuerza los conceptos y teorías sobre los beneficios en la salud de los antioxidantes naturales y los posibles usos que se le puede dar al marañón como agente antioxidante.

La tesis elaborada por Sánchez en el 2013 “Consumo de antioxidantes naturales en adultos mayores de 65 y 75 años con dislipidemias”, en la Universidad Abierta Interamericana de Argentina, tuvo como finalidad conocer los hábitos alimentarios del adulto mayor, en relación a los alimentos con efectos antioxidantes. A partir del estudio, se recopiló información importante sobre los antioxidantes naturales y esteroides vegetales, dónde se encuentran, que alimentos tienen propiedades antioxidantes y, la forma de poder aprovechar sus nutrientes mediante el consumo de los mismos, facilitando su metabolización y absorción de nutrientes, además se analiza cómo podrían contribuir a la prevención primaria o para el control posterior de patologías ya instaladas.

El artículo científico “Capacidad atrapadora de radicales de oxígeno ORAC y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia”, realizado por los autores Zapata, Piedrahita, Rojano en el 2014, se basó en estimar el contenido de fenoles totales y la capacidad atrapadora de radicales de oxígeno (ORAC) en frutas y hortalizas. El contenido de fenoles totales se determinó en la fracción hidrofílica por el método de Folin-Ciocalteu. La actividad antioxidante fue evaluada en la fracción hidrofílica y lipofílica por ORAC, lo cual resultó provechoso para la actual investigación ya que se desea comprobar la actividad antioxidante del aceite de marañón por medio del ensayo ORAC.

El estudio, “Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana” elaborado por Coronado, Radilla, Vázquez y Vega en el 2015, incluye un estudio exploratorio en la ciudad de México, que establece, además del consumo, la percepción de los participantes sobre los productos con antioxidantes que tienen amplia difusión actual. Aporta datos sobre el beneficio del consumo cotidiano de alimentos con antioxidantes, sobre todo de frutas y verduras y la

protección que pueden proporcionar para prevenir los riesgos de padecimientos, aunque se reitera que se requieren más estudios. Como consecuencia se podrán comparar los resultados obtenidos de la presente investigación sobre *Anacardium Occidentale* con la literatura descrita en la revisión bibliográfica antes mencionada.

El estudio realizado por Zamora durante el 2015, titulado “Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud”, brinda un aporte que enriquece el conocimiento actual sobre los antioxidantes y su papel en la salud humana. Se basó en un metaanálisis, donde se menciona las principales fuentes endógenas y exógenas de antioxidantes, lo anterior resulta provechoso ya que se aporta datos sobre el beneficio del consumo cotidiano de alimentos con antioxidantes, sobre todo de frutas y verduras y la protección que pueden proporcionar contra procesos infecciosos, inflamatorios y enfermedades crónicas como el cáncer.

El artículo científico “Actividad ictiotóxica de extractos de dos especies colombianas del género *Meriania* Swartz (*melastomataceae*)”, realizado por Aguirre, Aguirre, Hipólito, Colmenares, Ocampo, Jaramillo, y, Galvis en el 2016 en la Universidad de Caldas, Colombia, explica la actividad ictiotóxica de las plantas de la familia *melastomataceae*, además evalúa la presencia de los metabolitos activos responsables de tal acción. Este se utilizó para comparar los métodos de extracción que se emplearon para obtener el aceite de las hojas de la planta.

Nacionales

La tesis “Factibilidad agroeconómica del cultivo de marañón (*Anacardium Occidentale* L.) en la región Chorotega para industrializar la nuez”, realizada por Molina en la Universidad de Costa Rica en el 2010, explica los usos del recurso natural a estudiar que le dan los costarricenses, además, describe el rendimiento de las siembras existentes en el territorio nacional y menciona problemas de plagas y enfermedades que puede presentar el árbol de marañón. Por lo tanto, para realizar la actual investigación resulta ideal conocer y seleccionar la época del año, en la cual existe mayor cosecha del fruto, así como también, reconocer las zonas del país donde predominan estas especies vegetales.

El “Estudio de mercado de nuez y fruta confitada de marañón”, realizado por Solís y Barrantes en el 2010 en San José, Costa Rica por el Ministerio de Agricultura y Ganadería. Se fundamentó en recopilar información sobre la comercialización del marañón, así mismo se indica las principales zonas de producción en Costa Rica y las condiciones óptimas para la fructificación y floración del árbol de marañón. Por medio del estudio mencionado se logró

determinar el período apropiado para las fases de recolección y almacenamiento de las muestras (hojas y frutos) a utilizar en la presente investigación.

En la tesis “Estudio sobre la producción y composición de los vinos de naranja, mora y marañón de Costa Rica”, realizada por Acuña en la Universidad de Costa Rica en el 2012, se estudió la composición de los vinos obtenidos a partir de frutas, utilizando métodos químicos. Como resultados se obtuvo en el vino de marañón un elevado porcentaje de taninos, sustancias químicas naturales con acción antioxidante que ayudan a prevenir problemas degenerativos de la salud. Además, se concluye que la capacidad de absorción de radicales de oxígeno, ensayo ORAC, es uno de los métodos más precisos y destacados para demostrar antioxidantes en una sustancia. Dicho método será utilizado en la presente investigación.

La tesis “Formulación de una crema con base en el aceite extraído del fruto del *Anacardium Occidentale* como tratamiento alternativo de verrugas vulgares e hiperqueratosis”, elaborada por Wagner Gutiérrez, en el 2013 en la Universidad Internacional de la Américas, se basó en la extracción del aceite de la cáscara del fruto de marañón por el método Soxhlet y método de expresión. Además, se identificó grupos funcionales en el aceite obtenido, entre ellos instauraciones y compuestos fenólicos. Finalmente se evaluó la actividad queratolítica in vitro en tejido cutáneo de cerdo e in vivo sobre la piel de conejos. Se obtuvo resultados positivos, por lo tanto, se desea en la actual investigación cuantificar la composición de los aceites de las hojas y frutos del árbol, buscando nuevos fines medicinales del árbol *Anacardium Occidentale*.

El estudio “Composition, Chemical Fingerprinting and Antimicrobial Assessment of Costa Rican Cultivated Guavas (*Psidium friedrichsthalianum* and *Psidium guajava* L.) Essential Oils from Leaves and Fruits” (Composición, huellas químicas y evaluación antimicrobiana de las guayabas cultivadas en Costa Rica (*Psidium friedrichsthalianum* y *Psidium guajava* L.) Aceites Esenciales de Hojas y Frutas) realizado en la Universidad de Costa Rica, por Arias, Granados, Molina y Villegas en el 2016, se basó en obtener el aceite esencial de dos especies de guayabas y estudiar los compuestos volátiles. Para esto se realizaron comparaciones entre ambas especies en distintas épocas del año. Obteniéndose compuestos aromáticos, terpenos y derivados de ácidos grasos. Se encontró que las hojas de *P. guajava* de la estación lluviosa presentaron mayor actividad antimicrobiana contra las cepas ensayadas. Se tomó en cuenta la metodología utilizada como referencia para la actual investigación.

Proyecciones

A partir de esta investigación, se brindará conocimiento tanto a estudiantes como a profesionales de la salud sobre la perspectiva medicinal del árbol *Anacardium Occidentale* de Costa Rica. A la vez se estimulará el uso de la medicina natural como alternativa a la medicina convencional. Para lo cual, se elaborará un resumen de los aspectos más relevantes derivados del estudio. Conjuntamente, se darán a conocer los resultados obtenidos de los aceites de las hojas y frutos, también se brindará información sobre la efectividad de la actividad antioxidante, valor nutricional y otros beneficios que aporta tal recurso natural.

Además, existe el interés de aportar fundamentos con validez científica, que puedan ser utilizados y aprovechados por la industria farmacéutica especializada en la elaboración de productos en el área de los extractos naturales, de manera que puedan utilizar toda esta información y desarrollar nuevas formas farmacéuticas a partir de los aceites esenciales obtenidos. Para cumplir con este objetivo, como parte de la investigación, se formulará una crema tópica con los principios activos del *Anacardium Occidentale*, la cual, más adelante y con la realización de más estudios científicos, se buscará establecer en el mercado nacional, de manera que se genere un avance, al implementar y proveer un producto con propiedades medicinales particulares que no está a disposición en el ámbito nacional.

Finalmente, se contribuirá al Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA), generando conocimientos sobre la nutrición, toxicidad, calidad e inocuidad al utilizar las cáscaras de la semilla de marañón como nueva alternativa de alimentos para animales, contribuyendo así, con el fortalecimiento de la salud pública nacional. El proyecto final será publicado en la página web del Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA), de la universidad de Costa Rica en formato de artículo científico.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

A lo largo de este capítulo se proporcionará al lector una idea más clara acerca del tema a estudiar, basado en la composición fitoquímica de los principios activos de las hojas y frutos del árbol *Anacárdium Occidentale* de Costa Rica, para su aplicación en la industria farmacéutica. Se encontrarán conceptos muy básicos, complementarios y específicos. Así mismo, se explicarán los fundamentos sobre las técnicas y métodos que permiten la extracción, purificación e identificación de los compuestos del árbol a estudiar.

A continuación, se citarán principalmente a los autores Bonilla y Pazos (2010), Álvarez y Bagué (2012), y, Cuéllar, (2016). Por medio de los cuales se abordará la base, el origen y los principios del conocimiento tradicional y científico de la medicina natural.

Plantas medicinales

La OMS (2009) define planta medicinal como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos, o cuyos principios activos sirven como precursores para la síntesis de nuevos fármacos. Se entiende por principio activo vegetal, aquella sustancia con fines curativos específicos, que ayudan al cuerpo en su lucha contra la infección (Bonilla y Pazos, 2010, p. 102).

El uso de plantas medicinales se ha dado desde tiempos prehistóricos hasta la actualidad. El hombre de forma empírica utilizó los elementos que la naturaleza le brindaba para curar sus enfermedades y las de sus animales, este conocimiento se transmitió de generación en generación y fue perfeccionándose con la experiencia (Calderón, 2011, p.12).

El estudio científico de las plantas potencialmente medicinales, trajo un nuevo desarrollo de la etnobotánica, fitofarmacología, fitoquímica, farmacognosia, y otras especialidades que estudian las plantas medicinales desde el punto de vista científico, basándose, fundamentalmente, en investigaciones dirigidas al establecimiento de la relación estructura y actividad.

A continuación, se expondrán algunas definiciones significativas para el mayor entendimiento de la terapéutica natural.

Etnobotánica

El término etnobotánica fue usado por primera vez en 1895 por John Harshberger. Es una disciplina que estudia el conocimiento desarrollado por cualquier sociedad en relación al

mundo vegetal. Es decir, la etnobotánica engloba tanto la manera como la sociedad clasifica las plantas, así como los usos que les da. (Posey 1986, citado por Bonilla y Pazos, 2010, p.3). La industria farmacéutica se ha basado en este saber para la extracción y elaboración de fármacos modernos.

Lo mencionado hace constar que los estudios etnobotánicos y de la medicina tradicional permiten tener conocimientos de partida en el empleo de las plantas en la terapéutica, a partir de estos se escogen especies a estudiar para la futura inclusión como planta medicinal de actividad comprobada.

Fitofarmacología

La fitofarmacología es una nueva disciplina que intenta desarrollar métodos que permitan evaluar las acciones medicinales de una planta, reconociendo cuáles son más activas o menos tóxicas, sin tratar de aislar sus principios activos desde el inicio (Bonilla y Pazos, 2010, p.101). Por lo tanto, el estudio meticuloso desde el punto científico de la composición de las plantas ha dado a conocer con precisión sus cualidades preventivas y curativas; así como las reacciones negativas o nocivas.

Farmacognosia y Fitoquímica

La farmacognosia es la parte de la farmacología que estudia la acción de los medicamentos naturales. Así mismo, estudia el origen, estructura anatómica y composición química de las drogas crudas o brutas y las fuentes de dónde estas proceden. Rosales (2011) define droga cruda como “Sustancias de origen animal o vegetal que no han sufrido ningún otro proceso que no sea recolección y secado”. (pp. 1-5). A su vez, la fitoquímica es una especialidad que se deriva de la farmacognosia y se dedica al estudio químico de las plantas medicinales.

La fitoquímica tiene gran importancia en la determinación de los componentes activos de las plantas medicinales, su cuantificación y análisis de los efectos beneficiosos y perjudiciales a la salud humana. Así mismo, trata sobre los métodos de obtención de esos componentes activos, su clasificación, y estudia los métodos analíticos para comprobar su calidad. (Bravo, 2003, pp. 20-27). Existen más de 2000 fitoquímicos en las plantas, que se agrupan en clases de acuerdo a su función y sus características estructurales, a continuación, se estudiarán los principales.

Tabla 1. Clasificación química de los terpenos y tioles.

Clasificación	Sustancia activa	Función	Fuente alimentaria
Terpenos	Carotenoides	Los alfa y beta carotenos son importantes para el sistema inmunológico, son necesarios para el revestimiento de los pulmones, los bronquios y otros	Zanahoria, espinaca, acelga, perejil, pimentón rojo, apio, frutas cítricas, durazno, mango
	Fitoesteroles	Comprenden esteroles y etanoles que pueden reducir el colesterol y ayudan a reducir el riesgo de las enfermedades cardiovasculares.	Brócoli, coliflor, pepino, productos de soya, tomate, berenjena, pimentón, granos integrales, frutas, nuez, cereales, aceite vegetal (principalmente de soya).
	Capsaicina	Descongestionantes y favorece producción de endorfinas. Presentan propiedades analgésicas y antiinflamatorias.	Ají, chile y pimiento.
	Saponinas	Efecto protector contra el cáncer de estómago e intestino, antiinflamatorias. Poseen actividad antiviral, citotóxica. Generalmente se han utilizado como antitusivos y expectorantes.	Ajo, cebolla, raíces de regaliz y ginseng, corteza y semilla de plantas como la hiedra.
Tioles	Compuestos Organosulfurados	Parecen prevenir la activación de los carcinógenos.	Coliflor, lechuga, acelga, brócoli, ajo.

Fuente: Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), 2017.

Tabla 2. Clasificación química de los fenoles.

Clasificación	Sustancia activa	Función	Fuente alimentaria
Fenoles	Isoflavonas	Previenen la formación de ateromas, lo cual se logra al disminuir los niveles del colesterol total y colesterol "malo" (LDL).	Zanahoria, brócoli, coliflor, pepino, tomate, pimiento, berenjena, productos de soya.
	Lignanós	Pueden ayudar en la prevención de cáncer de mama, endometrio y próstata.	Auyama, ajonjolí, centeno, soya, frijoles, granos de trigo, cebada, avena, ajo, espárrago, brócoli y zanahoria
	Flavonoides	Se cree que juegan un papel muy importante en la defensa contra el cáncer.	Apio, cebolla, coliflor, brócoli, perejil, soya, tomate, tomillo, tofu, toronja, naranja.
	Antocianinas	Poseen actividad antiviral, citotóxica (antitumoral). Se han utilizado como antitusivos y expectorantes,	Repollo morado y cebolla morada, manzana, pera, uva, mora.
	Catequinas	Poseen propiedades antiartríticas, antiinflamatorias y antiulcéricas.	Cereza y té verde.
	Taninos	Además de su acción astringente, se emplean como antidiarreicos. Poseen también propiedades vasoconstrictoras por lo que se utilizan en tratamiento de afecciones vasculares.	Manzanas y frambuesas.

Fuente: Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), 2017.

Propiedades de fitoquímicos en alimentos funcionales

Según lo citado anteriormente, diversos compuestos bioactivos que poseen efectos farmacológicos terapéuticos provienen de alimentos. Los autores Drago, López y Saínz (2007) definen alimentos funcionales, “Productos alimenticios de origen animal o vegetal, consumidos en la dieta diaria, que además de aportar nutrientes poseen componentes bioactivos” (Drago, López y Sainz, 2007, pp. 58).

Estos compuestos ejercen efectos farmacológicos que modulan funciones terapéuticas en el cuerpo benéficas para la salud. Por lo tanto, en este apartado se abordarán las propiedades farmacológicas de los fitoquímicos mejor caracterizados, los cuales se encuentran presentes en alimentos funcionales de origen vegetal. Se citarán frecuentemente a los autores Drago, López y Sainz (2007).

Polifenoles

Los autores citados clasifican a los polifenoles como un conjunto heterogéneo de moléculas con actividad antioxidante, entre ellos se incluyen a los fenoles ácidos y flavonoides. En términos generales, los fenoles ácidos se caracterizan por tener un anillo aromático central. Se conoce que inhiben la actividad de agentes mütagenos, estimulan la actividad de la enzima fenolsulfotransferasa, implicada en la destoxificación de compuestos metabólicos potencialmente tóxicos y poseen actividad bactericida (Drago, López y Sainz, 2007, pp. 58).

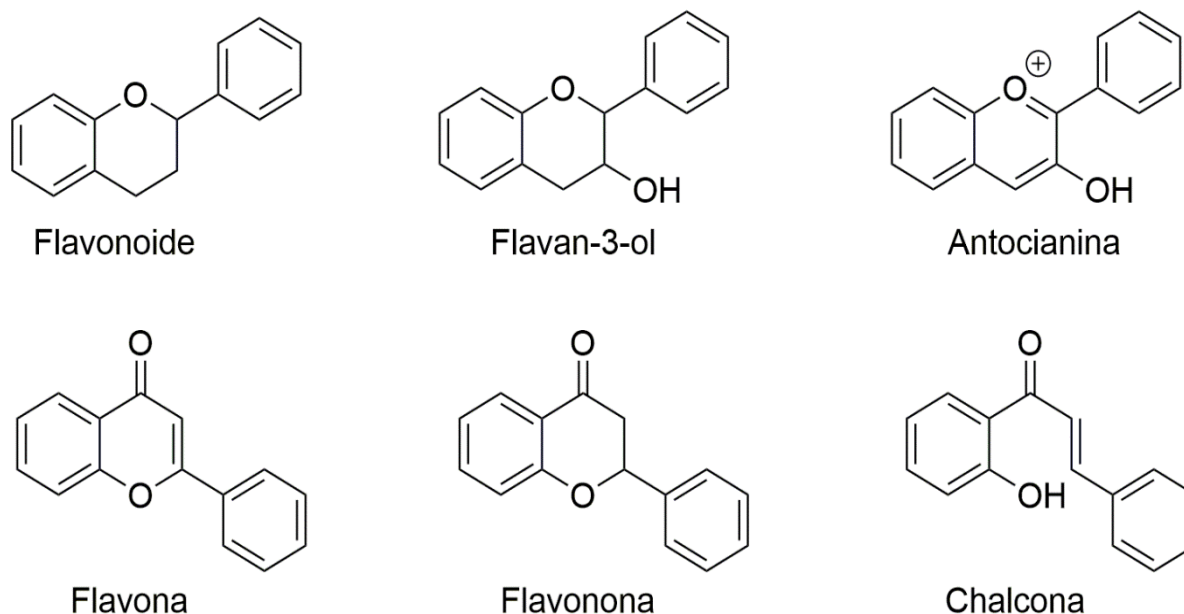
Así mismo, los polifenoles inhiben la oxidación de LDL (lipoproteína de baja densidad) y de ácidos grasos poli-insaturados. La actividad antioxidante de los polifenoles se ha relacionado con su capacidad prevenir falla cardíaca, aterosclerosis, enfermedad cardiovascular y neoplasias (Bravo, 2003, pp. 20-27).

Flavonoides

Los flavonoides son compuestos polifenólicos, se caracterizan por tener una estructura de tres anillos formada de dos centros aromáticos y un heterociclo central oxigenado. Dentro de los flavonoides se incluyen a las flavonas, flavanonas, catequinas y antocianinas (Drago, López y Sainz, 2007, pp. 58). Las flavonas, como la quercetina, se encuentran en la cebolla y lechuga. Entre las catequinas figuran la catequina del vino rojo y la epicatequina del té. Finalmente, en el grupo de las antocianinas figura la delfinidina presente en las cerezas y en la

cáscara de frutas con pigmentos oscuros coloridos (Bravo, 2003, pp. 20-27 y Drago, López y Sainz, 2007, pp. 58-59).

Figura 1. Estructura molecular de los flavonoides.



Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Estudios han demostrado que los flavonoides previenen la agregación plaquetaria e inducen la relajación muscular. Junto con los proteoglicanos, los flavonoides ejercen un efecto inhibitorio de los síntomas alérgicos. Algunos flavonoides como la procianidina B₁ y el resveratrol, se encuentran presentes en extractos de semillas de uva y en la uva, respectivamente, pueden aumentar la capacidad cerebral y la longevidad (Drago, López y Sainz, 2007, pp. 58-59, Rosales, 2011, pp. 1-5 y Bravo, 2003, p. 24).

Fitoestrógenos

Para Drago, López y Saínez (2007), los cuatro grupos principales de fitoestrógenos son: isoflavonas, cumestanos, lignanos y flavonoides. Los fitoestrógenos poseen importantes propiedades farmacológicas, entre las que destaca su actividad estrogénica que ha sido aplicada en terapias de reemplazo hormonal para el alivio de los síntomas asociados a la menopausia y para la osteoporosis en mujeres en etapa del climaterio. (p.59). Otras investigaciones han relacionado dichos compuestos con efectos benéficos contra el cáncer de próstata, obesidad y diabetes, así como inflamación, artritis, infarto miocárdico, neurodegeneración y cáncer de mama (Rosales, 2011, pp. 5-7).

Lípidos vegetales

Para efectos de la presente investigación, los lípidos vegetales que serán estudiados con mayor detalle, y que destacan por su importancia nutricional y farmacológica, son los isoprenoides y ácidos grasos esenciales. Los Isoprenoides se subdividen en los terpenos, esteroides e isoprenoides mixtos. Dichos compuestos se describirán seguidamente.

Isoprenoides.

Diversas clases de lípidos que pertenecen a este grupo se caracterizan por estar formados por unidades repetitivas de isopreno. Como se mencionó anteriormente, los isoprenoides se clasifican en: terpenos, esteroides e isoprenoides mixtos (Drago, López y Sainz, 2007, pp. 60-61). A continuación, se hará mención a cada uno de ellos.

Terpenos.

Se describen como moléculas lineales formadas de unidades poliméricas de isopreno con propiedades antioxidantes que protegen a lípidos y componentes celulares del ataque de agentes oxidantes como radicales libres de oxígeno, superóxido y grupos hidroxilo reactivos (Drago, López y Sainz, 2007, pp. 60-61). Los terpenos mejor conocidos son el escualeno y los carotenoides, los cuales están ampliamente distribuidos en productos vegetales verdes, cereales y leguminosas, estos se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 3. Terpenos representativos en especies vegetales

	Esculeno	Carotenoides
Estructura	Contiene seis unidades de isopreno	Los más conocidos son el β caroteno, α caroteno, luteína, zeaxantina y licopeno
Fuentes	Aceite de hígado de tiburón, aceite de amaranto, oliva y trigo.	Vegetales amarillos y rojos
Propiedades farmacológicas	Propiedades antioxidantes. Efecto benéfico en la prevención de enfermedades cardiovasculares, reduce los niveles de colesterol y de triacilgliceroles en sangre.	Protegen la piel contra la radiación ultravioleta. Propiedades antioxidantes, relacionadas en la prevención contra la peroxidación de lípidos y ácidos nucleicos, aterogénesis y cáncer.

Fuente: Elaboración propia basada en Drago, López y Sainz, 2007, pp. 60-61.

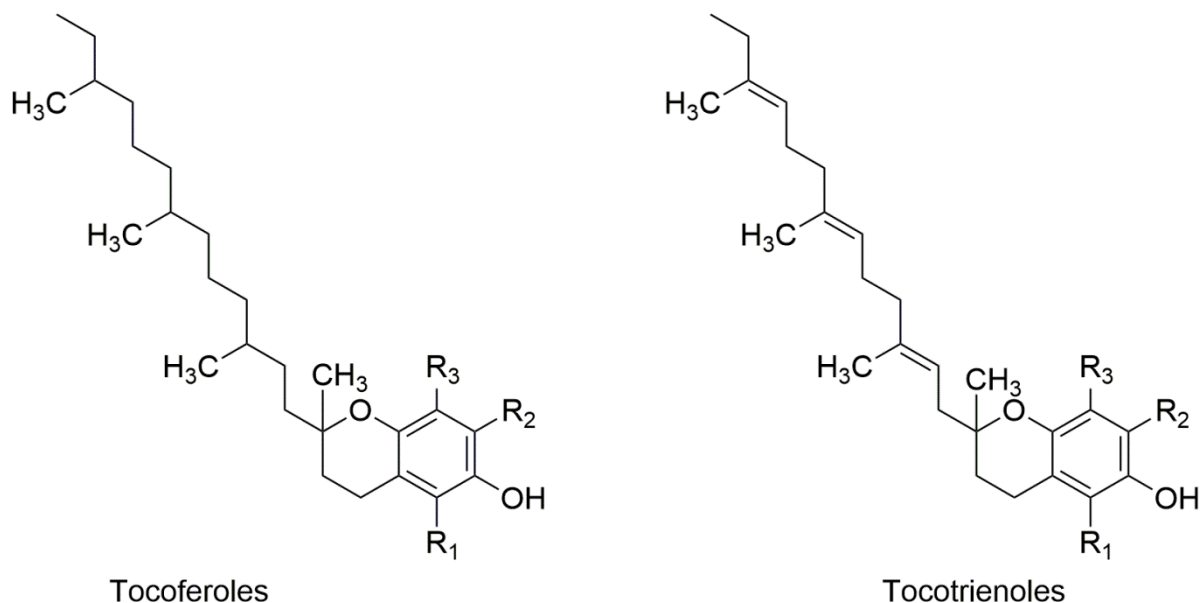
Esteroides.

Los fitoesteroles y fitoestanoles son los miembros más importantes de este grupo, cuya estructura es semejante al colesterol de origen animal (Drago, López y Sainz, 2007, p. 61). Estas moléculas no son sintetizadas por el humano, derivan exclusivamente de productos de origen vegetal como aceite de maíz, germen de trigo, nueces, cereales y frijoles. Estudios reportaron que los fitoesteroles y fitoestanoles inhiben la absorción intestinal de colesterol, por ello, su consumo se ha asociado con la disminución del riesgo de enfermedades del corazón (Rosales, 2011, pp. 5-7). También se ha reconocido que los fitoesteroles y fitoestanoles poseen propiedades inmunomoduladoras que podrían ser benéficas para la prevención del cáncer de colon, cáncer de mama y daño tisular asociado a inflamación (Rosales, 2011, p. 19 y Drago, López y Sainz, 2007, p. 61).

Isoprenoides mixtos.

Corresponden a los submiembros de la vitamina E como los tocoferoles (alfa, beta, gama y delta) y los tocotrienoles. El α tocoferol es el que presenta la mayor actividad de vitamina E. Los tocoferoles están más ampliamente distribuidos en la naturaleza y son abundantes en aceites de maíz, soya y oliva. A su vez, los tocotrienoles están presentes con relativa abundancia en el aceite extraído de la fruta de la palma (Drago, López y Sainz, 2007, p. 61).

Figura 2. Estructura química general de isoprenoides mixtos: tocoferol y tocotrienol.



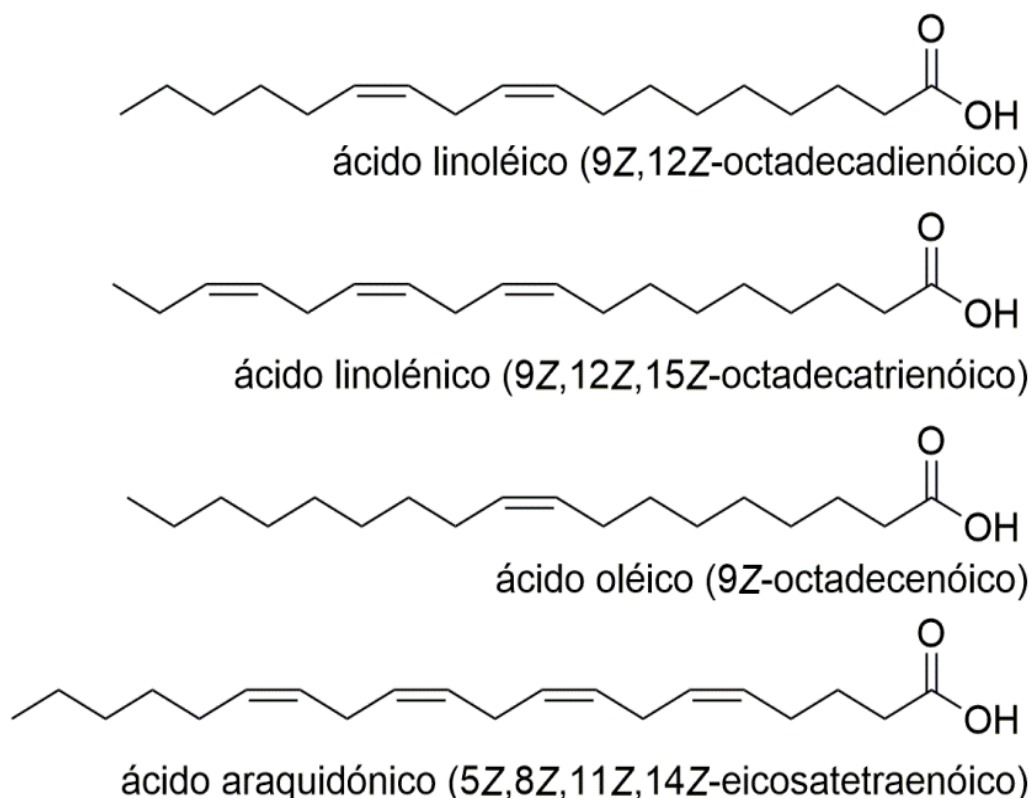
Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Tanto los tocoferoles como los tocotrienoles funcionan como antioxidantes, evitando la oxidación de lípidos. De ambos se dice que los tocotrienoles poseen mayor actividad farmacológica, debido a la insaturación de su cadena lateral. Además, la ingesta de estos se ha asociado con la disminución del riesgo de contraer cáncer de mama y enfermedad cardiovascular, así como retrasar el envejecimiento de la piel (Rosales, 2011, p. 19 y Drago, López y Sainz, 2007, p. 62).

Ácidos grasos esenciales

Los ácidos grasos poli-insaturados poseen un grupo polar carboxilo unido a una cadena hidrocarbonada de 16 a 20 átomos de carbonos, con uno o varios dobles enlaces (Dirección de Investigaciones Nutricionales, 2008). Los autores Drago, López y Sainz (2007) explican que el organismo humano puede sintetizar ácidos grasos saturados de número par de carbonos, pero es incapaz de introducir dobles enlaces en el carbono 3 (C3) o 6 (C6) aunque lo puede hacer en el C9, por ello, los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) n-3 y n-6 son considerados como ácidos grasos esenciales (EFAs) (p. 63). Por lo general, la letra griega omega (ω) es empleada en lugar de n- para denotar ω -3, ω -6 y ω -9.

Figura 3. Ácidos grasos poliinsaturados de las series: n-3, n-6 y n-9



Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Con respecto a la figura 3, cabe mencionar que corresponden a ácidos grasos octadecanoides (18 carbonos), entre ellos ácido α linolénico (LNA), linoléico (LA) y oleico (OA), los cuales son ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3, n-6 y n-9, respectivamente. Los ácidos grasos esenciales n-3 y n-6 no son interconvertibles en el organismo, por lo que su aporte debe de provenir, necesariamente, de fuentes exógenas, tales como, aceites de pescado (salmón, trucha y caballa) y fuentes vegetales como los aceites de lino, cártamo y nuez (Drago, López y Sainz, 2007, p. 63).

Entre las actividades farmacológicas atribuidas a los ácidos grasos poliinsaturados se encuentra la acción antiinflamatoria, debido a su capacidad de modificar la síntesis de prostaglandinas y lípidos (Drago, López y Sainz, 2007, p. 63). Inhiben la angiogénesis, poseen actividad citotóxica sobre células tumorales y reducen los niveles de colesterol en sangre (Rosales, 2011, p. 19 y Drago, López y Sainz, 2007, p. 62).

Perfil de ácidos grasos en aceites funcionales

En relación a lo mencionado, Drago, López y Saínz (2007) destacan que los ácidos grasos son los principales componentes de los triglicéridos que constituyen a los lípidos alimentarios, que comúnmente denominamos grasa. Las grasas junto con hidratos de carbono y proteínas son los principales compuestos que se incorporan al organismo mediante la ingesta de alimentos (p. 63).

La principal fuente de energía proviene de las grasas, de manera que éstas se consideran como el recurso principal energético en el ser humano. (Aponte, Calderón, Delgado, Herrera, Jiménez, Ramírez, Rojas y Toro, 2008). Además, es importante aclarar la relación de la ingesta de grasa con sobrepeso, y destacar que realmente el consumo de grasas es esencial para la salud. Es decir, aparte de ser fuente de energía tienen un papel fundamental en la composición y funcionalidad de las membranas celulares del organismo, entre otras funciones.

Tipos de ácidos grasos

Los autores mencionados clasifican los ácidos grasos en 4 familias principales: saturados, monoinsaturados (ácido oleico), poliinsaturados (ácidos ω 6 y ω 3) y trans, que provienen de productos de fabricación industrial y se consideran perjudiciales para nuestro organismo. Además, se menciona lo indispensable de mantener un equilibrio entre el consumo de los diferentes tipos de ácidos grasos (Aponte et al. 2008). En general, se

recomienda una ingesta baja en ácidos grasos saturados y ácidos grasos trans y un mayor consumo de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados.

Dentro de la familia de los poliinsaturados cabe destacar los ácidos grasos linoleico y alfa-linolénico, precursores de la serie $\omega 6$ y $\omega 3$ respectivamente y se denominan esenciales debido a que el organismo no los puede sintetizar, de manera que se deben ingerir a través de la dieta (Drago, López y Sainz, 2007, p. 63). Seguidamente, se hará un resumen de los tipos de ácidos grasos mencionados, descritos por los autores Drago, López y Saínz, (2007) y Aponte et al. (2008).

Ácidos grasos $\omega 3$.

Se ha demostrado que los $\omega 3$ tienen numerosos beneficios, entre ellos, en los procesos inflamatorios. Estudios de los investigadores Drago, López y Sainz (2007), Álvarez y Bagué (2012) y Calderón (2011) revelaron que con el consumo de ácidos grasos $\omega 3$ se redujo la inflamación pulmonar, de tipo crónico, en personas fumadoras, asmáticas y con el padecimiento de bronquitis de manera notable. Así mismo, se describe la mejora del estado de individuos con otras enfermedades inflamatorias tales como la enfermedad de Crohn, artritis reumatoide y neumonía bacteriana y viral. Se explica dicha acción por sus propiedades de suprimir y limitar la producción de sustancias proinflamatorias.

Efectos anticancerígenos de los $\omega 3$.

Se cree que el 80% de los tumores malignos son provocados por factores ambientales y hábitos de vida, de manera que se considera que podrían ser evitados mediante cambios en la dieta. Los autores Drago, López y Sainz (2007) relacionan el consumo de ácidos grasos $\omega 3$ para prevenir el cáncer de mama, próstata y colon, entre otros, así como a reducir el riesgo de metástasis en enfermos de cáncer, ya que se ha demostrado que estos tienden a reducir el crecimiento de células cancerígenas, así como a reducir la movilidad de las mismas (p. 65).

Reducción del riesgo cardiovascular.

Drago, López y Saínz (2007) indican que el consumo de $\omega 3$ reduce el riesgo de dificultades vasculares por varios motivos, entre ellos previene la aparición de arritmias por la capacidad que tienen de estabilizar eléctricamente el corazón. Aumenta la esperanza de vida de los infartados, ya que tienen un efecto antitrombótico, antiinflamatorio y vasodilatador. Y finalmente, disminuyen la presión arterial y la triglicemia (p.65).

Ácidos grasos saturados.

Los ácidos grasos saturados que comúnmente componen de la grasa de una dieta son los ácidos mirístico, palmítico y esteárico, se encuentran en una gran cantidad de grasas de origen animal. Asociado a esto, tratamientos industriales como la hidrogenación, que se aplica en algunos aceites vegetales, aumentan la porción de ácidos grasos saturados (Aponte, Calderón, Delgado, Herrera, Jiménez, Ramírez, Rojas y Toro, 2008).

Ácidos grasos monoinsaturados.

De los ácidos grasos monoinsaturados, el ácido oleico es el más abundante y se encuentra presente tanto en las grasas vegetales como animales. Se ha recomendado la ingestión de ácidos grasos monoinsaturados, ya que disminuyen considerablemente los niveles de colesterol LDL, esta lipoproteína de baja densidad, se encuentra asociada a enfermedades cardiovasculares, además de modificar el colesterol HDL, lipoproteína de alta densidad, la cual se relaciona con efectos benéficos para la salud. (Aponte, Calderón, Delgado, Herrera, Jiménez, Ramírez, Rojas y Toro, 2008).

Ácidos grasos trans.

Los ácidos grasos trans son formas de ácidos grasos insaturados que contienen una cadena lineal en lugar de una cadena doblada. Se forman como subproductos de la hidrogenación de aceites. No pueden ser metabolizados en el organismo y su consumo crónico ha sido ligado a varias afecciones, por lo que su contenido debe ser regulado. (Aponte, Calderón, Delgado, Herrera, Jiménez, Ramírez, Rojas y Toro, 2008).

Ingestas recomendadas de ácidos grasos

En general para la población adulta se recomienda que el consumo de grasa represente entre un 30% y un 35% del aporte total de energía. Si lo desglosamos en las diferentes clases de ácidos grasos existentes: Las grasas saturadas no deben aportar más del 10 % del total de energía. El ácido graso mayoritario debe ser el oleico (aceite de oliva) que debe suponer entre un 15% y un 20% del total de energía. El 5% restante debe proceder de los ácidos grasos poliinsaturados (4% los $\omega 6$ y un 1% los $\omega 3$) (Drago, López y Sainz, 2007, p. 63).

Análisis de grasas y ácidos grasos

Por su relación con la incidencia de enfermedades cardiovasculares, el estudio del perfil de los ácidos grasos en las principales grasas de los alimentos es de gran importancia. La identificación y clasificación de estas depende estrictamente de su composición en ácidos grasos. Por ejemplo, en las grasas animales como el sebo, el aceite de pollo y la manteca de cerdo hay un alto contenido de ácido esteárico y mirístico en comparación con las grasas vegetales. Este es un buen indicador de la pureza de las materias primas mismas (Drago, López y Sainz, 2007, p. 65).

A continuación, se muestra el perfil lipídico de ácidos grasos de algunos aceites funcionales característicos en la dieta de la población. Entre ellos el aceite de Oliva y el aceite de Girasol, ambos aportan cantidades específicas de los diferentes tipos de ácidos grasos estudiados. Posteriormente serán comparados con el perfil lipídico obtenido del aceite de marañón en la sección IV de análisis y resultados.

Tabla 4. Composición química del aceite de oliva.

Ácidos grasos del aceite de oliva por 100 gramos	
Grasas saturadas	13,5 g
Ácido palmítico	11 g
Ácido esteárico	2,2 g
Grasas monoinsaturadas	73,7 g
Ácido oleico	72,5 g
Ácido palmítico	0,8 g
Ácido eicosanoico	0,3 g
Grasas poliinsaturadas	8,4 g
Ácido linoleico	7,9 g
Ácido alfa linoléico	0,6 g

Fuente: Camona, Moreno y Vargas (2012).

Los autores Camona, Moreno y Vargas (2012) mencionan diferencias entre ambos aceites, una de estas es la relación de ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados, ya que en el aceite de girasol predominan los segundos mientras que en el aceite de oliva predominan los primeros. Además, expresan que es conveniente que en la dieta existan más grasa omega 3 que omega 6, por eso, se dice que el aceite de oliva tiene mejor

perfil lipídico. Sin embargo, el aceite de girasol puede ofrecer una gran cantidad de vitamina E que el aceite de oliva no tiene, y este micronutriente tiene un fuerte efecto antioxidante en el organismo, que lo protege ante diversas enfermedades (Camona, Moreno y Vargas 2012).

Tabla 5. Composición química del aceite de girasol.

Ácidos grasos del aceite de girasol por 100 gramos	
Grasas saturadas	10,3 g
Ácido palmítico	5,9 g
Ácido esteárico	4,8 g
Grasas monoinsaturadas	19,5 g
Ácido oleico	19,5 g
Grasas poliinsaturadas	65,7 g
Ácido linoleico	65,7 g

Fuente: Camona, Moreno y Vargas (2012).

Especie vegetal *Anacardium Occidentale*

La especie vegetal a estudiar en esta investigación se conoce científicamente como *Anacardium Occidentale*. A continuación, se hará una breve descripción botánica y una clasificación científica de dicha especie.

Descripción Botánica

El árbol del marañón crece con rapidez y puede llegar a tener una altura de seis a diez metros. Es una fruta extravagante y de gran utilidad. Así mismo, el fruto está compuesto por una semilla externa, pequeña y dura, de una forma singular; y un pedúnculo más grande y blando. Científicamente, se conoce que la pequeña semilla o nuez, es en realidad el verdadero fruto, y el pedúnculo es la pieza que une a la fruta con el árbol (Cuéllar, 2016, pp. 17-19).

La nuez tiene forma de riñón y se encuentra adherida al hipocarpo, que es la pulpa o parte carnosa, de color rojo o amarillo que, a su vez, forma el pedúnculo hinchado, comestible, que en algunas partes llaman “pseudofruto”. La raíz principal del árbol de marañón penetra bastante en el suelo, y cuando no hay agua o esta es escasa se alarga lo suficiente para obtenerla. Las ramas son largas, y algunas sobre todo las inferiores, se descuelgan a veces hasta tocar el suelo.

Figura 4. Estructura de la especie *Anacardium Occidentale*.



Fuente: Fuente: Cuéllar, 2016, p. 20.

El pseudofruto del marañón, o falso fruto, se come como fruta fresca o en jugo; tiene un sabor ácido bastante exquisito. Esta parte del marañón también se procesa para obtener dulces y jaleas, y se fermenta para crear vinos y vinagres caseros. Su contenido en vitamina C es alto, incluso superior a la mayoría de otras frutas (Cuéllar, 2016, pp. 17-19). Seguidamente, se describirán las partes vegetales a estudiar de la especie *Anacardium*.

Hojas.

Son de color verde, simples, alternas y con peciolo corto de forma ovada con base en cuña u obtusa y redondeada o ensanchada. Presentan una coloración verde oscuro o verde amarillento y brillante en el haz (cara superior de la hoja), verde brillante y opaco en el envés (cara inferior de la hoja), textura lisa en ambas superficies. El extremo de la hoja es redondeado, su estructura es lisa, dura y maleable (Cuéllar, 2016, p. 20).

Flores.

Las flores del marañón poseen olor agradable, son pequeñas, tienen aproximadamente cinco pétalos de color verde amarillento que se tornan rosados y se enroscan a medida que la flor se abre completamente (Cuéllar, 2016, p. 20). La floración se prolonga al largo de tres meses, durante la estación seca, y no es sincronizada. Además, se dice que la familia *Anacardiaceae*, a la que pertenece este árbol, tiene flores femeninas y masculinas. También contienen numerosos sépalos y pétalos.

Fruto.

El fruto verdadero (la nuez) tiene forma arriñonada y tiene una concha dura que facilita su almacenamiento y transporte. El producto principal de la nuez es la almendra que se obtiene al eliminar la cascara de la nuez entera. Así mismo, Cuellar (2016) menciona que es indispensable una correcta manipulación de las nueces, ya que la corteza contiene un aceite cáustico y venenoso que puede causar una dermatitis severa, principalmente en individuos hipersensibles (p. 20).

Es importante mencionar que dicha nuez del marañón constituye más o menos un término del peso del fruto y su análisis indica un contenido de 55-60% de aceite, 15-20% de proteínas y el 5% de carbohidratos (almidón y azúcar). Como se mencionó anteriormente, la cáscara tiene un aceite sumamente cáustico, de color café y sabor picante, que es utilizado en pegamentos, barnices, resinas sintéticas, plásticos y otros.

Clasificación Científica

Anacardium es un género de plantas con flores, incluido en la familia *Anacardiaceae*, nativa de las regiones tropicales de América. La especie *Occidentale* se conoce como marañón en México, Costa Rica, Ecuador y Perú, como caju o cajueiro en Brasil; en Colombia y Venezuela es conocida como merey y en los Estados Unidos como cashew. Los más importantes productores son Vietnam, India, Brasil, Nigeria y Tanzania. (López, 2010, p. 16).

Tabla 6. Taxonomía de la especie *Anacardium Occidentale*.

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Sapindales</i>
Familia	<i>Anacardiaceae</i>
Género	<i>Anacardium</i>
Especie	<i>Anacardium Occidentale</i>

Fuente: López, 2010, p. 16.

Zonas de cultivo y épocas de siembra

En Costa Rica se produce en toda la provincia de Guanacaste, así como en los cantones de Esparza, Puriscal, Orotina y San Mateo. Otras zonas productoras son los distritos de Cóbano y Garabito. Cuando la siembra es directa, esta se debe realizar una vez que inicia la estación lluviosa y la precipitación es regular, ya que, si la planta está germinando y no llueve, muere (Ministerio de Agricultura y Ganadería [MAG], 2012).

Las plantaciones empiezan a fructificar entre los tres y cuatro años y alcanzan los mayores rendimientos a partir del octavo año. Además, el MAG (2012), destaca que en Costa Rica los rendimientos del falso fruto oscilan desde una hasta cinco toneladas de fruta/ha; los rendimientos más frecuentes son de tres o cuatro toneladas de fruta/ha, y los rendimientos de nuez oscilan entre 300 y 400 kg/ha. La cosecha se produce entre los meses de febrero y mayo (Ministerio de Agricultura y Ganadería., 2012).

Además, se menciona que el cultivo por su rusticidad es poco exigente respecto a suelos y se adapta a una gran diversidad de ellos, siempre que tengan buen drenaje.

Variedades

No existen variedades reconocidas de este cultivo, pero se han clasificado tipos, basados en características como crecimiento de los árboles, coloración de hojas jóvenes, producción, tamaño de nuez, entre otros. Estos tipos se describen a continuación.

Tipos criollos.

Son árboles de gran crecimiento vertical, de hojas muy verdes, con hojas jóvenes de color rojizo, de alta producción de fruta, generalmente, chica y de semilla pequeña, de color grisáceo claro. Son árboles muy rústicos con raíces ramificadas y muy profundas. Existen tres tipos que se diferencian por el color del falso fruto: rojo, amarillo y salmón (MAG, 2012).

Tipos introducidos.

Se les identifica como trinitarios y jamaquinos. Son árboles con copas más abiertas que las de los criollos, hojas más grandes y más rústicas que estos. Su sistema radical es menos ramificado, con una raíz pivotante muy desarrollada que los hace menos susceptibles al daño de los vientos (MAG, 2012).

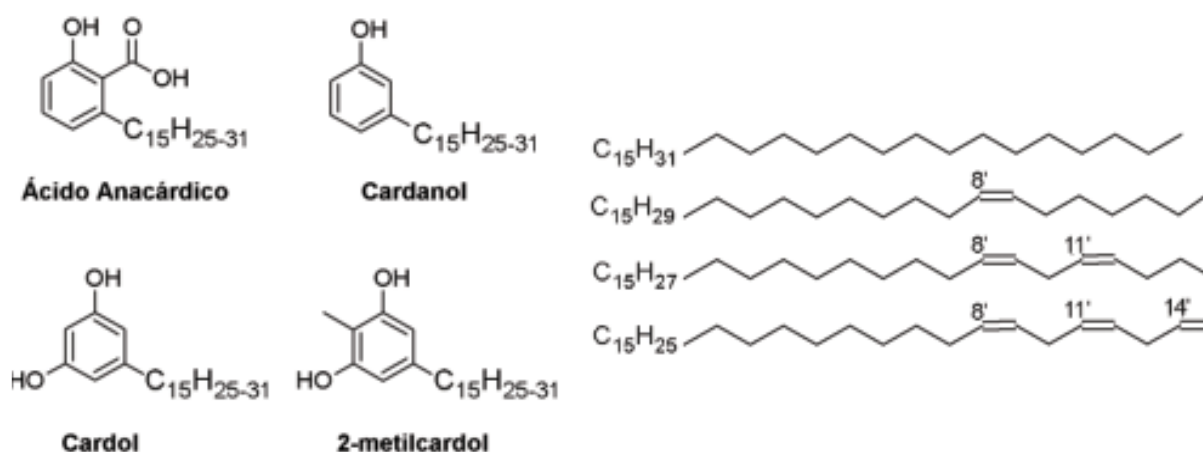
Aspectos químicos de la especie *Anacardium Occidentale*

El fruto del marañón tiene un alto contenido de aceite con ácidos grasos (caprílico, esteárico, palmítico, oleico y linoléico) y otros lípidos fenólicos, entre los que tenemos los ácidos anacárdicos (ácidos 6-alkuil-salicílicos) con diferentes cadenas alquílicas y diferentes grados de insaturación, los que le confieren actividades biológicas como antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, entre otras (López, 2010, p.2).

Además, estudios químicos de este fruto muestran la presencia de ácidos grasos, aminoácidos, flavonoides, carbohidratos, terpenos, esteroides y taninos (López 2010, Perone 2012 y Almeida et al. 2012). También indican el contenido de ácidos anacárdicos (ácidos 2-hidroxi-6-alkuilbenzoico) que difieren en el número y posición de dobles enlaces en su cadena alquílica. Se dice que el aceite contiene aproximadamente 70% de ácidos anacárdicos, 18% de cardoles (alkuilresorsinoides), 5% de cardanoles (alkuil-fenoles) y otros fenoles.

Conjuntamente, Almeida et al. (2012) revelaron la existencia de gran variedad de metabolitos secundarios de la especie *Anacardium*, en especial, cumarinas; y en menores proporciones, saponinas, azúcares reductores, aminoácidos libres, esteroides y fenoles. Se ha demostrado que dichos metabolitos secundarios, en especial los flavonoides, antocianinas y taninos en el *A. Occidentale*, incrementan la digestibilidad de los nutrientes, el funcionamiento orgánico del cuerpo, activan la capacidad antioxidante y modifican la síntesis de eicosanoides con respuestas antiinflamatoria (Almeida et al. 2012, p. 326).

Figura 5. Estructura química del ácido anacárdico y sus derivados.



Fuente: Perone, 2012, p. 18.

Debido a la importancia que presentan los compuestos químicos contenidos en el fruto, hojas y semilla del marañón, este trabajo se enfocará en el aislamiento, elucidación y cuantificación de los ácidos anacárdicos y demás fitoquímicos presentes en el marañón de Costa Rica, así como en valorar la capacidad antioxidante del aceite.

Seguidamente, se describirá de forma detallada la composición química que constituye cada parte de la especie *Anacardium*, según la investigación experimental realizada por el autor Gutiérrez (2013). Posteriormente, se determinarán las principales propiedades medicinales que posee el árbol estudiado.

Fruto.

Gutiérrez (2013) menciona el fruto de dicha especie contiene un líquido de color castaño oscuro, aceitoso, resinoso y viscoso, con propiedad de vesicante y caustica, el cual se encuentra en el mesocarpo del fruto. Los principales compuestos de esta nuez son el ácido

anacárdico, el cual constituye un principio activo; el cardol y un aceite con propiedades alimenticias; una goma y una resina (Gutiérrez, 2013, p. 36).

Cáscara.

Después que se extrae la almendra, la cáscara de la nuez puede ser utilizada para obtener el líquido de la cáscara de la semilla del anacardo (CNSL) o aceite de cardol. Se menciona que contiene cantidades pequeñas de yodo, minerales, compuestos nitrogenados, azúcares y lignina; y en mayor proporción, 50%, el CNSL, el cual se compone de 10% cardol y 90% ácido anacárdico (Gutiérrez, 2013, p. 37).

Corteza.

Está constituida en 1,4% del peso total, en estado fresco, por taninos, de ellos, el 86% no son hidrosolubles y el 14% restante es miscible en agua. Además, contiene una goma resinosa llamada acajucia, y una sustancia colorante (Gutiérrez, 2013, p. 35).

Almendra.

La almendra posee utilidad dietética, según Gutiérrez (2013), se ha encontrado una proteína vegetal con características similares a la presente en la leche, carne o huevos, llamada Anacardeína, la cual se considera completa desde el punto de vista biológico. Además, tiene ácidos grasos esenciales en altas concentraciones, pero en las proporciones correctas. (Gutiérrez, 2013, p. 35).

Tabla 7. Composición de ácidos grasos de la almendra de marañón.

Ácido graso	Porcentaje (%)
Ácido oleico	73,80
Ácido linoleico	7,67
Ácido palmítico	0,89
Ácido esteárico	11,24
Ácido lignosérico	0,15
Materia insaponificable	0,42

Fuente: Gutiérrez, 2013, p. 35.

Raíz.

Los compuestos químicos presentes en mayor proporción en la raíz verde, pertenecen al grupo de los taninos, constituye entre el 1 y 2% del órgano fresco, y un 4% cuando está seco, según lo describe Gutiérrez (2013), p. 35.

Pseudofruto.

La manzana del marañón, describe Gutiérrez (2013), al citar a Sornprom (2007) posee un alto contenido de vitamina C, incluso superior al de las naranjas. El autor enumera algunos componentes presentes en cantidades de miligramos, tales como el calcio, hierro, fósforo, tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico. Además, 50 UI de vitamina A (Gutiérrez, 2013, p. 36).

Hojas.

Un estudio reciente da nuevos datos acerca de los compuestos presentes en las hojas, Martínez et al (2012) concluyen que contienen un alto contenido de nutrientes, betasitosterol, stigmasterol, junto con el ácido gadoleico y el octadecanoico. Se encontró gran cantidad de potasio y manganeso. También, se reportan cumarinas, antocianidinas, triterpenos, esteroides, taninos, quinonas, saponinas y flavonoides. Por tanto, se invita a la investigación, en el campo terapéutico y nutracéutico, del polvo de hojas, tanto para animales como humanos (Gutiérrez, 2013, p. 37).

Para demostrar científicamente los beneficios medicinales de las hojas y frutos (semilla y pseudofruto) del *Anacardium Occidentale*, es necesario identificar y cuantificar los componentes y estructura química de los aceites obtenidos por distintas técnicas de extracción y purificación, las cuales se mencionarán seguidamente.

Aceites esenciales y compuestos volátiles

Los aceites volátiles emitidos por plantas son mezclas complejas de muchos compuestos orgánicos que representan pequeñas cantidades respecto al peso total de la planta (Ortuño, 2006, p. 7). De acuerdo con López (2010) son conocidos también como aceites esenciales, aceites volátiles o esencias, comúnmente son sustancias altamente lipofílicas de bajo peso molecular, cuya volatilidad se debe a que se evaporan al ser expuestos al aire o a temperatura ambiente, por lo que sus presiones de vapor son altas (p. 9). Es importante reconocer que las esencias florales varían ampliamente entre especies, número, identidad y cantidades relativas

de sus constituyentes. Su producción ocurre en las mismas rutas biosintéticas de metabolitos secundarios no volátiles, lo que explica su diversidad. Los terpenos son los compuestos volátiles más relevantes, seguidos de los derivados de ácidos grasos (hidrocarburos saturados e insaturados), bencenoides y fenilpropanoides, aunque también se han reportado sustancias azufradas y nitrogenadas (Almeida et al. 2012, pp. 56-81).

Los compuestos volátiles orgánicos que producen las plantas son reconocidos por el olor que tienen, por su importancia comercial y estética. En cuanto a su caracterización química Ortuño (2006) menciona “Generalmente estas mezclas de aceites están conformadas por terpenos, derivados de ácidos grasos y compuestos aromáticos” (Ortuño, 2006, p. 7).

Metabolismo primario y secundario

En los entes vivos los compuestos químicos son sintetizados y degradados mediante una serie de reacciones químicas catalizadas por enzimas. Estos procesos son conocidos como metabolismo. Todos los organismos poseen rutas metabólicas similares por medio de las cuales sintetizan y utilizan ciertas especies químicas esenciales, como son: azúcares, aminoácidos, ácidos grasos comunes, nucleótidos y los primeros derivados de ellos (polisacáridos, proteínas, lípidos, ARN, ADN, etc.). Este es el metabolismo primario y estas compuestos son esenciales para la supervivencia de los organismos (López, 2010, pp. 8-9).

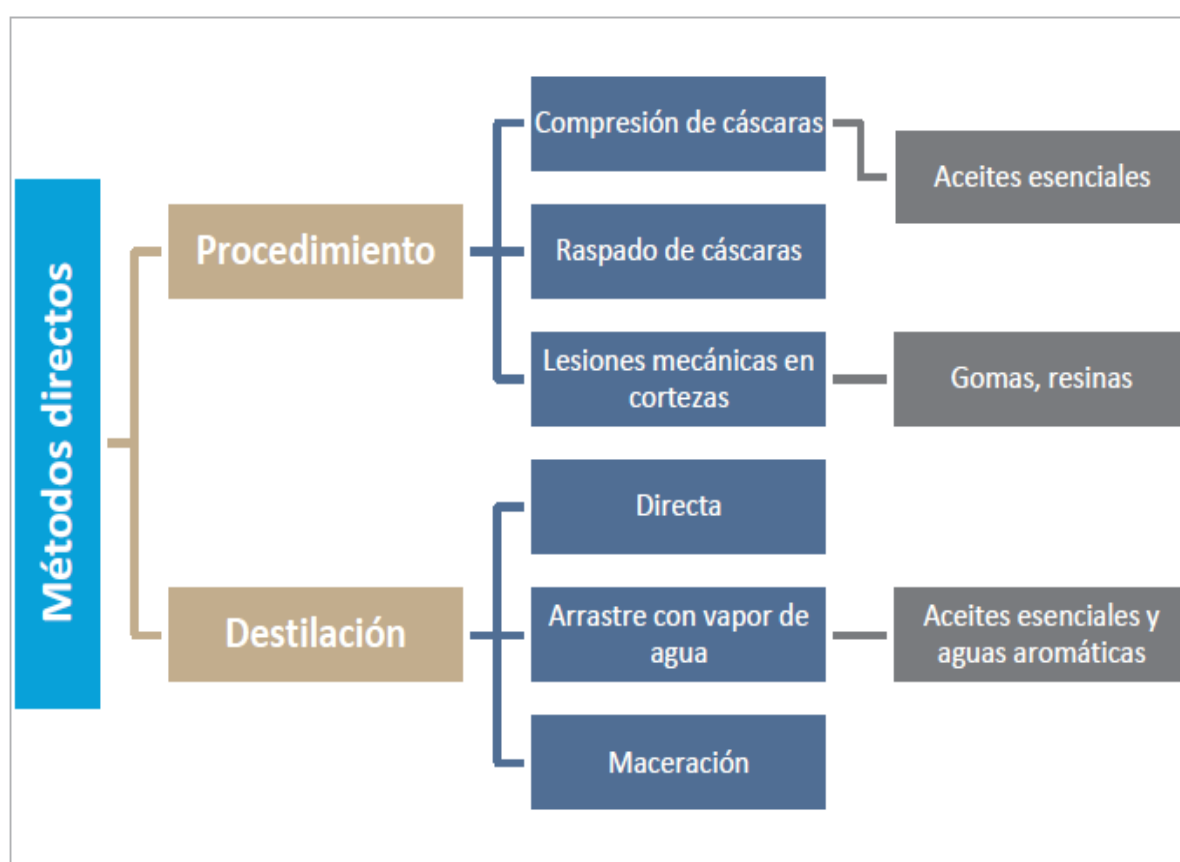
Muchos organismos utilizan otras rutas metabólicas, produciendo sustancias que aparentemente no tienen una utilidad importante, “desempeñan funciones de defensa, actúan como agentes alelopáticos, para encantar a los polinizadores con sus colores o atrayendo a los animales que utilizan los frutos como alimento y que contribuyen a la dispersión de las semillas” (Hernández y Pabón, 2012, pp.194-196). Estos son los metabolitos secundarios, y las rutas de biosíntesis y utilización de estos constituyen el metabolismo secundario. Estas rutas dependen de la información genética, y parten de rutas primarias.

Según los autores mencionados (López 2010, Hernández y Pabón 2012) el metabolismo primario y el secundario están interconectados debido a que el primario provee un número de pequeñas moléculas, las cuales son utilizadas como materia prima para las rutas del secundario. Existen tres principales rutas del metabolismo secundario, según los materiales de inicio: ácido shikímico, que es el precursor de muchos compuestos aromáticos. Piruvato, que produce alcaloides, así como péptidos y antibióticos. Ácido mevalónico y malonato - CoA, precursor de terpenoides y flavonoides (López 2010, p. 9).

Técnicas de extracción y aislamiento de Aceites Esenciales

Para obtener aceites esenciales los procesos más empleados son: destilación por arrastre con vapor y destilación con agua o hidrodestilación, la preferencia por estos se debe gracias al mínimo impacto que generan, además, porque contribuyen a cerrar el ciclo de producción, consumo de materiales renovables y por el uso del agua como disolvente, lo cual los convierte en procesos económicos y sencillos (Albarracín, 2003, pp. 14-20). Los diferentes procesos de extracción utilizados en la obtención de aceites esenciales y extractos aromáticos se pueden resumir en la siguiente imagen.

Figura 6. Métodos de extracción de mezclas aromáticas.



Fuente: Albarracín, 2003, pp. 14-20.

A continuación, se describen los métodos de extracción que se muestran en la figura anterior, se hará un mayor énfasis en las técnicas que serán utilizadas para este estudio, entre ellas la hidrodestilación, extracción de fases y extracción utilizando solventes volátiles. La descripción de los métodos se tomó de los autores (Torres 2011, Albarracín 2003 y López 2010).

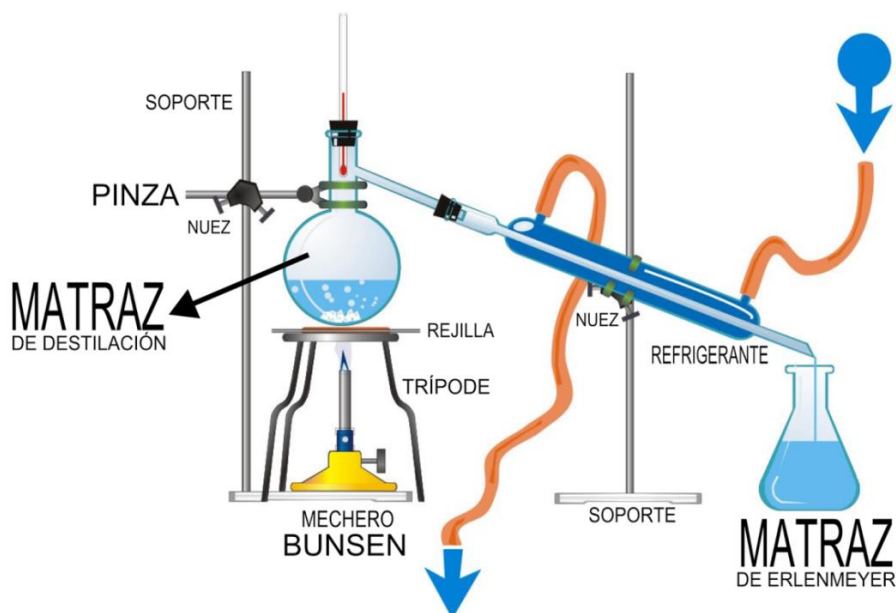
Destilación con agua o hidrodestilación

En la destilación con agua se lleva a ebullición una solución de un material vegetal aromático, y a partir de esto los vapores generados pueden ser condensados y recolectados posteriormente. Finalmente, el aceite, que es inmisible en agua, se separa. En la hidrodestilación el material vegetal siempre debe encontrarse en contacto con el agua, y se debe ser mantener en constante agitación para evitar aglomeraciones o sedimentación del mismo en el fondo del recipiente, lo cual podría provocar su degradación térmica (Torres, 2011, pp. 11-17).

El tiempo total de destilación se establece de acuerdo a los componentes presentes en el aceite esencial. Si este contiene compuestos de alto punto de ebullición, el tiempo de destilación deberá ser mayor, los aceites obtenidos mediante destilación en agua, normalmente, presentan notas más fuertes y un color más oscuro con respecto a los producidos por otros métodos (Albarracín, 2003, pp. 14-20).

Una de las desventajas de la hidrodestilación es que, en la presencia de agua y particularmente a altas temperaturas, pueden ocurrir reacciones que favorecen la formación de compuestos, tales como alcoholes y ácidos por descomposición de los ésteres, que van a causar una disminución en la producción del aceite, debido a que la cantidad de agua puede producir mayor hidrólisis en los componentes. (López, 2010, pp. 19-24).

Figura 7. Montaje del equipo de hidrodestilación.



Fuente: Camona, V., Moreno, A. y Vargas, L. (2012).

Extracción por separación de fases

El investigador Albarracín cita “La extracción es la técnica más empleada para proceder a la separación y purificación de los componentes de una mezcla o para aislar un compuesto orgánico de sus fuentes naturales” (Albarracín, 2003, pp. 14-20). Por lo tanto, dicho método consiste en la separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente orgánico (inmiscible con el agua) en contacto con una fase acuosa. (López, 2010, pp. 19-24). Conjuntamente, los autores destacan que el principio de una extracción es la transferencia de una sustancia de una fase a otra, normalmente, de una fase acuosa a una orgánica como se muestra en la siguiente imagen (Albarracín 2003 y López 2010).

Extracción con solventes volátiles.

En este método la muestra seca y molida se pone en contacto con solventes, tales como alcohol, cloroformo y éter. Estos solventes solubilizan la esencia, pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a escala de laboratorio, ya que a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, pues se obtienen esencias impurificadas con otras sustancias, y, además, por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos solventes orgánicos volátiles (López, 2010, pp. 19-24).

Análisis de la composición de los Aceites Esenciales

El autor López (2010), menciona, “Anteriormente, la identificación de compuestos en aceites esenciales se convertía en una larga y tediosa operación, que consumía muchísimo tiempo” (López 2010, p. 9). Esto se afirma debido a que se requería el aislamiento y purificación de cada componente. Actualmente, el desarrollo de técnicas instrumentales de análisis, y su acoplamiento a sistemas informáticos y bases de datos, ha agilizado la identificación de los componentes de las esencias (Albarracín, 2003, pp. 14-20). Algunas de las técnicas que han contribuido especialmente a este cambio son:

Técnicas cromatográficas de alta resolución, principalmente, la cromatografía de gases con columnas capilares.

Técnicas espectroscópicas, particularmente, la espectrometría de masas (EM), la espectroscopia infrarroja (IR) y la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN).

Sistemas cromatográficos acoplados a técnicas espectroscópicas, especialmente, la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG-MS) y la cromatografía de gases acoplada a la espectroscopia infrarroja (CG-FTIR).

Cromatografía en fase gaseosa

La cromatografía de gases es una técnica de separación, basada principalmente, en fenómenos de partición entre una fase móvil gaseosa (helio, argón, hidrógeno, nitrógeno) y una fase estacionaria, constituida por un líquido muy viscoso retenido en el interior de una columna cromatográfica. La columna se coloca en un horno con temperatura regulable y programable, lo que permite influir de forma decisiva en la separación de los componentes de la mezcla. El cromatógrafo se completa con un sistema de inyección, que permite introducir la muestra en la columna y un detector que muestra las diferentes sustancias a medida que van saliendo de la columna, una vez separadas (Albarracín, 2003, p. 25).

Para la identificación de los componentes del aceite esencial mediante CG se ha utilizado frecuentemente la comparación de sus tiempos de retención (tiempo transcurrido entre la inyección de la muestra y la aparición del pico cromatográfico) con los de los patrones. Sin embargo, los tiempos de retención están fuertemente influenciados por numerosas variables, entre las que se encuentran la técnica de inyección, las variaciones de temperatura o flujo de los gases y el diseño del equipo. Por este motivo, el autor menciona la introducción de parámetros relativos como son los tiempos de retención relativos y los índices de retención. (Albarracín, 2003, p. 25).

Finalmente, el autor destaca que la identificación de los componentes del aceite se realiza a través de comparación de los índices de retención de las sustancias patrones en dos fases estacionarias, polar y apolar, con los índices obtenidos para los componentes del aceite esencial. (Albarracín, 2003, p. 25).

Cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrometría de masas

Es un método bastante apropiado para la identificación de compuestos volátiles y de bajo peso molecular. La esencia se inyecta directamente en el cromatógrafo sin ningún tratamiento previo, lo cual elimina posibles modificaciones en la composición de la muestra o en la estructura de sus constituyentes que se pueden dar debido a un pretratamiento. En el cromatógrafo, los componentes de la esencia se separan, tras lo cual penetran en el espectrómetro de masas que permite registrar el correspondiente espectro de cada una de las

sustancias separadas. Los constituyentes del aceite esencial se identifican gracias a los diferentes patrones de fragmentación que se observan en sus espectros de masas. (Albarracín, 2003, p. 25).

Características cromatográficas.

Albarracín (2003) menciona ciertas características en relación con el control de calidad, entre ellas, se destaca que este método se utiliza para obtener el perfil cromatográfico y cuantificar los principales componentes del aceite esencial. (Albarracín, 2003, p. 27). Es decir, los componentes mayoritarios o aquellos que, sin ser mayoritarios, tengan una especial tendencia para la calidad del mismo. El mayor valor de un perfil es permitir ante la presencia de un componente inusual, o ante la ausencia de un constituyente típico, el rechazo de un aceite esencial.

Espectrometría de masas.

La identificación de los componentes de los aceites se realiza con base en sus espectros de masas (EM) obtenidos por impacto electrónico y por ionización química. En un espectro de masas, se observa, en abscisas, la relación masa/carga (m/z) de los iones formados, al fragmentarse la molécula, y en las ordenadas, la intensidad (abundancia) de cada uno de los iones formados. Dado que la carga suele ser unitaria, m/z corresponde, generalmente, a la masa de los fragmentos iónicos. Las masas de los iones formados a partir de los terpenos principales constituyentes de los aceites esenciales son bastante parecidas. Sin embargo, difieren en su abundancia, lo cual permite su identificación. (Albarracín, 2003, p. 26).

Características espectroscópicas.

Se utilizan principalmente la espectroscopia ultravioleta – visible y la infrarroja. En la infrarroja, el perfil del espectro IR de la esencia puede emplearse como parámetro de calidad en relación a un estándar establecido (Albarracín, 2003, p. 27).

Combinación de técnicas y otros recursos

La identificación de un componente de un aceite esencial mediante una sola técnica de las descritas no suele considerarse suficientemente fiable. Normalmente, se combinan varias de ellas. Para que una sustancia se considere correctamente identificada deben haberse obtenido resultados coherentes con esa identificación en un mínimo de dos técnicas,

empleando, en el caso de la cromatografía de gases, dos columnas de distinta polaridad. La combinación más utilizada es el análisis del aceite esencial por CG para determinación de los índices de retención y por CG-EM para el registro de los espectros de masas (Albarracín, 2003, p. 27).

Propiedades medicinales del aceite esencial de Marañón.

Hay varios trabajos que refieren al uso popular de esa planta como medicinal y para curaciones en diversas poblaciones desde el inicio del siglo XIX hasta la actualidad (Cuéllar 2016, López 2010 y Perone 2012). Otros estudios farmacológicos han descrito sus propiedades terapéuticas como antidiabética, antihemorrágica, antiinflamatoria, entre otras (Almeida et al 2012, Bonilla y Pazos 2010). La planta también es citada por Gutiérrez (2013), quien revela que diversas poblaciones hacen uso popular de la planta para curación de diarreas y para alimentación (Gutiérrez, 2013, p. 37).

La autora Cuéllar (2016) describe al marañón como un alimento rico en proteínas, fibra y ácidos grasos insaturados (94%). Es energético, fortifica la memoria y disminuye el nerviosismo. Los frutos de color amarillo y rojo son conocidos como “fruta de la memoria” porque fortalecen el cerebro. (p.98).

Contienen grandes cantidades de vitaminas A, B1, B2 y E, calcio, ácido fólico y mucho magnesio. El pericardio o cáscara del fruto contiene cardol y ácido anacárdico. El cardol es un bálsamo oleoso, que en contacto con el aire se ennegrece muy rápido, es tóxico, causa ampollas e irritaciones de la piel. La semilla contiene aceite y fécula, el aceite es de color amarillento y ejerce una acción rubefaciente y urticante (Cuéllar, 2016, pp. 98-99).

La cocción de su corteza y hojas han sido usadas por diversas culturas para el tratamiento de cólicos estomacales, inflamaciones, insomnio, neuralgias, diabetes paludismo y hemorroides. La resina del marañón sirve para curar lesiones cutáneas y para el tratamiento del cáncer, Las semillas tostadas son muy nutritivas y contienen propiedades afrodisíacas (Cuéllar, 2016, pp. 98-99).

Seguidamente, se exponen algunas de las principales actividades terapéuticas del árbol de marañón (*Anacardium Occidentale*) que se conocen popularmente y que, posteriormente, serán analizadas científicamente por medios experimentales en la presente investigación. Se pretende demostrar la posible actividad terapéutica que se puede dar a la especie vegetal proveniente de Costa Rica de acuerdo a su fitoquímica.

Propiedades cicatrizantes

El *Anacardium Occidentale*, como se mencionó anteriormente, posee taninos, sustancias terapéuticas que ya habían sido descritas en el siglo XVIII por el monje Pío XII en sus trabajos botánicos, y en los últimos años han sido relacionadas con el potencial cicatrizante de la planta (Gutiérrez, 2013, p. 37).

Los taninos vegetales son compuestos fenólicos que poseen las propiedades de precipitar alcaloides y proteínas; además, tienen reacciones características de los fenoles (Cúellar, 2016, pp. 15-21). Plantas ricas en taninos han sido prescritas en la fitoterapia para tratamiento de heridas, quemaduras, problemas renales, gástricos e inflamatorios, así como para el tratamiento de diarreas e hipertensión arterial (Perone, 2012, pp. 42-43).

Las acciones farmacológicas de los polifenoles (taninos) parecen derivar de su capacidad de formar complejos con proteínas y polisacáridos; de esta forma contribuyen a la curación de heridas y quemaduras, formando una película asociada a las proteínas o a los polisacáridos, y por debajo de esta asociación ocurre el proceso natural de cura. La afinidad de estas sustancias desempeña una importante acción en la inhibición de las enzimas, impidiendo de esta manera, el crecimiento de algunos microorganismos (Perone, 2012, pp. 42-43).

Propiedades Antimicrobianas

Numerosos estudios han comprobado también las actividades bactericidas del extracto del marañón frente a las bacterias *Gram negativas Proteus morgani*, *P. Aeruginosa*, *E. Coli* y *Salmonella thipy*, sobre las cuales el extracto presentó actividad bactericida en altas concentraciones (Almeida et al, 2012, pp.5-11). Se encontró la presencia de cumarinas y otros metabolitos como saponinas, flavonoides, azúcares reductores, aminoácidos libres, triterpenos y taninos, los cuales posiblemente sean los responsables de tal actividad.

Otras actividades biológicas de los ácidos anacárdicos presentes en el aceite de marañón son descritos en la literatura como actividad anti-larvaria (Perone, 2012, p.8), anti-fúngica (Almeida et al, 2012, p. 11), actividad zoosporicidal contra *Aphanomyces cochlioides* (Perone, 2012, p.20) e insecticida (Cúellar, 2016, p. 98), actividades que, en conjunto, motivan a la presente investigación.

El autor López (2010) cita “los ácidos anacárdicos son líquidos viscosos, amarillos, miscibles en parte en alcohol y éter, pero casi inmiscibles en agua”. Químicamente, los ácidos anacárdicos son una mezcla de varios compuestos orgánicos estrechamente relacionados. Cada compuesto consta de un ácido salicílico sustituido por una cadena de alquilo que tiene 15 átomos de carbono. El grupo alquilo puede ser saturado o insaturado. La mezcla exacta depende de la especie de la planta, la cadena lateral generalmente es de 15 carbonos, con o sin insaturaciones, además, la cadena que presenta 3 insaturaciones resulta ser letal para las bacterias *Gram positivas* (López, 2010, p.10).

Conjuntamente, otros autores recalcan que varias especies producen ácidos anacárdicos, y muchos estudios reportan que es efectivo en contra de plagas como ácaros y pulgones. (Perone 2012, López 2010 y Cúellar 2016). Es decir, los ácidos anacárdicos en general presentan actividades antibióticas y antioxidantes, sin embargo, estudios recientes indican que este tipo de compuestos fenólicos provenientes del marañón también presentan un efecto en la formación de biopelículas de bacterias *Gram positivas* (López, 2010, p.11).

Propiedades Antioxidantes

Perone (2012) mencionó en su estudio la presencia de las siguientes sustancias en la composición de la especie *Occidentale*: cardol (acción antiinflamatoria), tanino (acción antihemorrágica), ácido anacárdico (acción antigripal), aminoácidos (acción cicatrizante), y almidón (acción nutritiva) (Perone, 2012, p. 16), por lo tanto, realizar un estudio fitoquímico, puede brindar información acerca de los beneficios reales de dicha planta y la posible respuesta a una determinada patología.

Así mismo, el autor anteriormente citado aisló ácido anacárdico, cardol y cardanol del pedúnculo, almendra y del líquido de la cáscara de la semilla del *Anacardium Occidentale*. Como resultado encontró que los ácidos anacárdicos poseen gran actividad antioxidativa, relacionada principalmente, con la inhibición de la generación de los superóxidos y la actividad inhibidora de la xantina oxidasa. (Perone, 2012, p. 17).

Debido al interés de demostrar la actividad antioxidante de la especie vegetal *Anacardium Occidentale* de Costa Rica se expondrán ciertos conceptos y teorías sobre los beneficios que aportan estos compuestos en la salud humana.

Antioxidantes en la salud humana

A continuación, se enriquecerá el conocimiento actual sobre los antioxidantes y su papel en la salud humana. La información brindada será recopilada de los siguientes autores; Coronado, Salvador, Gutiérrez, Vázquez y Rodilla (2015).

En la actualidad, causa impacto entre los consumidores el denominado “mercado de la salud”, este está compuesto por los alimentos con antioxidantes, considerados alimentos funcionales, y que, entre otras definiciones, se pueden presentar como productos alimenticios (animal o vegetal) naturales o industrializados, que forman parte de la dieta diaria y que, además de aportar nutrientes, tienen otros componentes bioactivos. Pueden contener ingredientes adicionales como fibra, vitaminas, minerales con el fin de hacerlos más nutritivos (Drago, López y Saínez, 2007, pp. 58-68).

Antioxidantes

Son moléculas con capacidad para retardar o prevenir la oxidación de otras células. Se entiende por oxidación a la reacción química en la que hay transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Este tipo de reacciones pueden producir radicales libres que dañan las células (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 206). Y según Sánchez (2013), “Los antioxidantes son sustancias que cuando están presentes, retardan o inhiben la oxidación de sustratos susceptibles al ataque de las especies reactivas del oxígeno” (p.12).

Proceso de oxidación y los agentes promotores

Asociado a la función antioxidante se considera el proceso de óxido-reducción que remite a dos momentos básicos: a) oxidación que implica pérdida de electrones de hidrógeno con la ganancia de oxígeno en la molécula, b) reducción que significa ganancia de electrones de hidrógeno con la pérdida de oxígeno. Así, el oxidante se reduce al reaccionar con aquella molécula que oxida (Drago, López y Saínez, 2007, pp. 58-68). Este proceso es cotidiano en el organismo humano y representa el conocido par óxido-reductor o balance redóx.

Resulta importante aclarar que a veces el término oxidación sólo se remite a ciertas sustancias aisladas, pero no hay una comprensión específica de que esta denominación se refiere a todos los procesos celulares, internos que conllevan la aparición de enfermedades (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 206). Por lo tanto, no sólo hay que valorar los

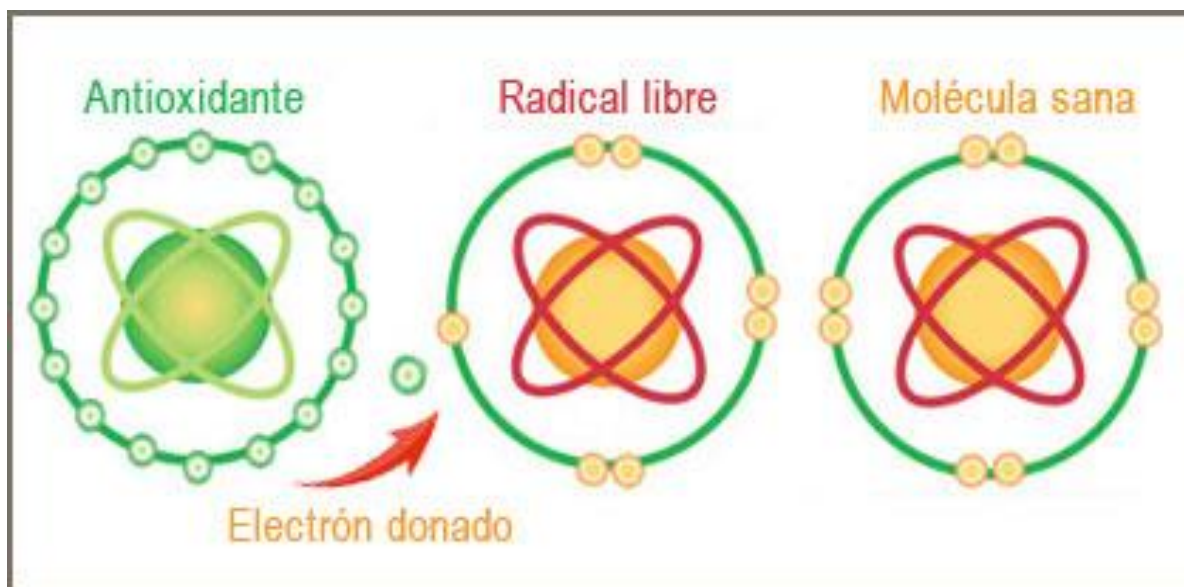
mecanismos de defensa del organismo, sino también las especies involucradas, tales como los radicales libres que se analizan en el apartado siguiente.

Radicales libres, producción y acción

Un radical libre es aquella figura química que tiene en su estructura uno o más electrones no apareados. Es altamente reactiva y clave para formar otros radicales libres en cadena, además, por la vida media de estos, que es de microsegundos, ocurre una rápida propagación con moléculas aledañas y mayor daño potencial. Por lo que, un radical libre puede afectar un millón de moléculas durante la reacción en cadena. Los compuestos en cuestión forman parte de las llamadas especies reactivas del oxígeno ERO o ROS (Zamora, 2015, pp. 89-101).

Los radicales libres se liberan durante el metabolismo humano, y también se producen por contaminantes ambientales, (atmosféricos, acuáticos, de suelos), radiaciones (ultravioleta, gamma, hertziana), entre otros. Se pueden relacionar con el consumo o uso de tóxicos como el alcohol, tabaco y drogas, o debido a una alimentación no adecuada, exposición a fertilizantes o pesticidas. Se incluye, además el metabolismo de algunos químicos y un elevado estrés físico o psíquico (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 206-207).

Figura 8. Interacción entre radicales libres y oxígeno.



Fuente: Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 207.

Estrés oxidativo

Según los autores antes mencionados, el estrés oxidativo es un término asociado a las células y a la acción de un radical libre que afecta a dichas células. En condiciones normales se da un equilibrio entre la producción de radicales libres u otras especies reactivas con los mecanismos antioxidantes (exógeno y endógeno). Este equilibrio permite que la toxicidad por oxidación sea menor y con menos daño celular. Cuando se rompe el equilibrio, este se podrá asociar con un déficit en el sistema antioxidante o por la proliferación descontrolada de los radicales libres (Zorrilla, 2012, pp. 9-16).

Control biológico de los procesos de óxido-reducción

Existen dos vías fundamentales para proteger al organismo de los radicales libres: enzimáticos y no enzimáticos (endógenos y exógenos), y su interacción puede ser intracelular o extracelular (Zamora, 2015, pp. 90 - 101). La vía endógena requiere apoyo externo y por ello se recomiendan los antioxidantes exógenos, cuyo papel es relevante dado que son los que pueden formar parte de la dieta diaria. A continuación, se analiza una serie de fenómenos biológicos naturales asociados con la salud humana y con los antioxidantes.

Perspectiva de la relación antioxidantes-envejecimiento humano

Las teorías del envejecimiento señalan, por una parte, la programación genética con una respuesta predeterminada de cada organismo, y por otra, un proceso no genético que incluye a los radicales libres o el estrés oxidativo (Céspedes, Rodríguez, Llópiz y Cruz, 2010, pp. 186-90). Es importante mencionar que la vejez no afecta por igual a todos los individuos y a veces la edad cronológica y la biológica no coinciden, de ahí la necesidad de estudios con diversas poblaciones.

Desde 1956, Denham Harman de la Universidad de Nebraska planteó la relación entre radicales libres y envejecimiento. Se señaló que la expectativa de vida humana podría aumentar al disminuir los efectos del proceso oxidativo. Así, las especies reactivas del oxígeno, entre otros, los radicales libres, pueden alterar la membrana interna o el ADN mitocondrial lo que conlleva más producción de ERO, en consecuencia, más daño y aumento del estrés oxidativo, al producirse más oxidantes y perderse el equilibrio requerido por la célula (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, pp. 207-208).

Los autores citados antes citados señalan que el genoma mitocondrial es susceptible al ataque de los radicales libres que la misma mitocondria produce. En este aspecto, la participación mitocondrial y la presencia de estrés oxidativo podrían asociarse con la patogenia que conduce a la destrucción celular propia del envejecimiento (Céspedes, Rodríguez, Llopiz y Cruz, 2010, pp. 186-90).

Durante el envejecimiento también disminuye la protección antioxidante y puede haber más ataque a las moléculas blanco. Sin embargo, algunas moléculas como carbohidratos, lípidos o proteínas pueden tener un efecto particular. “La longevidad aumenta en concordancia con los niveles de antioxidantes en la dieta y con una reducción calórica lo que puede propiciar una menor degradación de las mitocondrias, del metabolismo celular y del consumo de oxígeno” (Zorrilla, 2012, pp. 85-90).

También una situación de constante estrés oxidativo durante la vejez puede alterar el sistema inmune. Se ha observado una disminución de antioxidantes, como el glutatión, durante el proceso normal de envejecimiento, sobre todo en la sangre. Estos cambios degenerativos del sistema inmune pueden conducir a la formación de cataratas, inicios de Alzheimer, Parkinson o problemas cardiovasculares. (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, pp. 207-208).

Relación antioxidantes-ejercicio físico y salud human

Se reconoce que la práctica frecuente y sistemática de ejercicio físico es recomendable para la salud y el aumento de las defensas antioxidantes, entre otros efectos positivos. Sin embargo, no escapa al análisis que durante el ejercicio aumenta la producción de radicales libres que afectan el tejido muscular, el hígado, la sangre u otros (González y García, 2012, pp. 88-97).

Es posible que el ejercicio físico aislado aumente el daño oxidativo y en contraposición el entrenamiento regular y sistemático reduzca estos efectos, pero sin someterse el organismo a la práctica excesiva y al sobre entrenamiento, ya que ambos conducen a un estado de estrés oxidativo. Algunos estudios indican que al incluir en la dieta de atletas entrenados alimentos con antioxidantes, se redujo el estrés oxidativo. Además, la producción de ácido láctico durante el ejercicio puede convertir el superóxido, radical poco dañino, a un hidroxilo, el cual es altamente lesivo para la célula (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 208).

Frente a este argumento, los autores mencionados anteriormente se cuestionan si el sistema de defensa de antioxidantes endógenos que tiene el organismo puede enfrentar las especies reactivas del oxígeno de manera eficiente o si, como apoyo, siempre deben recomendarse antioxidantes dietarios durante el entrenamiento físico. Al respecto se sugieren más estudios longitudinales con marcadores distintos y diferentes periodos de actividad física (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 208).

Otros aportes sobre la relación antioxidante-salud

De acuerdo con Núñez (2011) se han estudiado alrededor de 100 enfermedades y su relación con el desbalance del sistema oxidativo, entre ellas están las: cardiovasculares, el cáncer, y enfermedades gástricas, respiratorias, neurológicas y del sistema endocrino. Señalando, que las de tipo cardiovascular tienen amplia evidencia científica (Núñez, 2011, pp. 66-72).

Cardiovasculares

La oxidación de las LDL, lipoproteínas de baja densidad, parece representar una importancia en el desarrollo de la aterosclerosis, en tanto pueden ser citotóxicas de las células endoteliales y bajar la motilidad del tejido macrofágico. Se plantea que la vitamina E, que es transportada por las LDL colesterol, puede reducir los procesos de oxidación. Otros antioxidantes con acción de vasodilatadores y vasoprotectores, además, de antitrombóticos, antilipémicos o antiescleróticos son los polifenoles, cuya fuente y función se analizará más adelante (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 208).

Problemas metabólicos: Diabetes

En el caso de la diabetes los posibles mecanismos de los antioxidantes se relacionan con la inhibición en el intestino de la digestión de los carbohidratos, en particular la glucosa, de la cual también se modula su liberación por el hígado. Podrían también estimular la secreción de insulina en el páncreas y activar los receptores de la misma, y de alguna manera activar la recaptura de glucosa en los tejidos blanco para la hormona (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, pp. 208-209).

Cáncer

Respecto al cáncer se señala que los radicales libres afectan el ADN (ácido desoxirribonucleico), en donde pueden ocurrir mutaciones que en su momento se transforman

en células cancerosas. Además, el autor Zamora (2015) menciona la relación entre cáncer gástrico, derivado de la presencia de *Helicobacter pylori*, bacteria que causa gastritis crónica y que puede conducir a lesiones precancerosas, con el estrés oxidativo. (Zamora, 2015, pp. 89-101).

En el caso del cáncer de mama aumenta la evidencia de que el riesgo de esta enfermedad asociada con los genotipos humanos, relacionados al estrés oxidativo, pueden modificarse con el consumo de frutas y vegetales. (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, pp. 208-209).

Enfermedades neurodegenerativas:

Es posible que las enfermedades neurodegenerativas sean de las más estudiadas en el contexto del estrés oxidativo. Se ha advertido el aumento del deterioro de proteínas específicas por la presencia elevada de las especies reactivas del oxígeno. De igual manera, en algunas zonas del cerebro ocurre la disminución de algunos metales de transición ($Fe^{+2} \rightarrow Fe^{+3}$) propias del efecto oxidativo, lo cual agrava la enfermedad. (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 208).

Del mismo modo, Delgado, Betanzos y Sumaya (2010) describen la relación de los antioxidantes con la artritis reumatoide, anemia, esclerosis múltiple, arrugas prematuras, resequedad de la piel, dermatitis y asma, entre otros padecimientos que en la actualidad abordan las investigaciones en curso. (Delgado, Betanzos y Sumaya 2010, pp.10-15).

Clasificación de los antioxidantes

Los antioxidantes se clasifican en endógenos, fabricados por la propia célula, y exógenos, que ingresan en el organismo a través de la dieta. Se muestran seguidamente:

Tabla 8. Clasificación de los antioxidantes.

Endógenos	Exógenos	Cofactores
Vitamina E	Glutación	Cobre
Vitamina C	Coenzima Q	Zinc
Betacaroteno	Ácido tioctico	Manganeso
Flavonoides	Enzima	Hiero

Fuente: Criado y Moya, 2011, pp. 11.

Fuentes endógenas de antioxidantes

Como se indicó anteriormente, las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas, el sistema enzimático y el sistema no enzimático. El sistema oxidante enzimático o endógeno está basado en enzimas que se encuentran en el organismo, las cuales en su mayoría utilizan elementos trazas como cofactores para sus reacciones; de este modo, el sistema protege a los tejidos de los efectos de los radicales libres. (Sánchez, 2013, p.10). Entre ellas se encuentran:

Superoxidodismutasa (SOD)

Es una enzima que cataliza la conversión de superóxido en peróxido de hidrógeno. Está presente en todas las células, con una concentración diferente en los distintos tejidos proporcional a la actividad metabólica de cada célula (Criado y Moya, 2011, pp. 11-13).

Función.

Protección contra anión superóxido.

Catalasa

Según Criado y Moya (2011), “La catalasa es una enzima que cataliza la conversión de peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua” (pp. 11-13). Además, se localiza a nivel celular en las mitocondrias con doble actividad (catalasa y peroxidasa), la cual cataliza la reacción de reducción del peróxido de hidrógeno y también se encuentra en el citosol en los eritrocitos (Sánchez, 2013, pp.10-12).

Glutatión

El glutatión peroxidasa (GP) es una enzima selenio dependiente, que cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a agua y alcohol, utilizando como agente reductor el glutatión reducido (Criado y Moya, 2011, pp. 11-13). Es decir, requiere como sustrato esencial al glutatión, el cual es capaz de conjugarse con compuestos tóxicos, solubilizar y facilitar su excreción biliar. Se localiza en citosol (eritrocitos) y lisosomas (Sánchez, 2013, pp.10-12).

Fuentes exógenas de antioxidantes

En cuanto al sistema no enzimático o exógeno, está integrado principalmente por sustancias como las vitaminas, que funcionan donando o aceptando electrones en las reacciones de óxido-reducción, carotenoides y minerales, que regulan la actividad de las enzimas antioxidantes actuando como cofactores. (Criado y Moya, 2011, pp. 11-13). Dichas sustancias son incorporadas a través de la dieta y se mencionan a continuación:

Vitamina E

La vitamina E es un conjunto de compuestos fenólicos conocidos como tocoferoles y tocotrienoles. El alfa tocoferol es el más común, y biológicamente, el que tiene mayor acción vitamínica. Es un antioxidante lipofílico que se localiza en las membranas celulares. Se considera el más importante protector de las moléculas lipídicas, ya que su acción consiste en proteger de la peroxidación a los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana celular y también en inhibir la peroxidación de las LDL (Criado y Moya, 2011, pp. 11-13).

Funciones.

Neutralizar el oxígeno singlete, capturar radicales libres hidroxilos, capturar oxígeno, neutralizar peróxidos. (Sánchez, 2013, pp.15-16).

Tabla 9. Contenido aproximado de Vitamina E en algunos alimentos.

Alimento	Vitamina E (mg/100g)
Aceite de Germen de Trigo	>50
Aceite de girasol, aceite de maíz, margarina, mayonesa, frutos secos	50-20
Aceite de canola, aceite de oliva, germen de trigo	20-10
Repollo, brócoli, tomate	<10

Fuente: Sánchez, 2013, pp.15.

Vitamina C

La vitamina C o ácido ascórbico es un importante antioxidante hidrosoluble que actúa potenciando el efecto de otros antioxidantes, tal como sucede con la vitamina E y el selenio. No se sintetiza en el organismo, por lo que debe ser aportada por la dieta. Algunos estudios

muestran una clara participación de la vitamina C como antioxidante sobre el endotelio vascular evitando la oxidación del óxido nítrico, potenciando su actividad y aumentando su síntesis. Otros estudios sugieren una disminución de la peroxidación lipídica en presencia de vitamina C. Por ambas razones parece demostrado su papel beneficioso en la aparición y progresión de la aterosclerosis (Criado y Moya, 2011, pp. 11-13).

Funciones.

Neutralizar el oxígeno singlete, capturar radicales libres hidroxilos, capturar oxígeno, regenerar la forma oxidada de la Vitamina E y antioxidante sobre el endotelio vascular, evitando la oxidación del óxido nítrico. (Sánchez, 2013, pp.15-16).

Tabla 10. Contenido aproximado de ácido ascórbico en algunos alimentos.

Alimento	Vitamina C (mg/100g)
Pimiento verde crudo, kiwi, berro	100-130
Brócoli, fresas, coliflor, naranja.	50-100
Repollo, pomelo, espinaca, tomate	20-50
Papas, frutas no cítricas, zanahoria, apio,	<20

Fuente: Sánchez, 2013, p. 16.

Betacaroteno

El Betacaroteno es precursor de la vitamina. Constituye los pigmentos de las plantas de color amarillo, naranja y rojo, y una vez ingeridos se transforman en el hígado y en el intestino delgado en vitamina A. Se ha demostrado efectividad en procesos inflamatorios y envejecimiento. Su deficiencia puede provocar queratosis, ceguera nocturna, sequedad ocular y mancha de Bitot (depósitos blancos de epitelio queratinizado en la esclerótica), así como disminución de la resistencia a infecciones (Criado y Moya, 2011, pp. 11-13).

Funciones.

Neutralizar el oxígeno singlete, capturar las ERO producidas en la piel por efecto de la radiación UV, regenerar la vitamina C una vez que ha reaccionado con un RL, inhibir la peroxidación lipídica de las LDL y aumentar la cantidad de HDL. Por ambas acciones tendría un papel beneficioso actuando en la patogénesis de la aterosclerosis (Sánchez, 2013, p.15).

En la siguiente tabla, se muestra una serie de alimentos ricos en betacarotenos y la cuantificación que estos compuestos representan en cada alimento. Se puede observar mayores proporciones en alimentos como la espinaca y zanahoria.

Tabla 11. Contenido aproximado de Betacaroteno de algunos alimentos.

Alimento	Betacaroteno ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
Espinaca, hinojo, perejil, zanahoria, durazno	4000-9300
Remolacha, melón, ají rojo	2200-3600
Tomate crudo, apio, brócoli, jugo de tomate,	520-1300
Mandarina, ciruela pasa, ají amarillo, melón	100-500
Pepino fresco, manzana, naranja, uvas, kiwi	<100

Fuente: Sánchez, 2013, p. 16.

Oligoelementos

Además de las vitaminas, estos elementos como el cobre, zinc, manganeso, selenio y hierro son necesarios incorporarlos al organismo a través de la dieta, porque conforman la parte activa del núcleo de las enzimas antioxidantes. Conjuntamente, los autores mencionados indican actúan como cofactores de las enzimas antioxidantes y también son capaces de ejercer funciones antioxidantes de manera independiente. (Criado y Moya, 2011, p. 14). A continuación, se hace mención de algunos de ellos, citados por los autores Sánchez, Criado y Moya.

Zinc.

Favorece la formación de nuevas proteínas (renovación celular), participa en la lucha contra los radicales libres y en la síntesis de enzimas, interviene en el sistema inmune o de defensa y favorece un buen estado de la piel: tonicidad y elasticidad de la piel, y las mucosas (Sánchez, 2013, p. 16). Se dice que la función del zinc en la regulación del estrés oxidativo se reconoció recientemente.

Mecanismo de acción.

Las NADPH oxidasas son un grupo de enzimas asociadas a la membrana plasmática que catalizan la producción de superóxido mediante el empleo de NADPH como electrón

donante. El zinc es un inhibidor de esta enzima. Se sabe que el zinc induce la producción de metalotioneína, que es muy rica en cisteína y es un excelente atrapador de radicales hidróxilo. (Criado y Moya, 2011, pp. 14-15).

Selenio.

Está relacionado con un menor riesgo de tumores de piel, hígado, colón y mama. Además, de estar vinculado al funcionamiento de glutatión peroxidasa selenio dependientes, el cual es una enzima antioxidante presente en el organismo (Sánchez, 2013, p. 19).

Mecanismo de acción.

El selenio aumenta la actividad de algunas enzimas antioxidantes, entre ellas el glutatión peroxidasa. Tiene un mecanismo de acción estrechamente relacionado con el de la vitamina E; de hecho, los síndromes relacionados con la deficiencia de vitamina E y selenio pueden tratarse con cualquiera de estos dos elementos (Criado y Moya, 2011, pp. 14-15).

Manganeso.

El manganeso forma parte de la estructura de la enzima superóxido dismutasa 2, protege contra la peroxidación lipídica, atrapa radicales hidróxilo y superóxido e induce la síntesis de metalotioneínas (Criado y Moya, 2011, pp. 15-16).

Mecanismo de acción.

Según Sánchez (2013), “El manganeso se compone de varias enzimas; Mn-superóxido dismutasa, que previene el daño tisular”. Esta enzima actúa oxidando las grasas y además activa otras enzimas situadas en la mitocondria de las células (Sánchez, 2013, p. 20).

Hierro y Cobre.

Tienen importantes propiedades antioxidantes, pero también pueden actuar como importante fuente de producción de radicales libres, ya que en su forma reducida (Fe^{2+} y Cu^+) son muy reactivos (a diferencia de la forma oxidada Fe^{3+} y Cu^{2+}), descomponiendo el peróxido de hidrógeno en radical hidróxilo (Criado y Moya, 2011, pp. 15-16).

Mecanismo de acción.

El cobre actúa como antioxidante protegiendo las células de los efectos tóxicos de los radicales libres y facilita la fijación del calcio y fósforo. Además, al participar en la formación

de otras enzimas, proteínas y neurotransmisores cerebrales permite la renovación celular y estimula el sistema nervioso. A su vez, el hierro se encuentra presente en enzimas en forma no hemínica, necesaria para la actividad de otras enzimas, indispensable para la producción de energía en forma de ATP (Sánchez, 2013, p. 20).

Otras fuentes exógenas de antioxidantes

Entre los antioxidantes hay varias familias de principios activos como los polifenoles y los fitoestrógenos. Entre los primeros se encuentran los flavonoides y los taninos, ampliamente estudiados.

Entre los flavonoides, Coronado, Radilla, Vázquez y Vega (2015), señalan como ejemplo, las antocianidinas (rojo-azulado de las fresas), catequinas (té verde y negro), citroflavonoides (naranja, que da sabor amargo a la naranja, limón, toronja), isoflavonoides (genisteína y daidzeína presentes en soya y sus derivados), protoantocianidinas (semillas de uva y vino tinto) (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 209).

Las dosis normales de ingesta de flavonoides pueden ser de 20-26 mg/día contenidos en frutas y verduras (manzanas, naranjas, guayabas, uvas). Sin embargo, hay que alertar sobre el consumo excesivo que pueden representar fórmulas comerciales de antioxidantes y mezclas herbales que se producen en gramos y no en miligramos, como lo recomendado, y conducirían a problemas de toxicidad (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 209).

Otro tipo de antioxidantes son los taninos (polifenoles) presentes en el vino, con su característica de astringencia. No sólo son útiles a la industria alimentaria, sino también en la de cosméticos (Zamora, 2015, pp. 89-101).

Respecto a los fitoestrógenos (isoflavonas lignanos, flavonoides) Drago (2007) explica que se encuentran particularmente en las proteínas de la soya o sus derivados. Su uso más importante se asocia con la terapia de reemplazo hormonal para mujeres con síntomas de menopausia y osteoporosis durante el climaterio. (Drago 2007, pp. 58-68). Los compuestos relevantes son la genisteína y daidzeína que también se biosintetizan en abundancia en la cascarilla de semillas de linaza y centeno.

Análisis de antioxidantes

En la actualidad existe el amplio reconocimiento científico de evidencia que un mayor consumo de alimentos ricos en antioxidantes redundará en claros beneficios para la salud de la

población, ha llevado a que los consumidores se interesen, cada vez más, en conocer cuál es efectivamente la riqueza antioxidante de los productos que el mercado les ofrece (Núñez, 2011, pp. 66-72). Conociendo cuáles son los tipos de antioxidantes que más predominan en un determinado alimento es posible medir en términos generales lo siguiente.

Contenido específico

Es decir, el contenido específico de aquellos antioxidantes que dicho alimento concentra en mayor cantidad, o la de aquellos, cuya presencia es más relevante para su distinción como fuente o aporte de dicho compuesto; por ejemplo, el contenido de ácido ascórbico, el de alfa-tocoferol, el de licopeno, o el de algún flavonoide en particular (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 208).

Contenido total

Totalidad de un determinado tipo de antioxidante, por ejemplo, el contenido total de polifenoles o el contenido total de flavonoides presentes en un alimento (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 208).

Actividad antioxidante del alimento.

A diferencia de la sola medición del contenido de un antioxidante determinado, la medición de la actividad antioxidante “de un alimento permite cuantificar la capacidad que tendrían todos los compuestos antioxidantes presentes en éste (vitaminas + carotenoides + polifenoles + otros que no responden a las categorías anteriores) para actuar simultáneamente como una mezcla de compuestos antioxidantes (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 209).

La mayor parte de los ensayos empleados para la determinación de la actividad antioxidante de un alimento se basan en la medición de: la capacidad que tienen los compuestos antioxidantes para reaccionar con un radical libre determinado, y el potencial que tales compuestos tendrían para reducir un complejo formado entre iones $Fe_{(III)}$ y el reactivo TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 209).

Entre aquellos ensayos que se basan en la medición de la capacidad de los antioxidantes para esta reacción, cabe destacarmlos siguientes:

Ensayo ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity, o Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno)

Ensayo TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, o Capacidad Antioxidante como Equivalentes Trolox)

Ensayo DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil).

Determinación de actividad antioxidante, ensayo sobre capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

Como se mencionó existen varios métodos utilizados para la medición antioxidante de una sustancia. Sin embargo, los autores citados indican que, para caracterizar la actividad antioxidante de un alimento, el ensayo ORAC destaca entre todos los ensayos disponibles por su alta sensibilidad, precisión y reproducibilidad (Álvarez, Carvalho, Sierra, Lara, Cardona, Londoño, 2012, pp. 774.781).

El método ORAC consiste en medir la disminución en la fluorescencia de una proteína como resultado de la pérdida de su conformación cuando sufre daño oxidativo causado por una fuente de radical peróxido (ROO^\cdot). El método mide la capacidad de los antioxidantes en la muestra para proteger la proteína del daño oxidativo. La proteína usada es la fluoresceína (Delgado, Betanzos y Sumaya, 2010, pp. 774.781).

Este procedimiento es utilizado para determinar la capacidad antioxidante de cualquier extracto vegetal, así como también muestras de alimentos. Además, permite obtener la cuantificación de todos los antioxidantes presentes en una muestra (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 208).

En el ensayo ORAC, los radicales peroxilo, generados a partir del AAPH o ABAP ([2,2'-azobis (2-amidinopropano)]), reaccionan con fluoresceína como sustrato. Como resultado de tal reacción, la fluorescencia de este último compuesto decrece a través del tiempo, configurando un área bajo la curva (fluorescencia versus tiempo). Cuando dicha reacción tiene lugar en presencia de compuestos antioxidantes, el área bajo la curva se incrementa en forma lineal y proporcional a la concentración de antioxidantes (Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), 2017).

Para actuar como tal, los antioxidantes deben donar, ya sea, un electrón, o un átomo de hidrógeno (HAT) a los mismos radicales libres que se pretende estabilizar. El ensayo mide la capacidad que tienen todos los antioxidantes presentes en un alimento (o muestra de este) para donar átomos de hidrógeno a los radicales peroxilo. Por ende, el método ORAC cuantifica la

capacidad que tendría un alimento para actuar como antioxidante a través del mecanismo HAT (Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), 2017).

El ensayo comprende la medición del aporte que hacen a la actividad antioxidante tanto los polifenoles como aquellos compuestos de naturaleza no-polifenólica presentes en un alimento dado, y, por tanto permite comparar la actividad antioxidante, valor ORAC, de alimentos que no necesariamente tienen polifenoles como sus principales componentes con aquellos que si lo tienen. Por ejemplo, es posible comparar el valor ORAC de un tomate (rico en licopeno, pero pobre en polifenoles) con el de una manzana (que es rica en polifenoles, pero no contiene licopeno).

Expresión del valor ORAC en una muestra

El valor ORAC se expresa como micromoles de equivalentes Trolox®/100 g de muestra. El Trolox es un análogo de la vitamina E que, por su fácil solubilidad en agua es empleado como estándar de comparación. (Delgado, Betanzos y Sumaya, 2010, pp. 774.781).

Dado que el método ORAC permite comparar alimentos de naturaleza muy diversa en cuanto a su riqueza antioxidante, el ensayo ORAC representa en la actualidad la forma más empleada de evaluar la actividad antioxidante de alimentos. Como tal, el valor ORAC constituye el índice más reconocido al momento de definir el potencial aporte que podría suponer el consumo de un alimento con capacidad antioxidante para el organismo. (Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), 2017).

Si bien, la confianza que se tiene en torno a los valores de actividad antioxidante generados a través de dicho método, es resultado, en gran medida, de la alta sensibilidad, precisión y reproducibilidad, es claro que para asegurar tales características el ensayo debe ser ejecutado por un laboratorio que esté dotado no solo de una instrumentación adecuada que permita su automatización, sino que además, vele por el cumplimiento del protocolo analítico estandarizado del método. (Coronado, Radilla, Vázquez y Vega, 2015, p. 208).

Análisis del proximal químico en alimentos funcionales

Bonilla y Pazos (2010) describen la química y el análisis de los alimentos como disciplinas amplias que se basan en los principios de la fisicoquímica, química orgánica, biología y química analítica (p. 101). Los avances en estas ciencias, realizados en los siglos XIX y XX han tenido un efecto importante en la comprensión de muchos aspectos de la ciencia y tecnología de alimentos, y han sido decisivos en el mejoramiento de la cantidad, calidad y disponibilidad del suministro de productos alimenticios a nivel mundial.

El análisis de alimentos es la disciplina que se ocupa del desarrollo, uso y estudio de los procedimientos analíticos para evaluar las características de los mismos y de sus componentes (Álvarez y Bagué, 2012, p.17). Esta información es crítica para el entendimiento de los factores que determinan las propiedades de estos, así como la habilidad para producirlos, de manera que sean consistentemente seguros, nutritivos y deseables para el consumidor.

Se conoce un número considerable de técnicas analíticas para determinar una propiedad particular del alimento. Cuéllar, (2016) señala las determinaciones que se realizan más frecuentemente para conocer su composición, entre ellas, se incluyen la determinación de humedad, cenizas, extracto etéreo (grasa cruda), proteína total, fibra y carbohidratos asimilables, en un protocolo conocido como Análisis Proximal.

Seguidamente, se revisará los principios básicos de los procedimientos comúnmente empleados para el análisis de los alimentos y se nombrará las principales ventajas y desventajas. Se hace mención en la comprensión de los principios químicos y analíticos fundamentales en que se basan las relaciones entre la composición de ellos y algunas de sus propiedades funcionales y nutricionales.

Además, se introducen diversas técnicas de laboratorio que son comunes en la investigación básica en química y análisis de alimentos. Dichas técnicas y métodos serán empleadas para el análisis del valor nutricional del árbol de marañón. Los fundamentos de cada método se recopilaron en la Universidad de Costa Rica, (2017), Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA).

Extracto Etéreo

La determinación del extracto etéreo, se realiza para aquellos productos balanceados, forrajes y materias primas. El principio se basa en que las sustancias solubles en éter presentes

en el alimento, son extraídos cuantitativamente por el lavado sucesivo de dicho este con éter etílico anhidro (CINA, 2017). Dicho método además de extraer grasa, extrae pigmentos vegetales, aceites, ceras y vitaminas liposolubles. Los métodos más utilizados se mencionan a continuación.

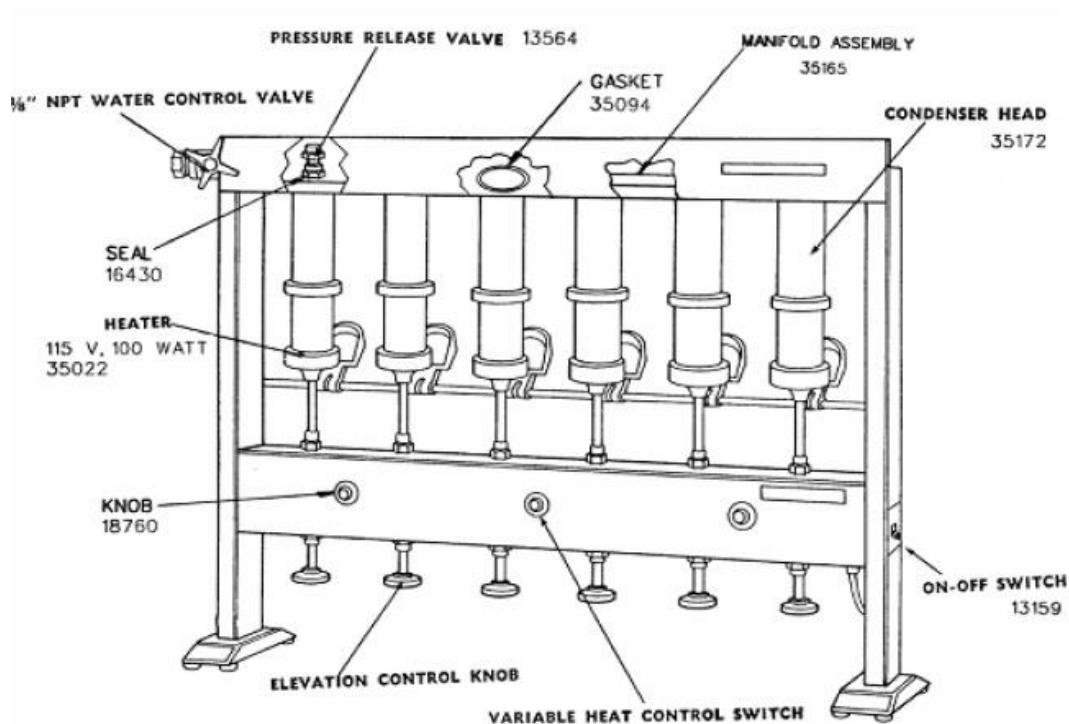
Método de Soxhlet.

Es una extracción semicontinua con un disolvente orgánico. En este método el disolvente se calienta, se volatiliza y condensa goteando sobre la muestra, la cual queda sumergida en el disolvente. Posteriormente, éste es sifoneado al matraz de calentamiento para empezar de nuevo el proceso. El contenido de grasa se cuantifica por diferencia de peso (Bonilla y Pazos, 2010, p.101).

Método de Goldfish.

Es una extracción continua con un disolvente orgánico. Éste se calienta y se volatiliza para posteriormente condensarse sobre la muestra. El disolvente gotea continuamente a través de la muestra para extraer la grasa. El contenido de grasa se cuantifica por diferencia de peso entre la muestra o la grasa removida (Bonilla y Pazos, 2010, p.101).

Figura 9. Equipo de extracción de *Goldfish*



Fuente: Bonilla y Pazos, 2010, p.101

Humedad

Este método se aplica al análisis de humedad (materia seca) en muestras de alimentos balanceados, materias primas, pmezclas y forrajes. Cuyo principio es el siguiente, el agua que contienen los alimentos diluyen el valor nutritivo de ellos por unidad de peso, pues, aunque sea indispensable no contiene ningún nutrimento y a su vez, aumenta el costo neto de los nutrientes (CINA, 2017).

Según los investigadores (Álvarez y Bagué, 2012, p.17) el nivel de humedad de los alimentos terminados y materias primas debe mantenerse por debajo del nivel crítico, ya que podría causar la pérdida de los mismos por la acción de microorganismos y descomposición.

El método más común para determinar la materia seca es el de la eliminación del agua libre por medio de aire caliente en circulación seguida por la medida de la masa del residuo. En este método de “secado al horno” la temperatura del aire y el tiempo de exposición de la muestra son regulados para lograr el máximo de secado y un mínimo de pérdidas de sustancias volátiles (CINA, 2017). Se menciona que este procedimiento es considerado un método indirecto para la determinación de la humedad.

Proteína Cruda por Combustión.

La determinación de proteína cruda por el método Dumas, aplica igualmente para forrajes, materia prima y alimentos terminados. El método Dumas por combustión junto con el método Kjeldahi son los métodos más empleados para la determinación de nitrógeno en los compuestos orgánicos. Sin embargo, el método Dumas se ha convertido en el método de referencia y es adecuado para el análisis de casi todos los tipos de compuestos orgánicos nitrogenados. El principio se basa en la digestión por combustión cuantitativa de la muestra aproximadamente a 960°C en exceso de oxígeno (CINA, 2017).

Energía Bruta

CINA (2017) definen la energía bruta como la energía que se obtendría al quemar un alimento en una bomba calorimétrica. Se mide en Kcal (kilocalorías) y se puede calcular a partir de la composición del alimento respecto a sus proporciones de lípidos (grasas), proteínas e hidratos de carbonos. Es decir, corresponde a la cantidad de calor liberado en kcal/gr de una determinada muestra cuando es completamente oxidada hasta dióxido de carbono CO₂, agua y otros gases.

Fibra detergente neutro - Fibra detergente ácido

La fibra en alimentos es una entidad nutricionalmente definida que representa la fracción de los alimentos, que es indigestible o se digiere lentamente. La disolución neutro detergente y la alfa amilasa termoestable son usadas para disolver con facilidad proteínas, lípidos, azúcares, almidones y pectinas en los alimentos, dejando un residuo fibroso, que es primordialmente pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina) y materia nitrogenada indigestible en productos de origen animal (CINA, 2017).

Nitrógeno detergente neutro - Nitrógeno detergente ácido

El método está basado en la solubilidad de un agente tensioactivo, por medio de una disolución neutra de sulfato lauril sódico. Con este método se obtiene una porción soluble que consiste en: carbohidratos solubles, pectinas incluidas, proteínas, lípidos, sustancias minerales solubles (CINA, 2017). Además, se menciona que el residuo final se encuentra compuesto por los componentes fibrosos de las células de la planta: hemicelulosa, celulosa, lignina, de sustancias minerales insolubles y algunas proteínas de las paredes de la célula.

Cenizas: Calcio y Fósforo

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas, normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes (CINA, 2017).

El valor principal de la determinación de cenizas y también de las cenizas solubles en agua, la alcalinidad de las cenizas y las cenizas insolubles en ácido es que supone un método sencillo para determinar la calidad de ciertos alimentos. Las cenizas de los alimentos deberán estar comprendidas entre ciertos valores, lo cual facilitará en parte su identificación (Álvarez y Bagué, 2012, p.17). En los vegetales predominan los derivados de potasio y en las cenizas animales los del sodio. Para determinar las cenizas en alimentos se utilizan diferentes técnicas entre ellas las mencionadas a continuación.

Método de cenizas totales.

La determinación en seco es el método más común para cuantificar la totalidad de minerales en alimentos y, se basa en la descomposición de la materia orgánica, quedando solamente materia inorgánica en la muestra, es eficiente ya que determina cenizas solubles en

agua, insolubles y solubles en medio ácido. En este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de la flama a una temperatura que fluctúa entre los 550 -600°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza (Álvarez y Bagué, 2012, p.17).

Determinación de cenizas en húmedo.

La determinación húmeda, según (Álvarez y Bagué, 2012, p.17), se basa en la descomposición de la materia orgánica en medio ácido, por lo que la materia inorgánica puede ser determinada por gravimetría de las sales que precipiten, y también por algún otro método analítico para las sales que permanezcan en disolución acuosa o ácida.

Lignina (Base seca).

Esta es un polímero sin una estructura definida que contiene alcoholes, ácidos fenólicos y compuestos no fenólicos (CINA, 2017). La lignina limita la digestión de la fibra y la proteína, su acción negativa consiste en reducir el acceso de las enzimas hidrolíticas a la fibra digestible y a la proteína ligada a la fibra. El método de estimación de esta sustancia más conocido es el de la digestión en ácido sulfúrico concentrado (72%). El valor de conocer su concentración en un alimento se debe a su relación aparente con la digestibilidad o la indigestibilidad de este. En general, a medida que avanza el estado fenológico de un forraje, aumenta la concentración de lignina.

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

En el presente apartado se describirán los mecanismos y herramientas utilizadas para el análisis de la problemática a investigar. Así mismo, se indicará el enfoque, diseño, la población que engloba el estudio y se especificarán las variables que éste comprende. El capítulo se elaborará con base en las teorías y objetivos planteados anteriormente.

Enfoque

La investigación actual tiene un enfoque cuantitativo, debido a que se pretende demostrar la certeza de la hipótesis formulada. Así mismo, la recolección de los datos se fundamenta en la medición, y se analizarán los resultados siguiendo métodos estadísticos, los cuales le proveerán certeza y un alto grado de confiabilidad al estudio. “El enfoque cuantitativo utiliza la recolección de datos para probar hipótesis con base en la medición numérica y el análisis estadístico, con el fin establecer pautas de comportamiento y probar teorías” (Hernández, Fernández, Baptista, 2014, p. 4).

La recolección de los datos se fundamenta en la medición. Esta medición se lleva al cabo al utilizar procedimientos estandarizados y aceptados por la comunidad científica. Para que una investigación sea creíble por otros investigadores, debe demostrarse que se siguieron tales procedimientos (Hernández, Fernández, Baptista, 2014, p. 4).

Diseño

El diseño de esta investigación se puede considerar de tipo experimental, ya que se determinarán una serie de variables y se emplearán estrategias metodológicas confiables para la obtención de información, de manera que se pueda asegurar que los resultados obtenidos sean válidos y objetivos. Hernández, Fernández y Baptista (2014), mencionan: “Cualquier factor que pueda tomar valores diferentes constituye una variable científica e influye en el resultado de una investigación experimental”.

Los autores citados definen los modelos de diseño experimental como modelos estadísticos clásicos cuyo, objetivo es averiguar si determinados factores influyen en una variable de interés y, si existe influencia de algún factor, cuantificar dicha influencia (Hernández, Fernández, Baptista, 2014, p.9).

Objetos de estudio

Para el presente estudio experimental se analizarán las propiedades terapéuticas y la composición fitoquímica del *Anacardium Occidentale* de Costa Rica, dicha especie vegetal es conocida popularmente como árbol de marañón. En Costa Rica se produce en toda la provincia de Guanacaste y Puntarenas, así como en los cantones de Esparza, Puriscal, Orotina y San Mateo. Este estudio se enfocará en los árboles provenientes de la zona de Miramar de Puntarenas.

A continuación, se mencionarán los criterios de inclusión y de exclusión utilizados para la elaboración de dicho estudio.

Criterios de inclusión

- Árboles correspondientes a la familia *Anacardiaceae* de la especie *Anacardium Occidentale* y procedentes de la región de Miramar, Puntarenas de Costa Rica.
- Las hojas frescas y secas del árbol.
- Frutos: semilla y pseudofruto (receptáculo) de la especie a estudiar.
- Las cáscaras de las semillas.
- Compuestos volátiles orgánicos de los aceites obtenidos a partir las hojas, frutos (semilla y pseudofruto) y las cáscaras de las semillas del *Anacardium Occidentale* (marañón).
- Ácidos grasos de los aceites obtenidos a partir de las hojas, frutos (semilla y pseudofruto) y las cáscaras de las semillas del *Anacardium Occidentale* (marañón).
- Compuestos tóxicos de los aceites obtenidos a partir de las hojas, frutos (semilla y pseudofruto) y las cáscaras de las semillas del *Anacardium Occidentale* (marañón).

Criterios de exclusión

- Árboles que no correspondan a la familia *Anacardiaceae*, ni de la especie *Anacardium Occidentale*.
- Árboles de *Anacardium Occidentale* (marañón) no procedentes de la región de Miramar, Puntarenas de Costa Rica.
- Las flores, tallos y la raíz del mencionado árbol.

Variables

Tabla 12. Variables de la Investigación

Variable	Definición Conceptual	Definición operacional e instrumental
Compuestos volátiles del <i>Anacardium Occidentale</i> (marañón).	Mezclas complejas de compuestos orgánicos que representan pequeñas cantidades respecto al peso total de la planta (Ortuño, 2006, p. 7).	Se caracterizan y cuantifican por medio de programas del equipo: cromatógrafo de gases. Se realizan tablas comparativas y gráficos, se determina el promedio en porcentaje de cada compuesto.
Perfil lipídico (ácidos grasos) de los aceites del <i>Anacardium Occidentale</i> (marañón).	Drago, López y Saíenz (2007), los ácidos grasos son los principales constituyentes de los triglicéridos que son los lípidos alimentarios a los que comúnmente denominamos grasa. (p. 63).	Se identifican y cuantifican por medio de programas del equipo: cromatógrafo de gases. Se realizan tablas comparativas y gráficos, se determina el promedio en porcentaje de cada compuesto.
Carotenoides presentes en el del <i>Anacardium Occidentale</i> (marañón).	Pigmentos de las plantas de color amarillo, naranja y rojo (Criado y Moya, 2011, pp. 11-13).	Prueba realizada en el CITA, UCR.
Análisis químico del <i>Anacardium Occidentale</i> (marañón).	Disciplina que se ocupa del desarrollo, uso y estudio de los procedimientos analíticos para evaluar las características de alimentos (Álvarez y Bagué, 2012, p.17).	Pruebas químicas para evaluar la composición nutricional de los residuos: extracto etéreo, humedad, proteína cruda por combustión, energía bruta, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido, nitrógeno detergente neutro y nitrógeno, detergente ácido, cenizas y lignina (Base seca)
Propiedades terapéuticas del <i>Anacardium Occidentale</i> (marañón).	Sustancia con fines curativos específicos, que ayudan al cuerpo en su lucha contra la infección. (Bonilla y Pazos, 2010, p. 102).	Se analiza la composición de los aceites y de acuerdo a su naturaleza se asigna la actividad medicinal, la cual se demuestra por medio de pruebas químicas en el laboratorio.
Actividad antioxidante	Sustancias que cuando están presentes, retardan o inhiben la oxidación de sustratos susceptibles al ataque de las especies reactivas del oxígeno (Sánchez, 2013, p.12).	Se evalúa por medio del ensayo ORAC, capacidad de absorción de los radicales de oxígeno.

Instrumentos y Técnicas

Los instrumentos serán separados en distintas fases, de modo que permitan seguir un orden con respecto al procedimiento descrito más adelante, brindando un mayor entendimiento al proceso de estudio.

Fase I. Recolección y almacenamiento de la materia prima vegetal.

- ✓ Congelador
- ✓ Cuarto frío
- ✓ Bolsas herméticas

Se almacenan las hojas de la especie vegetal a estudiar en el cuarto frío a una temperatura de 4 a 6 °C. El pseudofruto (receptáculo) del marañón se congela aproximadamente a – 30 °C. Las semillas se abren y se ponen a secar a temperatura ambiente.

Fase II. Destilación de las hojas y pseudofruto del *Anacardium Occidentale*

- ✓ Cámara extractora: Balón de fondo redondo, de 1 litro.
- ✓ Condensador: de vidrio.
- ✓ Frasco recolector: Erlenmeyer.
- ✓ Calentador magnético.
- ✓ Soportes metálicos y prensas.
- ✓ Termómetro.
- ✓ Mangueras de hule.
- ✓ Reactivos a utilizar: etanol y agua.

Se realizará por el método de hidrodestilación, con el fin de llevar a estado de ebullición la suspensión acuosa del material vegetal aromático, de tal manera, que los vapores generados se puedan condensar y colectar.

Fase III. Extracción del aceite esencial de las hojas y pseudofruto del *Anacardium Occidentale*

- ✓ Cámara extractor de gases.
- ✓ Instrumentos del equipo de laboratorio: embudo separador y beaker.
- ✓ Reactivos: éter etílico y etanol.

Se utiliza el método de extracción por separación de fases. De este modo, se separan los compuestos orgánicos de la solución acuosa en la que se encuentran y se traspan a la fase orgánica, seguidamente se somete dicha fase a otro proceso de reextracción: secado a temperatura ambiente en la cámara extractor de gases.

Fase IV. Extracción del aceite esencial de la semilla del *Anacardium Occidentale*.

- ✓ Cámara extractor de gases.
- ✓ Mortero: Brazo mecánico de precisión.
- ✓ Instrumentos del equipo de laboratorio: beaker y agitadores de vidrio.
- ✓ Reactivo: Éter etílico.

Se utiliza la técnica de extracción por solventes orgánicos. En la cual el solvente orgánico es un reactivo de alta afinidad con respecto a lo que se desea recuperar. En la purificación se extraen los compuestos y se traspan al líquido orgánico. Posteriormente, se somete a otro proceso de reextracción: secado a temperatura ambiente en la cámara extractor de gases.

Fase V. Caracterización y cuantificación de los compuestos volátiles orgánicos del *Anacardium Occidentale*.

- ✓ Cromatógrafo de gases
- ✓ Instrumentos del equipo de laboratorio: cubetas, micro pipetas, beaker, balones de aforo y viales con tapa.
- ✓ Reactivos: Éter etílico, hidróxido de tetrametilamonio, agua destilada.

Se deben de diluir las muestras antes de ser inyectadas, para esto se utiliza éter etílico y se prepara una disolución de 100µL hidróxido de tetrametilamonio en 10 ml de metanol. La evaluación estructura actividad se realiza mediante procesos virtuales, por lo que se hará uso de los siguientes programas: *PubChem*, *Chemicalize*, *Discovery Studio*.

Fase VI. Evaluación nutricional de los residuos-cáscaras de las semillas del *Anacardium Occidentale*.

Se realizarán un análisis químico proximal, el cual consiste en el desarrollo de una serie de herramientas técnicas para determinar el contenido nutricional de la cáscara de marañones tales como:

- ✓ Extracto etéreo.
- ✓ Humedad.
- ✓ Proteína cruda por combustión.
- ✓ Energía bruta
- ✓ Fibra detergente neutro - fibra detergente ácido
- ✓ Nitrógeno detergente neutro - Nitrógeno detergente ácido
- ✓ Cenizas: calcio y fósforo
- ✓ Lignina (Base seca)

Equipos a utilizar: mortero y pistilo, molino acero inoxidable, malla de un milímetro, equipo de extracción *Goldfisch*, pinzas, vasos de extracción, calentadores, dedales, beakers, desecador, horno, balanza analítica, termómetros, horno de convección con sistema de circulación de aire caliente, analizador de nitrógeno por combustión, paletizador (para hacer pastillas), equipo (Analizador de nitrógeno, modelo Rapid N Exceed de Elementar Analysensysteme GmbH).

Fase VII. Valoración de la Actividad Antioxidante de los aceites esenciales del *Anacardium Occidentale*.

- ✓ Ensayo ORAC (Capacidad de absorción de radicales de oxígeno).

Se realiza en el laboratorio del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), empleando la metodología de referencia del laboratorio, con la modificación de utilizar medios lipofílicas para poder valorar los extractos de los aceites resultantes.

Fase VIII. Determinación de los carotenoides presentes en el pseudofruto del *Anacardium Occidentale*.

- ✓ Prueba CITA

Se realiza en el laboratorio del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), empleando la metodología de referencia del laboratorio.

Proceso de recolección y análisis de datos

El proceso de recolección y análisis de los datos de la presente investigación, se realiza en los laboratorios de química y bromatología del Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA) de la Universidad de Costa Rica, durante el primer y segundo cuatrimestre del año 2017. El CINA es una entidad adscrita a la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, que cuenta con un grupo de profesionales en las diferentes áreas en las que brinda servicios.

Su propósito es el control de la calidad de los alimentos para consumo animal de Costa Rica, fundamentada en Ley de la República 6883 “Ley para la elaboración y el expendio de los alimentos para animales” y el Reglamento de la misma (Decreto 16899-MAG). Además, brinda al sector pecuario nacional servicios analíticos fiables, asesorías y la transferencia de conocimientos a partir de investigación pertinente, desarrollada en el marco de la nutrición, alimentación, calidad e inocuidad de los productos alimenticios para animales, contribuyendo así, con el fortalecimiento de la salud pública nacional. (Universidad de Costa Rica- Centro de Investigación en Nutrición Animal [UCR-CINA], 2017).

A continuación, se mencionará el procedimiento a seguir, el cual se dividirá en distintas fases, con el fin de lograr un orden lógico y adecuado, que permita una mejor comprensión de la metodología empleada.

Fase I. Recolección y almacenamiento de la materia prima vegetal

La recolección de las hojas y frutos (semillas y pseudofruto) del *Anacardium Occidentale* (marañón) se realiza durante el mes de febrero del año 2017, esto debido a que en Costa Rica la cosecha se produce entre los meses de febrero a mayo. Se recolectan alrededor de dos kilogramos de hojas, una cantidad aproximada de seis kilogramos del fruto de marañón y 200 gramos de semillas de marañón con cáscara. Para el almacenamiento de las materias primas vegetales se siguió el siguiente procedimiento:

1. Se colocan las hojas del *Anacardium Occidentale* (marañón) en una bolsa hermética en el cuarto de frío.
2. Los pseudofrutos del marañón se agrupan de tres en tres en bolsas herméticas en el congelador, para que se conserven por más tiempo.
3. Las semillas se separan del falso fruto.

4. Aproximadamente, diez semillas (60 gramos) se abren y se disponen a secar a temperatura ambiente en bolsas herméticas.
5. El resto de las semillas (140 gramos) se abren y se proceden a secar en un horno de 60° C, con el fin de separar las cáscaras (cubierta dura) de las semillas y de la cutícula.

Fase II. Destilación de las hojas y pseudofruto del *Anacardium Occidentale*.

Se sigue el siguiente procedimiento:

1. Se arma el equipo de hidrodestilación. Se realiza el montaje mostrado en la figura 7.
2. El material vegetal previamente lavado y cortado en trozos pequeños, se coloca en un balón de 2 litros (50 gramos aproximadamente). Se pesa y anota el dato: peso del balón solo y peso del balón con la muestra.
3. Se añade agua destilada al balón con la muestra.
4. Se abre lentamente el grifo (entrada de H₂O) conectado al refrigerante de destilación.
5. Se calienta el matraz con la ayuda de un calentador magnético, manteniendo el material a destilar en agitación constante, hasta alcanzar la temperatura de ebullición del líquido a destilar.
6. Es necesario mantener la calefacción hasta que la mayor parte de líquido se haya destilado, sin dejar nunca que se seque totalmente el contenido del balón.
7. Se obtiene el destilado de las hojas y del pseudofruto, un tipo de suspensión acuosa que contiene compuestos volátiles.

Fase III. Extracción del aceite esencial de las hojas y pseudofruto del *Anacardium Occidentale*.

Se separan los compuestos orgánicos de las suspensiones acuosas de las hojas y del pseudofruto que se obtuvieron en la fase anterior. Se sigue el siguiente procedimiento:

1. El aparato utilizado en las extracciones es el embudo de separación.
2. El tapón y la llave del embudo separador se deben ajustar antes de cada uso.
3. Se añade la solución acuosa al embudo separador con 50ml de éter etílico.
4. El embudo de decantación debe manejarse con ambas manos; con una se sujeta el tapón - asegurándolo con el dedo índice- y con la otra se manipula la llave.
5. Se invierte el embudo y se abre la llave para eliminar la presión de su interior; se agita con suavidad durante uno o dos segundos y se abre de nuevo la llave.

6. Después de separadas ambas fases, se saca el inferior (acuosa) por la llave y la superior (oleosa) por la boca del embudo; así se previenen posibles contaminaciones.
7. Se realizan tres extracciones en cada caso.
8. Se reúnen las fases orgánicas (aceite y éter etílico). Se procede a la extracción del disolvente. Se deja volatilizar en la cámara extractora de gases por varias horas.
9. Se obtiene el aceite esencial de las hojas y del pseudofruto.

Fase IV. Extracción del aceite esencial de la semilla del *Anacardium Occidentale*.

Se utilizan las 10 semillas (60 gramos), las cuales fueron previamente secadas en la fase I. Se procede al tratamiento de las muestras de la siguiente forma:

1. Se morterizan las semillas con ayuda del brazo mecánico de precisión (Apéndice) y se agrega lo obtenido en un beaker.
2. Se añade el disolvente éter etílico a la mezcla contenida en el beaker.
3. Se procede a agitar y triturar la mezcla con la ayuda de una varilla de vidrio.
4. Se separa por filtración la disolución que contiene el producto extraído y la fracción insoluble que contiene las impurezas (residuos de las cáscaras).
5. Se realizan varios lavados a la mezcla contenida en el beaker, hasta que se observe que no hay desprendimiento de aceite de las semillas.
6. Finalmente, se deja secar el disolvente a temperatura ambiente en el extractor de gases por varias horas, hasta observar un líquido de consistencia aceitosa (aceite de la semilla de marañón).

Fase V. Caracterización y cuantificación de los compuestos volátiles orgánicos del *Anacardium Occidentale*.

Para el procesamiento de las muestras en el cromatógrafo de gases, se debe realizar una serie de pasos, los cuales se enumeran a continuación:

1. Determinar previamente las condiciones del método para procesar las muestras.
2. Disolver la muestra en el disolvente indicado: 5 μL del aceite de las semillas de marañón con un mililitro de éter etílico y un mililitro de la solución: hidróxido de tetrametilamonio 100 μL en 10 ml metanol, 50 μL del aceite de las hojas de marañón y un mililitro de éter etílico, 5 μL del aceite del pseudofruto del marañón y un mililitro de éter etílico.
3. Asignar los datos correspondientes de la muestra al equipo.

4. Colocar el vial en el carrusel y procesar la muestra.
5. El resultado se guarda automáticamente vía electrónica en la carpeta del investigador con el año e iniciales que se desee (S1, H2, PS3).

Fase VI. Evaluación nutricional de los residuos-cáscaras de las semillas del *Anacardium Occidentale*.

Se utiliza el resto de las semillas (140 gramos) que fueron secadas en la fase 1, después de ser secadas en el horno a 60°C, se morterizan finamente con un mortero y pistilo. Finalmente, se homogeniza el tamaño de la partícula pasándolo por el molino de rotor de acero inoxidable con una malla de un milímetro. Se procede a realizar el proximal químico de la muestra como se indica a continuación:

Determinación del extracto etéreo.

Las sustancias solubles en éter presentes en las cáscaras de la semilla de marañón son extraídas cuantitativamente por el lavado sucesivo de dicho residuo con éter etílico.

Procedimiento de secado.

1. Se llena aproximadamente 1/3 parte de la capsula de aluminio con la muestra de ensayo y se agita con cuidado hasta que el contenido esté igualmente distribuido. Se identifica cada recipiente.
2. Se colocan las cápsulas con la respectiva tapa en el horno.
3. Se secan las cápsulas con la muestra y la tapa toda la noche a 105 ± 5 °C.
4. Al día siguiente se abre el horno y se cierran las cápsulas.
5. Se transfiere las cápsulas a un desecador para que se enfríen.
6. Se obtiene el residuo seco, el cual se utiliza para realizar el análisis del extracto etéreo.

Procedimiento de extracción.

1. No se deben tocar los vasos de extracción con las manos, se utiliza pinzas.
2. Se pesan aproximadamente 2,0 gramos de muestra libre de humedad en papel desengrasado y se anota la masa (A).
3. Se coloca la muestra en uno de los dedales de cerámica.
4. Se pesa el vaso de extracción de 100 ml con borde esmerilado para extracto etéreo, previamente secado a la masa constante y luego enfriado. Se anota la masa (B).

5. Se pone a funcionar el equipo de extracción *Goldfish*.
6. Se coloca los dedales dentro de los anillos metálicos y se ponen en el aparato. Se utilizan las pinzas.
7. Se vierte aproximadamente 60 ml de éter etílico en cada vaso de extracción y se colocan en el equipo.
8. Se levanta los calentadores hasta tocar los vasos de extracción y se extrae durante 4 horas.
9. Se alejan los calentadores y se dejan escurrir los dedales por aproximadamente 30 minutos.
10. Se bajan los vasos de extracción y se trasladan al horno a $(100\pm 5^\circ\text{C})$ por 30 minutos.
11. Se dejan enfriar en un desecador, por aproximadamente 20 minutos y después se mide la masa y se anota (C).
12. Se procede a realizar los cálculos correspondientes, siguiendo la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{masa C} - \text{masa B}}{\text{masa A}} \times 100$$

= Extracto estéreo base seca expresado en g/100g

13. El extracto obtenido se procede a diluir y se inyecta en cromatógrafo, de esta forma se obtiene la composición del aceite de la cáscara de marañón.

Determinación de la Humedad.

Se analiza la humedad de las cáscaras de la semilla de marañón como materia seca, se reportan los resultados en términos de porcentaje de materia seca total, para esto se requiere de los datos obtenidos anteriormente. Se deben presecar las cápsulas de aluminio para humedad a una temperatura igual o superior a 105°C . A continuación, se muestran los pasos a seguir para el análisis de la muestra:

1. Se regula el horno de aire a $135\pm 2^\circ\text{C}$.
2. Se mide la masa de una cápsula de aluminio con su respectiva tapa y se registra su masa.
3. Se pesan aproximadamente 2 gramos de muestra en la cápsula y se agita con cuidado hasta que el contenido esté distribuido de manera equitativa.
4. Se colocan las cápsulas destapadas, incluyendo las tapas en el horno. Se dejan secar por 120 ± 5 minutos.
5. Se abre el horno y se colocan las respectivas tapas a las cápsulas tan rápido como sea posible.

6. Se transfieren las cápsulas a un desecador para que se enfríe.
7. Se pesa y calcula la pérdida de masa, expresando el valor como porcentaje de humedad en g/ 100g, se utilizan las siguientes fórmulas:

$$\text{I. } \frac{\text{Masa de la muestra seca}}{\text{Masa muestra}} \times 100 = \% \text{Materia seca (MS)}$$

$$\text{II. } 100 - \% \text{MS} = \% \text{Humedad}$$

Determinación de proteína cruda por combustión.

Se utiliza el método Dumas para la determinación de nitrógeno en las cáscaras de la semilla de marañón. Se sigue una serie de pasos para la obtención de los resultados, los cuales se muestran seguidamente:

Elaboración de las pastillas.

1. Para empaquetar la muestra, se utiliza papel libre de nitrógeno.
2. No se debe tocar las cápsulas u otro material de empaque con las manos; se utilizan guantes de látex o pinzas.
3. Se toman las cápsulas y se colocan en el plato de balanza, se procede a tarar. Se mide la masa de la muestra requerida.
4. Se coloca la muestra en el “peletizador” y se presiona lo necesario para formar la pastilla.
5. Se pesa la pastilla con ayuda de las pinzas y se registra la masa.
6. Se colocan las pastillas en el carrusel del equipo (Analizador de Nitrógeno, modelo Rapid N Exceed de Elementar Analysensysteme GmbH).

Determinación de la proteína cruda.

1. Se enciende el equipo y se asegura que el horno este caliente.
2. Se asegura que los gases estén abiertos.
3. Se enciende el computador y se abre el programa de manejo del rapid N Exceed.
4. Se marca la opción “Open” y se abre el archivo de referencia de inicio seleccionado.
5. Se presiona System>carrusel position. Se marca la opción “all samples removed from the carrusel”. Luego, se presiona en “reference run” y se presiona “ok”. Automáticamente el carrusel se coloca en posición inicial de análisis.

6. El programa del equipo rapid N Exceed realiza los cálculos automáticamente en la hoja de cálculo, el programa informático utiliza la siguiente ecuación para estimar:

$$\text{Proteína Cruda} \frac{g}{100 g} = \frac{g}{100 g} \times 6,25$$

Energía Bruta.

1. Se pesa aproximadamente 1 gramo de muestra (residuo de la cáscara de marañón molida).
2. Se coloca la muestra en el “peletizador” y se presiona lo necesario para formar la pastilla.
3. Se coloca la pastilla en la bomba de acero junto con una mecha de combustión, de manera que, este en contacto con la pastilla, se cierra la bomba.
4. Se procede a estabilizar la bomba calorimétrica y el refrigerador.
5. Se da inicio a la combustión.
6. Después de 7-10 minutos se obtiene la energía en kcal / kg.

Análisis químicos.

1. Los análisis: Fibra detergente neutro - fibra detergente ácido, nitrógeno detergente neutro, nitrógeno detergente ácido, cenizas: calcio y fósforo, lignina (base seca), se realizan por grupos de profesionales del laboratorio de bromatología del Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA), Universidad de Costa Rica, por lo tanto, se reporta los resultados brindados y se procede al análisis de los mismos.

Fase VII. Determinación de la digestibilidad in vitro.

Se realiza siguiendo el siguiente procedimiento:

1. Se realiza un prelavado a las bolsas de filtro con acetona y posteriormente, se dejan secar completamente al aire libre.
2. Se mide aproximadamente 0,5000 gramos de muestra (residuo de la cáscara de marañón molida) y se coloca en una bolsa previamente pesada e identificada.
3. Se agrega 150 ml del medio de cultivo y 40 ml de disolución reductora.
4. Se incuba durante 48 horas a 38°C -40°C.
5. Después del tiempo de incubación se pesa la diferencia y se obtiene la porción digestible de la muestra.

Fase VIII. Análisis de los resultados obtenidos en el laboratorio.

En esta fase se recolectan todos los resultados arrojados en cada prueba y análisis químico, a partir de estos, y con ayuda de fundamentos teóricos y conocimientos científicos, se procede a la determinación de la composición fitoquímica y la actividad terapéutica de los aceites del *Ancardium Occidentale*. Así mismo, se estudian los resultados del proximal químico de las cáscaras del marañón y se valora la posibilidad de utilizar dicho residuo como suplemento nutricional. Para esto se utilizan programas como *PubChem*, *Chemicalize*, *Discovery Studio* y *Excel*.

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS Y RESULTADOS

En este apartado se muestran los resultados obtenidos, se ordena y se estructura toda la información obtenida durante la elaboración, por medio de la elaboración de tablas y gráficas sistematizadas, que muestran con base a técnicas estadísticas los resultados logrados, con el propósito de hacerlos comprensibles. Además, se analiza los elementos y datos alcanzados en función de los indicadores de cada variable. Por medio del presente capítulo se desea orientar la interpretación de los resultados, facilitando el cruzamiento de los datos y, conjuntamente, contribuyendo al alcance de los objetivos de la investigación. Finalmente, se desea demostrar el valor científico de la información recopilada y confirmar la teoría sobre las propiedades terapéuticas de la especie vegetal analizada.

Aceites de la especie *Anacardium occidentale L.*

El tamizaje fitoquímico realizado a los aceites obtenidos de las diferentes partes de la especie estudiada exhibe una gran diversidad de metabolitos secundarios, destacándose en el aceite de la semilla de marañón la presencia abundante de ácidos grasos, así mismo, de los extractos de las hojas y del pseudofruto se identifican una serie de compuestos volátiles, compuestos aromáticos y fenólicos.

Las semillas y el pseudofruto fueron recolectados durante los primeros meses del año, ya que en Costa Rica los meses de febrero a mayo corresponden a la época de fructificación del marañón (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2012). Las hojas se secaron y almacenaron en bolsas herméticas en el cuarto de frío para evitar la proliferación de microorganismos, o en otros casos de hongos y de este modo, garantizar la calidad de los aceites.

Para la extracción de los diferentes aceites se emplearon diversas técnicas, tal como se describe en la metodología. Se utilizó éter etílico para la maceración de las semillas de marañón con la finalidad de extraer los componentes no polares (aceites). Tanto a las semillas como a las cáscaras se les agregó el disolvente hasta cubrirlas por completo. Se empleó la hidrodestilación para la extracción de los aceites volátiles de las hojas y del pseudofruto del marañón. Para realizar una extracción más completa se picaron las muestras vegetales, y así tener una mayor superficie de contacto con la muestra vegetal, por lo tanto un mayor rendimiento en la extracción con éter etílico (López, 2010, p.27).

Composición fitoquímica del aceite de la semilla de marañón

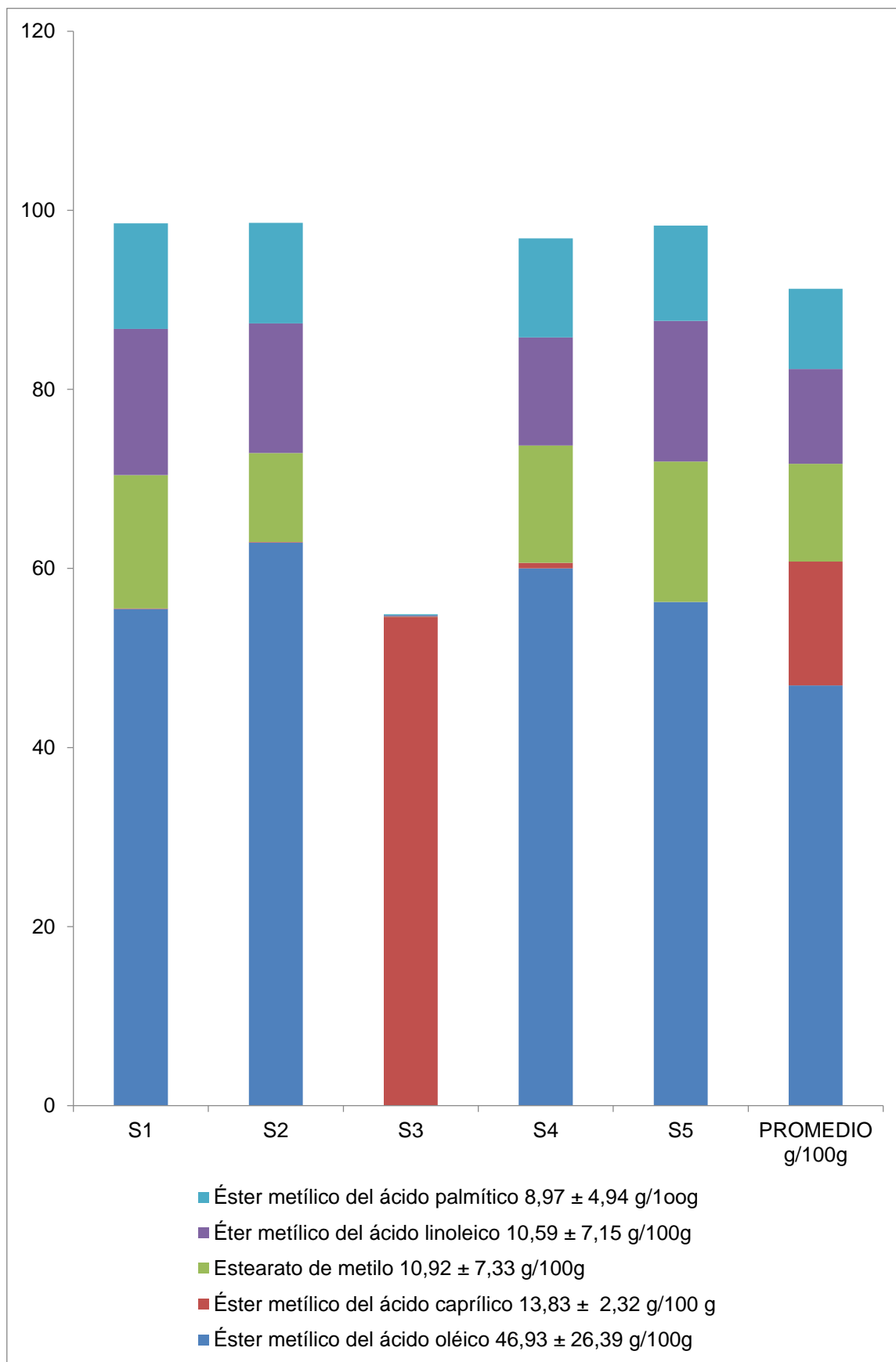
Se obtuvo el cromatograma del aceite esencial de la semilla, en el cual se observa la presencia de 27 señales separadas completamente. Cada pico constituye un componente volátil con su tiempo de retención (RT) y su cantidad relativa, tal como se muestra en el apéndice G. Con respecto al cromatograma se visualiza la señal más abundante entre los 4 y 5 minutos, el cual corresponde al metil éster del ácido oleico.

En muchos casos, la determinación cromatográfica de analitos de interés se desarrolla sobre moléculas intactas; sin embargo, para sustancias no volátiles, debido a que son termo inestables y reactivas como los ácidos grasos, se requiere de su derivación previa (López, 2010, p. 39). Los derivados más comunes de los ácidos grasos, logrados en la investigación son los metil ésteres, los cuales se obtuvieron por reacciones químicas de transesterificación. Los ácidos grasos fueron convertidos a sus correspondientes ésteres en el análisis cromatográfico para mejorar la volatilidad, estabilidad térmica y la detección del analito. Además, se evita la dimerización de ácidos carboxílicos, unión de dos moléculas de ácidos por medio de puentes de hidrógeno, y por ende, se obtiene una resolución más alta de los respectivos derivados de estos ácidos.

Se muestra más adelante (figura 10), los componentes químicos del aceite, determinados por cromatografía de gases. El análisis del perfil de ácidos grasos revelan que la mayor concentración corresponde al éster metílico de ácido oléico $C_{19}H_{36}O_2$ ($46,93 \pm 26,39$ g/100g), éster metílico de ácido caprílico $C_9H_{18}O_2$ ($13,83 \pm 2,43$ g/100g), estearato de metilo $C_{19}H_{38}O_2$ ($10,92 \pm 7,33$ g/100g), éster metílico de ácido linoleico $C_{19}H_{34}O_2$ ($10,59 \pm 7,15$ g/100g) y éster metílico del ácido palmítico $C_{17}H_{34}O_2$ ($8,97 \pm 4,94$ g/100g), lo que corresponde al 91,24 g/100g del contenido total. Los componentes mayoritarios determinados en este aceite son característicos de la especie (Gutiérrez, 2013, p.35). Además, en este trabajo el contenido de ácidos grasos de la almendra de marañón presenta similitud a lo reportado por López (2010), “El fruto del marañón tiene alto contenido de aceite que contiene ácidos grasos: caprílico, esteárico, palmítico, oleico y linoleico” (p.2).

Se observa en menores proporciones (Tabla 16), los compuestos metacrilato de isodecilo $C_{14}H_{26}O_2$ ($0,03 \pm 0,01$ g/100g), ácido oxálico $C_{20}H_{36}O_4$ ($0,05 \pm 0,02$ g/100g) y el éster metílico de ácido lignocérico $C_{25}H_{50}O_2$ ($0,05 \pm 0,03$ g/100g). La composición característica de los aceites obtenidos se visualiza en la figura 10 del presente apartado.

Figura 10. Comparación de los aceites obtenidos de la semilla de marañón.



Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

En la figura anterior se compara la composición de los cinco aceites obtenidos de diferentes semillas de marañón. Se observa que el ácido oléico representa el compuesto principal, seguido por el ácido caprílico, sin embargo, este ácido graso solo fue identificado en mayor cantidad en el aceite de la semilla 3 (S3), así mismo, en la semilla 1 (S1) no se registró la presencia del ácido linoleico, el cual sí estuvo presente en los demás aceites.

Las mencionadas variaciones pueden deberse a distintas razones, entre ellas, a una respuesta biológica por parte de la especie vegetal, o por otros factores, como geoquímicos, por ejemplo, tipo de suelo, precipitación y humedad ya que las semillas se recolectaron en distintos meses del año, lo que implica que, las composiciones de los mismos pudieron cambiar. Tales fenómenos coinciden con lo reportado por Arias, Granados, Molina y Villegas (2016), muchas especies habituales de Costa Rica (*Psidium guajava* L.) pueden variar en la composición general de los aceite obtenidos, los compuestos importantes prevalecen y sólo se modifican en función de la concentración, debido a los cambios climáticos y estacionales presentados en el país.

Tabla 13. Componentes químicos del aceite de semilla de marañón, determinados por cromatografía de gases.

Compuesto	Fórmula química	S1		S2		S3		S4		S5		PROMEDIO ± SD g/100g
		RT	g/100g	RT	g/100g	RT	g/100g	RT	g/100g	RT	g/100g	
(E)-octadec-9-enoato de metilo (éster metílico del ácido oleico)	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	4,86	55,47	4,86	62,91	3,81	0,03	4,88	60	4,89	56,26	46,93 ± 26,39
Octanoato de metilo (éster metílico del ácido caprílico)	C ₉ H ₁₈ O ₂	4,01	0,07	1,87	0,03	4,86	54,57	1,88	0,64	-	-	13,83 ± 2,43
Octadecanoato de metilo (estearato de metilo)	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	4,80	14,88	4,79	9,96	3,88	0,04	4,81	13,08	4,82	15,68	10,92 ± 7,33
(Z, Z)-Éster metílico del ácido 9,12- octadecadienoico (éster metílico del ácido linoleico)	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	5,01	16,33	5,01	14,47	3,53	0,1	5,01	12,09	5,03	15,71	10,59 ± 7,15
Metil hexadecanoato (éster metílico del ácido palmítico)	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	4,10	11,78	4,10	11,22	4,39	0,16	4,10	11,05	4,11	10,64	8,97 ± 4,94
Éster dimetílico del ácido azelaico	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	-	-	3,88	0,03	4,78	15,72	3,88	0,04	-	-	5,26 ± 5,02
Decanoato de metilo (éster metílico del ácido cáprico)	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	-	-	-	-	4,10	11,63	2,42	0,06	2,42	0,01	3,90 ± 3,19
Tetradecanoato de metilo (miristato de metilo)	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	3,54	0,12	3,54	0,07	5,00	13,49	3,54	0,19	3,54	0,11	2,80 ± 2,98
Metilo nonanoato (éster metílico del ácido pelargónico)	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	-	-	2,14	0,03	5,34	2,54	3,96	0,01	-	-	0,86 ± 0,13
Ácido etanoico (ácido acético)	C ₄ H ₆ O ₄	1,34	0,47	-	-	-	-	-	-	-	-	0,47 ± 0,21
(Z)-hexadec-11-enoato de metilo	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	4,17	0,3	4,17	0,52	4,30	0,02	-	-	4,17	0,53	0,34 ± 0,26
5-hidroxipentanoato (2,4-ditert-butilfenil)	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	-	-	-	-	4,17	0,3	-	-	-	-	0,30 ± 0,13
Eicosanoato de metilo (éster metílico del ácido eicosanoico)	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	5,55	0,22	5,53	0,37	1,61	0,08	5,55	0,39	5,55	0,38	0,29 ± 0,14
9-cis, 11-trans-octadecadienoato de metilo (linoleato de metilo)	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	-	-	-	-	-	-	5,60	0,24	-	-	0,24 ± 0,11

Heptanoato de metilo (éster metílico del ácido heptanoico)	C ₈ H ₁₆ O ₂	-	-	-	-	5,54	0,48	1,61	0,05	1,87	0,01	0,18 ± 0,11
Heptadecanoato de metilo (éster metílico de ácido margárico)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	4,39	0,19	4,39	0,16	-	-	4,39	0,13	4,39	0,11	0,15 ± 0,07
Docosanoato de metilo (éster metílico del ácido behénico)	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	6,57	0,07	6,56	0,06	1,34	0,37	6,56	0,12	6,57	0,1	0,14 ± 0,13
11,14,17-Eicosatrienoico, éster metílico	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	5,24	0,14	0,14 ± 0,06
cis-Metil 11-eicosenoato	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	5,63	0,14	0,14 ± 0,06
Ácido 2- metoxi-2-metilpropanoico	C ₅ H ₁₀ O ₃	-	-	-	-	6,56	0,11	-	-	-	-	0,11 ± 0,05
Dodecanoato de metilo (éster metílico de ácido láurico)	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	-	-	-	-	-	-	2,98	0,13	2,98	0,06	0,10 ± 0,06
Ácido 9-dodecenoico, éster metílico, (E)-	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	4,46	0,08	4,46	0,09	3,98	0,08	4,47	0,07	4,47	0,06	0,08 ± 0,01
Éster metílico del ácido 11,14-octadecadienoico	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	-	-	-	-	1,87	0,06	-	-	-	-	0,06 ± 0,03
Tetracosanoato de metilo (éster metílico del ácido lignocérico)	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	-	-	8,15	0,05	-	-	8,16	0,05	8,15	0,06	0,05 ± 0,03
Ácido oxálico, éster alil pentadecilo	C ₂₀ H ₃₆ O ₄	-	-	-	-	4,21	0,05	-	-	-	-	0,05 ± 0,02
(8Z)-1-oxacicloheptadec-8-en-2-ona	C ₁₆ H ₂₈ O ₂	-	-	-	-	2,14	0,03	-	-	-	-	0,03 ± 0,01
Metacrilato de isodecilo	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	4,24	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03 ± 0,01
TOTAL, DE COMPUESTOS			13		15		19		17		16	27 ± 2

Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Tabla 14. Perfil lipídico del aceite de semilla de marañón.

Compuestos	Fórmula química	Concentración g/100g s1	Concentración g/100g s2	Concentración g/100g s3	Concentración g/100g s4	Concentración g/100g n s5	Promedio ± SD g/100g
ÁCIDOS GRASOS SATURADOS							
Éster metílico del ácido caprílico	C ₉ H ₁₈ O ₂	0,07	0,03	54,57	0,64	-	13,83 ± 2,43
Estearato de metilo	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	14,88	9,96	0,04	13,08	15,68	10,92 ± 7,33
Éster metílico del ácido palmítico	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	11,78	11,22	0,16	11,05	10,64	8,97 ± 4,94
Éster metílico del ácido cáprico	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	-	-	11,63	0,06	0,01	3,90 ± 3,19
Miristato de metilo	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	0,12	0,07	13,49	0,19	0,11	2,80 ± 2,08
Éster metílico del ácido pelargónico	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	-	0,03	2,54	0,01	-	0,86 ± 0,13
Eicosanoato de metilo	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	0,22	0,37	0,08	0,39	0,38	0,29 ± 0,14
Heptanoato de metilo	C ₈ H ₁₆ O ₂	-	-	0,48	0,05	0,01	0,18 ± 0,11
Heptadecanoato de metilo	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	0,19	0,16	-	0,13	0,11	0,15 ± 0,07
Docosanoato de metilo	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	0,07	0,06	0,37	0,12	0,1	0,14 ± 0,13
Ácido 2- metoxi-2- metilpropanoico	C ₅ H ₁₀ O ₃	-	-	0,11	-	-	0,11 ± 0,05
Éster metílico de ácido láurico	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	-	-	-	0,13	0,06	0,10 ± 0,06
Éster metílico del ácido lignocérico	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	-	0,05	-	0,05	0,06	0,05 ± 0,03
Total		27,33	21,95	83,47	25,9	27,16	37,17 ± 25,98
ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS							
Éster metílico del ácido oleico	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	55,47	62,91	0,03	60	56,26	46,93 ± 26,39
Éster dimetílico del ácido azelaico	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	-	0,03	15,72	0,04	-	5,26 ± 5,02
Ácido acético	C ₄ H ₆ O ₄	0,47	-	-	-	-	0,47 ± 0,21
(Z)-hexadec-11-enoato de metilo	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	0,3	0,52	0,02	-	0,53	0,34 ± 0,26
cis-Metil 11-eicosenoato	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	-	-	-	-	0,14	0,14 ± 0,06

Ácido 9-dodecenoico, éster metílico, (E)-	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	4,46	0,09	0,08	0,07	0,06	0,08 ± 0,01
Metacrilato de isodecilo	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	4,24	-	-	-	-	0,03 ± 0,01
Total		64,94	63,55	15,85	60,11	56,99	52,28 ± 20,60
ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS							
Éster metílico del ácido linoleico	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	16,33	14,47	0,1	12,09	15,71	10,59 ± 7,15
Linoleato de metilo	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	-	-	-	0,24	-	0,24 ± 0,11
Linoleato de metilo	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	-	-	0,06	-	-	0,14 ± 0,06
Ácido oxálico, éster alil pentadecilo	C ₂₀ H ₃₆ O ₄	-	-	0,05	-	-	0,05 ± 0,02
(8Z)-1-oxacicloheptadec-8-en-2-ona	C ₁₆ H ₂₈ O ₂	-	-	0,03	-	-	0,03 ± 0,01
11,14,17-Eicosatrienoico, éster metílico	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	-	-	-	-	0,14	0,14 ± 0,06
2,4-ditert-butilfenil	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	-	-	0,3	-	-	0,30 ± 0,13
Total		16,33	14,47	0,54	12,33	15,85	11,90 ± 6,54

Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

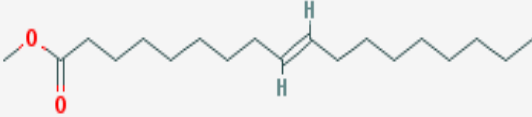
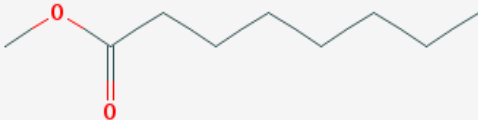

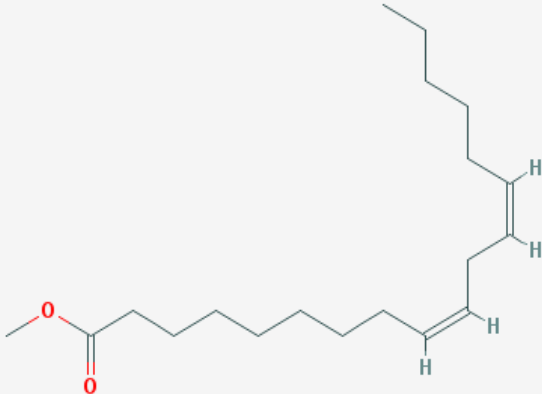
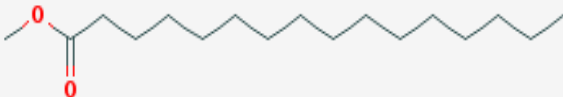
Con respecto al contenido minoritario de los aceites, se identificó al éster del ácido oxálico como un compuesto tóxico por contener en su estructura al oxalato. Para Aguirre et al. (2016), se trata de sustancias tóxicas debido a que en presencia de iones de calcio forman el oxalato de calcio, una sal poco soluble, la cual sólo puede ser eliminada de forma lenta y al mismo tiempo puede precipitar en órganos como riñones, vasos sanguíneos, corazón, pulmón e hígado (p. 43). De esta manera, a los pacientes con insuficiencia renal se les recomienda una dieta pobre en oxalato. Con respecto, a los aceites obtenidos, el porcentaje encontrado de oxalatos es relativamente escaso, por ende, no resultaría lesivo para el consumo humano. Se recomienda limitar la ingesta de los mismos a 40 o 50 mg al día.

En cuanto a los demás compuestos minoritarios, cabe mencionar que el metacrilato de isodecilo $C_{14}H_{26}O_2$ ($0,03 \pm 0,01$ g/100g) corresponde a uno de los compuestos, cuyo efecto en grandes cantidades podría causar sensibilidad cutánea. Existen datos en humanos y datos procedentes de la experimentación animal que indican que el metacrilato puede producir, por contacto directo, irritación de la piel y de los ojos (Perone, 2012, p.16). Por esta razón, resulta importante identificarlo y mantener precaución en aquellas personas que presentan hipersensibilidad a los frutos secos. Y respecto al ácido lignocérico $C_{25}H_{50}O_2$ ($0,05 \pm 0,03$ g/100g) es un ácido graso saturado de 24 átomos de carbono que se observó en la mayoría de los aceites, sin embargo, el contenido fue muy bajo y no fue de interés para la investigación.

Como se manifestó anteriormente, en la tabla 16, la mayor proporción del aceite corresponde a una serie de ácidos grasos. Se encontró la presencia de ácidos grasos omega 9, omega 6 y saturados. El principal ácido graso de omega 9 es el ácido oléico, el cual se encuentra disponible en mayor cantidad. Según su estructura química, la cual se puede observar en la tabla 17, se clasifica como monoinsaturado. Esta grasa monoinsaturada está clasificada como omega-9 porque el doble enlace se encuentra en la novena posición desde la punta omega (Drago, López y Sainz, 2007, p. 63). También, se identificó el ácido eicosatrienoico, otro tipo de ácido graso de la serie omega 9.

Así mismo, el omega 6 (ácido linoleico) reportado en los aceites es una grasa poliinsaturada, ácido mono carboxílico de cadena lineal con 18 átomos de carbono y dos dobles enlaces “cis”, en posición 9 y 12. Finalmente, el ácido caprílico y palmítico, representan la mayor proporción de ácidos grasos saturados examinados, y en menores cantidades se visualizan los ácidos: cáprico, eicosanoico, margárico, behénico y láurico, saturados también. La cuantificación de estos compuestos se puede observar en la tabla 16.

Tabla 15. Componentes químicos mayoritarios de los aceites analizados, semilla de marañón.

COMPUESTOS	Fórmula Química	Estructura	g/100g
(E)-octadec-9-enoato de metilo (éster metílico del ácido oléico)	$C_{19}H_{36}O$		$46,93 \pm 26,39$
Octanoato de metilo (éster metílico del ácido caprílico)	$C_9H_{18}O_2$		$13,83 \pm 2,32$
Octadecanoato de metilo (estearato de metilo)	$C_{19}H_{38}O_2$		$10,92 \pm 7,33$
(Z, Z)-Éster metílico del ácido 9,12-octadecadienoico (éster metílico del ácido linoleico)	$C_{19}H_{34}O_2$		$10,59 \pm 7,15$
Metil hexadecanoato (éster metílico del ácido palmítico)	$C_{17}H_{34}O_2$		$8,97 \pm 4,94$

Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

El omega 6 (ácido linoleico) es esencial para la salud porque el cuerpo humano no puede sintetizarlo. Por esa razón, debe incorporarse a través de los alimentos, lo cual coincide con los autores Drago, López y Sainz (2007) explican que el organismo humano puede sintetizar ácidos grasos saturados de número par de carbonos, pero es incapaz de introducir dobles enlaces en el carbono 3 (C3) ó 6 (C6) aunque lo puede hacer en el C9, por ello, los ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6 son considerados como ácidos grasos esenciales (p. 63). Por ende, el aceite de la semilla de marañón se considera importante en la dieta y una fuente principal de compuestos esenciales. Además, incluir estos tres ácidos grasos en la dieta (ácidos grasos omega 6, omega 9 y ácidos grasos saturados) resultará muy positivo gracias a los beneficios que proporcionan, siempre y cuando esta incorporación sea de manera equilibrada.

Otros estudios (Aponte et al. 2008, Drago, López y Sainz 2007, Álvarez y Bagué 2012 y Calderón 2011) revelan que si se sustituyen las grasas saturadas de la dieta por las grasas monoinsaturadas, como el omega 9, éstas pueden ayudar a disminuir el colesterol total, el colesterol LDL, igualmente a aumentar el HDL, y por lo tanto, contribuir con la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares. Además, aumentan las defensas, porque aumenta la cantidad de linfocitos e incrementa su activación. Por lo tanto, el aceite de la semilla de marañón fuente de omega 9 y por su contenido alto de grasas monoinsaturadas, se podría aprovechar para tales fines, sin embargo, se requiere de estudios que fundamenten las teorías mencionadas.

Con la realización de otros estudios se pueden obtener, por medio de este análisis fitoquímico en las semillas de marañón, datos que demuestren nuevas propiedades atribuidas a los ácidos grasos poliinsaturados, entre ellas, por ejemplo, se encuentra la acción antiinflamatoria, que se atribuye a su capacidad de modificar la síntesis de prostaglandinas y lípidos (Drago, López y Sainz, 2007, p. 63). Otra característica es la inhibición de la angiogénesis, actividad citotóxica sobre células tumorales, y la reducción de los niveles de colesterol en sangre (Rosales, 2011, p. 19 y Drago, López y Sainz, 2007, p. 62).

En la investigación, se comparó el perfil lipídico del aceite esencial de semilla de marañón con respecto a otros aceites funcionales, como se muestra en la tabla 18. Entre ellos, el aceite de oliva y el aceite de girasol, ambos aportan cantidades específicas de los diferentes tipos de ácidos grasos estudiados.

Tabla 16. Composición química del aceite de oliva y aceite de girasol.

Ácidos grasos	Aceite de oliva	Aceite de girasol	Aceite de marañón
Grasas saturadas	13,5	10,3	8,97
Ácido palmítico	11	5,9	8,97
Ácido esteárico	2,2	4,8	-
Grasas monoinsaturadas	73,7	19,5	47,22
Ácido oléico	72,5	19,5	46,93
Ácido palmítoleico	0,8	-	-
Ácido eicosanoico	0,3	-	0,29
Grasas poliinsaturadas	8,4	65,7	10,59
Ácido linoleico	7,9	65,7	10,59

Fuente: Elaboración propia, basada en Carmona, Moreno y Vargas (2012).

En la tabla anterior se observan diferencias entre ambos aceites, una de estas es la relación de ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados, ya que en el aceite de girasol predominan los segundos, mientras que en el aceite de oliva (73 g/100g) y marañón (47,22 g/100g) predominan los primeros. La cantidad de ácido oléico (monoinsaturado) es más alta en marañón (46,93 g/100g) que en el aceite de Girasol (19,5 g/100g), sin embargo, el aceite de oliva tiene más grasas del tipo omega 3 que de la serie de ácidos grasos omega 6 y una cantidad de grasas monoinsaturadas más elevada (73,7 g/100g), por eso, el aceite de oliva tiene mejor perfil lipídico seguido por el aceite de marañón.

En general, para la población adulta se recomienda que el consumo de grasa represente entre un 30% y un 35% del aporte total de energía. Si se desglosa en las diferentes clases de ácidos grasos existentes: Las grasas saturadas no deben aportar más del 10 % del total de energía. El ácido graso mayoritario debe ser el oleico que debe suponer entre un 15% y un 20% del total de energía. El 5% restante debe proceder de los ácidos grasos poliinsaturados (4% los $\omega 6$ y un 1% los $\omega 3$) (Drago, López y Sainz, 2007, p. 63).

Con respecto a lo descrito anteriormente, se considera que el aceite estudiado presenta un perfil lipídico aceptable, con características intermedias entre los aceites comparados, además, resulta viable para el consumo humano por los beneficios aportados y otro aspecto positivo que se suma es que, el método de extracción es sumamente sencillo y económico.

Composición fitoquímica del aceite esencial de las hojas de marañón

En el caso del aceite de las hojas, con base a la información reunida, se reconocen como principales rutas biosintéticas a los compuestos aromáticos, terpenos y compuestos grasos derivados de ácidos. Los compuestos aromáticos principalmente identificados son fenoles, bencenoides y fenilpropanos, de los cuales se destaca su función antioxidante. La composición fitoquímica de las hojas se presenta en la tabla 19.

En el cromatograma obtenido, se identificaron aproximadamente 24 señales separadas completamente. Cada pico constituye un componente volátil con su tiempo de retención (RT) y su cantidad relativa, tal como se muestra en el apéndice H. Se logra visualizar la señal más abundante entre los 4 y 5 minutos, el cual corresponde al 2,4-Ditert-butilfenol.

El análisis de los volátiles revela que la mayor concentración corresponde al 2,4-Ditert-butilfenol ($24,17 \pm 11,60\text{g}/100\text{g}$), seguido por los compuestos butilhidroxitolueno ($10,41 \pm 1,49\text{g}/100\text{g}$), m-xileno ($10,09 \pm 4,99\text{g}/100\text{g}$), 1-nonadeceno ($9,74 \pm 6,82\text{g}/100\text{g}$) y el 3-hidroxi-1,3-difenilpropan-1-ona ($9,57 \pm 4,27\text{g}/100\text{g}$) y en menores proporciones, pero en cantidades significativas, se encuentra el metil éster del ácido elaidico ($7,15 \pm 3,19\text{g}/100\text{g}$), trideceno ($6,39 \pm 2,49\text{g}/100\text{g}$) y el metil éster del ácido octadecenoico ($6,13 \pm 2,74\text{g}/100\text{g}$), representando del contenido total un $83,65 \text{ g}/100\text{g}$. Tales resultados coinciden con los reportados por Almeida, Hermosilla, Martínez, Martínez y Soto (2012), refiriéndose a lo mencionado por Vega (2010), la familia *Anacardiaceae* posee una alta concentración de fenoles y ácidos fenólicos; también es común la presencia de terpenos, politerpenos y taninos.

Entre los compuestos característicos de las hojas destacan los fenoles, que se caracterizan por tener un anillo aromático central y un grupo hidróxilo.

Además, se conoce que inhiben la actividad de agentes mutágenos y estimulan la actividad de la enzima fenolsulfotransferasa, implicada en la destoxicación de compuestos dañinos (Drago, López y Sainz, 2007, pp. 58). La investigación toma como fundamento principal el evaluar la actividad antioxidante de los mismos.

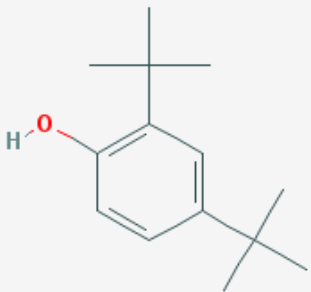
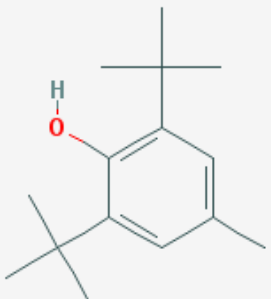
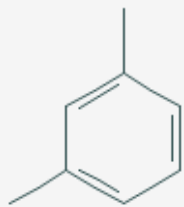

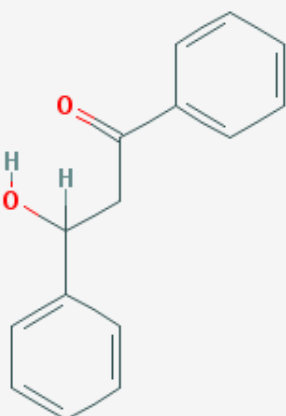
Tabla 17. Componentes químicos del aceite esencial de las hojas de marañón, determinados por Cromatografía de gases.

Compuesto	Fórmula química	H1		H2		H3		H4		H5		PROMEDIO ± SD g/100g
		RT	g/100g	RT	g/100g	RT	g/100g	RT	g/100g	RT	g/100g	
2,4-Ditert-butilfenol	C ₁₄ H ₂₂ O	4,3	22,43	4,3	19,13	4,3	3-,7	4,29	24,43	-	-	24,17 ± 11,60
2,6-Ditert-butil -4- metilfenol (butilhidroxitolueno)	C ₁₅ H ₂₄ O	3,26	1-,57	3,26	9,9	3,26	12,56	3,26	1-,63	3,26	8,42	10,41 ± 1,49
1,3-Xileno (m-xileno)	C ₈ H ₁₀	-	-	1,23	13,28	1,23	9-,8	1,24	1-,55	1,23	7,47	10,09 ± 4,99
1-Nonadeceno	C ₁₉ H ₃₈	-	-	-	-	3,66	5,89	3,65	6,67	3,11	16,68	9,74 ± 6,82
3-Hidroxi- 1,3- difenilpropan-1-ona (E)-octadec-9-enoato de metilo (éster metílico del ácido de elaidico)	C ₁₅ H ₁₄ O ₂	-	-	-	-	-	-	3,11	9,57	-	-	9,57 ± 4,27
1-Trideceno (Tridecyleno)	C ₁₃ H ₂₆	3,11	5,1	3,11	1-,62	2,56	6,41	2,56	4,2	2,56	5,66	6,39 ± 2, 49
(E)-octadec-15-enoato de metilo (éster metílico del ácido 15-octadecenoico)	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	4,79	6,13	-	-	-	-	-	-	-	-	6,13 ± 2,74
N-Heptadecanol- 1 (alcohol heptadecil)	C ₁₇ H ₃₆ O	-	-	-	-	-	-	-	-	4,19	5,38	5,38 ± 2,40
1-Docoseno (Docoseno)	C ₂₂ H ₄₄	4,19	6,67	4,19	5,86	4,19	4,35	4,19	8-,2	6,69	-0,33	5,04 ± 2,95
2-fenilacetaldehído	C ₈ H ₈ O	2,51	5-,3	-	-	-	-	-	-	-	-	5,03 ± 2,24
1,4-Xileno (p-Xileno)	C ₈ H ₁₀	1,34	11,41	1,349	4,37	1,34	3	1,34	3,38	1,34	2,23	4,87 ± 3,73
5-Octadeceno, (E)-	C ₁₈ H ₃₆	-	-	3,66	7,99	3,11	7-,7	3,16	-0,32	5,64	1,44	4,2 3,85
6-metil-hept- 5- en- 2-ona	C ₈ H ₁₄ O	3	3,68	-	-	-	-	-	-	-	-	3,68 ± 1,64
1-Undecanol (Undecyl alcohol)	C ₁₁ H ₂₄ O	2,56	3,58	-	-	-	-	-	-	-	-	3,58 ± 1,60
1-Octanol (alcohol caprílico)	C ₈ H ₁₈ O	-	-	-	-	-	-	3-,6	3,21	-	-	3,21 ± 1,43
2-(4-metoxifenil) propan-2-ol	C ₁₀ H ₁₄ O	3-,7	3,17	-	-	-	-	-	-	-	-	3,17 ± 1,41
1-heptil-2-metilciclopropano	C ₁₁ H ₂₂	-	-	-	-	3-,7	2,79	-	-	3-,7	3,23	3,01 ± 1,65
Ácido oxálico, alil octadecilo éster	C ₂₃ H ₄₂ O ₄	5,65	-0,93	5,65	6,64	5,65	3,28	6,71	-0,5	4,84	1,87	2,64 ± 2,47
1-Deceno,9-metil	C ₁₁ H ₂₂	-	-	-	-	-	-	-	-	2,46	2,52	2,52 ± 1,12
2,5-ciclohexadien-1-ona, 2,6-bis (1,1-dimetiletil)-4-hidroxi- 4-metil	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	3,76	1,97	-	-	3,76	2,95	-	-	-	-	2,46 ± 1,38

Ácido oxálico, alil hexadecilo éster	$C_{21}H_{38}O_4$	-	-	6,73	-0,6	6,7	-0,5	-	-	-	-	0,55 ± 0,30
1,3-dimetoxypropan-2-ol	$C_5H_{12}O_3$	2,22	-0,53	-	-	-	-	-	-	-	-	0,53 ± 0,23
5-metilidenetridecano	$C_{14}H_{28}$	3,55	-0,53	-	-	-	-	-	-	-	-	0,53 ± 0,23
1,1,3-Trimetilciclopentano (Ciclopentano,1,3-trimetil-)	C_8H_{16}	-	-	4,62	-0,42	3,49	-0,53	-	-	-	-	0,47 ± 0,26
1-Metil-2-(3-metilpentil)ciclopropano	$C_{10}H_{20}$	-	-	-	-	5,47	-0,29	-	-	3,49	-0,54	0,41 ± 0,24
1-Pentanamina, N-nitro-	$C_5H_{12}N_2O_2$	-	-	-	-	1,93	-0,35	-	-	-	-	0,35 ± 0,15
Octilciclopropano	$C_{11}H_{22}$	1,5	-0,37	1,51	-0,24	1,5	-0,15	1,5	-0,19	1,5	-0,68	0,32 ± 0,21
Difenilmetanona (Benzofenona)	$C_{13}H_{10}O$	4,96	-0,29	-	-	-	-	-	-	-	-	0,29 ± 0,13
Ciclopentano, 1-metil	C_6H_{10}	5,58	-0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2 ± 0,08
Etenil-3-metiloxirano	C_5H_8O	-	-	1,89	-0,18	-	-	-	-	-	-	0,18 ± 0,08
Ciclopentano, 1,1-dimetil	C_7H_{14}	5,47	-0,28	-	-	-	-	-	-	1,88	-0,11	0,19 ± 0,12
TOTAL DE COMPUESTOS		30		22		24		24		22		24,4 ± 3,29

Fuente: Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Tabla 18. Componentes químicos mayoritarios de los aceites analizados, hojas de marañón.

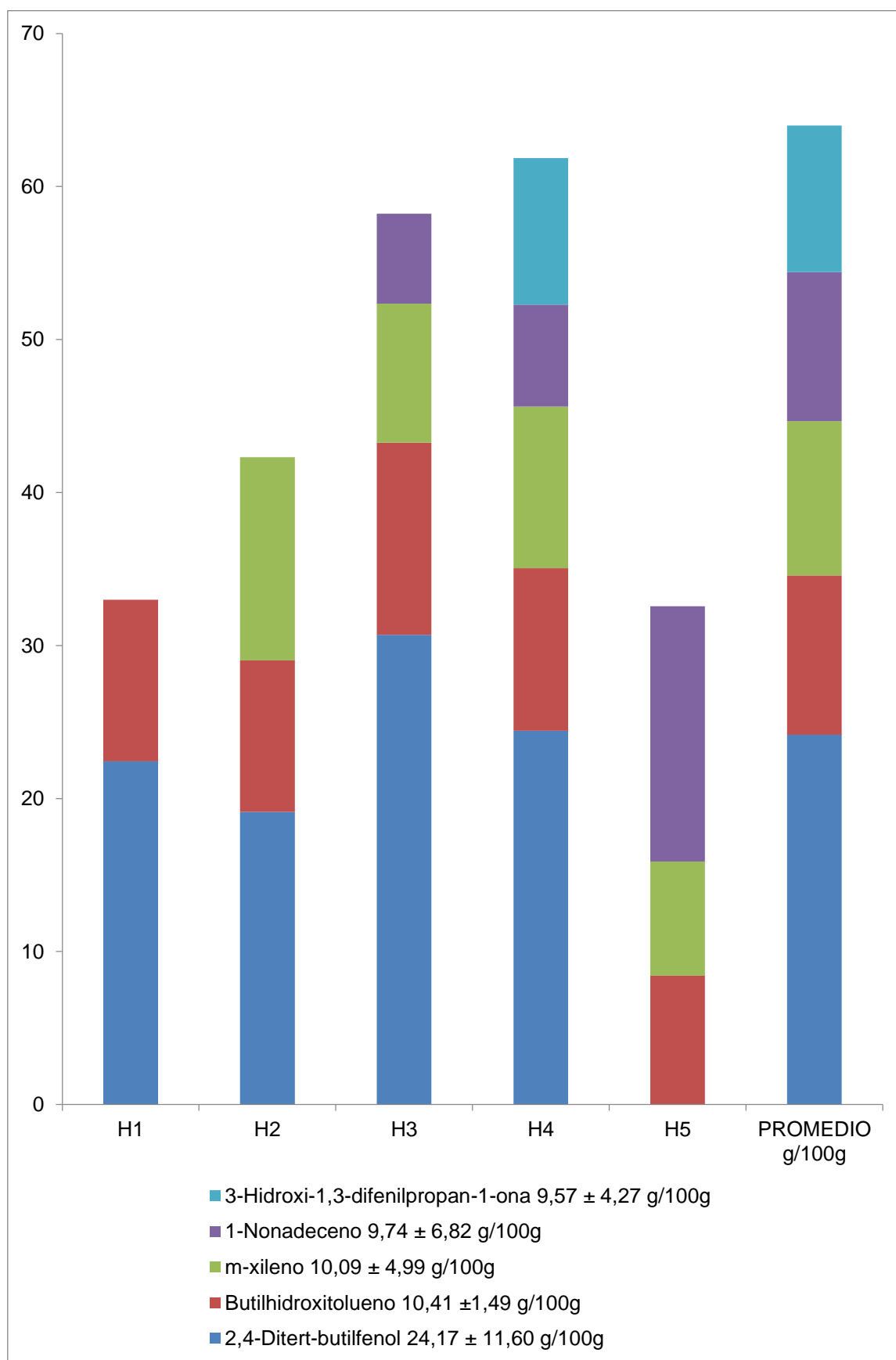
COMPUESTOS	Fórmula Química	Estructura	g/100g
2,4-Ditert-butilfenol	$C_{14}H_{22}O$		24,17 ± 11,60
2,6-Ditert-butil-4-metilfenol (butilhidroxitolueno)	$C_{15}H_{24}O$		10,41 ± 1,49
1,3-Xileno (m-xileno)	C_8H_{10}		10,09 ± 4,99
1-Nonadeceno	$C_{19}H_{38}$		9,74 ± 6,82
3-Hidroxi-1,3-difenilpropan-1-ona	$C_{15}H_{14}O_2$		9,57 ± 4,27

Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Los principales compuestos fenólicos responsables de contribuir con la actividad antioxidante del aceite analizado corresponden al 2,4-Ditert-butilfenol ($24,17 \pm 11,60\text{g}/100\text{g}$) y 2,6-Ditert-butyl-4-methylphenol ($10,41 \pm 1,49\text{g}/100\text{g}$), estos se conocen debido a las capacidades de protección contra el estrés oxidativo. En la tabla anterior se destaca la similitud en las estructuras químicas de dichos compuestos, se dice que la eficacia antioxidante de los compuestos fenólicos aumenta cuando los grupos t-butilo se encuentran en posiciones 2,4 y 6 del anillo aromático, tal como se muestra en los aceites estudiados de las hojas (Arias, Granados, Molina, y Villegas, 2016, p. 3).

Ambos compuestos mencionados, 2, 4-Ditert-butilfenol ($24,17 \pm 11,60\text{g}/100\text{g}$) y 2, 6-Ditert-butyl-4-methylphenol ($10,41 \pm 1,49\text{g}/100\text{g}$) cuando aparecen en proporciones elevadas, además de otorgar capacidades antioxidantes a los aceites estudiados se podrían utilizar, principalmente como aditivos naturales en alimentos, cosméticos, líquidos industriales y productos farmacéuticos para prevenir la oxidación y la formación de radicales libres.

Figura 11. Comparación de los aceites obtenidos de las hojas de marañón.



Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Las composiciones obtenidas entre los aceites de las hojas, también presentaron variaciones, se piensa que se debe tanto a factores biológicos de la especie vegetal, como a geológicos. Además, para la obtención de estos aceites se utilizaron hojas secas y otras más frescas, recolectadas de diferentes árboles de marañón de Costa Rica. Con respecto a la gráfica 11, se observa que en las hojas secas H1 y H2, los compuestos representativos fueron 2, 4-Ditert-butilfenol y 2, 6-Ditert-butyl-4-methylphenol, además, con respecto a los obtenidos de hojas frescas H3, H4 y H5 los demás compuestos identificados fueron escasos o nulos. Para Camena, Moreno y Vargas (2012) la composición de los aceites vegetales varía con el lugar de origen. También varía con el hábitat en que se desarrolle la especie vegetal, (por lo general climas cálidos tienen mayor contenido de aceites esenciales), el momento de la recolección y el método de extracción.

Además, la composición de los aceites obtenidos coincide con lo reportado por Almeida et al. (2012). Las esencias volátiles varían ampliamente entre especies, número, identidad y cantidades relativas de sus constituyentes. Su producción ocurre en las mismas rutas biosintéticas de metabolitos secundarios no volátiles, lo que explica su diversidad. Los terpenos son los compuestos volátiles más relevantes, seguidos de los derivados de ácidos grasos (hidrocarburos saturados e insaturados), bencenoides y fenilpropanoides, aunque también se han reportado sustancias azufradas y nitrogenadas (pp. 56-81).

Con respecto a los demás compuestos característicos observados en la figura 11, se encuentra el xileno, que corresponde a un dimetilbenceno y según la posición relativa de los dos grupos metilo (CH_3) en el anillo bencénico se diferencian tres tipos: el ortoxileno, metaxileno y paraxileno (Criado y Moya, 2011, p.51). El mayoritario en los aceites obtenidos de las hojas es el meta-xileno, según la literatura dichos compuestos reaccionan con oxidantes fuertes, como por ejemplo el radical del ácido nítrico. De tal manera, que también le atribuyen actividad antioxidante los aceites analizados.

Cabe mencionar la presencia de otros compuestos, entre ellos, el 1- Nonadeceno, que corresponde a un alqueno, y es un compuesto hidrocarburo con un doble enlace entre dos átomos de carbonos, tal como se muestra en la estructura química de la tabla 20, este compuesto también tiene capacidad antioxidante. Además, para Criado y Moya (2011) los alquenos son importantes intermediarios en la síntesis de diferentes productos orgánicos, ya que el doble enlace presente puede reaccionar fácilmente y dar lugar a otros grupos funcionales. (p.51).

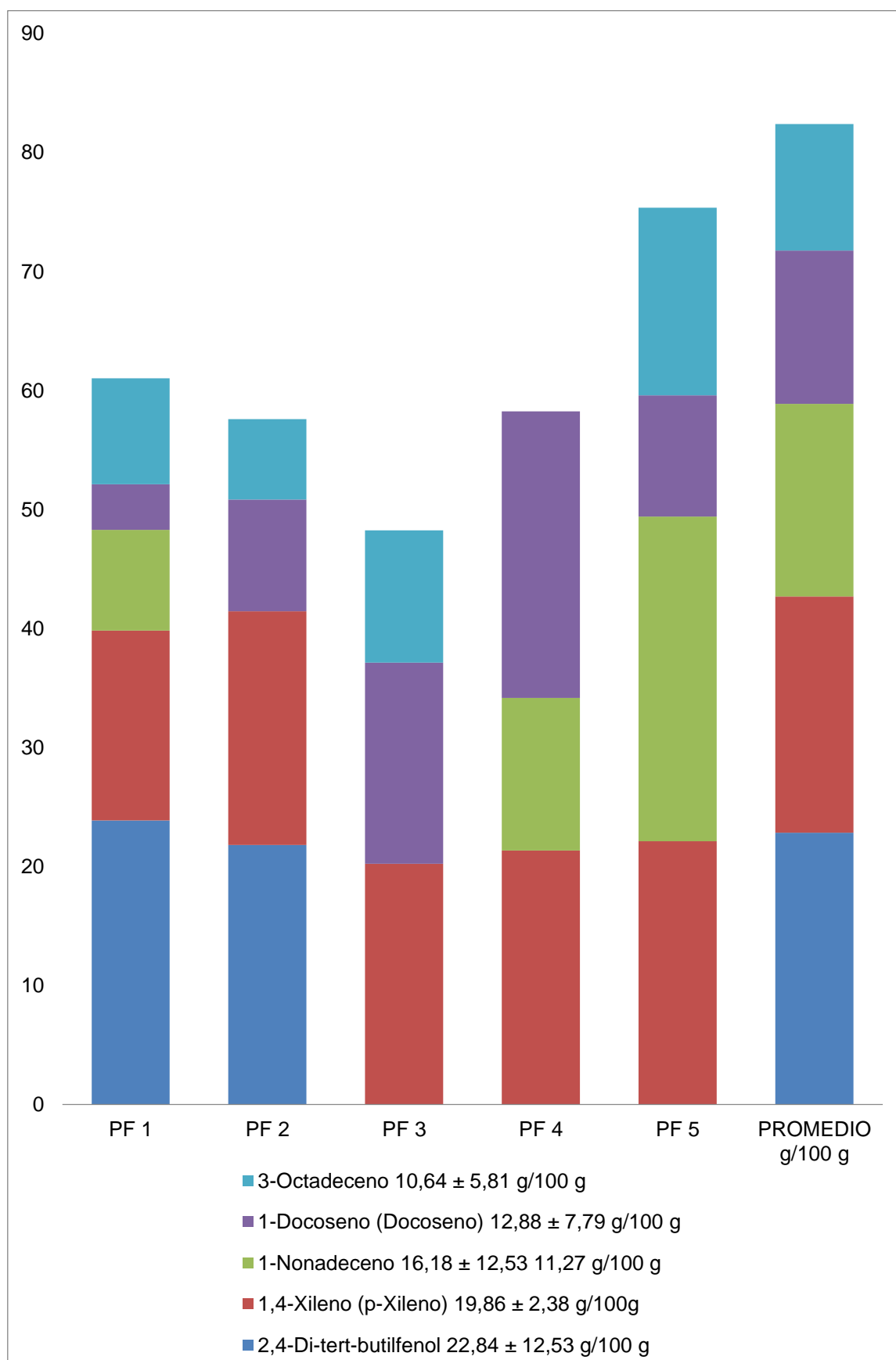
Perone (2012) mencionó la presencia de las siguientes sustancias en la composición de la especie *Anacardium Occidentale*: cardol (acción antiinflamatoria), taninos (acción antihemorrágica), ácido anacárdico (acción antigripal), aminoácidos (acción cicatrizante), y almidón (acción nutritiva) (Perone, 2012, p. 16), algunas de estas coinciden con lo reportado en esta investigación, de este modo, con el estudio fitoquímico realizado, otras investigaciones podrán comprobar con información científica y confiable, los beneficios mencionados en la literatura de dicha especie vegetal.

Otros autores recalcan que varias especies de *Anacardium* producen ácidos anacárdicos, y muchos estudios reportan que son efectivos en contra de bacterias, plagas como ácaros y pulgones. (Perone 2012, López 2010 y Cuellar 2016). Se dice que los ácidos anacárdicos en general presentan actividades antibióticas y antioxidantes (López, 2010, p.11), por lo tanto, investigaciones futuras pueden centrarse en la caracterización de aceites esenciales de marañón para determinar las mencionadas actividades biológicas de los aceites, tal como antifúngica, antimicrobiana y antiséptica, de modo que se pueda explotar estas características.

Composición fitoquímica del aceite esencial del pseudofruto del marañón

Se obtuvo el cromatograma del aceite esencial de este y, se observa en promedio la presencia de 21 señales separadas completamente. Cada pico constituye un componente volátil con su tiempo de retención (RT) y su cantidad relativa, tal como se muestra en el apéndice I. Con respecto al cromatograma se visualiza la señal más abundante entre los 4.30 y 5 minutos, y corresponde al 2, 4-Ditert-butilfenol.

A su vez, se expresan en la figura 12 los componentes químicos del aceite, determinados por Cromatografía de gases. Se revela que la mayor concentración corresponde al 2, 4-Ditert-butilfenol ($22,84 \pm 12,53\text{g}/100\text{g}$), seguido por los compuestos 1,4 Xileno ($19,86 \pm \text{g}/100\text{g}$), 1-Nonadeceno ($16,18 \pm 2,38\text{g}/100\text{g}$), 1-Docoseno ($12,88 \pm 7,79\text{g}/100\text{g}$) y 3-Octadeceno ($10,64 \pm 5,81\text{g}/100\text{g}$), representando un $62,4 \text{ g}/100\text{g}$ del contenido total del aceite del pseudofruto del marañón. El tamizaje arroja resultados parecidos a los obtenidos con las hojas de marañón, destacándose los compuestos aromáticos, terpenos y compuestos grasos derivados de ácidos. La cuantificación de estos se observa en la tabla 19.

Figura 12. Comparación de los aceites obtenidos del pseudofruto del marañón.

Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Tabla 19. Componentes químicos del aceite esencial del pseudofruto del marañón, determinados por Cromatografía de gases.

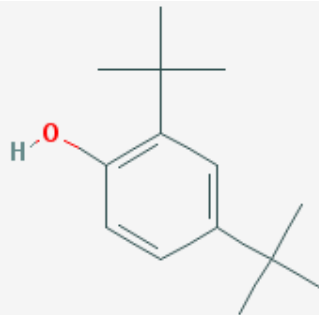
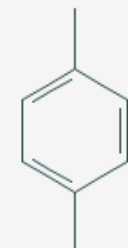


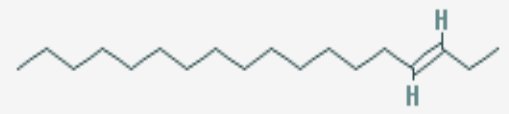
Compuestos	Fórmula química	P1		P2		P3		P4		P5		PROMEDIO g/100g
		RT	g/100g	RT	g/1g	RT	g/100g	RT	g/100g	RT	g/100g	
2,4-Di-tert-butilfenol	C ₁₄ H ₂₂ O	4,3	23,87	4,3	21,81	-	-	-	-	-	-	22,84 ± 12,53
1,4-xileno (p-Xileno)	C ₈ H ₁₀	1,34	15,97	1,34	19,64	1,34	2-,23	1,34	21,35	1,34	22,12	19,86 ± 2,38
1-Nonadeceno	C ₁₉ H ₃₈	4,19	8,45	-	-	-	-	3,65	12,81	3,65	27,28	16,18 ± 11,27
1-Docoseno (Docoseno)	C ₂₂ H ₄₄	4,83	3,83	4,83	9,4	4,83	16,9	4,83	24,-9	4,83	1-,19	12,88 ± 7,79
3-Octadeceno, (E)-	C ₁₈ H ₃₆	3,66	8,91	3,11	6,75	3,11	11,13	-	-	3,11	15,77	1-,64 ± 5,81
2,6-Ditert-butil-4-metilfenol (butilhidroxitolueno)	C ₁₅ H ₂₄ O	3,26	9,53	3,26	1-,92	3,26	1-,87	-	-	-	-	1-,44 ± 5,74
5-Eicoseno, (E)-	C ₂₀ H ₄₀	-	-	3,66	6,3	3,65	14,-8	-	-	-	-	1-,19 ± 6,69
1-Trideceno (Trideceno)	C ₁₃ H ₂₆	2,56	13,65	2,56	5,85	2,56	5,95	2,56	17,-7	2,56	7,65	1-,3 ± 5,-6
Ciclotetradecano	C ₁₄ H ₂₈	0	0	0	0	5,3	2,84	0	0	0	0	2,84 ± 1,27
Metil 14-metilpentadecanoato (Metil isopalmitato)	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	4,08	2,75	0	0	0	0	0	0	0	0	2,75 ± 1,23
1-Hexadecanol (Cetil alcohol)	C ₁₆ H ₃₄ O	5,3	2,6	5,3	1,92	0	0	5,3	1,89	5,3	4,3	2,68 ± 1,54
1-Decanol (Decil alcohol)	C ₁₀ H ₂₂ O			2,03	2,62	0	0	0	0	0	0	2,62 ± 1,31
1-O-octadecil 2-O-prop-2-enil oxalato (ácido oxálico, alil octadecil éster)	C ₂₃ H ₄₂ O ₄	5,64	3,46	5,64	2,51	5,64	3,48	5,64	3,02	6,69	0,07	2,51 ± 1,42
1,1-Dimetilciclopentano	C ₇ H ₁₄	0	0	0	0	0	0	3,55	2,36	0	0	2,36 ± 1,05
1,1,3-Trimetilciclopentano (Ciclopentano,1,3-trimetol)	C ₈ H ₁₆	3,49	1,94	5,48	0,69	5,47	4,1	5,47	3,72	5,47	0,95	2,28 ± 1,56
Nonilciclopropano	C ₁₂ H ₂₄	2,03	1,19			2,03	2,86	2,03	1,74	2,03	2,5	2,07 ± 0,75
Metil (Z)-N-hidroxybenzenocarboximidato	C ₈ H ₉ NO ₂	0	0	2,79	3,38	2,79	1,48	2,79	1,36	0	0	2,07 ± 1,39
2,3 Anhídrido piridindicarboxílico	C ₇ H ₃ NO ₃	0	0	0	0	0	0	1,54	1,8	0	0	1,8 ± 0,80
3,4-Dimetilfen-1-ol	C ₇ H ₁₆ O	0	0			0	0	4,69	1,44	3	1,097	1,44 ± 0,74
Metil hexadecanoato (éster metílico del ácido palmítico)	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0	0	4,08	1,65	0	0	0	0	0	0	1,65 ± 0,73
3-Metoxipropano-1,2-diol	C ₄ H ₁₀ O ₃	0	0	3	1,41	0	0	3	1,4	0	0	1,41 ± 0,77
3,7-Dimetiloct-1-eno	C ₁₀ H ₂₀	0	0	2,46	0,72	0	0	0	0	3,55	1,89	1,31 ± 0,82
2-metiloct-1-eno	C ₉ H ₁₈	0	0	0	0	1,5	1,21	0	0	0	0	1,21 ± 0,54
2-(1,2,4-triazol-1-il) etanol	C ₄ H ₇ N ₃ O	0	0	0	0	0	0	3,49	1,15	0	0	1,15 ± 0,51

Ácido hexanodioico, éster bis (2 - etilhexílico)	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6,52	1,14	1,14 ± 0,51
1-Hexanol, 5-metil-(triazoliletanol)	C ₇ H ₁₆ O	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4,02	1,08	1,08 ± 0,48
Metil octadecanoato (Metil estearato)	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	0	0	4,71	1,04	0	0	0	0	0	0	0	1,04 ± 0,46
2-Metilbutan-1-ol	C ₅ H ₁₂ O	5,46	0,45	0	0	0	0	0	0	0	4,69	1,44	0,95 ± 0,62
1-(3,4-dihidro-2H-pirrol-5-il) etanona(2-acetilpirrolina)	C ₆ H ₉ NO	3	0,89	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,89 ± 0,39
Pentadecanol (Pentadecil aldehido)	C ₁₅ H ₃₀ O	0	0	0	0	4,6	0,85	0	0	0	0	0	0,85 ± 0,38
[(Z)-dodec-9-enil] acetato (1-Dodecen-1-ol, acetato)	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4,47	0,76	0,76 ± 0,33
2,2,4-Trimetilpentano	C ₈ H ₁₈ O	0	0	3,55	0,6	0	0	4,99	0,83	0	0	0	0,72 ± 0,39
4-Metilhexan-1-ol	C ₇ H ₁₆ O	0	0	0	0	2,95	0,56	2,46	0,71	2,95	0,83	0	0,7 ± 0,39
6-Metilhept-1-eno	C ₈ H ₁₆	0	0	0	0	2,46	0,67	0	0	0	0	0	0,67 ± 0,30
(3S)-3,4-dimetilpentan-1-ol	C ₇ H ₁₆ O	4,02	0,85	0	0	2,42	0,25	0	0	0	0	0	0,55 ± 0,36
(Z)-dodec-2-en-1-ol	C ₁₂ H ₂₄ O	0	0	0	0	3,87	0,5	0	0	0	0	0	0,5 ± 0,22
Octilciclopropano	C ₁₁ H ₂₂	1,5	0,2	1,5	1,05	0	0	1,5	0,35	0	0	0	0,53 ± 0,43
4-metilhexan-2-ol	C ₇ H ₁₆ O	0	0	0	0	1,93	0,45	0	0	0	0	0	0,45 ± 0,20
2,2,3-trimetilciclobutan-1-ona	C ₇ H ₁₂ O	2,95	0,45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,45 ± 0,22
(E)-2,2-dimetildec-3-eno	C ₁₂ H ₂₄			4,08	0,43	0	0	0	0	0	0	0	0,43 ± 0,25
1-Hexanol (Hexil alcohol)	C ₆ H ₁₄ O	0	0	0	0	0	0	2,42	0,36	0	0	0	0,36 ± 0,16
N-hidroxiacetamida (ácido acetohidroxámico)	C ₂ H ₅ NO ₂	0	0	3,33	0,62	0	0	3,33	0,21	3,33	0,21	0	0,35 ± 0,25
3-Hexen-1-ol, propanoato, (Z)-	C ₉ H ₁₆ O ₂	3,87	0,31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,31 ± 0,14
3-hidroxibutan-2-ona (Acetoina)	C ₄ H ₈ O ₂	0	0	1,61	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0,30 ± 0,13
4,4-Dimetilpent-1-eno	C ₇ H ₁₄	3,94	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25 ± 0,11
2-Buteno-1,4-diol, (Z)-	C ₄ H ₈ O ₂	0	0	0	0	3,93	0,23	2,31	0,26	0	0	0	0,25 ± 0,13
1,3-Dimetoxipropan-2-ol	C ₅ H ₁₂ O ₃	0	0	2,22	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0,2 ± 0,09
TOTAL DE COMUESTOS			21		22		20		20		19		21 ± 1,14

Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Los resultados arrojan actividad antioxidante en los aceites obtenidos, entre los compuestos responsables de tal propiedad se encuentra el compuesto mayoritario 2, 4-Ditert-butilfenol ($22,84 \pm 12,53\text{g}/100\text{g}$), también presente en las hojas. La estructura química de este fenol le otorga tales características (Arias, Granados, Molina, y Villegas, 2016, p. 3). Este compuesto presenta además, similitud con respecto al butilhidroxitolueno (BHT) y al butilhidroxianisol (BHA), los cuales representan un agente antioxidante sintético utilizado en la industria de alimentos y fármacos para prevenir el deterioro de los productos.

Tabla 20. Componentes químicos mayoritarios de los aceites analizados, pseudofruto del marañón.

COMPUESTOS	Fórmula Química	Estructura	g/100g
2,4-Di-tert-butilfenol	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}$		$22,84 \pm 12,53$
1,4-Xileno (p-Xileno)	C_8H_{10}		$19,86 \pm 2,38$
1-Nonadeceno	$\text{C}_{19}\text{H}_{38}$		$16,18 \pm 11,27$
1-Docoseno (Docoseno)	$\text{C}_{22}\text{H}_{44}$		$12,88 \pm 7,79$
3-Octadeceno, (E)-	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}$		$1-,64 \pm 5,81$

Fuente: Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Los productos aromáticos son conocidos en la industria como antioxidantes. En los aceites obtenidos se identificaron varios de ellos, entre ellos el 1,4-xileno y 2,6-Ditert-butyl-4-methylphenol en cantidades significativas. Lo cual coincide con lo referido por Coronado, Radilla, Vázquez y Vega (2015) los compuestos aromáticos son sustancias que tienen la propiedad de impedir o retardar el enranciamiento, la polimerización y la resinificación de las grasas y aceites (fijos o esenciales). Estos fenómenos que producen en consecuencia un cambio en los aromas y gustos típicos de los productos afectados

Se dice, además, que las sustancias de los aceites obtenidos poseen propiedades sinérgicas, es decir, que la actividad antioxidante de una mezcla de dos o más de ellas es mayor que la suma de las actividades, que los componentes individuales ejercerían a concentraciones equivalentes en ausencia de cualquier otro antioxidante, esto debido a la existencia de más de un compuesto aromático y de otras sustancias que otorgan tal característica.

Carotenoides presentes en el pseudofruto del *Anacardium Occidentale*

Se analizó los carotenoides totales del marañón. Se reportó el promedio de ambas muestras analizadas y se obtuvo una cantidad de $2,93 \pm 0,22$ mg reportado como equivalentes de β -carotenos (Ver apéndice K). Los carotenoides son pigmentos orgánicos que se encuentran de forma natural en plantas y otros organismos fotosintéticos, incluyen una gran familia con más de 600 pigmentos vegetales liposolubles (Criado y Moya, 2011, pp. 11-13), y han mostrado una importante actividad biológica y beneficios para el ser humano.

Se realizó otra prueba de identificación de carotenoides presentes, las señales del extracto del fruto siguieron el patrón característico del cromatograma y el UV del β -caroteno (apéndice J). De esta manera, en el extracto analizado en HPLC (apéndice K), el carotenoide mayoritario corresponde al β -caroteno (aproximadamente 17,7 min), las señales laterales corresponden a isómeros del β -caroteno. No presenta licopeno, cuya señal se identifica aproximadamente a los 37 minutos, ni luteína o criptoxantina cuyos tiempos de retención son de 11 minutos. Las señales entre 24-30 min podrían ser ésteres de carotenoides, pero para determinar que en realidad lo son, sería necesario obtener el espectrofotómetro de masas y más estudios para poder identificarlos de manera precisa.

En la siguiente tabla 22, se muestra una serie de alimentos ricos en β -carotenos y la cuantificación que estos compuestos representan en cada alimento. Se puede observar

mayores cantidades en alimentos como la espinaca y zanahoria, comparando los obtenidos del marañón se visualiza, que este se encuentra entre los alimentos que contienen mayores proporciones de β -carotenos.

Tabla 21. Contenido aproximado de β -carotenos en algunos alimentos.

Alimento	β -caroteno ($\mu\text{g} / 100 \text{ g}$)
Espinaca, hinojo, perejil, zanahoria, durazno	4 mg-9,3 mg
Remolacha, melón, ají rojo	2,2 mg - 3,6 mg
Tomate crudo, apio, brócoli, jugo de tomate,	0,52-1,3 mg
Mandarina, ciruela pasa, ají amarillo, melón	0,1 mg -0,5 mg
Pepino fresco, manzana, naranja, uvas, kiwi	< 0,1 mg

Fuente: Sánchez, 2013, p. 16.

Se ha propuesto que los efectos beneficiosos de los carotenoides en la salud humana se deben a su papel antioxidante (Sánchez, 2013, p.15). Entre los principales carotenoides el licopeno ha mostrado tener mayores propiedades antioxidantes. Sin embargo, el β -caroteno, también se ha asociado con funciones antioxidantes importantes: neutralizar el oxígeno singlete, capturar las especies reactivas del oxígeno producidas en la piel por efecto de la radiación UV, regenerar la vitamina C una vez que ha reaccionado con un radical libre, inhibir la peroxidación lipídica de las LDL y aumentar la cantidad de HDL. Por estas acciones el pseudofruto de marañón fuente importante de β -carotenos, tendría un papel provechoso como potencial antioxidante (Sánchez, 2013, p.15).

Adicionalmente, algunos carotenoides (β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina y licopeno) tienen la capacidad de alterar los patrones de crecimiento celular, y en particular, de inducir la apoptosis en las líneas de células cancerosas humanas. Conjuntamente, se ha sugerido que los carotenoides podrían jugar un papel como antimutágenos (Zamora, 2015, p. 45). De manera que este estudio se proyecta en dar a conocer a la población costarricense el uso y las aplicaciones medicinales del *Anacardium Occidentale*, buscando a la vez que se adopten medidas de preservación, cuidado y manejo a la hora de utilizar dicho recurso, no obstante se requieren de futuras investigaciones que respalden las menciones propiedades terapéuticas referidas en la literatura.

Determinación de actividad antioxidante, ensayo sobre capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) en los aceites obtenidos del marañón.

Según la cuantificación y el análisis estructural que se realizó a los compuestos químicos que fueron identificados en los aceites estudiados anteriormente, por medio de la técnica de cromatografía de gases, se exhibe que en los aceites de la mayoría de las partes del árbol de marañón presentan un aporte entre intermedio y alto de fenoles totales, y entre moderada y elevada actividad antioxidante, lo que potencializa sus posibles propiedades nutraceuticas, así como posibles beneficios para la salud. Por lo que se realizó el ensayo ORAC, con la intención de obtener un ensayo preliminar que refuerce que los compuestos encontrados en los extractos analizados poseen capacidad antioxidante.

Se tomó como referencia los datos brindados por el CITA (2017) sobre la actividad antioxidante de la sandía y se compararon con los obtenidos en los extractos del marañón. Lo cual refleja que existe una mayor capacidad de absorción de radicales libres en el marañón con respecto al otro fruto.

Tabla 22. Resultados del análisis proximal de los residuos del marañón.

Réplica	Pulpa de marañón: ORAC (μmol de Trolox equivalente / 100g)	Sandia: ORAC (μmol de Trolox equivalente / 100g)
1	6119,6 \pm 16,7	258,17 \pm 4,36
2	6342,6 \pm 16,7	274,69 \pm 4,36
3	6014,6 \pm 16,7	340,69 \pm

Fuente: Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Análisis proximal de las cáscaras de las semillas del *Anacardium Occidentale*

Los análisis comprendidos también conocidos como análisis proximales, se aplicaron a los residuos del marañón que se usarán como nueva alternativa para formular una dieta como fuente de proteína o de energía para animales, estos se realizaron como un control para verificar que cumplan con las especificaciones o requerimientos establecidos. Estos análisis indicaron el contenido de humedad, proteína cruda (nitrógeno total), fibra cruda, lípidos crudos, ceniza y extracto libre de nitrógeno en la muestra, los resultados obtenidos del ensayo químico se muestran a continuación.

Tabla 23. Resultados del análisis proximal de los residuos del marañón.

RESIDUOS DE MARAÑÓN			
PRUEBA	RÉPLICA 1	RÉPLICA 2	PROMEDIO
	Concentración g / 100 g		
Cenizas	1,19 ± 0,08	1,19 ± 0,08	1,19 ± 0,08
Energía Bruta	4745 ± 354	4776 ± 356	4760,5 ± 355
Humedad	6,26 ± 0,02	6,28 ± 0,02	6,27 ± 0,02
Fibra Detergente Neutro (Base seca)	38,3 ± 1,2	38,5 ± 1,2	38,4 ± 1,2
Fibra Detergente ácido (Base seca)	27,4 ± 1,2	27,8 ± 1,2	27,6 ± 1,2
Extracto Etéreo	15,22 ± 0,23	16,78 ± 0,25	16,00 ± 0,24
Proteína Cruda por Combustión	5,31 ± 0,01	5,31 ± 0,01	5,31 ± 0,01
Calcio	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Fósforo	0,04 ± 0,003	0,04 ± 0,003	0,04 ± 0,003
Lignina (Base seca)	3,8 ± 0,2	4,0 ± 0,2	3,9 ± 0,2
Nitrógeno detergente neutro	0,42 ± 0,04	0,42 ± 0,04	0,42 ± 0,04
Nitrógeno detergente ácido	0,29 ± 0,04	0,29 ± 0,04	0,29 ± 0,04

Fuente: Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Se utilizó las cáscaras de semillas de marañón, después de ser secadas en el horno a 60°C, se morterizaron finamente, tal como lo muestra la metodología descrita anteriormente (apéndice E), el propósito del análisis proximal se basó en valorar nutricionalmente tales residuos producidos en el país y que actualmente son desechados y no son aprovechados por las industrias productoras de marañón.

Es fundamental vigilar la humedad en el alimento preparado, ya que niveles superiores al 8% favorecen la presencia de insectos y arriba del 14% existe el riesgo de contaminación por hongos y bacterias (CINA, 2017). El método para determinar la humedad se basó en el secado de la muestra (cáscaras molidas) en un horno y su determinación por diferencia de peso entre el material seco y húmedo. Y el porcentaje promedio de humedad resulto ser de $6,27 \pm 0,02$ g/100g por lo que se encuentre entre los rangos estables.

También se evaluó la proteína cruda del alimento, por su costo es este el nutriente más importante en la dieta en una operación comercial; su adecuada evaluación permite controlar la calidad de los insumos proteicos que están siendo adquiridos, en este caso la proteína cruda de la muestra analizada resulto ser de $5,31 \pm 0,01$ g/100g. Su análisis se efectuó mediante el método de Dumas para la determinación de nitrógeno en las cáscaras de la semilla de marañón.

Se determinó el extracto etéreo, en este método, las grasas de la muestra fueron extraídas con éter etílico y evaluadas como porcentaje del peso después de evaporar el solvente, se obtuvo un contenido de grasa total bastante alto $16,00 \pm 0,24$ g/100g con respecto a otros remanentes. Debido que el residuo analizado proviene de una semilla, las cuales son características por su alto contenido de ácidos grasos, ceras y aceites (CINA, 2017). Con respecto a las cenizas, se obtuvo un promedio de $1,19 \pm 0,08$ g/100g. El método se empleó para determinar el contenido de ceniza en el alimentos, es decir, el contenido de minerales totales o material inorgánico en la muestra (CINA, 2017).

Así mismo, se cuantificó la fibra cruda del residuo, después de ser digerida con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y calcinado el residuo. La diferencia de pesos después de la calcinación indicó la cantidad de fibra detergente neutra y ácida presente, 38,4% y 27,6% respectivamente. La fibra se compone fundamentalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina junto con pequeñas cantidades de sustancias nitrogenadas de las estructuras celulares de los vegetales (CINA, 2017), el contenido promedio de la lignina presente en el alimento fue de 3,9%.

Los resultados obtenidos fueron comparados con otros residuos a los que se les ha realizado los mismos análisis químicos (tabla 24), con el fin de valorar la calidad del alimento. A continuación se muestra algunos de ellos, los datos fueron brindados por el departamento de bromatología del Centro de Investigación Animal de la Universidad de Costa Rica.

Tabla 24. Comparación del análisis proximal de algunos alimentos

Prueba	Cáscara de marañón	Cascarilla de almendra	Soya	Algodón
Cenizas	1,19	6,1	4,8	2,8
Fibra detergente neutro	38,4	36,8	60,3	85
Fibra detergente ácido	27,6	28,7	44,6	64,9
Extracto etéreo	16	2,9	2,7	2,5
Proteína Cruda	5,31	6,50	13,9	6,2
Lignina	3,9	14,9	2,6	22,5
Nitrógeno detergente neutro	0,42	2,3	3,5	3
Nitrógeno detergente ácido	0,29	1,8	1,1	1
Energía	3,86	2,53	3,02	1,52

Fuente: Fuente: Elaboración propia, información procedente del CINA, 2017.

Con la información obtenida (tabla 23), sin conocer la existencia de algún factor anti nutricional, se obtuvo que la muestra tiene 3,86 cal/kg de materia seca, es decir de energía total. Un valor más alto que de la cascarilla de almendras, de la semilla de algodón, cascarilla de soya, y muy similar al salvado de arroz, lo resulta ventajoso con respecto a los demás remantes.

Además, se consideró necesario realizar la prueba digestibilidad a los residuos de marañón para tener una idea del comportamiento *in vivo* de este subproducto y, de esta manera, conocer la energía que realmente es aprovechable, el promedio de esta fue de 57, 3 g/100g. Según este dato y con información brindada por el laboratorio de bromatología del Centro de Investigación en Nutrición Animal, Universidad de Costa Rica, se considera la cáscara del marañón como un residuo medianamente aprovechable.

Como se menciona el promedio de energía del residuo de marañón que es digerible corresponde al 57, 3 g/100g, siendo medianamente aprovechable, sin embargo, si se combina con otros residuos o forrajes que suplementen la dieta del animal, y considerando que es un remanente, el costo es bajo, se encuentra disponibilidad en el país y las técnicas de procesamientos son sencillas, su utilización podría ser una opción factible como potencial alimenticio para animales, especialmente rumiantes.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Este capítulo recopila las conclusiones alcanzadas luego de la revisión de los datos obtenidos. Por otro lado, formula recomendaciones, basadas en las deficiencias percibidas a lo largo de la investigación.

Conclusiones

En esta investigación se describió la composición fitoquímica de los aceites obtenidos de las semillas de la especie *Anacardium Occidentale*, predominando los ácidos grasos, principalmente, ácidos grasos esenciales como el omega 9 y omega 6, así como también saturados, representando la mayor proporción el ácido caprílico y palmítico, siendo estos compuestos antioxidantes importantes por su utilidad como complemento dietético natural.

Se determinó que el aceite proveniente de las semillas estudiadas presenta un perfil lipídico aceptable, con características intermedias con respecto al aceite de girasol y oliva, predominando en este ácidos grasos poliinsaturados (47,22%) y cantidades elevadas de ácido oleico (46,22%), por lo que se considera como una nueva alternativa de aceite de cocina, que simultáneamente puede beneficios para la salud.

Con respecto a los aceites de las hojas y del pseudofruto del marañón, se obtuvo como principales rutas biosintéticas a los compuestos aromáticos, terpenos y compuestos grasos derivados de ácidos. Los compuestos aromáticos, principalmente identificados fueron fenoles, bencenoides y fenilpropanos. Destacándose el 2,4-Ditert-butilfenol (47,01%) y el butilhidroxitolueno (20,85%) en ambos extractos.

Se analizaron los carotenoides totales contenidos en el pseudofruto del marañón, obteniéndose una cantidad de $2,93\text{mg} \pm 22,60 \text{ mg}$, y con respecto al extracto analizado en HPLC, la señal identificada en el cromatograma correspondió al beta-caroteno representando el carotenoide mayoritario con posibles capacidades de neutralizar el oxígeno singlete y capturar las especies reactivas del oxígeno.

Los datos obtenidos en este estudio llevaron a la conclusión que la mayoría de las partes del árbol estudiado presentan un aporte entre intermedio y alto de fenoles totales, y entre moderada y elevada actividad antioxidante, lo que potencializa sus posibles propiedades nutraceuticas, así como sus beneficios para la salud.

Se concluyó que la producción de un antioxidante natural extraído de la especie vegetal estudiada, podría ser económicamente viable en el país, ya que Costa Rica cuenta con las condiciones agroecológicas necesarias para su producción, Sin embargo, es necesario profundizar en las investigaciones sobre este antioxidante, sus componentes antinutricionales y posibles interacciones.

La investigación científica aportó datos sobre el beneficio del consumo de fitoquímicos con propiedades antioxidantes presentes en los extractos del marañón, que además de aportar nutrientes esenciales para el buen funcionamiento de las actividades metabólicas, tiene un efecto benéfico a mediano y largo plazo en la prevención de enfermedades coronarias, cáncer y de cambios hormonales ocurridos en la menopausia, aunque se reitera que se requieren más estudios.

Finalmente, se estableció que, el conocimiento de los fitoquímicos, de la estructura bioquímica, las propiedades farmacológicas y las técnicas idóneas para el aislamiento de bioactivos presentes en la especie *Anacardium* de Costa Rica, es de crucial importancia en la industria farmacéutica especializada en la elaboración de productos en el área de los extractos naturales, de manera que esta pueda utilizar toda esta información, y de ese modo, desarrollar nuevas formas farmacéuticas a partir de los aceites esenciales obtenidos.

Se contribuyó al Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA), generando conocimientos sobre la nutrición, calidad e inocuidad al utilizar las cáscaras de la semilla de marañón como nueva alternativa de alimentos para animales, se obtuvo bajos contenidos de cenizas $1,19 \pm 0,08$ y lignina 3,9, revelando un total de 3,86 Mcal/kg de energía total, arrojando valores más altos con respecto a la cascarilla de almendras, semilla de algodón y otros residuos empleados para tal fin.

El promedio de energía del residuo de marañón que es digerible corresponde al 57,3%, siendo medianamente aprovechable, sin embargo, si se combina con otros residuos o forrajes que suplementen la dieta del animal y considerando que es un remanente, el costo es bajo, se encuentra disponibilidad en el país y las técnicas de procesamientos son sencillas. Su utilización es una opción factible como potencial alimenticio para animales especialmente rumiantes.

Recomendaciones

A partir del análisis del presente estudio se establecen las siguientes recomendaciones, con el fin de brindar posibles soluciones y sugerencias al problema planteado.

Con base a los objetivos propuestos y los resultados obtenidos de cada una de las variables analizadas anteriormente, se dan sugerencias para las diferentes instancias administrativas: Universidad Internacional de las Américas (UIA), Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA), profesionales farmacéuticos y estudiantes de farmacia.

- Es conveniente que la Universidad Internacional de las Américas brinde los recursos necesarios en cuanto a equipos de laboratorio (HPLC, CG), reactivos e instrumentación a los estudiantes, de modo, que se apoye y promueva la investigación científica.
- Al Centro de Investigación en Nutrición Animal se incita se continúe con el conocimiento profundo del potencial natural *Anacardium Occidentale*, el cual, más adelante y con la realización de más estudios científicos, se buscará establecer en el mercado nacional como una nueva alternativa de suplemento nutricional para animales, y proveer un producto con propiedades nutricionales particulares.
- Se invita a los profesionales en farmacia dar a conocer a la población costarricense el valor nutricional y antioxidante del *Anacardium Occidentale*, buscando a la vez que se adopten medidas de preservación, cuidado y manejo a la hora de utilizar dicho recurso. Pretendiendo así, obtener un mejor aprovechamiento mas no una pérdida de esta especie tan importante, y su utilización en la cura y prevención de enfermedades.
- A otros estudios que utilicen tal precedente se recomienda realizar pruebas microbiológicas a los extracto de frutos y hojas del marañón, *Anacardium Occidentale*, para determinar la existencia de acción antibacteriana (citada en la literatura), contra los principales agentes patógenos dermatológicos, como una forma de ampliar la aplicación clínica de este extracto.
- Adicionalmente, promover los datos sobre el beneficio del consumo cotidiano de alimentos con antioxidantes, sobre todo de frutas y verduras y la protección que pueden proporcionar para prevenir los riesgos de padecimientos.

- El estudio presentado sugiere la necesidad de profundizar los estudios experimentales y epidemiológicos para caracterizar de mejor manera, la acción antioxidante de los extractos analizados y la relación de tal actividad con la salud humana. De igual forma, se requiere identificar más y mejores marcadores, incluso genéticos con los que se puedan estudiar diversos grupos poblacionales que permitan no sólo recomendar terapias antioxidantes para el tratamiento, sino en primera instancia, para prevenir riesgos de padecimientos asociados con los radicales libres.
- Se requiere el desarrollo de más estudios y de herramientas diversas para el análisis, de la relación de los antioxidantes con enfermedades como la artritis reumatoide, anemia, síndrome esclerosis múltiple, trastornos nefrológicos, pancreatitis, arrugas prematuras, resequedad de la piel, dermatitis y asma, entre otros padecimientos que en la actualidad abordan las investigaciones en curso.
- Los volátiles de la especie estudiada también podrían ser aprovechados por la industria farmacéutica, de manera que puedan utilizar toda esta información y desarrollar nuevas formas farmacéuticas a partir de los aceites esenciales obtenidos y proveer un producto con propiedades medicinales particulares que no está a disposición en el ámbito nacional.

Referencias

- Aguirre, M., Aguirre, M., Colmenares, A., Galvis, J., Hipólito, J., Jaramillo, M. y Ocampo, D. (2016). Actividad ictiotóxica de extractos de dos especies colombianas del género *Meriania Swartz (melastomataceae)*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 21(2), 203-214. Doi: 1028-47962016000200008.
- Almeida, M., Hermosilla, R., Martínez, O., Martínez, Y. y Soto, F. (2012). Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas de *Anacardium Occidentale* L. (marañón). *Revista Cubana Plantas Medicinales*. 17(4), 320-329. Doi: 1028-47962012000400004.
- Albarracín, G. (2003). Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Piper Aduncum* (cordoncillo) procedente de la zona cafetera. Universidad Nacional de Colombia.
- Álvarez, N. y Bagué, A. (2012). Tecnología Farmacéutica. España: Editorial Club Universitario.
- Aponte, M., Calderón, M., Delgado, A., Herrera, I., Jiménez, Y., Ramírez, Z., Rojas, J. y Toro, Y. (2008). *División de Investigaciones de Alimentos (D.I.A.), División de Nutrición en Salud Pública. Caracas, Venezuela*. Recuperado de: <http://www.inn.gob.ve/pdf/docinves/fitoquimicores.pdf>. (15/03/2017).
- Arias, C., Granados, F., Molina, A. y Villegas, E. (2016) Composition, Chemical Fingerprinting and Antimicrobial Assessment of Costa Rican Cultivated Guavas (*Psidium friedrichsthalianum* (O. Berg) Nied. and *Psidium guajava* L.). *Essential Oils from Leaves and Fruits. Natural Products Chemistry and Research*. 4 (236), 1-10. Doi: 10.4172/2329-6836.1000236.
- Barrantes, S. y Solís, C. (2000). Estudio de mercado de nuez y fruta confitada de marañón. *Serie Documento de Estudio. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Dirección General de Mercadeo Agropecuario, Costa Rica*.
- Barrios, Y., González, R., Gurovich, F. y Pacheco, O. (2016). *Las reacciones adversas de las plantas medicinales y sus interacciones con medicamentos*. Universidad de Oriente, Departamento de Farmacia.

- Betanzos, G., Delgado, L. y Sumaya, M. (2010). Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. Universidad Autónoma de Aguascalientes, México.
- Bonilla, J. y Pazos, L. (2010). *Plantas Medicinales, su uso a través de la historia*. Costa Rica: Editorial UCR.
- Bravo, L. (2003). *Farmacognosia especial*. España: Editorial Elsevier.
- Calderón, J. (2011). *Caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de extractos de plantas medicinales utilizadas en Pereira y Santa Rosa de Cabal*. Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.
- Camena, V., Moreno, A. y Vargas, L. (2012). Extracción de aceites esenciales [Tecnologías apropiadas en el proceso de extracción] Recuperado de <https://extracciondeaceitesesenciales.wordpress.com/tag/hidrodestilacion/>.
- Céspedes, E., Cruz, N., Llópiz, N. y Rodríguez, K. (2010). Un acercamiento a la teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo en el envejecimiento. *Revista Cubana Investigación Biomédica*. 19(3), 186-90. Doi: S0864-03002000000300007.
- Coronado, M., Radilla, C., Vázquez, M. y Vega, S. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*. Doi: 10.4067/S0717-75182015000200014.
- Criado, C. y Moya, M. (2011). *Vitaminas y Antioxidantes*. Departamento de medicina. España: Editorial Saned.
- Cuéllar, N. (2016). *Cultivo y explotación del Marañón*. Colombia: Grupo latino de Editores.
- Domínguez, A. (2014). *Fármacos nacidos de plantas*. Grupo latino de Editores: Colombia.
- Drago, M., López, M. y Saíenz, T. (2007). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana Ciencias Farmacéuticas*. 37 (4), 58-68.
- García, D. y González, G. (2012). Ejercicio físico y los radicales libres, ¿Es necesario una suplementación con antioxidantes? *Revista Internacional de Medicina Ciencias Actividad Física Deporte*. 12 (46).

- Hernández, P. y, Pabón, L. (2012). Importancia química de *Jatropha Curcas* y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales. *Revista cubana de plantas medicinales*. 17(2), 194-209. Doi: S1028-47962012000200008.
- Loaiza, C. y Céspedes, C. (2007). *Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- López, A. (2010). *Aislamiento y cuantificación de ácidos anacárdicos en la especie de Anacardium Occidentale (marañón) de la región de tezonapa*. Universidad de Veracruz, México.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2012). *Aspectos Técnicos sobre Cuarenta y Cinco Cultivos Agrícolas de Costa Rica. Dirección General de Investigación y Extensión Agrícola*. Ministerio de Agricultura y Ganadería. San José, Costa Rica.
- Molina, G. (2010). Factibilidad agroeconómica del cultivo de marañón (*Anacardium Occidentale L.*) En la región Chorotega para industrializar la nuez. Universidad de Costa Rica, Costa Rica.
- Núñez, A. (2011). Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades: *Revista Cubana Salud Pública*. 37 (suppl.), 600-644.
- Organización de las Naciones Unidas. (2003). Comité de Expertos de la OMS en Farmacodependencia. *Serie de informes técnicos*. Informe N° 33. Ginebra.
- Organización de las Naciones Unidas. (2016). *Medicina tradicional*. Recuperado de: <http://www.who.int/en/>. (01/03/17).
- Organización Mundial de la Salud. (2009). *Medicina tradicional*. Recuperado de: <http://www.who.int/en/>. (15/03/2017).
- Ortuño, M. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. España: Aiyana Ediciones.
- Perone, A. (2012). *El uso popular de marañón (Anacardium Occidentale L. –franz eugen köhler– 1887) En Tabatinga (Amazonas, Brasil) y su potencial como planta cicatrizante*. (Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia. Sede Amazonia).

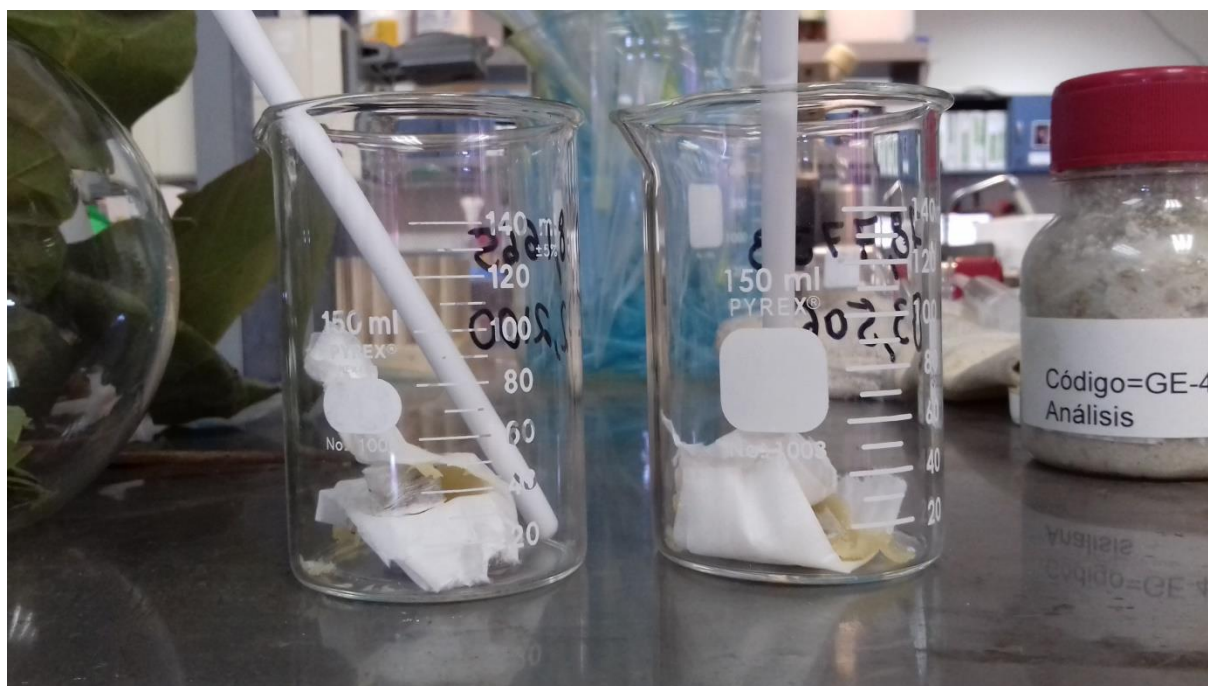
- Piedrahita, A., Rojano, B. y Zapata, S. (2014). Capacidad atrapadora de radical de oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspectivas en Nutrición Humana*. (16), 25-36. Doi: S0124-41082014000100003.
- Sánchez, E. (2013). *Consumo de antioxidantes naturales en adultos mayores de 65 y 75 años con dislipidemias*. (Tesis para optar por el grado de licenciatura. Universidad Abierta Interamericana. Argentina).
- Torres, L. (2011). *Estudio de la hidrodestilación del aceite de Lippia alba, en un destilador a escala piloto*. Universidad Industrial de Santander. Colombia.
- Universidad de Costa Rica. (2017). *Centro de Investigación en Nutrición Animal*. Costa Rica. Recuperado de: <http://www.cina.ucr.ac.cr/>. (03/03/17).
- Zamora, J. (2015). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud: *Revista Chilena Nutricional*. 34 (1), 17-26. Doi: S0717-75182007000100002.
- Zorrilla, A. (2012). El envejecimiento y el estrés oxidativo: *Revista. Cubana de Investigación Biomedica*. 21 (3), 85-175. Doi: S0864-03002002000300006.

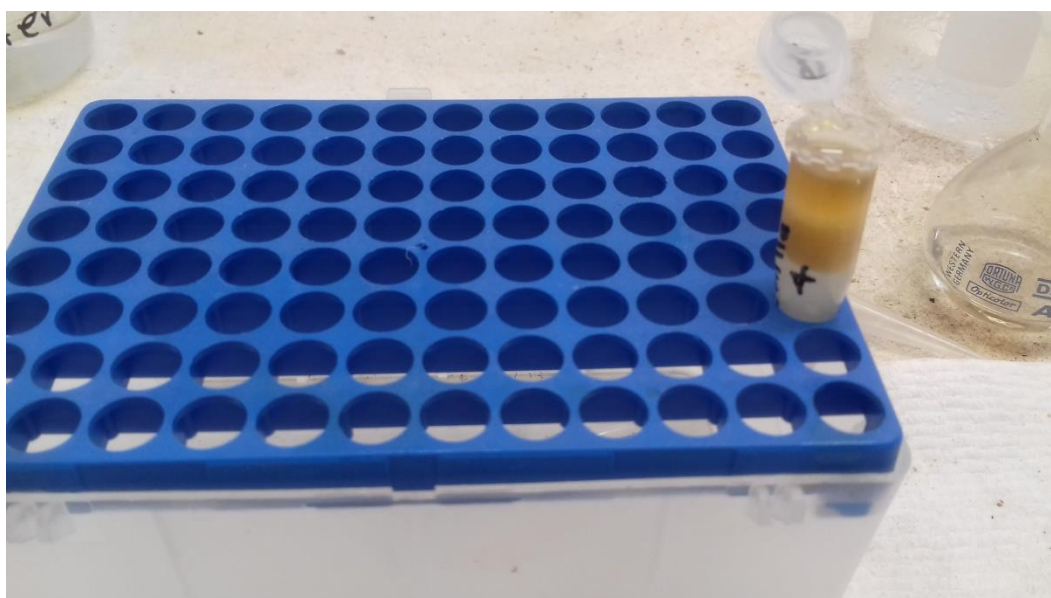
Apéndices

Apéndice A. Destilación de las hojas del *Anacardium Occidentale*



Apéndice B. Extracción del aceite esencial de la semilla del *Anacardium Occidentale*.

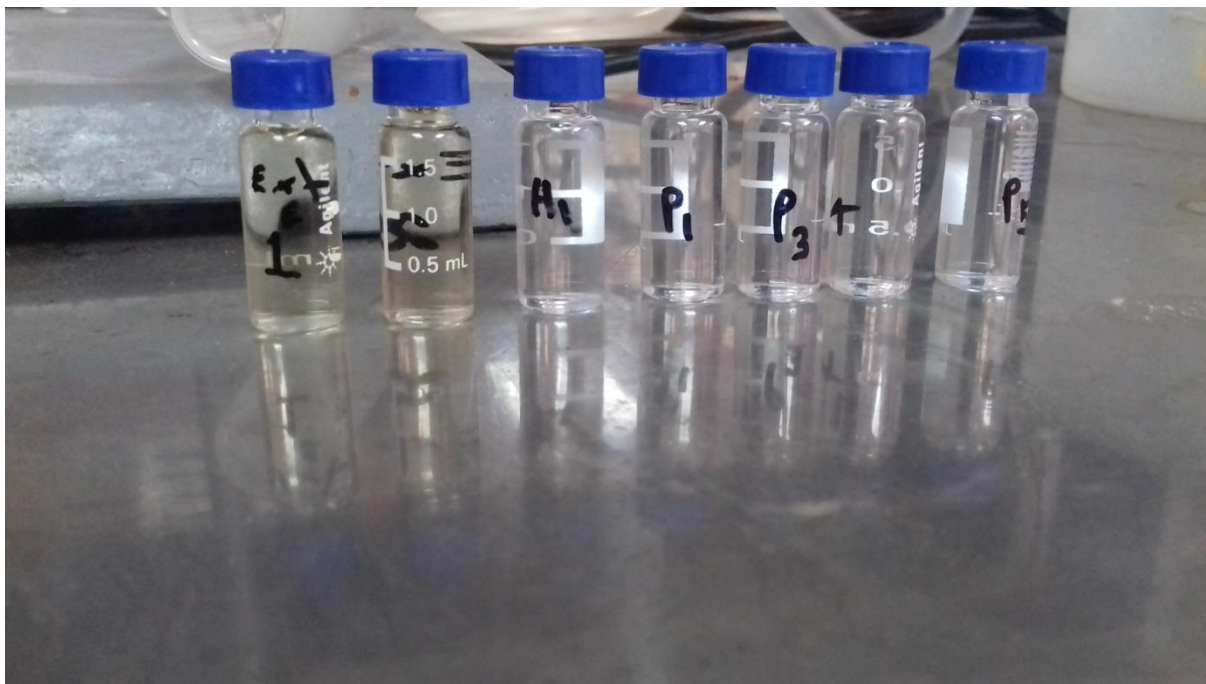


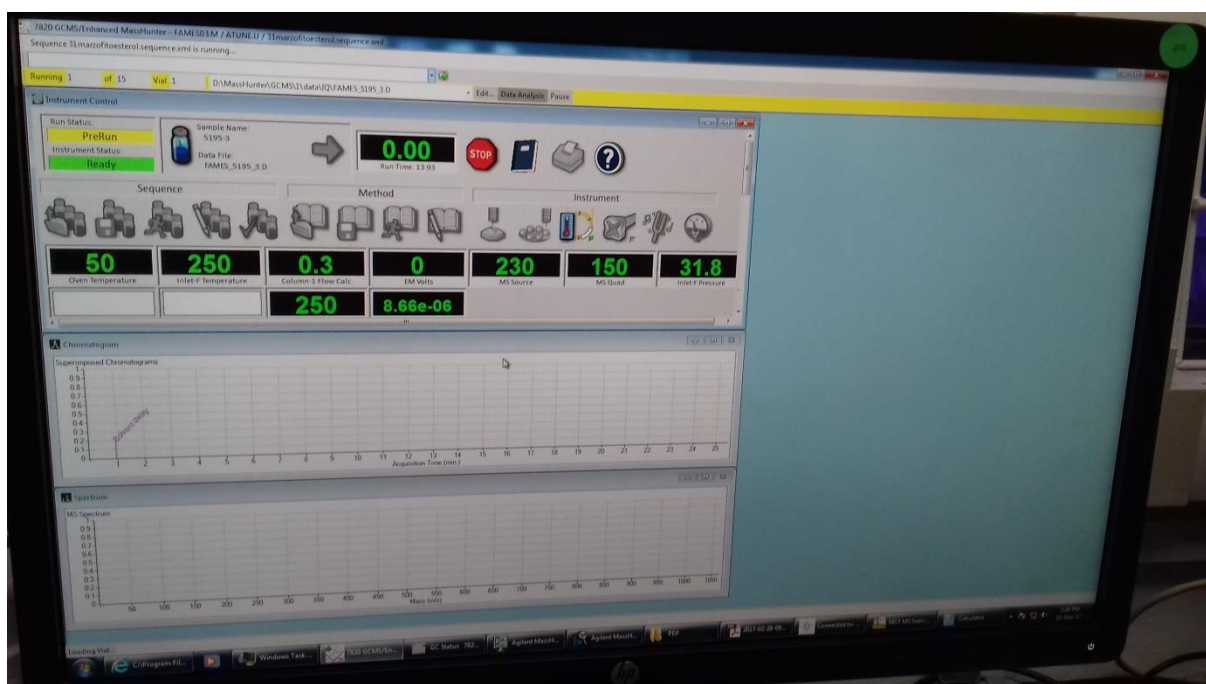


Apéndice C. Destilación del pseudofruto del *Anacardium Occidentale*



Apéndice D. Caracterización y cuantificación de los compuestos volátiles orgánicos del *Anacardium Occidentale*.





Apéndice E. Evaluación nutricional de los residuos-cáscaras de las semillas del *Anacardium Occidentale*.

Secado.



Homogenización de la muestra.

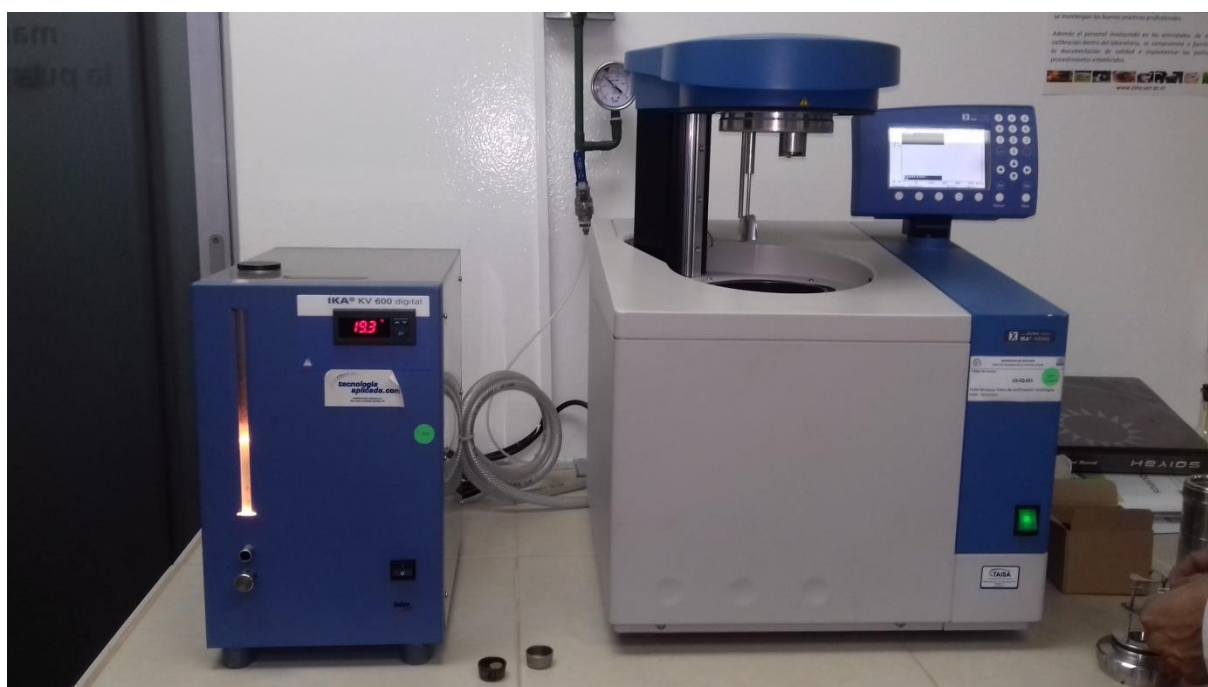


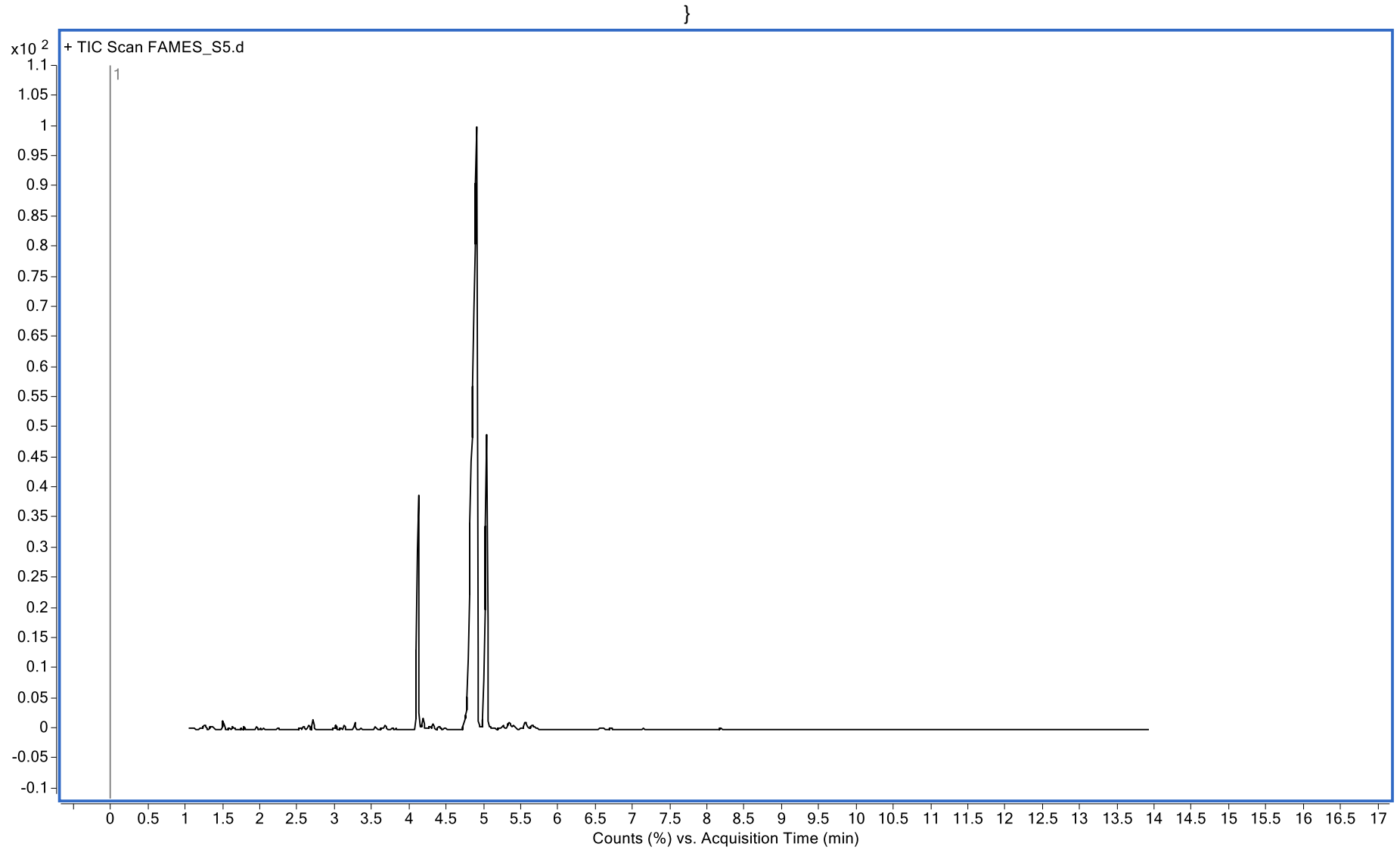
Resultado final (molienda).

Apéndice F. Análisis proximal de las cáscaras de las semillas de marañón.

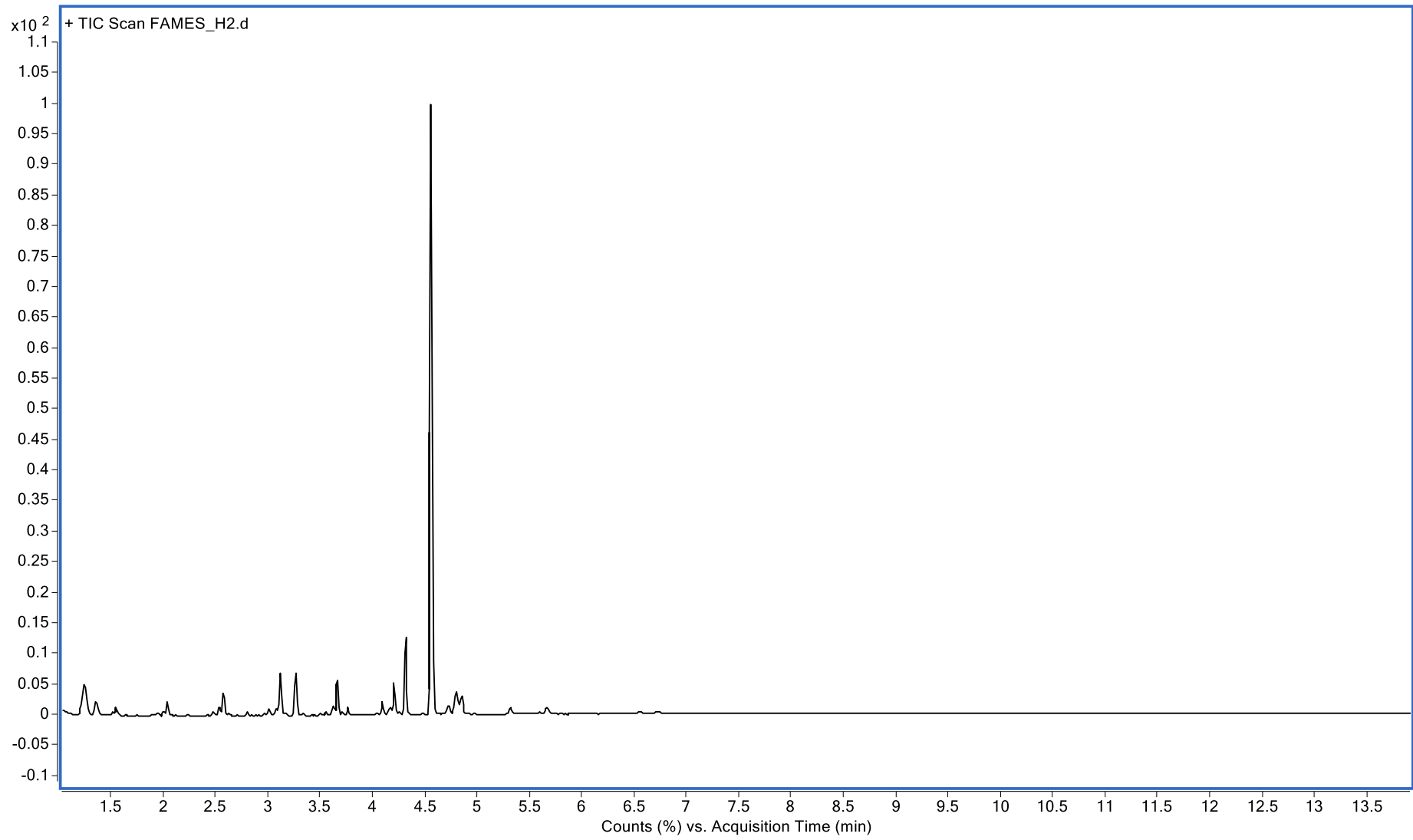
Cenizas.

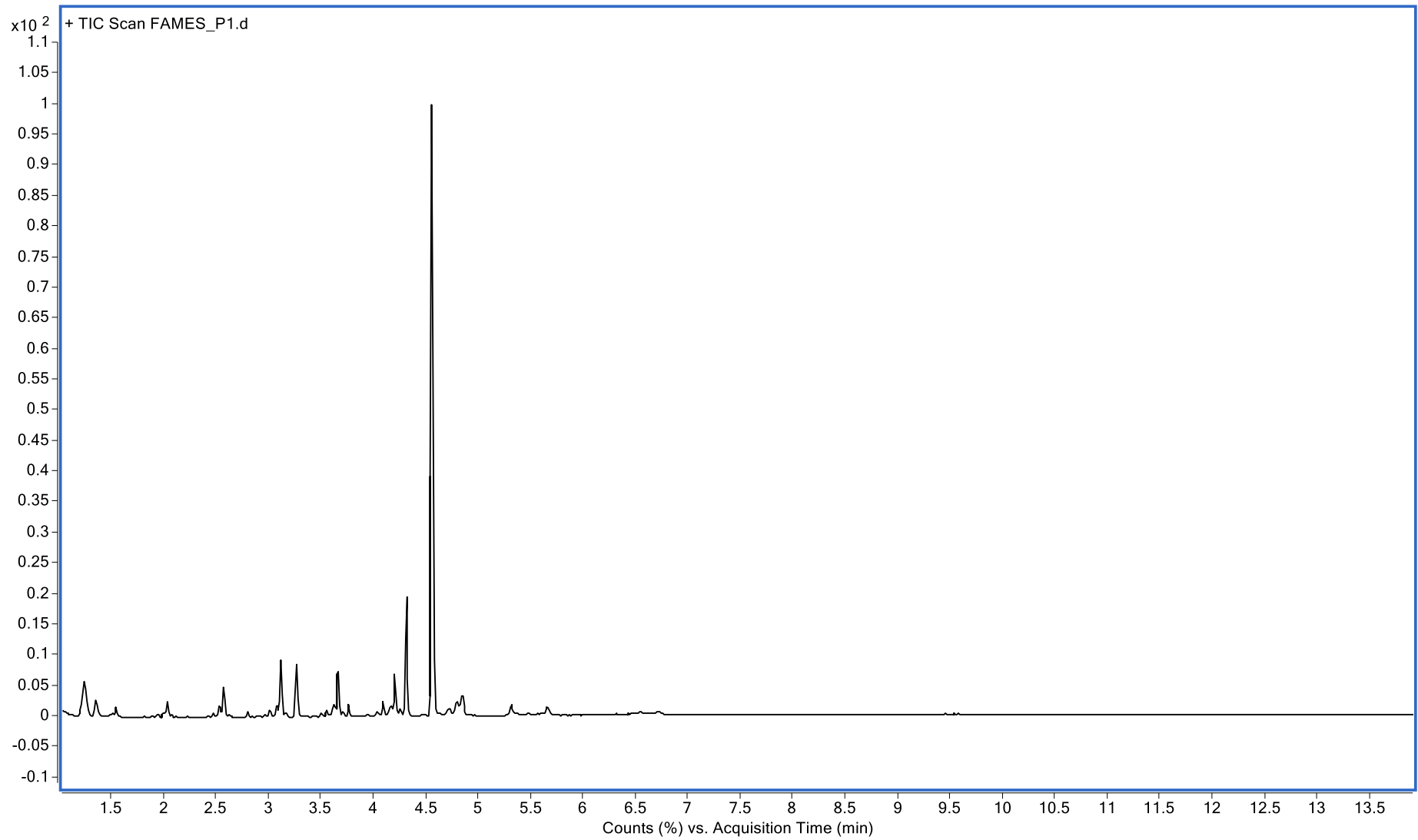


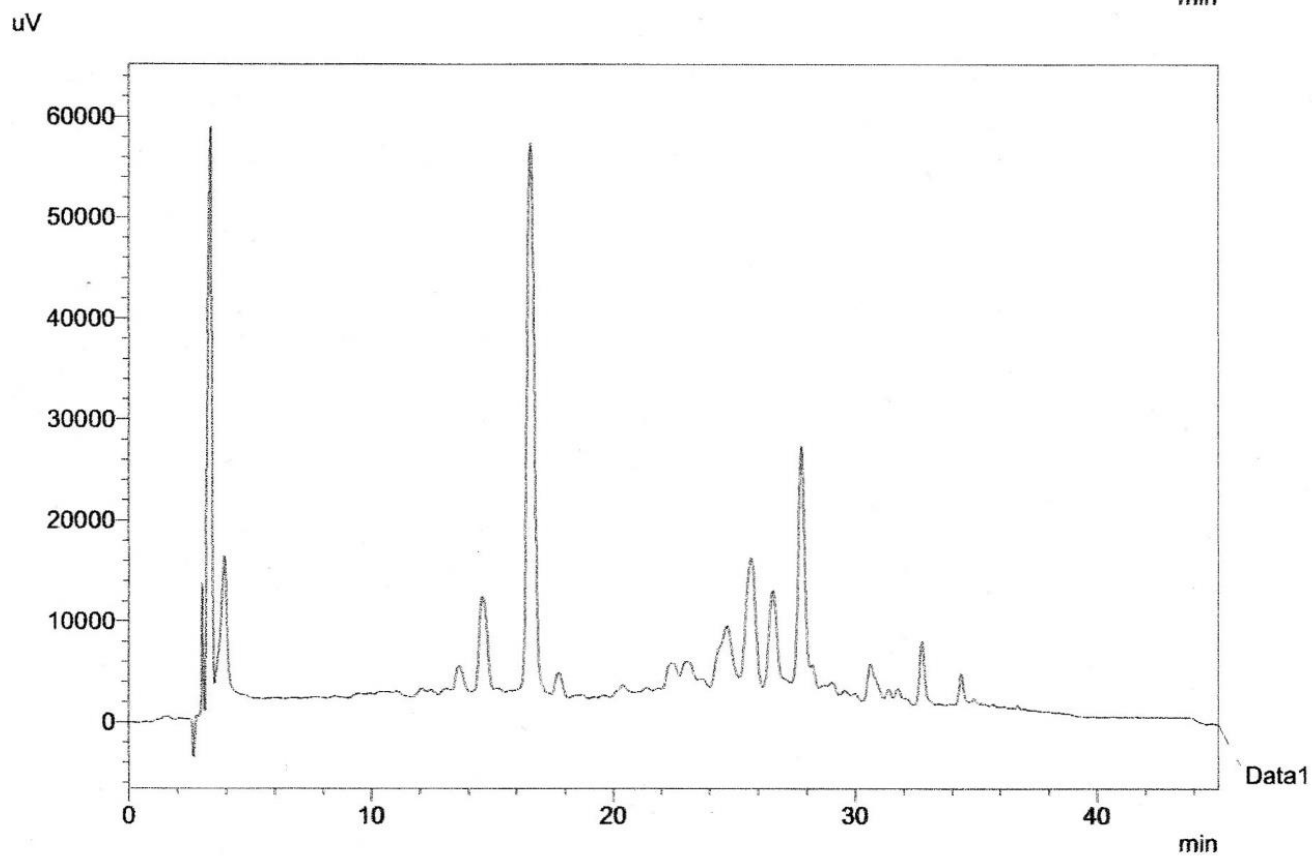
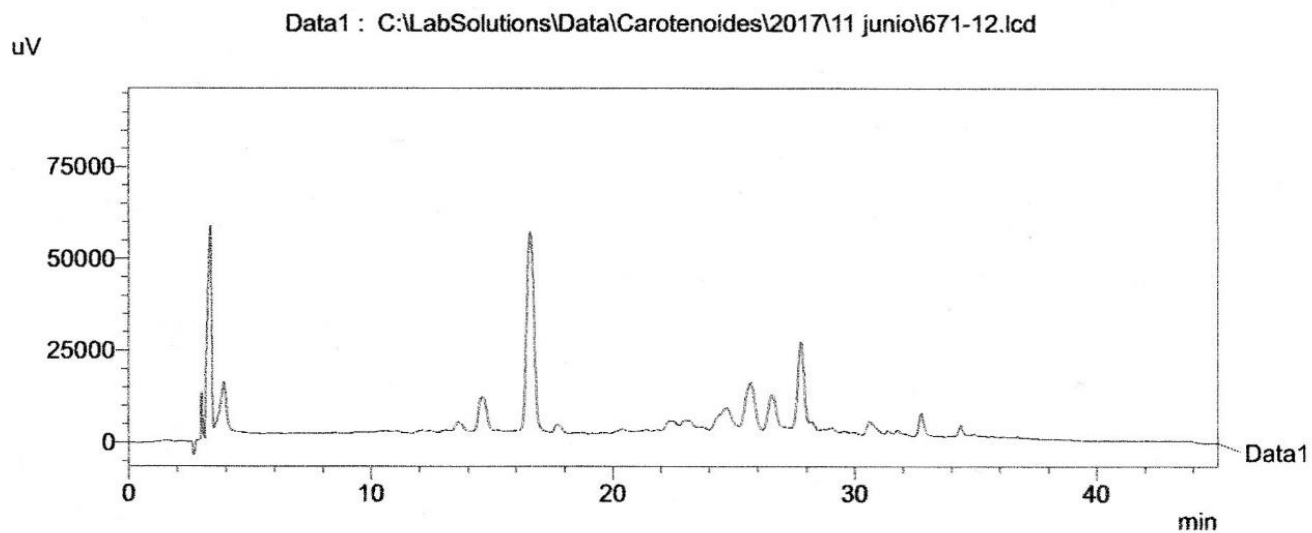
Extracto etéreo.**Energía Bruta.**

Apéndice G. Cromatograma del aceite de las semillas de marañón.

Apéndice H. Cromatograma del aceite de las hojas de marañón.



Apéndice I. Cromatograma del aceite del pseudofruto del marañón.

Apéndice K. Cromatograma de carotenoides presentes en el pseudofruto del marañón.

Apéndice L. Resultados de carotenoides totales presentes en el marañón**Muestra 1 analizada.**

$$\frac{2\,860,94\mu\text{g}}{100\text{ g}} \times \frac{1\text{ mg}}{1000\ \mu\text{g}} \times 100\text{ g} = 2,86094\text{ mg}$$

Muestra 2 analizada.

$$\frac{3002,18\mu\text{g}}{100\text{ g}} \times \frac{1\text{ mg}}{1000\ \mu\text{g}} \times 100\text{ g} = 3,00218\text{ mg}$$

Promedio de las muestras analizadas.

$$\frac{2,86094\text{ mg} + 3,00218\text{ mg}}{2} = 2,93156\text{ mg}$$

Incertidumbre de los resultados.

$$2,93156\text{ mg} \times 7,71\% = 22,6023$$