



Análisis del efecto del solvente en la extracción de compuestos polifenólicos del fruto del cascalote

Influence of extraction solvent on polyphenolic compounds from cascalote fruit

M. E Rivera-Badal¹, M. A Pantoja-Castro^{1*}, J. S López-Lázaro¹, E Del Ángel-Meraz¹, F López-Villarreal².

¹Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Avenida Universidad s/n Zona de la Cultura, Colonia Magisterial, CP 86690, Villahermosa, Centro, Tabasco, México

²Instituto Tecnológico de Villahermosa, Carretera Villahermosa-Frontera Km. 3.5 Ciudad Industrial, C.P. 86010, Villahermosa, Tabasco, México.

* Autor de correspondencia: mayra.pntj@gmail.com

Recibido 15 de agosto de 2020; aceptado 27 de septiembre de 2020

RESUMEN

Desde hace muchos años los compuestos polifenólicos han sido utilizados con aplicaciones en la medicina, industria del calzado, cosmética y de alimentos por mencionar algunas. Con el paso de los años estos compuestos fueron reemplazados por compuestos industriales hasta que de nuevo han cobrado interés buscando rutas de extracción eficiente, tipos de fuente para obtenerlos, así como efectuar la caracterización de sus compuestos. En este trabajo se llevó a cabo la extracción de compuestos polifenólicos del fruto no comestible del cascalote, el cual en algunos lugares es considerado un residuo. se analizó el efecto que tiene el uso de solventes (etanol y agua) en la extracción de estos compuestos polifenólicos empleando una temperatura de 65 °C con relaciones de etanol/agua en un 20/80 y 50/50, así como tres tamaños de partícula (2, 0.250 y 0.425 mm), y considerando el tiempo de extracción (una y dos semanas). Las muestras obtenidas fueron analizadas por cromatografía de gases acoplado a la espectroscopía de masas (GC/MS).

Los resultados indican que se obtiene un 61.02% de pirogalol (compuesto polifenólico) bajo las condiciones de tamaño de muestra de 0.425 mm, utilizando como solvente una mezcla de etanol con relación volumétrica de 50:50, y considerando dos semanas como etapas de extracción.

PALABRAS CLAVE: Compuestos polifenólicos, cromatografía, diámetro de partícula, maceración, pirogalol.

ABSTRACT

For many years, polyphenolic compounds have been used with applications mainly in medicine, footwear, cosmetics and food industries. Over the years these compounds were replaced by industrial compounds until they have again gained interest in search efficient extraction routes, source types to obtain them, as well as characterizing of all compounds. In this work, the extraction of polyphenolic compounds from the cascalote fruit considered as residue was carried out analyzing the effect of the use of solvents (ethanol and water) on the extraction of these polyphenolic compounds using a temperature of 65 °C, ethanol/water ratios of 20/80 and 50/50 respectively, as well as three particle sizes (2, 0.250 and 0.425 mm), and extraction time (one and two weeks). All samples obtained were analyzed by gas chromatography-mass spectroscopy (GC/MS). Results indicate that 61.02% of pyrogallol (polyphenolic compound) is obtained under next conditions: sample size of 0.425 mm, a mixture of ethanol with a volumetric ratio of 50:50 as solvent, and considering two weeks as extraction stages.

KEY WORDS: Chromatography, particle diameter, polyphenolic compounds, maceration, pyrogallol.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, los compuestos polifenólicos obtenidos de fuentes naturales han sido objeto de interés en muchas investigaciones científicas, lo anterior es debido a su efecto positivo sobre la salud humana y atribuidos principalmente a su capacidad antioxidante (Bucić et al., 2011). De manera general los potenciales beneficios de los polifenoles de las plantas se evalúan desde el concepto de estrés oxidativo y se relaciona con la inhibición del envejecimiento, enfermedades cardiovasculares y del sistema nervioso, siendo posible identificarlos como anticancerígenos, cardioprotectores, neuroprotectores (Santos et al., 2010; Pandey & Rizvi, 2009; Ghasemi & Ghasemi, 2010), antialérgicos, antiaterogénicos, antiinflamatorios y antimicrobianos.

También se han realizado estudios que han evaluado la capacidad antioxidante de los polifenoles frente a los radicales libres, y puntualizan que este tipo de compuestos con sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en uno de los anillos de su estructura química, se muestran más activos como antioxidantes. Este efecto es activado debido a que tiene un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo hidroxilo libre

en la posición 3, así como un grupo carbonilo en la posición 4. Por otra parte, un análisis usado para determinar cantidad de grupos hidroxilo y contenido de agua y degradación es por análisis térmicos (Pantoja et al., 2016).

Debido a lo anterior, la extracción de compuestos polifenólicos como pirogalol, guayacol, ácido palmítico y resorcinol, es un estudio que continua bajo exploración y en vías de obtenerlos (Decker,2014).

En el caso del pirogalol, también identificado por la IUPAC como 1,2,3-bencenetriol, es un importante derivado del fenol (polifenol), y se ha encontrado en muchas moléculas naturales y sintéticas tales como ácido gálico, ácido tánico y ácido húmico, también se encuentra presente en las catequinas que están presentes en las plantas y en los alimentos de origen vegetal, incluidas las bebidas tales como el té y el vino (Chire et al.,2020).

Otro compuesto de interés en este trabajo es el guayacol, el cual es útil para la síntesis de otros compuestos, además de ser componente potencial o precursor de los "combustibles verdes"(Korenman et al., 2012); el ácido palmítico, usado en el sector salud ya que ayuda a proteger y renovar las membranas mucosas y regeneración de la piel, y también es usado en el sector

industrial como producto de base para detergentes, inhibidores de hongos y similares (Castro et al., 2016); el resorcinol, este compuesto tiene un alto valor agregado en las industrias debido sus aplicaciones de colado de madera de calidad elevada y es un importante intermediario en la fabricación de especialidades químicas (colorantes, productos farmacéuticos, productos químicos agrícolas y cosméticos) (Pandey & Rizvi, 2009)

Estos compuestos polifenólicos se encuentran distribuidos en diferentes especies, principalmente árboles, siendo algunas de las familias de tipo: Leguminosae, Rosaceae, Polygonaceae, Fagaceae, Caesalpinaceae, Rhyzophoraceae, Melastometaceae y Myrtaceae, entre otras en donde más se pueden encontrar.

La especie *Caesalpinia coriaria* (Figura 1), perteneciente a la familia Caesalpinaceae, conocida en algunas regiones de México con el nombre de "cascalote" y que sus frutos no comestibles son considerados como residuos (Palasap et al., 2014).

Se trata de una especie importante por los extractos presentes en sus vainas, con evidencia de ser una fuente

rica de ácidos gálicos y tánicos (Pérez, 2019; Veloz et al., 2018).

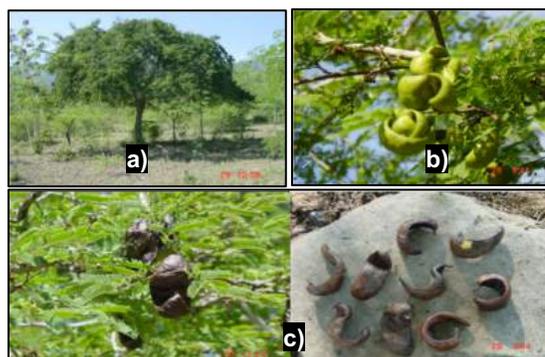


Figura 1. a) árbol de cascalote b) fruto no maduro c) fruto maduro (Palma, & Román, 2016)

Es así como el estudio para extraer e identificar los extractos polifenólicos (pirogalol, guayacol, ácido palmítico y resorcinol) en esta especie, representa un área de interés incluido también desde el punto de vista económico, ya que se le vuelve a dar un valor agregado a esta fruto no comestible, además de fomentar el cultivo de una especie que es silvestre, ya que generalmente crece en suelos pobres, bajo condiciones de sequía, y que además actualmente tanto a su madera como a sus derivados se le da muy poco uso.

En este trabajo se busca estudiar el efecto del solvente (dos relaciones de etanol y agua) en el proceso de extracción de estos compuestos y su identificación, el cual además se llevará considerando tres tamaños de partícula (2, 0.250 and 0.425 mm), relaciones de etanol:agua 80/20 y 50/50 y tiempo de extracción (una y dos semanas).

Una vez realizado el proceso de extracción para cada condición bajo estudio, se analizarán de forma visual las muestras, además de identificar y cuantificar los productos de las muestras empleando cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las vainas del fruto no comestible del cascalote fueron obtenidas en el estado de Michoacán, posteriormente fueron tratadas en las instalaciones de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, considerando las siguientes etapas:

1. *Limpieza de las vainas*: todas las impurezas se removieron en las vainas tales como piedras pequeñas, terrones, telarañas y hoja seca proveniente de la misma recolección ya que se tomaron del suelo en diferentes cantidades.

2. *Lavado*: las vainas de cascalote se sometieron a un proceso de lavado con agua de la llave, para así obtener el producto libre de cualquier otra sustancia como polvo.

3. *Secado*: una vez lavadas las vainas se procedió a secarlas de manera natural por un día, y posteriormente se secaron a peso constante en una estufa a una

temperatura aproximada de 60°C para evitar dañar los compuestos de interés.

4. *Molienda y trituración*: con el fin de reducir el tamaño de las vainas secas, se trató la muestra en un molino eléctrico, se consideraron tres tamaños de partícula diferentes.

5. *Tamizado*: la muestra triturada se separó usando tamices tipo Tyler y empleando tres tipos de mallas (60, 40 y 10). A partir de estas mallas se obtuvieron tres muestras con diámetros de partícula aproximados de 2, 0.250 y 0.425 mm. Posteriormente, estas muestras fueron almacenadas en un frasco limpio.

6. *Proceso de extracción*: una vez obtenidos los tres tamaños de partícula, se realizó la extracción para cada tamaño usando el proceso de extracción por maceración, y considerando para cada tamaño una relación volumétrica 1:10 muestra:solvente y dos relaciones % volumen de etanol/agua (80/20 y 50/50) a una temperatura constante de 65 °C. En la Tabla 1 se presentan las condiciones de extracción de cada muestra, y el nombre con el cual se identificaron.

Cabe destacar que la muestra 20/80 (etanol/agua) fue realizada, pero al contener una mayor cantidad de agua, favorece y ocurre en poco tiempo el proceso de

descomposición (se fermentan) de las muestras y los resultados varían notablemente, lo cual no ocurre cuando se tienen mayores concentraciones de alcohol.

Es así como el estudio se centró en las relaciones con mayor contenido de etanol.

Tabla 1. Condiciones de extracción empleadas e identificación de muestras.

Relación etanol/agua	Tamaño de partícula en mm (malla usada)	Nombre de la muestra
80/20	2 (10)	EWA10C
80/20	0.425 (40)	EWA40C
80/20	0.250 (60)	EWA60C
50/50	2 (10)	EWB10C
50/50	0.425 (40)	EWB40C
50/50	0.250(60)	EWB60C

7. *Análisis visual:* Una vez concluido el proceso de extracción, se realizó un análisis visual de cada muestra, y se le dio seguimiento comparándola respecto a cada variable bajo estudio.

8. *Caracterización de las muestras:* En total se obtuvieron 12 extractos de acuerdo a las condiciones de la Tabla 1, y cada una de las muestras fueron analizados por cromatografía de gases acoplado a la espectroscopía de masas (GC/MS), colocando directamente las muestras en viales sellados en un

cromatógrafo marca Shimadzu modelo GCMS-QP2010 Ultra, el cual emplea una columna SH-Rxi-5Sil MS de sílice fundida de 30 m con un diámetro interno de 0.25 mm y un diámetro de la fase de 0.25 μ m.

El puerto de inyección de este equipo trabajó a 200 °C, y se le inyectó a la corriente de gas inerte, que funciona como gas de arrastre (helio), una cantidad pequeña de aproximadamente 2 ml de cada muestra, seguida de un proceso de evaporación. Con este equipo se identificaron y cuantificaron los compuestos orgánicos presentes en todas las muestras.

RESULTADOS

Análisis visual

En la Tabla 2 se presenta el análisis visual de las muestras en las semanas uno y dos de extracción considerado de forma adicional al finalizar el primer día. Los resultados encontrados a partir del análisis visual muestran los diferentes tipos de coloración entre las muestras para cada condición analizada, lo anterior es debido al proceso de extracción y mojado de las partículas. Se puede observar que en cada semana las muestras se van tornando de un diferente tono de color marrón debido a que existe una mayor superficie de contacto al disminuir el diámetro de partícula, permitiendo así el aumento en el

desprendimiento de pigmentos al tener mejor contacto de mojado, entre el poro de cada partícula. De forma preliminar el análisis visual de las muestras AWA40C y AWB40C, podría deducirse que tendrán una mayor concentración de taninos respecto a las otras muestras, ya que el color que presentan es más intenso debido a que los polifenoles son conocidos por su importante capacidad colorante. Esto se corroborará con análisis GC/MS.

Tabla 2. Análisis visual del comportamiento de las muestras en cada etapa de extracción.

Muestra	Día 1	Semana 1	Semana 2
EWA10C			
EWA40C			
EWA60C			
EWB10C			
EWB40C			
EWB60C			

Caracterización de polifenoles por cromatografía de gases acoplado a espectroscopía de masas (GC/MS)

Una vez realizado el análisis cromatográfico correspondiente a cada etapa de extracción, se determinó para cada una de las muestras el contenido de pirogalol en %volumen. Los resultados obtenidos mostraron importantes variaciones en el contenido del pirogalol con respecto al tamaño de partícula (0.250 mm, 0.354 mm y 0.420 mm), el contenido de etanol-agua (80-20 y 50-50) y el tiempo de maceración (una y dos semanas). Para las muestras EWA10C, EWA40C y EWA60C los resultados comparativos se muestran en la Figura 2, en donde se puede observar que la muestra EWA40C obtiene mejores resultados de extracción, debido al tamaño de muestra partícula (0.425mm) aumentando el porcentaje de extracto de 56.04% en la primera semana al 61.02% en la segunda semana de extracción.

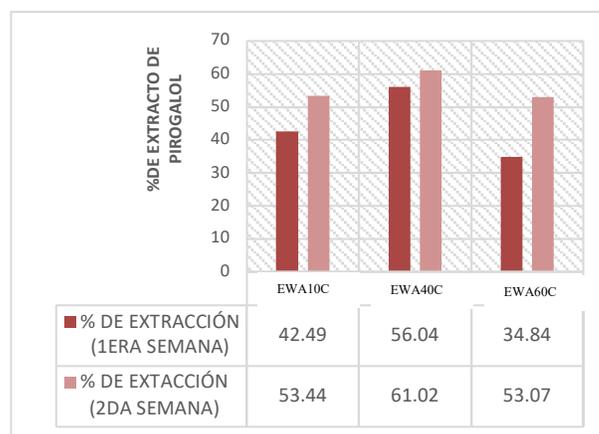


Figura 2. Porcentaje de extracción de pirogalol de las

muestras EWB10, EWB40C y EWB60C.

Para las muestras EWB10C, EWB40C y EWB60C se observó el mismo comportamiento con respecto al tiempo de extracción de las muestras como se aprecia en la Figura 3.

La muestra EWB40C mostró los mejores resultados dando un porcentaje de extracto de pirogalol en la primera semana de 47.22 % y aumentando en la segunda semana de extracción en un 56.6 %.

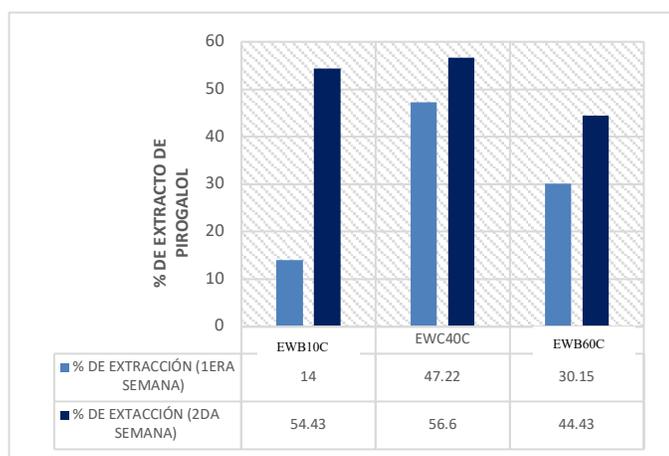


Figura 3. Porcentaje de extracción de pirogalol de las muestras EWB10, EWB40C y EWB60C.

Por otra parte, en la Tabla 3 también se muestran trazas de compuestos activos con valor agregado que se encontraron en la segunda semana de extracción. El proceso de extracción por maceración permitió obtener compuestos polifenólicos. Se observa que las características antioxidantes mejoran con el tiempo de exposición, se alcanzó valores máximos en

caracterización por cromatografía de gases acoplado a la espectroscopía de masas (GC/MS) en las muestras con mayor tiempo en ser extraídas. Es así como este análisis, permitió en cada una de las muestras identificar los compuestos principalmente de tipo polifenólico, así como determinar el porcentaje en el cual se encuentran presentes.

Tabla 3. Identificación de compuestos presentes en el fruto del cascalote

Compuesto	EW A 10C	EW A 40C	EW A 60C	EW B 10C	EW B 40C	EW B 60C
Pirogalol	53.4	61.0	53.07	54.43	56.6	44.43
5hidroximetri l-furfural	36.4	45.0	38.06	28.1	30.0	33.32
Ácido palmítico		7			4	
Resorcinol	6.68	4.98	3.89	1.15	1.2	6.71
Guayacol	1.35	--	--	0.43	0.23	--
Ácido linoleico	--	--	0.72	2.31	--	--
	--	--		--	1.01	--

Dentro de los compuestos que se identificaron principalmente en todas las muestras se encontró en mayor proporción el pirogalol (más del 50%), dicho compuesto pertenece a los taninos hidrolizables, y es considerado como un tanino simple.

En la Figura 4 se presenta el cromatograma obtenido de la muestra en la que se obtuvo una mayor concentración de pirogalol y que corresponde a EWB40C, en la cual se

logró evidenciar la presencia de dos bandas claras y definidas; una correspondiente al 1,2,3 bencenetriol (pirogalol), permitiendo así obtener un compuesto polifenólico en abundancia en las condiciones bajo estudio.

Por otra parte, las Figuras 5, 6 y 7 ponen en evidencia la presencia de los compuestos obtenidos en mayor proporción a través de sus respectivos cromatogramas a las dos semanas de extracción, siendo estos: el guayacol obtenido de la muestra EWB10C, el ácido palmítico obtenido de la muestra WWB60C y el resorcinol obtenido en la muestra AWB10C respectivamente.

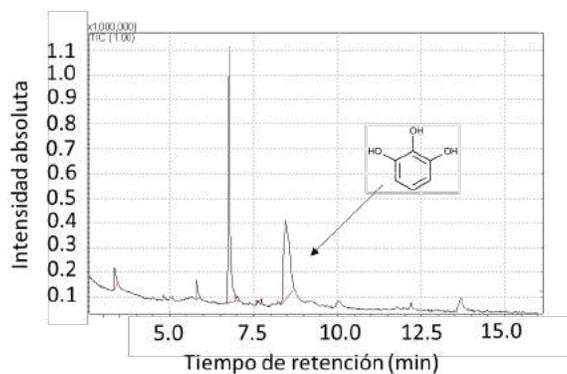


Figura 4. Cromatograma de la muestra (EWB40C) identificando al pirogalol.

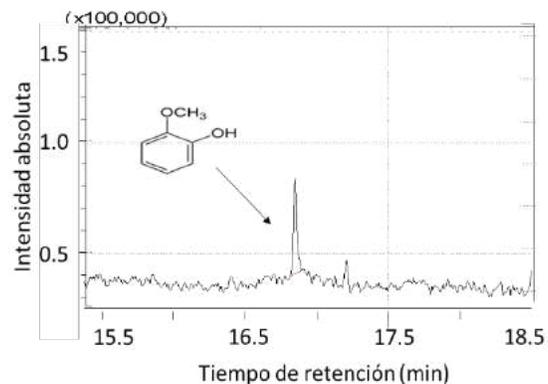


Figura 5. Cromatograma de la muestra (EWB10C) identificando al guayacol.

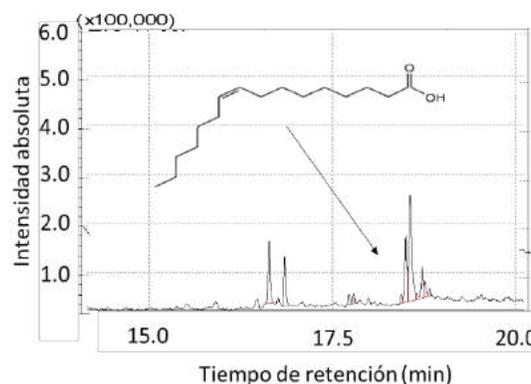


Figura 6. Cromatograma de la muestra (EWB10C) identificando al ácido palmítico.

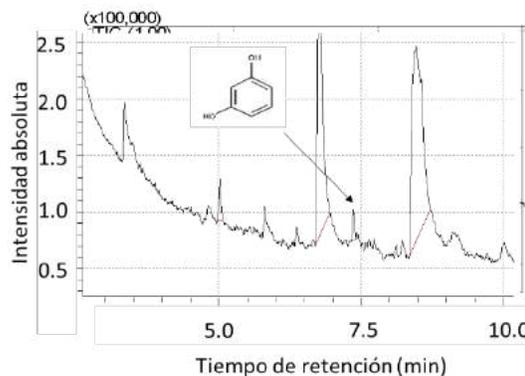


Figura 7. Cromatograma de la muestra EWB10C

identificando al resorcinol.

Otros autores reportan que ha sido posible extraer compuestos polifenólicos de otras especies similares al árbol de cascalote, variando la metodología en su obtención sus resultados se muestran en la Tabla 4, los cuales varían de acuerdo con factores en la metodología de extracción, teniendo diferentes variables como: muestra para el análisis, método de extracción, solvente (puro o mezclas), llegando a obtener hasta un 59.72% utilizando variables similares a las establecidas en este trabajo, como solvente mezclas de etanol/agua, y utilizando maceración tradicional para la obtención de compuestos polifenólicos.

Es así como el uso de diferentes partes de la planta o árbol a utilizar para obtener compuestos polifenólicos es sin duda un factor determinante en resultados esperados,

García et al. (2011) y Marrero (2016) estudian que el uso de hojas como obtención polifenólicas no es un proceso viable, teniendo resultados menores de 30%, siendo óptimo el uso de semillas y vainas (Soto, 2015), el cual fue un proceso similar utilizado en este trabajo, y obteniendo resultados aproximados en ambos al 60%.

Tabla 4. Comparación de extractos polifenólicos obtenidos en especies diversas obtenidos en familias del árbol de cascalote.

Especie y parte usada	Método de extracción	Solvente	% de extracto polifenólico
Caesalpinea coraria (Jacq. Willd (hojas y vainas) (Mora et al., 2018)	Extracción Soxhlet	Etanol	35.5 %
Caesalpinea spinosa (vainas) (Cortez, 2012)	Maceración tradicional	Etanol Agua	43.469% 13.174%
Terminalia Catappa (hojas) Marrero y Morales (2016)	Extracción asistida por ultrasonido	Metanol	10.8%
Planta de chia (vaina) Soto (2015)	Maceración tradicional	Agua/ acetona	59.72%
Syringodium filiforme (hojas) García et al. (2016)	Maceración tradicional	Etanol/ agua	29.00%

Por otra parte, la técnica de extracción a utilizar presenta significancia para resultados como los reportados por Cortez (2012) y Soto (2015), en donde identifican que con la maceración tradicional se obtienen resultados importantes para la obtención de extracto polifenólico mayores a un 40%, técnica utilizada en este trabajo; mientras que el uso de extracción Soxhlet y extracción asistida por ultrasonido presentan porcentajes de extracto polifenólico menores al 30% tal como nos muestra Mora et al. (2018) y Marrero & Morales (2016).

Así mismo se puede deducir que el uso de solventes en la extracción puede beneficiar los resultados esperados; el uso de mezclas para la obtención de polifenoles puede ser de gran énfasis como muestra Soto (2015) utilizando una mezcla de acetona/agua, mientras que el utilizar otros tipos de solventes como vía en la extracción como metanol, aparte de ser de gran riesgo tóxico muestra resultados menores al 10% (Marrero & Morales, 2016).

CONCLUSIONES

El fruto no comestible de la *Caesalpinia coriaria* o cascote considerado casi en su totalidad como residuo orgánico, representa una fuente de compuestos polifenólicos de uso considerable en diferentes industrias, lo que le otorga a este residuo un valor agregado.

A partir de los resultados de este trabajo se pone de evidencia que condiciones de extracción como: tiempo, tipo de disolventes, relaciones solvente:agua y tamaño de partícula de la muestra, afectan significativamente la extracción de compuestos en esta especie, también la cantidad de agua usada como solvente en la extracción de compuestos fenólicos de este fruto, representa un factor importante a considerar, ya que a mayor cantidad de agua, se observó que hay degradación del extracto

(se presenta un proceso de fermentación que no permite tener resultados confiables), siendo la relación etanol/agua en un 80/20 y 50/50 más fácil de analizar.

Los resultados de este trabajo mostraron que el empleo de un mayor tiempo en extracción de la muestra es un factor a considerar para la obtención de los cuatro extractos de tipo polifenólicos en este fruto y que son considerados de interés, los cuales fueron el pirogalol, guayacol, ácido palmítico y resorcinol, encontrándose que principalmente el pirogalol se obtuvo en mayor concentración en todas las muestras analizadas, por arriba del 50%, siendo la muestra EWA40C (malla intermedia) donde se obtuvo en un 61%, mientras que el guayacol se obtuvo como máximo en la muestra EWA10C (malla 10, la de diámetro de mayor tamaño) en un 2.31%, el ácido palmítico se obtuvo en un 2.31%, en cada una de estas muestras la relación etano/agua usada fue la de 80/20 mientras que para la muestra EWA60C (partícula de diámetro más fino), y para el resorcinol se obtuvo un valor máximo del 1.35% en la muestra EWB10C para una relación etanol/agua de 50/50. Es así como a partir de este proceso de bajo costo y usando mezclas (etanol:agua) como solventes de baja toxicidad, y como factor principal el tiempo de extracción por maceración de dos semanas, es

posible obtener pirogalol en un porcentaje de hasta un 61%, además de otros compuestos de interés como guayacol, ácido palmítico y resorcinol, lo que le confiere un valor agregado al fruto no comestible del cascalote al contener este tanino de tipo hidrolizable.

BIBLIOGRAFÍA

- Bucić A., Planinić M., Srećko T., Jokić S., Mujić I., Bilić M. & Velić D. (2011). Effect of Extraction Conditions on the Extractability of Phenolic Compounds from Lyophilised Fig Fruits (*Ficus Carica* L.). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 61, 195–199.
- Santos C., Escribano M. & Lattanzio V. (2010). *Recent Advances in Polyphenol Research*. Londres, Reino Unido. Editorial Blackwell Publishing.
- Pandey K. & Rizvi S. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 22(3), 277–28.
- Ghasemi K. & Ghasemi Y. (2010). No TitlAntioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(3), 277–28.
- Pantoja-Castro, M., & Gonzalez-Rodriguez H., (2011) Study by infrared spectroscopy and thermogravimetric analysis of tannins and tannic acid. *Revista latinoamericana de química*, 39, 3, 107-112.
- Decker E. (2014) Phenolics: Prooxidants or antioxidants. *Nutritional Reviews*, 55: 396–398.
- Chire C., Ureña O., & Hartel, R. (2020). Composición de ácidos grasos y contenido de sólidos grasos de cacao peruano para la producción de chocolate óptimo. *Revista chilena de nutrición*, 47(1), 50-56.
- Korenman Y. I., Alymova A. & Vatutina I. (2012). Application of solvents mixtures based on tributylphosphate for selective extraction-sorption concentrating of phenol and guayacol. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 246(3), 629-634.
- Castro L., Alañón M., Rodríguez V., Pérez, M., HermosínI., Díaz M., Jordán J., Galindo, M & Arroyo M. (2016). Bioactive flavonoids. Antioxidant behaviour and cytoprotective effects of dried grapefruit peels (*Citrus paradisi* Macf.). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1, 1–12.

- Pandey K. & Rizvi S. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 22(3), 277–28.
- Palasap A., Limpiboon T., Boonsiri P., Thapphasaraphong S., Daduang S., Suwannalert P. Y Daduang J. (2014). Efectos citotóxicos de los fitofenólicos de *Caesalpinia mimosoides* Lamk. en líneas celulares de carcinoma cervical a través de una vía apoptótica. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(2) 449–454.
- Pérez S. (2019). Caracterización fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos de aceite de semilla de puro (*passiflora pinnatistipula cav*) procedente de residuos agroindustriales. *Revista de química latinoamericana*, 49(3), 15-35.
- Veloz A., Marín R., Veloz R., Muñoz C., Guevara L., Miranda R., González M., Torres I., Guzman H., Cardador A., Loarca G. y Guevara G. (2018) Antimutagenic and antioxidant activities of cascalote (*Caesalpinia cacalaco*) phenolics. *Journal Science. Food Agric*, 84, 1632–1638.
- Palma, J. & Román, L. (2016) Frutos de especies arbóreas leguminosas y no leguminosas para alimentación de rumiantes Agroforestería para la Producción Animal en América Latina. *Memorias de la Segunda Conferencia Electrónica*, 2,271-309.
- Cortez S. (2012). Obtención de Extracto tánico y Extracto gálico a partir de la harina de vaina de guarango (*caesalpinia spinosa*) (tesis de grado). Escuela superior politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Mora A., Román L., González A., & Barrientos L. (2018). Composición química del cascalote *Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd., y diversidad de usos en el medio rural, del trópico seco. *Revista de Investigación y Desarrollo*, 4(12), 24–28.
- Marrero D., & Morales L. (2016). Identificación de ácidos polifenólicos en el extracto metanólico de las hojas de *Terminalia catappa* Linn. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(2), 223-233.
- Soto A. (2015). Determinación de la capacidad antioxidante de las espigas de la planta de chíca (tesis de grado). Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- García G., Iglesias V., Laguna, A., Martínez D., & Lavaut G. (2011). Efecto antioxidante y contenido

polifenólico de *Syringodium* filiforme
(Cymodoceaceae). *Revista de Biología*
Tropical, 1, 2-14.