COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE PULPA, HOJA Y SEMILLA DE GUANÁBANA Annona muricata L.

Patricia Vit, Bertha Santiago y Elizabeth Mariana Pérez-Pérez

RESUMEN

La guanábana Annona muricata L. es una fruta tropical con interés actual por sus propiedades medicinales. Se comparó la composición proximal y la actividad antioxidante de la pulpa, las hojas frescas y secas, y las semillas de la guanábana. Los mayores contenidos de proteínas (14,77g/100g) y de grasa (25,75g/100g) se encontraron en las semillas. La pulpa mostró el mayor contenido de humedad (86,32g/100g) y las hojas secas el mayor contenido de cenizas (7,17g/100g). La actividad antioxidante de las fraccio-

nes estudiadas fue mayor en extractos etanólicos que en extractos metanólicos, al igual que el contenido de flavonoides y polifenoles. Los mayores valores de actividad antioxidante en los extractos etanólicos fueron de 306,0; 280,2 y 131,2µmol equivalentes Trolox/100g en la pulpa, hojas secas y semillas respectivamente. La pulpa de guanábana presentó el mayor contenido de flavonoides (574,0mg EQ/100g) y de polifenoles (941,4mg EAG/100g)

Introducción

La guanábana Annona muricata L. pertenece a la familia Annonaceae y es originaria de América, posiblemente de las Antillas (Hoyos, 1994). Su etimología procede del arawak wanabán (Tierra Americana, 1999), Annona del nombre taíno anona, y muricata del latín, en el que significa erizado, por el aspecto espinoso de la cáscara. Su importancia económica como árbol frutal ha crecido para proyectarse en la industria de la perfumería y farmacología, donde se aprovechan también las hojas y las semillas.

En Venezuela la pulpa de guanábana se consume fresca o se procesa y comercializa congelada (Vit et al., 2002). Las hojas y las semillas tienen usos en medicina tradicional por su capacidad antitumoral, parasiticida y antidiarreica (Bories et al., 1991; Santos Pimenta et al., 2003). Recientemente, las propiedades anticancerígenas de la guanábana Annona muricata (Arroyo et al., 2005) aumentan el interés esta fruta,

muy apreciada ya por sus atributos sensoriales en numerosas preparaciones tradicionales, desde el batido de fruta, jugos, helados y conservas, hasta elaborados postres tales como el merengón (Hoyos, 1994; Scannone, 2005).

Si bien la familia Annonaceae es cultivada en numerosos países por sus abundantes cosechas, llama la atención que ningún fruto de sus numerosas especies fue incluido en el estudio de propiedades nutricionales de veinte frutas exóticas (Dembitsky et al., 2011). En la Tabla de Composición de Alimentos (INN, 2001) se reportan los siguientes valores nutritivos para 100g de la parte comestible de la guanábana: 63 calorías; 83,1g agua; 1,0g proteína; 0,4g grasa; 14,9g carbohidratos totales; 0,6g cenizas; 2mg Ca; 0,13mg Cu; 28mg P; 0,5mg Fe; 20mg Mg; 275mg K; 14mg Na; 0,34mg Zn; y las vitaminas tiamina (0,07mg); riboflavina (0,05mg); niacina (0,9mg); B6 (0,06mg); ácido ascórbico (26mg). No se tienen referencias para el contenido de fibra de frutos venezolanos, pero Ramulu y Udayasekhara (2003) encontraron en *Annona squamosa* 23,6g de fibra dietética total/100g pulpa de guanábana; de los cuales 17,17g de fibra insoluble y 6,49g de fibra soluble.

En este trabajo se comparó la composición proximal (humedad, cenizas, proteínas y extracto etéreo), contenido de flavonoides y polifenoles, así como la actividad antioxidante, en extractos etanólicos y metanólicos de la pulpa, semillas y hojas frescas y secas de *A. muricata*.

Materiales y Métodos

Guanábana

Se recolectaron 2kg de frutos y de hojas de guanábana en la ciudad de Mérida, Venezuela, y se preparó un voucher para el Herbario MERF, Mérida, Venezuela. Este material fue identificado por Juan Carmona. Los frutos se despulparon manualmente y se extrajeron las semillas. Las hojas se separaron en dos grupos, uno de los cuales se secó en la estufa a 70°C durante 8h.

Composición físicoquímica

Se realizaron las determinaciones proximales de humedad, cenizas y extracto etéreo por métodos gravimétricos, y proteínas por el método Kjeldhal (AOAC, 1975). Los carbohidratos se calcularon por diferencia.

Preparación de extractos alcohólicos

Se pesaron $0,10 \pm 0,01g$ de hojas frescas, hojas secas, pulpa y semilla de guanábana y se mezclaron con 5ml de etanol (Merck, Darmstadt, Germany) o metanol (Merck, Darmstadt, Germany) en un homogeneizador de vidrio (Thomas No A3528, EEUU). Los homogenados se centrifugaron en una centrífuga BHG Optima II (EEUU) a 3000rpm por 10min, y se usaron los sobrenadantes para los análisis bioquímicos. Así se obtuvieron extractos etanólicos y metanólicos al 2% (p/v), de hojas frescas y secas, pulpa y semillas de guanábana.

PALABRAS CLAVE / Actividad Antioxidante / Annona muricata / Composición Proximal / Flavonoides / Guanábana / Polifenoles /

Recibido: 30/07/2013. Modificado: 02/05/2014. Aceptado: 08/05/2014.

Patricia Vit. Licenciada en Biología y Magíster en Ciencia de los Alimentos, Universidad Simón Bolívar, Venezuela. Ph.D. en Biología, University of Wales, RU. Profesora, Universidad de Los Andes (ULA), Venezuela. Dirección: Departamento Ciencia de los Alimentos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA, Venezuela, Venezuela, e-mail: vitolivier@gmail.com

Bertha Santiago. Farmacéutica, Especialista de Gerencia y Servicios Asistenciales en Salud., ULA, Venezuela. Elizabeth Mariana Pérez-Pérez.

Licenciada en Biología, Magister en Biología Celular y Doctora en Biología, ULA, Venezuela. Profesora, ULA, Veneuela.

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE PULP, LEAVES AND SEEDS OF SOURSOP Annona muricata L.

Patricia Vit, Bertha Santiago and Elizabeth Mariana Pérez-Pérez

SUMMARY

Soursop Annona muricata L. is a tropical fruit of current interest for its medicinal properties. The compared proximal composition and antioxidant activity of the pulp, fresh and dried leaves, and seeds of soursop were compared. The highest contents of protein (14.77g/100g) and fat (25.75g/100g) were found in seeds. The pulp showed the highest moisture (86.32g/100g) and dry leaves the highest ash (7.17g/100g) content. The anti-

oxidant activity of the studied fractions was higher in ethanolic extracts than methanolic extracts, as also were flavonoid and polyphenol contents. The highest values of antioxidant activity in ethanol extracts were 306.0, 280.2 and 131.2µmoles Trolox equivalents/100g in the pulp, dried leaves and seeds, respectively. Soursop pulp had the highest contents of flavonoids (574.0mg OE/100g) and polyphenols (941.4mg AGE/100g).

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE POLPA, FOLHA E SEMENTE DE GRAVIOLA Annona muricata L.

Patricia Vit, Bertha Santiago e Elizabeth Mariana Pérez-Pérez

RESUMO

A graviola Annona muricata L. é uma fruta tropical com interesse atual por suas propriedades medicinais. Comparou-se a composição proximal e a atividade antioxidante da polpa, as folhas frescas e secas, e as sementes da graviola. Os maiores conteúdos de proteínas (14,77g/100g) e de gordura (25,75g/100g) se encontraram nas sementes. A polpa mostrou o maior conteúdo de umidade (86,32g/100g) e as folhas secas o maior conteúdo de cinzas (7,17g/100g). A atividade antioxidante das frações estuda-

das foi maior em extratos etanóicos que em extratos metanóicos, igual que o conteúdo de flavonóides e polifenóis. Os maiores valores de atividade antioxidante nos extratos etanóicos foram de 306,0; 280,2 e 131,2µmol equivalentes Trolox/100g na polpa, folhas secas e sementes respectivamente. A polpa de graviola apresentou o maior conteúdo de flavonóides (574,0mg EQ/100g) e de polifenóis (941,4mg EAG/100g)

Contenido de flavonoides, polifenoles y proteínas

Flavonoides. Se evaluó el contenido de flavonoides con el método de Woisky v Salatino (1998) ligeramente modificado. Se tomaron 0,5ml de extracto alcohólico de pulpa, semilla u hoja de guanábana v se añadieron 0,1ml de solución acuosa de AlCl₃ 20mg/ml (Fisher Scientific, New Jersey, EEUU). Se midió la absorbancia a 415nm luego de incubar por 30min a temperatura ambiente (25°C). El contenido de flavonoides se obtuvo a partir de una curva de calibración con quercetina (Sigma, Steinheim, Germany) y se expresó como mg equivalentes de quercetina (EQ)/100g guanábana. Se disolvió 10mg de quercetina en etanol al 80% (v/v) y luego se llevó hasta concentraciones de 25, 50 y 100µg·ml⁻¹. Las soluciones estándares (0,5ml) fueron mezcladas por separado con 1,5ml de etanol al 95% (v/v); 0.1ml de AlCl₃ al 10% (p/v); 0,1ml de acetato de potasio 1M; y 2,8ml de agua destilada. La cantidad de AlCl₃ fue sustituida por agua destilada en el blanco. De modo similar 0,5ml de extractos etanólicos y metanólicos de las muestras de guanábana en estudio se dejaron reaccionar con AlCl₃ para la determinación del contenido de flavonoides como se describe arriba. La concentración de flavonoides se expresó como mg equivalentes de quercetina (mg EQ/100g guanábana).

Polifenoles. El contenido de polifenoles se midió con el método de Singleton et al. (1999), el cual se basa en el método colorimétrico con el reactivo Folin-Ciocalteu. Para ello se mezcló 100µl del extracto alcohólico de pulpa, semilla u hoja de guanábana con 500µl del reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St. Louis, EEUU) y 400µl de carbonato de sodio (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) 7,5% (p/v). Se midió la absorbancia a 765nm luego de incubar por 10min en un baño a 37°C, usando como blanco 100ul de agua destilada. El contenido de polifenoles se obtuvo con una curva de calibración con ácido gálico (Sigma, Steinheim, Germany) 0,1g·1-1 (0; 0,25; 0,05 y 0,1g·1-1) y se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (mg EGA/100g guanábana).

Proteínas. La determinación de proteínas consistió en la técnica colorimétrica basada en el método de Lowry (1951). Primero se realizó una curva de calibración usando albúmina bovina (BSA; Riedel de Haën, Europe) como estándar (8mg BSA en 10ml H₂O MQ). A la solución de BSA se le midió densidad óptica a 279nm y se le determinó la concentración de proteínas (mg/100g guanábana).

Actividad antioxidante de extractos alcohólicos

Siguiendo el método de Re et al. (1999), una solución 7mM de ABTS (Sigma-Aldrich, Canadá) se mezcló 1:1 con una solución 4,9mM de persulfato de potasio (Merck, Darmstadt, Germany), para producir el catión radical ABTS⁺. Se diluyó con agua hasta obtener una concentración final de 2,45mM de ABTS⁺. La mezcla se tapó con papel aluminio durante 16h o más antes de su uso. Esta mezcla se diluyó con etanol al 20% (v/v) hasta alcanzar una

absorbancia comprendida entre 0,6 y 0,7 a 734nm, lo cual se logró mezclando ~40µl de la mezcla de ABTS y 960µl de etanol 20% (v/v). Luego se mezclaron 7,5ml de esta solución de etanólica de ABTS++ con 100µl de cada homogenato extraído con etanol o metanol, se agitó rápidamente, se midió el cambio de absorbancia a los 6min de reacción y se calculó el porcentaje de decoloración como (DO control - DO muestra de guanábana x 100/DO control (Re et al.., 1999). La curva de calibración se preparó para las concentraciones de 0; 0,625; 1,25 y 2,5mM usando 8mM Trolox (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) como antioxidante estándar. La actividad antioxidante total (AAT) es equivalente a la concentración de Trolox que produce el mismo porcentaje de decoloración y por ello se expresa como umoles equivalentes de Trolox (µmoles ET/100g guanábana).

Análisis estadístico

Las medias de la composición proximal y la actividad antioxi-

dante de las diferentes partes de la guanábana se compararon por ANOVA con análisis *post hoc* Scheffé (P<0,05).

Resultados

Composición proximal

En la Tabla I se presentan los resultados de los análisis proximales de diferentes partes de la guanábana. En esta caracterización fisicoquímica se aprecia que las hojas secas tienen el menor contenido de humedad, y consecuente mayor contenido de cenizas, extracto etéreo, proteínas y carbohidratos. Las semillas tienen un elevado contenido de grasas (25,75g/100g).

Contenido de flavonoides, polifenoles y proteínas

En la Tabla II se puede observar que, en general, los valores de los tres parámetros en estudio: flavonoides, polifenoles y proteínas, son mayores cuando se usa etanol como solvente en la extracción, en comparación con aquellas muestras que fueron extraídas con metanol.

Actividad antioxidante

En la Tabla III se muestra la actividad antioxidante de los extractos alcohólicos de pulpa hojas secas, hojas frescas, y semillas estudiados; comparada con los controles químicos quercetina, melatonina y ácido lipoico.

Los mayores valores de actividad antioxidante se encontraron en las muestras de pulpa, seguidos de las muestras de hoja y semilla extraídas con etanol. Al igual que en las mediciones del contenido de flavonoides, polifenoles y proteínas, las fracciones de guanábana extraídas con etanol presentaron una mayor actividad antioxidante en comparación con los correspondientes extractos metanólicos.

Discusión

Composición proximal

Los resultados obtenidos en los análisis proximales realizados en la pulpa de guanábana son similares a los incluidos en la tabla

TABLA I COMPOSICIÓN PROXIMAL DE DIFERENTES PARTES DE LA GUANÁBANA A. muricata

Partes de la guanábana	Análisis proximales (g/100 g guanábana)			
	Humedad	Cenizas	Extracto etéreo	Proteínas
Hojas secas	9,87 ±0,01 a	7,17 ±0,01 c	2,94 ±0,02 b	13,92 ±0,20 c
Hojas frescas	$62,64 \pm 0,03$ c	$1,85 \pm 0,02 \text{ b}$	$0,70 \pm 0,02$ a	$5,63 \pm 0,25 \text{ b}$
Semillas	$13,74 \pm 0,02 \text{ b}$	$1,44 \pm 0,03 \text{ b}$	$25,75 \pm 0,03$ c	$14,77 \pm 0,48 d$
Pulpa	$86,32 \pm 0,01 d$	$0,29 \pm 0,03$ a	$0,60 \pm 0,03$ a	$0.32 \pm 0.05 a$

Los datos son media ±error estándar (n= 3). Valores con la misma letra en cada columna no son estadísticamente diferentes de acuerdo al ANOVA análisis post hoc Scheffé (P<0,05).

TABLA II CONTENIDO TOTAL DE FLAVONOIDES, POLIFENOLES Y PROTEÍNAS DE HOJA FRESCA Y SECA, PULPA Y SEMILLA DE LA GUANÁBANA *A. muricata*

Extractos alcohólicos de guanábana	Contenido de flavonoides (mg EQ/100g)	Contenido de polifenoles (mg EGA/100g)	Contenido de proteínas (mg proteínas/100g)
Hoja fresca (extracto etanólico)	$337,4 \pm 2,3 e$	$629,3 \pm 10,7 e$	$344,9 \pm 3,8 d$
Hoja fresca (extracto metanólico)	$250,5 \pm 10,7 c$	$549,5 \pm 3,3 d$	$258,8 \pm 3,3 \text{ c}$
Hoja seca (extracto etanólico)	$245,4 \pm 2,0 \text{ c}$	$766,4 \pm 5,7 \text{ f}$	$181,0 \pm 2,5 \text{ b}$
Hoja seca (extracto metanólico)	$97.3 \pm 3.9 a$	$375,3 \pm 2,3 b$	$145,8 \pm 1,9 a$
Pulpa (extracto etanólico)	$574,0 \pm 5,9 \text{ g}$	$941,4 \pm 5,2 \text{ g}$	$733,3 \pm 5,8 \text{ f}$
Pulpa (extracto metanólico)	$480,6 \pm 2,5 \text{ f}$	624,2 ±11,8 e	$589,3 \pm 3,5 e$
Semilla (extracto etanólico)	$309,2 \pm 3,3 d$	$451,4 \pm 9,7 \text{ c}$	$191,2 \pm 1,3 \text{ b}$
Semilla (extracto metanólico)	159,8 ±1,4 b	$280,8 \pm 4,6 a$	$156,4 \pm 1,1 a$
	159,8 ±1,4 b	280,8 ±4,6 a	156,4 ±1,1 a

Los datos son media \pm error estándar (n= 3). Los valores que comparten la misma letra en cada columna no son estadísticamente diferentes de acuerdo al ANOVA análisis post hoc Scheffé (P<0,05).

Composición de Alimentos del Instituto Nacional de Nutrición (INN, 2001) que se listan en la Introducción.

La pulpa de guanábana presentó un contenido proteico de 0,32g/100g, menor al reportado por Ramírez y Pacheco de Delahaye (2011) en base seca (4,96g/100g), al igual que menores valores de extracto etéreo y cenizas de la pulpa fresca (Tabla I) que los valores de grasa (2,03g/100g) y cenizas (3,62g/100g) en las harinas deshidratadas o en cálculos en base seca esperados por la concentración de estos macronutrientes. Sin embargo, no se encontró la humedad de la pulpa con la que se elaboró la harina en esta referencia.

El contenido de extracto etéreo observado de 25,75g/100g semillas es similar al 22% reportado por Restrepo y Vinasco (2010) en guanábana y en algodón (23%), ligeramente mayor que en la soya (18%) y mucho mayor que en el maíz (5%). En otro trabajo (Solís-Fuentes *et al...*, 2010) se informa que las almendras de las semillas de guanábana contienen 2,5% de cenizas, 17,9% de fibra cruda, 15,7% de proteí-

nas, 26,0% de carbohidratos y 37,7% de aceite (base seca).

Contenido de flavonoides, polifenoles y proteínas, y actividad antioxidante de los extractos alcohólicos

Los polifenoles que se consumen en la dieta son antioxidantes que secuestran radicales libres y previenen la oxidación biológica, la cual es uno de los principales factores etiológicos de muchas enfermedades crónicas como infartos y otras enfermedades cardíacas, cáncer, diabetes, envejecimiento celular, etc. (Elejalde, 2001).

Ramírez y Pacheco de Delahaye (2011) informan un contenido de polifenoles de 39,57mg EAG/100g en base seca, valor muy inferior al obtenido en los extractos etanólico y metanólico de la pulpa fresca en el presente

TABLA III ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL EN HOJA, SEMILLA Y PULPA DE GUANÁBANA *A. muricata*

Extractos alcohólicos de guanábana	Actividad antioxidante total (μmoles equivalentes de Trolox /100g de guanábana)		
Hoja fresca (extracto etanólico)	219,2 ±1,0 f		
Hoja fresca (extracto metanólico)	$182,3 \pm 2,0 d$		
Hoja seca (extracto etanólico)	$280,2 \pm 4,5 \text{ g}$		
Hoja seca (extracto metanólico)	$160.8 \pm 3.3 \text{ c}$		
Pulpa (extracto etanólico)	$306,0 \pm 2,3 \text{ h}$		
Pulpa (extracto metanólico)	$193,4 \pm 4,1 e$		
Semilla (extracto etanólico)	$131,2 \pm 1,9 \text{ b}$		
Semilla (extracto metanólico)	$86,6 \pm 1,1 a$		
Controles químicos			
Quercetina	$1055,9 \pm 23,8 \text{ k}$		
Melatonina	699,9 ±17,8 j		
Acido lipoico	424,5 ±13,3 i		

Los datos son media \pm error estándar (n= 3). Los valores que comparten la misma letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo al análisis *post hoc* Scheffé (P<0,05).

trabajo. Los contenidos de flavonoides, polifenoles y proteínas son mayores cuando se usa etanol en lugar de metanol como solvente en la extracción; una posible explicación se basa en la diferencia de polaridad de estos solventes. Los compuestos extraídos por el etanol son ligeramente más polares que los extraídos con el metanol. Entonces se puede inferir que hay flavonoides, polifenoles y proteínas más polares en hojas, pulpa y semilla de la guanábana (Tabla II), lo cual también explicaría una mayor actividad antioxidante en los extractos etanólicos que en los metanólicos (Tabla III)

Los resultados presentados en este trabajo se encuentran en concordancia con los presentados por Ramírez y Pacheco de Delahaye (2011) en cuanto al contenido de polifenoles, y sugieren que los compuestos fenólicos de las Annonaceas, en particular de los extractos metanólicos y etanólicos aquí estudiados en A. muricata, pueden ser utilizados como antioxidantes naturales en la dieta. En vista de las valiosas propiedades medicinales de la guanábana, sería recomendable evaluar el estado de maduración en trabajos futuros, por ejemplo en base a sólidos solubles y acidez libre (Márquez Cardozo et al., 2012). También se debe considerar las variaciones causadas por el procesamiento, ya que pulpas procesadas como néctar congelado durante tres meses presentan disminucióm del pH y aumento de la acidez libre (Peters et al., 2001).

Sinergias de la bioactividad de la guanábana con otros alimentos

En el estudio de Ribeiro et al. (2010) sobre efectos antitumorales de extractos acuosos de A. muricata, Aloe vera y té negro, se sugiere la actividad inhibitoria de metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP) como posible mecanismo de acción. Las MMP participan en eventos de angiogénesis, invasión de tejidos y metástasis; por ello, su inhibición se considera antineoplálsica. En otro estudio, Liaw et al. (2008) explican la actividad citotóxica de acetogeninas de la A. squamosa por su efecto quelante del calcio. La Annona reticulata actúa por

inhibición de la caspasa (Mondal et al., 2007). La pimienta negra Piper nigrum molida con las semillas de A. muricata y aplicada como extracto etanólico, mostró elevada sinergia para la acción larvicida del vector del dengue Aedes aegypti (Grzybowski et al., 2013). La acción antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas contra E. coli y S. aureus mostró sinergia con aminoglucósidos (Bento et al., 2013). Por estas razones, resulta importante estudiar los efectos del consumo de guanábanas y la dieta acompañante.

Considerando que 80% de la población en países menos desarrollados utiliza medicina tradicional y que 70-80% de los habitantes urbanos han recurrido a la medicina tradicional al menos una vez (OMS, 2008), es válido investigar la bioactividad de plantas comunes, como la guanábana, y sus productos. Este muestra que la pulpa de frutas tropicales como la guanábana, y otras partes de la planta como hojas y semillas, pueden tener una bioactividad valiosa.

Conclusiones

La actividad antioxidante de las fracciones estudiadas de *A. muricata* fue mayor en extractos etanólicos que en extractos metanólicos, al igual que el contenido de flavonoides y polifenoles. En base a la bioactividad estudiada, la pulpa de la guanábana representa un recurso con amplias posibilidades de utilización terapéutica, por lo que se recomienda continuar el estudio de su uso biomédico y tradicional.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen a Javier Ruíz por su colaboración durante la realización de los análisis; a Juan Carmona, Director del Jardín de Plantas Medicinales, por la identificación del material vegetal; y el financiamiento del CDCHT-ULA, proyecto FA-526-12-08-B.

REFERENCIAS

AOAC (1975) Official Methods of Analysis. 12a ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, EEUU. 1093 pp.

- Arroyo JA, Prashad MG, Vásquez YB, Li EP,Tomás GC (2005) Actividad citotóxica in vitro de la mezcla de *Annona muricata y Krameria lappacea* sobre células cancerosas de glándula mamaria, pulmón y sistema nervioso central. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Públ. 22*: 247-253.
- Bento EB, Matias EFF, Brito Jr. FE, Oliveira DR, Coutinho HDM, Costa JGM, Marta R. Kerntopf MR, Menezes IRA. Association between food and drugs: Antimicrobial and synergistic activity of Annona muricata L. Int. J. Food Prop. 16: 738-744.
- Correa Gordillo J, Ortiz D, Larraondo J, Sánchez Mejías M, Pachón H (2012) Actividad antioxidante en guanábana (Annona muricata L.): una revisión bibliográfica. Bol. Latinoam. Carib. Plant. Med. Aromát. 11: 111-126.
- Dembitsky VM, Poovarodom S, Leontowicz H, Leontowicz M, Vearasilp S, Trakhtenberg S, Shela Gorinstein S (2011) The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. *Food Res. Int.* 44: 1671-1701.
- Elejalde Guerra JI (2001) Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An. Med. Int. 18*: 326-335.
- Grzybowski A, Tiboni M, Silva MAN, Rodrigo F, Chitolina RF, Passosa M, Fontana JD (2013) Synergistic larvicidal effect and morphological alterations induced by ethanolic extracts of *Annona muricata* and *Piper nigrum* against the dengue fever vector *Aedes aegypti. Pest. Manag. Sci.* 69: 589-601.
- Hoyos J (1994) *Frutales en Venezuela* (*Nativos y Exóticos*). Monografía N° 36. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle; Caracas, Venezuela. 381 pp.
- INN (2001) *Tabla de Composición de Alimentos*. Publicación N° 54. Serie Cuadernos Azules. Instituto Nacional de Nutrición. Caracas, Venezuela. 97 pp.
- Liaw CC, Yang YL, Chen M, Chen SL, Wu -H., Wu YC (2008) Mono-tetrahydrofuran annonaceous acetogenins from *Annona squamosa* as cytotoxic agents and calcium ion chelators. *JNP 71: 764-771*.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Márquez Cardozo CJ, Villacorta Lozano V, Yepes Betancur DP, Ciro Velásquez HJ, Cartagena Valenzuela JR (2012) Physiological and physico-chemical characterization of the soursop fruit (*Annona muri*cata L. cv. Elita). *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín 65*: 6477-6486.
- Mondal SK, Mondal NB, Mazumder UK (2007) In vitro cytotoxic and human recombinant caspase in-

- hibitory effect of *Annona reticulata* leaves. *Ind. J. Pharmacol.* 39: 253-254.
- OMS (2008) Medicina Tradicional. Nota Descriptiva N° 134.. www. who.int/mediacentre/factsheets/ fs134/es/index.html
- Peters M, Badrie N, Comissiong E (2001) Processing and quality evaluation of soursop (*Annona muricata* L) nectar. *J. Food Qual.* 24: 361-374.
- Ramírez A, Pacheco de Delahaye E (2011) Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia 36*: 71-75.
- Ramulu P, Udayasekhara P (2003) Total, insoluble and soluble dietary fiber contents of Indian fruits. *J. Food Comp. Anal. 16*: 677-685.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 26: 1231-1237.
- Restrepo J, Vinasco LE (2010) Evaluación fisicoquímica de la fracción lipídica de las semillas de guanábana (*Annona muricata*) y la chirimoya (*Annona cherimolia*). Ciencia 14: 117-124.
- Ribeiro RIM, Kuribayashi JS, Borges Júnior PC, Beletti ME, Espindola FS, Cassali GD, Loyola AM (2010) Inhibition of metalloproteinases by *Aloe vera*, *Annona muricata*, and black tea aqueous extracts. *Biosci. J.* 26: 121-127.
- Santos Pimenta LP, Pinto GB, Takahashi JA, Silva LGF, Boaventura MAD (2003) Biological screening of annonaceous Brazilian medicinal plants using Artemia salina (brine shrimp test). Phytomedicine 10: 209-212.
- Scannone A (2005) *Mi Cocina II*. 17^a ed. Editorial Arte; Caracas, Venezuela. 661 pp.
- Singleton V, Orthofer R, Lamuela-Raventos R (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzimol.* 299:152-178.
- Solís-Fuentes JA, Amador-Hernández C, Hernández-Medel MR, Durán-de-Bazúa MC (2010) Caracterización fisicoquímica y comportamiento térmico del aceite de "almendra" de guanábana (Annona muricata, L). Grasas Aceites 61: 58-66.
- Tierra Americana (1999) *Chirimoya y Guanábana. Las Mejores Recetas*. Panamericana. Bogotá, Colombia. 45 pp.
- Vit P, Cardozo E, Moreno D (2002) Aporte de estudiantes de tecnología de alimentos para un manual de calidad en la producción de pulpa de frutas. Rev. Fac. Farm. 43: 19-24.
- Woisky R, Salatino A (1998) Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J. Agric. Res.* 37: 99-105.