

## **Determinación de flavonoides en frutos de *Annona muricata* L. provenientes de plantas diferentes, empleando cromatografía líquida de alta resolución**

### HPLC determination of flavonoids in fruits of soursop (*Annona muricata* L.) from different plants

L. Sandoval<sup>1</sup>, G. Ettiene<sup>2</sup>, E. Pérez-Pérez<sup>3</sup>, M. Fuenmayor<sup>4</sup>,  
J. Raga<sup>5</sup>, y N. Silva<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Agronómicas, <sup>2</sup>Departamento de Química, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. <sup>3</sup>Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola (CESID-Frutícola y Apícola), municipio Mara, estado Zulia, <sup>4</sup>MSc. Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad del Zulia. <sup>5</sup>Laboratorio de Tecnología de Alimentos. Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia. <sup>6</sup>Licenciada en Química, Universidad del Zulia.

### **Resumen**

El guanábano (*Annona muricata* L.) es un frutal tropical al que se le ha adjudicado un gran potencial alimenticio y medicinal, asociado a la presencia de antioxidantes. En esta investigación se determinó el contenido de flavonoides y la influencia de la planta sobre la variación de sus contenidos. Se seleccionaron frutos de una parcela del banco de germoplasma del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola (CESID-Frutícola y Apícola) de CORPOZULIA. Los flavonoides se extrajeron por hidrólisis ácida y se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución con detección UV. En todas las muestras se determinó miricetina, luteolina y apigenina. Los contenidos (referidos a 100 g de muestra) de miricetina, luteolina y apigenina en pulpa fresca fueron 0,1257mg, 0,1394mg y 0,0194mg, respectivamente; mientras que en muestras secas fueron 0,1924mg, 0,2385mg y 0,0696mg, respectivamente. La planta influyó significativamente ( $P < 0,05$ ) en la variación de los contenidos de miricetina en pulpa fresca y seca, mientras que los de apigenina sólo en pulpa seca.

**Palabras clave:** *Annona muricata*, flavonoides, HPLC.

## Abstract

Soursop (*Annona muricata* L.) is a tropical fruit to which there has been awarded a great food and medicinal potential associated with the presence of antioxidant. In this research the flavonoids content was determined as well as the influence of the plant on the variation of its contents. Fruits were selected from a lot of the Socialist Center of Fruit and Beekeeping Research and Development (CESID-Frutícola y Apícola) of CORPOZULIA. The flavonoids were extracted by acid hidrolisis and analyzed by liquid chromatography of high resolution with UV detection. In all samples were determined miricetin, luteolin and apigenin. The contents (recounted to 100 g of sample) of miricetin, luteolin and apigenin in fresh fruits there were 0.1257mg, 0.1394mg and 0.0194mg, respectively; whereas in dry samples there were 0.1924mg, 0.2385mg and 0.0696mg, respectively. The plant significantly influenced ( $P < 0.05$ ) in the variation of the contents of miricetin in fresh pulp and dry pulp and apigenin in dry pulp.

**Key words:** *Annona muricata*, flavonoids, HPLC.

## Introducción

La reducción de la incidencia de diversas enfermedades crónicas y de sus índices de mortalidad se ha relacionado con el consumo de productos vegetales, asumiendo que éstos brindan protección contra las enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, por sus contenidos de compuestos antioxidantes, tales como vitaminas E y C, carotenos y diferentes polifenoles (flavonoides), que son responsables de la neutralización de los llamados radicales libres causantes del estrés oxidativo, los cuales son moléculas que presentan, al menos, un electrón de su órbita externa desapareado e inestable, que lo predispone a reaccionar inmediatamente con cualquier molécula circundante, a la que le extrae un electrón (oxidación) para estabilizarse, pero inicia una dañina reacción en cadena con el

## Introduction

The incidence reduction of different chronic diseases and their mortality indexes have been related to the consumption of vegetal products, assuming that these protect against chronic-degenerative diseases such as cancer, cardiovascular, and vascular diseases, by their content of antioxidant compounds such as vitamins E and C, carotenes and different polyphenols (flavonoids), responsible of the neutralization of the so called free radicals, which cause the oxidative stress, which are molecules with at least one electron of its external unsteady orbit, which predisposes it to react immediately with any near molecule, attracted by an electron (oxidation) to stabilize, but it starts a harmful chain reaction to the consequently cellular damage that it implies (Delgado *et al.*, 2010).

The flavonoids miricetin, luteolin, apigenin and kaempferol are

consecuente daño celular que ello implica (Delgado *et al.*, 2010).

Los flavonoides miricetina, luteolina, apigenina y kaempferol son compuestos fenólicos de origen natural con una amplia gama de actividades biológicas y efectos beneficiosos que se han estudiado en relación a diversas patologías y enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes mellitus (Brahmachari, 2011), cáncer prostático (Atawodi, 2011), angiogénesis tumoral (Lamy *et al.*, 2008), entre otras. Miricetina, luteolina, apigenina y kaempferol han sido encontrados en diversas especies vegetales, pero hay escasos reportes de su presencia en el guanábano *A. muricata* (Annonaceae) (Atawodi, 2011; Bhagwat *et al.*, 2013).

Los estudios sobre las annonaceas se han incrementado en las últimas décadas y han permitido establecer en ellas la presencia exclusiva de ciertos compuestos denominados acetogeninas, los cuales son metabolitos secundarios, considerados como el grupo más potente de inhibidores del complejo I mitocondrial. Estas moléculas muestran un efecto antiproliferativo sobre líneas celulares cancerosas (Schlie-Guzmán *et al.*, 2009; Atawodi, 2011), aunque otras investigaciones sugieren que las acetogeninas presentes en el fruto y las hojas de las especies del género *Annona*, entre ellas *A. muricata*, pueden ser responsables del desarrollo de un parkinsonismo atípico en la vejez (Pomper *et al.*, 2009).

La planta del guanábano (*A. muricata* L.) produce el fruto más grande dentro del grupo de las annonas y es el que presenta el más alto poten-

phenolic compounds of natural origin with a wide variety of biologic activities and beneficial effects that have been studied in relation to different pathologies and degenerative chronic diseases, such as mellitus diabetes (Brahmachari, 2011), prostatic cancer (Atawodi, 2011), tumor angiogenesis (Lamy *et al.*, 2008), among others. Miricetine, luteolin, apigenin and kaempferol have been found in different vegetable species, but there are few reports of their presence in soursop *A. muricata* (Annonaceae) (Atawodi, 2011; Bhagwat *et al.*, 2013).

Studies about the annonaceas have increased in the last decades and have allowed establishing the exclusive presence of some compounds named as acetogenins, which are secondary metabolites considered as the most potent group of inhibitors of the I mitochondrial complex. These molecules show an anti-proliferative effect on cancer cells Schlie-Guzmán *et al.*, 2009; Atawodi, 2011); however, other researchers suggest that the acetogenins present in the fruit and the leaves of the *Annona* genre, among these *A. muricata*, might be the responsible for the development of an atypical Parkinson in old age (Pomper *et al.*, 2009).

Soursop plant (*A. muricata* L.) produces the biggest fruit inside this group of annonas, and it is the one with the highest potential for the processing, not only by its high content in sugars, taste and aroma, but also because its pulps oxidates less than *A. cherimola* Miller and *A. squamosa* L. (Pinto *et al.*, 2005). The pulp of soursop, even though it is composed in 70% to 95% by water, is attractive from the nutritional, medicinal and

cial para el procesamiento, no solo por su alto contenido en azúcares, sabor y aroma, sino también porque su pulpa se oxida menos que la de la chirimoya (*A. cherimola* Miller) y la del riñón (*A. squamosa* L.) (Pinto *et al.*, 2005). La pulpa del fruto del guanábano (“guanábana”), aunque está compuesta en un 70% a 95% por agua, tiene gran atractivo desde los puntos de vista nutricional, medicinal y terapéutico por sus importantes aportes a la dieta y a la salud humana, que la convierte en un alimento promisorio: contiene proteínas, ácidos grasos, fibra, carbohidratos, minerales, vitaminas, enzimas y fenoles (García *et al.*, 2012 y Pinto *et al.*, 2005); pero algunas investigaciones (Vargas-Álvarez *et al.*, 2006 y Haytowitz *et al.*, 2013) han destacado que la presencia y las variaciones de los compuestos flavonoides en frutos depende, entre otros factores, del estado fenológico y del cultivar o variedad de la especie vegetal.

Estas virtudes de *A. muricata* y los efectos beneficiosos de las actividades biológicas de la miricetina, luteolina, apigenina y kaempferol, así como las condiciones particularmente especiales a las plantas, debido a los métodos de propagación del guanábano, incrementan el interés por conocer la relación que puede existir entre estos y es por ello que se realiza esta investigación con los siguientes objetivos: 1) Detectar la presencia de los flavonoides miricetina, luteolina, apigenina y kaempferol en frutos de guanábana (*A. muricata* L.), mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). 2) Cuantificar los contenidos de los flavonoides miricetina, luteolina, apigenina y kaempferol en

therapeutical point of view, by its important contribution to the diet and the human health, making it in a promissory food: it contains proteins, fatty acids, fiber, carbohydrates, minerals, vitamins, enzymes and phenols (García *et al.*, 2012 and Pinto *et al.*, 2005); but some researches (Vargas-Álvarez *et al.*, 2006 and Haytowitz *et al.*, 2013) have mentioned that the presence and variations of the flavonoid compounds in fruit depend, among other factors, on the phenolic phase and the cultivar of variety of the vegetal specie.

These virtues of *A. muricata* and the beneficial effects of the biologic activities of miricetin, luteolin, apigenin and kaempferol, as well as the particular special conditions of plants, due to the propagation methods of soursop, increase the interest to know the relation that there might be among these. Thus, the objective of this research are: 1) to detect the presence of flavonoids miricetin, luteolin, apigenin and kaempferol in soursop fruits (*A. muricata* L.) through high resolution liquid chromatography (HPLC). 2) To quantify the contents of flavonoids miricetin, luteolin, apigenin and kaempferol in soursop fruits (*A. muricata* L.) through HPLC. 3) To determine the variation derived by effect of the plant on the contents of flavonoids miricetin, luteolin, apigenin and kaempferol in soursop fruits (*A. muricata*).

## Materials and methods

### Location of the essay

The field activities were carried out at the Socialist Center for Fruit

frutos de guanábana (*A. muricata* L.), mediante HPLC. 3) Determinar la variación derivada por efecto de la planta sobre los contenidos de los flavonoides miricetina, luteolina, apigenina y kaempferol en frutos de guanábana (*A. muricata*).

## Materiales y métodos

### Ubicación del ensayo

Las actividades de campo se llevaron a cabo en el Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola (CESID-Frutícola y Apícola) de CORPOZULIA (10°49'47", 31914 LN, 71°46'28", 44742 LO), ubicado en el municipio Mara del estado Zulia bajo condiciones de zona de vida de bosque muy seco tropical y con suelos clasificados como Typic Haplargids de textura franco arenosa (COPLANARH, 1974).

### Material vegetal

Se seleccionaron cuatro ejemplares promisorios por su potencialidad para la propagación de la especie y productividad, identificados como H1, H8, H11 y G1, del banco de germoplasma de plantas de *A. muricata* del CESID, de 12 años de edad, sembrados a una distancia de 8 m x 8 m, sometidos a un manejo agronómico consistente de riego por microaspersión, 3 veces por semana durante 5 horas, con agua subterránea proveniente de dos pozos perforados, caracterizados por proveer agua con pH de 6,08 y 6,03 y conductividad eléctrica (a 25°C) de 0,90 y 1,30 dS.m<sup>-1</sup>, respectivamente. Fertilización por planta a razón de 480 kg.año<sup>-1</sup> de Urea (46%N) como fuente nitrogenada, fraccionada de manera quincenal y trimestral; aplicación de

and Beekeeping Development (CESID-Fruit and Beekeeping) of CORPOZULIA (10°49'47", 31914 NL, 71°46'28", 44742 WL), located in Mara parish, Zulia state, under very dry tropical life area with soils classified as Typic Haplargids of sandy loamy texture (COPLANARH, 1974).

### Vegetal materials

Four promissory samples were selected by their potentiality for propagating the specie and the productivity, identified as H1, H8, H11 and G1, of the germplasm bank of 12-year-old *A. muricata* plants of CESID sowed at a 8 m x 8 m distance, submitted to a consistent agronomic handle of microaspersion irrigation three times a week for 5 hours, with subterraneous water coming from two perforated wells, characterized by providing water with pH of 6.08 and 6.03 and electrical conductivity (at 25°C) of 0.90 and 1.30 dS.m<sup>-1</sup>, respectively. As nitrogen source, a fertilization per plant was done at a reason of 480 kg.year<sup>-1</sup> of Urea (46%N) fractioned every fifteen days and three months; application of potassium sulphate (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) as a potassium source, at a reason of 240 kg.year<sup>-1</sup>, fractioned into four parts every three months with applications of 80 g.plant<sup>-1</sup>.

### Processing of the fruits

Four fruits per plant were collected under the uniformity criteria of size, weight, shape and physiological maturity. The fruits were identified and taken to the processing laboratory and chromatography analysis of the Agronomy Faculty of the Universidad del Zulia, there were washed with abundant water and soap and later were washed with distilled water, with

sulfato de potasio ( $K_2SO_4$ ) como fuente de potasio, a razón de  $240 \text{ kg.año}^{-1}$ , fraccionado en cuatro partes de forma trimestral con aplicaciones de  $80 \text{ g.planta}^{-1}$ .

### Procesamiento de los frutos

Se recolectaron cuatro frutos por planta, bajo los criterios de uniformidad de tamaño, peso, forma y madurez fisiológica. Los frutos se identificaron y trasladaron al laboratorio de procesamiento y análisis cromatográfico de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia; allí se lavaron con abundante agua potable y jabón y, posteriormente, se enjuagaron con agua destilada con el fin de eliminar todas las impurezas. Inmediatamente, los frutos se sumergieron en un recipiente con agua y se les aplicó el madurador (ETHREL) a razón de  $2 \text{ mL.L}^{-1}$  de agua, por un tiempo de 10 minutos, para posteriormente secarse y mantenerse a temperatura ambiente hasta alcanzar la madurez de consumo. Luego de alcanzada la madurez de consumo los frutos se despulparon manualmente quitando las semillas y el epicarpio. La pulpa se homogeneizó en un procesador de alimentos marca Oster®. Seguidamente, la pulpa de cada uno de los frutos fue dividida en dos partes iguales, una de las cuales se refrigeró a temperatura de  $8^\circ\text{C}$  y la otra se sometió a deshidratación normal en estufa a  $105^\circ\text{C}$ , con la finalidad de obtener las muestras para las determinaciones en base húmeda y base seca, respectivamente.

La hidrólisis de los flavonoides en las muestras se realizó por duplicado siguiendo el procedimiento descrito por Vargas-Álvarez, *et al.* (2006). Una porción de (0,25g) del material vegetal seco

the aim of eliminating all the impurities. Immediately, the fruits were soaked in a jar with water and the ripener (ETHREL) was applied at a reason of  $2 \text{ mL.L}^{-1}$  of water, for 10 minutes, later were dried and kept at environmental temperature until reaching the consumption maturity. Once achieved the consumption maturity, the pulps were eliminated manually eliminating the seeds and the epicarp. The pulp homogenized in a food processor Oster®. Subsequently, the pulp of each of the fruits was divided into two equal parts, one of which refrigerated at a temperature of  $8^\circ\text{C}$  and the other was submitted to normal dehydration in stove at  $105^\circ\text{C}$ , with the aim of obtaining the samples for the determinations in humid and dry bases, respectively.

The hidrólisis of flavonoids in the samples was performed by duplicate, following the procedure described by Vargas-Álvarez *et al* (2006). A portion of (0.25g) of the dry and powdered vegetal material was put on a 25 mL flask adding 25 mL of an HCl 1.2 solution in methanol at 50% v/v, this solution was taken to reflow for 2 h at  $95^\circ\text{C}$ . Later, the extracts filtered by gravity (Whatman N° 1). Subsequently, an aliquot of the extract was taken (150iL) and diluted in  $\text{H}_2\text{O}$  acidulated at pH 2.5 (600iL).

Flavonoid determinations by high resolution liquid chromatography (HPLC) in reverse phase

The chromatographic separation of flavonoids miricetin, quercetin, apigenin and kaempferol, was done using HPLC using a C18 column (Zorbax) of  $4.6 \times 250\text{mm} \times 5\mu\text{m}$  as a mobile phase  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{ACN}$

y pulverizado se colocó en un matraz de 25 mL y se adicionó 25mL de una solución de HCl 1,2M en metanol al 50% v/v, esta solución se llevó a reflujo por 2 h a 95°C. Posteriormente, los extractos se filtraron por gravedad (Whatman N° 1). Seguidamente, se tomó una alícuota del extracto (150iL) y se diluyó en H<sub>2</sub>O acidulada a pH 2,5 (600iL).

### **Determinación de flavonoides por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa**

La separación cromatográfica de los flavonoides miricetina, quercetina, apigenina y kaempferol, se realizó mediante HPLC empleando una columna de C18 (Zorbax) de 4,6 x 250mm x 5µm y como fase móvil KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/ACN (66,7:33,3%v/v) a 1,0 mL.min<sup>-1</sup>. La detección se realizó en la región UV a 280nm.

La cuantificación de los flavonoides se realizó por estándar externo, considerando el área de pico como parámetro analítico. Para ello se preparó una curva de calibración (0,1 - 2 mg.L<sup>-1</sup>) a partir de las soluciones madre de cada flavonoide.

### **Diseño estadístico**

El análisis estadístico se basó en la determinación de los parámetros muestrales media, desviación estándar y valores mínimos y máximos a los contenidos de los flavonoides estudiados en las muestras de guanábana; análisis de correlación lineal y análisis de varianza mediante un modelo aditivo lineal ajustado a un diseño experimental totalmente al azar, con el objeto de determinar variaciones significativas de las concentraciones de los flavonoides en las muestras de gua-

(66.7:33,3%v/v) at 1.0 mL. min<sup>-1</sup>. The detection was done in the UV region at 280nm.

The quantification of flavonoids was done by the external standard, considering the peak area as analytical parameter. For this, a calibration curve (0.1 - 2 mg.L<sup>-1</sup>) was prepared after the mother solutions of each flavonoids.

### **Statistical design**

The statistical analysis was based in the determination of mean sampling parameters, standard deviations and minimum and maximum values of the flavonoid contents studied in the soursop samples; lineal correlation analysis and variance analysis with a lineal additive model adjusted to a completely randomized design, with the aim of determining significant variations of the flavonoid concentrations in the soursop samples, product of the differences among the plants considered in the research. The data obtained was processed with the statistical process SAS System for Windows, release 8.01 TS1M1 (1999-2000), of SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

## **Results and discussion**

The chemical analysis by high resolution liquid chromatography detected the presence of miricetin flavonoid and luteolin and apigenin flavonoids in the soursop samples coming from fruits collected in different plants, on the contrary, the flavonoid kaempferol, could not be detected in any of the samples. In table 1 is presented the quantification of the contents of miricetine, luteolin,

nábana producto de las diferencias entre las plantas consideradas en la investigación. Los datos obtenidos se procesaron con el programa estadístico The SAS System for Windows, release 8.01 TS1M1 (1999-2000), de SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

## Resultados y discusión

El análisis químico por cromatografía líquida de alta resolución detectó la presencia del flavonol miricetina y las flavonas luteolina y apigenina en las muestras de guanábana provenientes de frutos colectados en diferentes plantas, por el contrario, el flavonol kaempferol no pudo ser detectado en ninguna de las muestras. En el cuadro 1 se presenta la cuantificación de los contenidos de miricetina, luteolina y apigenina detectados en las muestras de guanábana, en base húmeda y base seca. La miricetina reportó un valor promedio de  $0,1257 \pm 0,2050$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra húmeda, con un rango de variación de 0,7112 mg, mientras que en base seca fue de  $0,1924 \pm 0,1928$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra, con un rango de variación de 0,0260 a 0,7053 mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra. En el caso de la luteolina, se determinó una concentración promedio de  $0,1394 \pm 0,1884$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra y  $0,2385 \pm 0,2026$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra, en base húmeda y base seca, respectivamente; los rangos de variación fueron de 0,5716 mg y 0,631 mg, respectivamente. La apigenina reportó valores promedios de  $0,0194 \pm 0,0181$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra, en base húmeda y  $0,0696 \pm 0,1418$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra seca; los valores máximos y mínimos en base hú-

apigenin detected in the samples of soursop in humid and dry base.

Miricetin reported an average value of  $0.1257 \pm 0.2050$  mg.100 g<sup>-1</sup> of humid sample, with a variation rank of 0.7112 mg; meanwhile, in dry base it was of  $0.1924 \pm 0.1928$  mg.100 g<sup>-1</sup> of the sample, with a variation rank of 0.0260 to 0.7053 mg.100 g<sup>-1</sup> of the sample. In the case of luteolin, it was determined an average concentration of  $0.1394 \pm 0.1884$  mg.100 g<sup>-1</sup> of the sample  $0.2385 \pm 0.2026$  mg.100 g<sup>-1</sup> of the sample, in humid and dry base, respectively; the variation degrees were 0.5716 mg and 0.631 mg, respectively. The apigenin reported average values of  $0.0194 \pm 0.0181$  mg.100 g<sup>-1</sup> of the sample in humid base and  $0.0696 \pm 0.1418$  mg.100 g<sup>-1</sup> of dry base; the maximum and minimum values in humid base and dry base were: 0.0584 and 0.0029 mg.100 g<sup>-1</sup> of humid sample and 0.5590 and 0.0118 mg.100 g<sup>-1</sup> of the dry sample.

These results indicate that the most abundant flavonoid in the pulp of soursop is the luteolin, followed by the miricetin and apigenin. On the other hand, the analysis of the lineal correlation determined that the most related flavonoids, directly and proportionally, are the flavonoid miricetin and apigenin ( $r=0.74525$ ,  $P<0.01$ ), following the miricetin with the flavonoid luteolin ( $r=0.51681$ ,  $P<0.01$ ) and finally the flavonoids apigenin and luteolin ( $r=0.50269$ ,  $P<0.05$ ). Bhagwat *et al.*, (2013) report on the database, filled with information of researches carried out in the United States and other 50 countries, values for five sub-classes of flavonoids, including: kaempferol, miricetin,



**Cuadro 1. Parámetros muestrales (media, desviación estándar, valor máximo y valor mínimo, expresados en mg.100 g<sup>-1</sup> de fruto) de miricetina, luteolina, apigenina y kaempferol en muestras de guanábana (*Annona muricata* L.), en base húmeda y base seca.**

**Table 1. Sampling parameters (mean, standard deviation, maximum and minimum value expressed in mg.100 g<sup>-1</sup> of fruit) of miricetin, luteolin, apigenin and kaempferol in soursop famples (*Annona muricata* L.) in humid and dry base.**

Base	Parámetro	Flavonoide				
		Miricetina	Luteolina	Apigenina	Kaempferol	
Húmeda <sup>1</sup>	n	16	15	7	16	
	X ± s	0,1257±0,2050	0,1394±0,1884	0,0194±0,0181	no detectado	
	Valor máximo	0,7155	0,5793	0,0584	no detectado	
	Valor mínimo	0,0043	0,0077	0,0029	no detectado	
Seca <sup>2</sup>	n	16	16	14	16	
	X ± s	0,1924±0,1928	0,2385±0,2026	0,0696±0,1418	no detectado	
	Valor máximo	0,7053	0,6444	0,5590	no detectado	
	Valor mínimo	0,0260	0,0134	0,0118	no detectado	

<sup>1</sup>mg.100 g<sup>-1</sup> muestra húmeda.

<sup>2</sup>mg.100 g<sup>-1</sup> muestra seca.

n: número de observaciones consideradas.

meda y base seca fueron: 0,0584 y 0,0029 mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra húmeda y 0,5590 y 0,0118 mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra seca.

Estos resultados indican que el flavonoide más abundante en la pulpa de guanábana es la luteolina, seguido por la miricetina y la apigenina. Por otra parte, el análisis de correlación lineal determinó que los flavonoides más relacionados, directa y proporcionalmente, son el flavonol miricetina y la flavona apigenina ( $r=0,74525$ ,  $P<0,01$ ), siguiendo a esta relación la de miricetina con la flavona luteolina ( $r=0,51681$ ,  $P<0,01$ ) y finalmente, la de las flavonas apigenina y luteolina ( $r=0,50269$ ,  $P<0,05$ ). Bhagwat *et al.*, (2013) reporta en su base de datos, alimentada con información de investigaciones realizadas en USA y otros 50 países, valores para cinco subclases de flavonoides, incluyendo kaempferol, miricetina, luteolina y apigenina, en 506 alimentos que incluyen vegetales, frutos, aceites, infusiones y otros más, entre los que se considera el fruto de *A. muricata*; en este sentido, para la guanábana se reporta kaempferol y miricetina con valor de 0,00 mg.100 g<sup>-1</sup> de peso fresco, en ambos casos, que debe interpretarse como concentración por debajo del límite de detección. Por otra parte, no hay información disponible sobre luteolina y apigenina en *A. muricata*, lo cual evidencia la escasa información a este respecto. Algunos reportes de presencia de flavonoides en plantas tropicales publicados por (Bhagwat *et al.* 2013), son los siguientes: en mango (*Mangifera indica*) 0,06±0,03 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,05±0,04 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,01 mg de apigenina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en limón (*Citrus limón*) 0,05±0,05 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,03±0,03 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 1,90±0,40 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta y apigenina no detectable; en melón (*Cucumis melo*), miricetina no detectable, 0,07±0,07 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, apigenina no detectable y 0,64±0,64 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en lechosa (*Carica papaya*) 0,02±0,01 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,01±0,00 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,01 mg de apigenina.100 g<sup>-1</sup> de fruta y 0,02 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en piña (*Ananas comosus*) 0,01±0,01 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, kaempferol y apigenina no detectables y 0,01±0,01 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en naranja (*Citrus sinensis*) 0,15±0,10 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,13±0,13 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de

luteolin and apigenin in 506 foods that include vegetables, fruits, oils, infusions and other more, considering *A. muricata*; in this sense, for soursop is reported kaempferol and miricetin with a value of 0.00 mg.100 g<sup>-1</sup> of the fresh weight, in both cases, that must be interpreted as a concentration under the detection limit.

Por otra parte, no hay información disponible sobre luteolina y apigenina en *A. muricata*, lo cual evidencia la escasa información a este respecto. Algunos reportes de presencia de flavonoides en plantas tropicales publicados por (Bhagwat *et al.* 2013), son los siguientes: en mango (*Mangifera indica*) 0,06±0,03 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,05±0,04 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,01 mg de apigenina.100 g<sup>-1</sup> de fruta y 0,02 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en limón (*Citrus limón*) 0,05±0,05 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,03±0,03 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 1,90±0,40 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta y apigenina no detectable; en melón (*Cucumis melo*), miricetina no detectable, 0,07±0,07 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, apigenina no detectable y 0,64±0,64 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en lechosa (*Carica papaya*) 0,02±0,01 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,01±0,00 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,01 mg de apigenina.100 g<sup>-1</sup> de fruta y 0,02 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en piña (*Ananas comosus*) 0,01±0,01 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, kaempferol y apigenina no detectables y 0,01±0,01 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en naranja (*Citrus sinensis*) 0,15±0,10 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,13±0,13 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de

g<sup>-1</sup> de fruta y 0,02 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en limón (*Citrus limón*) 0,05±0,05 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,03±0,03 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 1,90±0,40 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta y apigenina no detectable; en melón (*Cucumis melo*), miricetina no detectable, 0,07±0,07 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, apigenina no detectable y 0,64±0,64 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en lechosa (*Carica papaya*) 0,02±0,01 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,01±0,00 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,01 mg de apigenina.100 g<sup>-1</sup> de fruta y 0,02 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en piña (*Ananas comosus*) 0,01±0,01 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, kaempferol y apigenina no detectables y 0,01±0,01 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en naranja (*Citrus sinensis*) 0,15±0,10 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,13±0,13 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta, apigenina no detectable y 0,19±0,05 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en banana (*Musa acuminata*) 0,01±0,01 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,11±0,11 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta y apigenina y luteolina no detectables; en uva (*Vitis vinífera*) 0,22±0,22 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,09±0,09 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta y apigenina y luteolina no detectables; en guayaba (*Psidium guajava*) ninguno de los flavonoides fue detectado. Por otra parte, Vargas-Álvarez *et al.* (2006), han destacado la presencia de estos flavonoides en frutos de *P. guajava*, siendo sus concentraciones superiores en comparación con las determinadas en *A. muricata*, en este trabajo. Estos investigadores indican que la etapa fenológica y el tipo

fruta, apigenina no detectable y 0,19±0,05 mg de luteolina.100 g<sup>-1</sup> de fruta; en banana (*Musa acuminata*) 0,01±0,01 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,11±0,11 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta y apigenina y luteolina no detectables; en uva (*Vitis vinífera*) 0,22±0,22 mg de miricetina.100 g<sup>-1</sup> de fruta, 0,09±0,09 mg de kaempferol.100 g<sup>-1</sup> de fruta y apigenina y luteolina no detectables; en guayaba (*Psidium guajava*) ninguno de los flavonoides fue detectado. On the other hand, there is not any available information about luteolin and apigenin in *A. muricata*, which evidences the limited information on this matter. Some reports of the presence of flavonoids in tropical plants published by Bhagwat *et al.*, (2013) are the followings: in mango (*Mangifera indica*) 0.06±0.03 mg of miricetin.100 g<sup>-1</sup> of the fruit, 0.05±0.04 mg of kaempferol.100 g<sup>-1</sup> of the fruit, 0.01 mg of apigenin.100 g<sup>-1</sup> of fruit and 0.02 mg of luteolin.100 g<sup>-1</sup> of the fruit; in lemon (*Citrus limón*) 0.05±0.05 mg of miricetin.100 g<sup>-1</sup> of fruit, 0.03±0.03 mg of kaempferol.100 g<sup>-1</sup> of fruit, 1.90±0.40 mg of luteolin.100 g<sup>-1</sup> of fruit and undetectable apigenin; in watermelon (*Cucumis melo*), undetectable miricetin, 0.07±0.07 mg of kaempferol.100 g<sup>-1</sup> of fruit, undetectable apigenin and 0.64±0.64 mg of luteolin.100 g<sup>-1</sup> of fruit; in papaya (*Carica papaya*) 0.02±0.01 mg of miricetin.100 g<sup>-1</sup> of fruit, 0.01±0.00 mg of kaempferol.100 g<sup>-1</sup> of the fruit, 0.01 mg of apigenin.100 g<sup>-1</sup> of fruit and 0.02 mg of luteolin.100 g<sup>-1</sup> of fruit; in pineapple (*Ananas comosus*) 0.01±0.01 mg of miricetin.100 g<sup>-1</sup> of fruit, kaempferol and undetectable apigenin and 0.01±0.01 mg of luteolin.100 g<sup>-1</sup> of

de órgano influyen en la presencia y la variación de la concentraciones de los flavonoides en *P. guajava*, lo cual pudiera ser también atribuible a *A. muricata*.

Al comparar el contenido de miricetina obtenido en la guanábana (fruto fresco) se observa que fue mayor que los reportados en banana, mango, melón, lechosa y piña, pero menor que los de naranja, limón, uva y guayaba. En relación a la apigenina, la concentración en la guanábana resultó mayor que la de todas las especies referidas, excepto *P. guajava* y, con respecto a la luteolina, su concentración fue mayor que la reportada en banana, uva y piña y menor que la de limón, mango, melón, naranja, lechosa y guayaba.

En el cuadro 2 se presentan las variaciones de los contenidos de los flavonoides estudiados, derivadas del efecto del tipo de planta, las cuales fueron mayores para el caso de la miricetina tanto en las muestras frescas como secas ( $P < 0,05$ ). Los frutos de la planta H8 fueron los que presentaron el mayor contenido de miricetina ( $0,3341 \pm 0,3477$  mg.  $100$  g<sup>-1</sup> de pulpa) en las muestras frescas, significativamente diferente ( $P < 0,05$ ) al de las plantas H11 y G1, cuyos contenidos, en muestras frescas, fueron  $0,0454 \pm 0,0372$  mg.  $100$  g<sup>-1</sup> de pulpa y  $0,0254 \pm 0,0037$  mg.  $100$  g<sup>-1</sup> de pulpa, no existiendo diferencias significativas entre ambos. El contenido de miricetina en las muestras frescas de la planta H1 ( $0,0978 \pm 0,0827$  mg.  $100$  g<sup>-1</sup> de pulpa) no varió significativamente con respecto al de las otras plantas. En las muestras secas el mayor contenido de miricetina se obtuvo de la plan-

fruit; in orange (*Citrus sinensis*)  $0.15 \pm 0.10$  mg of miricetin.  $100$  g<sup>-1</sup> of the fruit,  $0.13 \pm 0.13$  mg of kaempferol.  $100$  g<sup>-1</sup> of fruit, undetectable apigenin and  $0.19 \pm 0.05$  mg of luteolin.  $100$  g<sup>-1</sup> of fruit; in banana (*Musa acuminata*)  $0.01 \pm 0.01$  mg of miricetin.  $100$  g<sup>-1</sup> of fruit,  $0.11 \pm 0.11$  mg of kaempferol.  $100$  g<sup>-1</sup> of the fruit and apigenin and undetectable luteolin; in grapes (*Vitis vinífera*)  $0.22 \pm 0.22$  mg of miricetin.  $100$  g<sup>-1</sup> of fruit,  $0.09 \pm 0.09$  mg of kaempferol.  $100$  g<sup>-1</sup> of fruit and apigenin and undetectable luteolin; in guava (*Psidium guajava*) none of the flavonoids were detected. On the other hand, Vargas-Álvarez *et al.* (2006), have highlighted the presence of these flavonoids in fruits of *P. guajava*, being the concentrations higher compared to the determined in *A. muricata*, in this research. These investigators indicate that the phenolic phase and the type of organ influence in the presence and the variation of the concentrations of flavonoids in *P. guajava*, which might be attributed to *A. muricata*.

When comparing the miricetin content obtained in soursop (fresh fruit), it is observed that it was higher than the reported in Banana, mango, watermelon, papaya and pineapple, but lower to those in orange, lemon, grape and guava. In relation to the apigenin, the concentration in soursop resulted higher than all the species referred, except *P. guajava*, and regarding the luteolin, its concentration was higher than the reported in banana, grape and pineapple, and lower than lemon, mango, watermelon, orange, papaya and guava.

In table 2 are presented the variations of the flavonoid contents

**Cuadro 2. Efecto de la planta sobre la variación de los contenidos (mg.100 g<sup>-1</sup> de fruto) de miricetina, luteolina y apigenina en guanábana (*Annona muricata* L.) en base húmeda y base seca.**

**Table 2. Plant effect on the content variations (mg.100 g<sup>-1</sup> of fruit) of miricetin, luteolin and apigenin in soursop (*Annona muricata* L.) humid and dry base.**

Flavonoide	Base	Planta			
		H1	H8	H11	G1
Miricetina	Húmeda	0,0978 <sup>a,b</sup> ±0,0827	0,3341 <sup>a±0</sup> ,3477	0,0454 <sup>b</sup> ±0,0372	0,0254 <sup>b</sup> ±0,0037
	Seca	0,3496 <sup>a</sup> ±0,1111	0,3086 <sup>ab</sup> ±0,2657	0,0510 <sup>a</sup> ±0,0385	0,0604 <sup>b</sup> ±0,0248
Luteolina	Húmeda	0,1193 <sup>a</sup> ±0,1459	0,2825 <sup>a</sup> ±0,3170	0,0328 <sup>a</sup> ±0,0073	0,0964 <sup>a</sup> ±0,0465
	Seca	0,1193 <sup>a</sup> ±0,0730	0,2830 <sup>a</sup> ±0,2297	0,1321 <sup>a</sup> ±0,0565	0,4195 <sup>a</sup> ±0,2520
Apigenina	Húmeda	0,0178 <sup>a</sup> ±0,0000	0,0153 <sup>a</sup> ±0,0022	0,0054 <sup>a</sup> ±0,0035	0,0384 <sup>a</sup> ±0,0282
	Seca	0,0345 <sup>ab</sup> ±0,0147	0,2161 <sup>a</sup> ±0,2970	0,0170 <sup>b</sup> ±0,0080	0,0385 <sup>ab</sup> ±0,0218

<sup>a,b,c</sup>: Media ± desviación estándar con letras distintas, en cada fila, difiere significativamente (P<0,05).

ta H1 ( $0,3496 \pm 0,1111$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra), significativamente mayor ( $P < 0,05$ ) al de las plantas G1 y H11 ( $0,0604 \pm 0,0248$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra y  $0,0510 \pm 0,0385$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra, respectivamente), siendo estos, a su vez, significativamente diferentes entre sí ( $P < 0,05$ ). El contenido de miricetina de la planta H8 en muestras secas ( $0,3086 \pm 0,2657$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra) sólo fue significativamente diferente al de la planta H11 ( $P < 0,05$ ).

En los casos de luteolina, tanto en muestras frescas como en secas, y apigenina en muestras frescas, sus contenidos no presentaron variaciones que puedan considerarse relevantes en los frutos de las cuatro plantas estudiadas (ver cuadro 2). La apigenina en muestras secas sólo varió significativamente ( $P < 0,05$ ) en las plantas H8 y H11, resultando mayor en la planta H8 ( $0,2161 \pm 0,2970$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra y  $0,0170 \pm 0,0080$  mg.100 g<sup>-1</sup> de muestra, respectivamente).

Se ha indicado que los compuestos flavonoides son producidos por las plantas en respuesta al estrés causado por diversos factores como enfermedades, insectos, el clima, la radiación ultravioleta, entre otros, lo que significaría que las concentraciones de estos compuestos podría variar en la planta, en un momento dado, dependiendo de la afectación de su estado fisiológico. Otras fuentes de variabilidad de los contenidos de flavonoides pueden incluir el cultivar y la ubicación geográfica, que según Haytowitz *et al.* (2013), representan entre 25 y 33% de la variabilidad observada, el estado fenológico del órgano; las prácticas agrícolas y las condiciones de almacenamiento de la fruta (Bhagwat *et al.*

studied, derived from the effect of the type of the plant, which were higher for miricetin in both fresh and dry samples ( $P < 0.05$ ). The fruits of the H8 plant were the one with the highest content of miricetin ( $0.3341 \pm 0.3477$  mg.100 g<sup>-1</sup> of the pulp) in the fresh samples, and significantly different ( $P < 0.05$ ) of plants H11 and G1, which contents in fresh samples were  $0.0454 \pm 0.0372$  mg.100 g<sup>-1</sup> of the pulp and  $0.0254 \pm 0.0037$  mg.100 g<sup>-1</sup> of pulp, without any significant difference in between. The content of miricetin in fresh samples of H1 plant ( $0.0978 \pm 0.0827$  mg.100 g<sup>-1</sup> of pulp) did not vary significantly regarding the other plants. In the dry samples, the highest content of miricetin was obtained in the plant H1 ( $0.3496 \pm 0.1111$  mg.100 g<sup>-1</sup> of sample), significantly higher ( $P < 0.05$ ) of plants G1 and H11 ( $0.0604 \pm 0.0248$  mg.100 g<sup>-1</sup> of sample and  $0.0510 \pm 0.0385$  mg.100 g<sup>-1</sup> of sample, respectively), being these at the same time, significantly different in between ( $P < 0.05$ ). The miricetin content of H8 plant in dry samples ( $0.3086 \pm 0.2657$  mg.100 g<sup>-1</sup> of sample) was just significantly different to plant H11 ( $P < 0.05$ ).

In the cases of luteolin in both fresh and dry samples, and apigenin in fresh samples, their contents did not present variations that might be considered relevant in the fruits of the four studied plants (table 2). Apigenin in dry samples only varied significantly ( $P < 0.05$ ) in plants H8 and H11, higher result in plant H8 ( $0.2161 \pm 0.2970$  mg.100 g<sup>-1</sup> of sample and  $0.0170 \pm 0.0080$  mg.100 g<sup>-1</sup> of sample, respectively) (table 2).

It has been indicated that the flavonoid compounds are produced by

2013 y Vargas-Álvarez *et al.* 2006). Las variaciones observadas, fundamentalmente, en los contenidos de miricetina y apigenina quizá pueda explicarse atribuyéndose a la actuación de alguno de los factores mencionados, especialmente, los relacionados a la genética de la planta y al ambiente.

## Conclusiones

Los flavonoides miricetina, luteolina y apigenina están presentes en concentraciones variables en los frutos del guanábano (*A. muricata*).

El tipo de planta afecta los contenidos de miricetina y apigenina en los frutos de guanábano (*A. muricata*).

## Literatura citada

Atawodi, S. E. 2011. Nigerian foodstuffs with prostate cancer chemopreventive polyphenols. *Infectious Agents and Cancer*. 6(Suppl 2):S9.

Bhagwat, S., D. B. Haytowitz and J. M. Holden (Ret.). 2013. USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods, Release 3.1. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service.

Nutrient Data Laboratory disponible en: <http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/12354500/Data/Flav/Flav3-1.pdf>

Brahmachari, G. 2011. Bio-flavonoids with promising antidiabetic potentials: A critical survey. Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry. 187-212.

Comisión del Plan Nacional de Aprovechamiento de los Recursos Hidráulicos (COPLANARH). 1974. Inventario Nacional de Tierras. Región del Lago de Maracaibo. Publicación N° 34. Caracas - Venezuela. 295 p.

plants in response to the stress, caused by different factors such as diseases, insects, weather, ultraviolet radiations, among others, which might be that the concentrations of these compounds might vary in the plant, in a particular time, depending of the affectation of the physiologic phase. Other variability sources of the flavonoid contents might include the cultivar and the geographic location, according to Haytowitz *et al.* (2013), represent from 25 and 33% of the variability observed, the phenologic phase of the organ; the agriculture practices and the storing conditions of the fruit (Bhagwat *et al.* 2013 y Vargas-Álvarez *et al.* 2006). The variations observed, mainly in the miricetin and apigenin contents might be explained attributed to the performance of some of the factors mentioned, especially those related to the genetic of the plant and the environment.

## Conclusions

The flavonoids miricetin, luteolin and apigenin are present in variable concentrations in soursop fruits (*A. muricata*).

The type of the plant affects the contents of miricetin and apigenin in soursop fruits (*A. muricata*).

*End of english version*

---

---

Delgado O., L., G. Betanzos C. y M. T. Sumaya M. 2010. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia (UAA)*. 50:10-15. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=67415744003>

- García S., A., G. Ettiene, E. Pérez P., L. Sandoval, L. Montilla y E. Soto. 2012. Propagación y fertilización del cultivo del guanábano. II: Características químicas de frutos. *Rev.Fac.Agron.(LUZ)*. 29:20-36.
- Haytowitz, D. B., S. Bhagwat, and J. M. Holden. 2013. Sources of variability in the flavonoid content of foods. *Procedia Food Science* 2:46-51.
- Lamy, S., V. Bédard, D. Labbé, H. Sartelet, Ch. Barthomeuf, D. Gingras and R. Béliveau. 2008. The dietary flavones apigenin and luteolin impair smooth muscle cell migration and VEGF expression through inhibition of PDGFR- $\alpha$  phosphorylation. *Cancer Prev Res.* 1:452-459.
- Pinto, A., M. Cordeiro, S. de Andrade, F. Ferreira, H. Filgueiras, R. Alves and D. Kinpara. 2005. *Annona* species. International Centre for Underutilized Crops, University of Southampton, Southampton, UK. 268 p. Disponible: <http://www.cropsforthefuture.org/publication/Monographs/Annona%20Species%20Monograph.pdf>
- Pomper K. W., J. D. Lowe, S. B. Crabtree and W. Keller. 2009. Identification of annonaceous acetogenins in the ripe fruit of the north american pawpaw (*Asimina triloba*). *J. Agric. Food Chem.* 57:8339-8343.
- Schlie G., M.A., A.R. González E. y L. M. Luna C. 2009. Las acetogeninas de Annonaceae: efecto antiproliferativo en líneas celulares neoplásicas. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.* 8(4): 245-257. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85611265004>
- Vargas-Álvarez, D., M. Soto-Hernández, V. A. González-Hernández, E. M. Engleman y Á. Martínez-Garza. 2006. Cinética de acumulación y distribución de flavonoides en guayaba (*Psidium guajava* L.). *Agrociencia.* 40:109-115.