

Estudio preliminar del potencial bioactivo de la *Annona cherimola* (anona) y *Prunus domestica* (ciruelo) cultivadas en Costa Rica

Preliminar study on bioactive potential of *Annona cherimola* (anona) and *Prunus domestica* (ciruelo) cultivated in Costa Rica

Mirtha Navarro-Hoyos^{1*}
Ileana Moreira-González²
Elizabeth Arnáez-Serrano²
Renato Murillo-Masís¹
Silvia Quesada-Mora¹
William Zamora-Ramírez¹
Meliza Cordero-Hernández³

Fecha de recepción: 18 de octubre del 2013
Fecha de aprobación: 21 de enero del 2014

Navarro-Hoyos, M; Moreira-González, I; Arnáez-Serrano, E; Murillo-Masís, R; Quesada-Mora, S; Zamora-Ramírez, W; Cordero-Hernández, M. Estudio preliminar del potencial bioactivo de la *Annona cherimola* (anona) y *Prunus domestica* (ciruelo) cultivadas en Costa Rica. *Tecnología en Marcha*. VI Encuentro de Investigación y Extensión. Pág 37-44.

¹ Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

² Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica.

³ Universidad Estatal a Distancia, Campus Universitario de Alajuela, Costa Rica.

* Correspondencia debe ser dirigida a: mnavarro@codeti.org

Palabras clave

Potencial bioactivo; polifenoles; antioxidantes; *annona cherimola*; *Prunus domestica*.

Resumen

Los efectos beneficiosos de principios activos como alcaloides, triterpenos y más recientemente de los polifenoles en la nutrición y la salud han incrementado a nivel internacional el consumo de productos naturales reconocidos como fuentes de los mismos, así como la importancia de su caracterización estructural en cuanto a la correlación con su bioactividad. Las especies *Annona cherimola* (anona) y *Prunus domestica* (ciruelo), cultivadas en Costa Rica, fueron objeto de la presente investigación por el conocimiento de sus usos tradicionales relacionados con el posible efecto antioxidante. Dado que estudios foráneos han demostrado los efectos beneficiosos de los polifenoles, en relación con enfermedades cardiovasculares, actividad antiinflamatoria, anticancerígena, neuroprotectora, antimicrobiana, y, al atribuírseles efectos antioxidantes, protectores del organismo contra especies reactivas de oxígeno, se han venido utilizando como ingredientes funcionales en suplementos nutricionales.

Se ubicaron plantas de ambas especies, recolectándose los frutos que luego de su debido procesamiento fueron analizados en laboratorio en cuanto a su contenido de polifenoles y a su bioactividad. Asimismo se extrajeron estacas de las plantas para reproducción vegetativa tradicional y se sembraron en las comunidades de Cabuyal de San Pedro de Poás, Alajuela (Damas Verdes) y Llano Bonito de León Cortés, San José (PROAL) donde se trabajó con grupos de mujeres organizadas que elaboran productos artesanales como champú, cremas y aceites, contribuyendo con ellas en el adiestramiento con las buenas prácticas en laboratorio y la importancia del cuidado del germoplasma.

Key words

Bioactive potential; polyphenols; antioxidants; *annona cherimola*; *prunus domestica*.

Abstract

the nutritional and health benefits of bioactive metabolites such as alkaloids, triterpenes and more recently of polyphenols have increased at international level the intake of natural products that constitute potential sources of such compounds as well as the importance of structural characterization in correlation with their bioactivity.

The present research involved the study of fruit species *Annona cherimola* (cherimola) and *Prunus domestica* (plum) cultivated in Costa Rica due to their traditional use related to their antioxidant potential and also based on results of international studies that demonstrated the health benefits of polyphenols in relation to cardiovascular diseases, anti-inflammatory, anticancer, neuroprotective and antimicrobial activity as well as the fact that due to the antioxidant effects against oxygen reactive species, these fruits have been included as functional ingredients in nutritional supplements.

Plants from both species were located, fruits were collected and after due processing laboratory analysis was undertaken on polyphenol contents and bioactivity. Cuttings were extracted for vegetative reproduction and were planted in Cabuyal of San Pedro at Poas, Alajuela (Green Ladies) and Llano Bonito at León Cortés, San Jose (PROAL), where collaborative work was performed with organized groups of women located in these communities, who elaborate artisan cosmetic products such as shampoos, creams and ointments with medicinal plants ingredients; contributing to their capacity building through training in the importance of germplasm conservation as well as in good production practices.

Introducción

Los efectos beneficiosos de los polifenoles en la salud, han incrementado a nivel internacional el consumo de productos naturales reconocidos como fuentes de los mismos así como la importancia de su caracterización estructural en cuanto a la correlación con su bioactividad (Borges, Muller y Crozier, 2010; Requena, Monagas, Pozo-Bayón, Martín-Álvarez, Bartolomé, Del Campo, et. al, 2010). En Costa Rica, el desarrollo industrial, la urbanización, la contaminación, el manejo deficiente de zonas boscosas, ha retraído el desarrollo de especies endémicas, lo que conllevado al deterioro de suelos y del recurso hídrico de cuencas, haciendo necesaria la repoblación vegetal (PREVDA-COMCURE, 2008; INTA, 2009), donde la vulnerabilidad ambiental ha ido en detrimento del bienestar socio-económico de los pobladores. La comercialización de especies que se cultivan en el país, se ha visto afectada por la carencia de posicionamiento en el mercado, donde la obtención de datos acerca de las propiedades potencialmente benéficas para la salud de cultivos nacionales, aportaría a aumentar su valor agregado y contribuiría estratégicamente al desarrollo sostenible de los productores.

Costa Rica, dada su biodiversidad vegetal es propicia para iniciar estudios en aquellas especies cuyo conocimiento tradicional puede indicar que en sus frutos existen cantidad de polifenoles cuya capacidad antioxidante debe estudiarse a profundidad tal cómo se ha hecho con pitahaya, naranjilla y mora (Mertz, Gancel, Gunata, Alter, Dhuique-Mayer, Vaillant, Perez, Ruales, y Brat, 2009; Acosta-Montoya, Vaillant, Cozzano, Mertz, Pérez y Castro, 2010).

Con base en las características tradicionales se seleccionaron las especies *Annona cherimola* (anona) y *Prunus domestica* (ciruelo), por su contenido polifenólico y potencial bioactivo, demostrado, además, en publicaciones científicas internacionales sobre especies foráneas, así como por la importancia en el contexto de desarrollo sustentable de Costa Rica.

Así, la *A. cherimola* y la *P. domestica* son especies de zonas de altura con interés para la diversificación de cultivos, tal como en el caso de la anona se viene dando en la Zona de Los Santos (Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, 2008) y en el caso de la *P. domestica*, la difusión de su cultivo es parte de acciones para la protección del

recurso hídrico en la Cuenca Hidrográfica del Río Reventazón-Parismina y la Microcuenca Plantón-Pacayas (PREVDA-COMCURE, 2008; INTA, 2009).

La *Annona cherimola* (Mill), de la familia *Annonaceae*, se cultiva principalmente en la zona de Aserrí, aunque también es importante en la zona de Los Santos, San Antonio, Santa Cruz, Copey de Dota y en las faldas del volcán Poás (INBIO, 2010; Quesada, 2005). En especies foráneas de *A. cherimola* se han identificado compuestos incluyendo alcaloides y esteroides (Chen, Chang, Teng y Wu, 1999; Chen, Chang, Pan y Wu, 2001) y se ha descrito el potencial citotóxico de extractos (Martínez-Vázquez, De la Cueva Lozano, Estrada-Reyes, González-Lugo, Ramírez Apan, y Heinze, 2005; Santos Pimenta, Pinto, Takahashi y Boaventura, 2003) así como actividad anti-*helicobacter pylori* (Castillo-Juárez, González, Jaime-Aguilar, Martínez, Linares, Bye y Romero, 2009). Se ha reportado el contenido fenólico total y poder antioxidante de la fracción polifenólica del fruto, para mejorar su comercialización hacia Europa y USA (Murillo, 2002; Campos-Vargas, Defilippi, Romero, Valdés, Robledo y Prieto, 2008).

El *Prunus domestica*, árbol de la familia *Rosaceae*, se cultiva principalmente en partes altas de la región de Los Santos, como en La Pastora de San Marcos de Tarrazú y Copey de Dota (INTA, 2009). Se ha reportado internacionalmente el contenido de polifenoles en fruta y jugos así como su actividad antioxidante (Donovan, Meyer y Waterhouse, 1998; Georgé, Scalbert, Bellamy, Amiot-Carlin, Du Chaffaut, Brat y Mennen, 2005), habiéndose encontrado flavonoides y proantocianidinas (Kim, Chun, Kim, Moon, & Lee, 2003; Chun, Kim, Moon, Kang y Lee, 2003), mostrando relación con la actividad antioxidante de extractos (Araya, Clavijo & Herrera, 2006; Mendiola, Marin, Señoráns, Reglero, Martín, Cifuentes y Ibáñez, 2008) y de productos comerciales (Proteggente, Pannala, Paganga, Buren, Wagner, Wiseman, et al., 2002; Sato, Watanabe, Goto y Ishikawa Takano, 2010) así como con la citotoxicidad ante líneas celulares cancerígenas (Noratto, Porter, Byrne y Cisneros-Zevallos, 2009). Se ha demostrado que con un buen manejo los cultivos son optimizables, obteniendo mejores concentraciones y selectividad, así como buena actividad antiproliferativa (Lombardi-Boccia, Lucarini, Lanzi, Aguzzi y Cappelloni, 2004; Byrne, Noratto, Cisneros-Zevallos, Porter y Vizzotto, 2009), la actividad antioxidante aumenta en algunos frutos con

el proceso de maduración (Kristl, Slekovec, Tojnko & Unuk, 2010).

El proyecto, a través de la obtención y divulgación de información pertinente y de calidad científica sobre *A. cherimola* y *P. domestica*, se dirige a promover sinergias agrícolas productivas, difusión de cultivos, demanda de productos en el mercado, procurando beneficiar la salud de la población.

Material y métodos

El desarrollo rural que acompaña la protección ambiental, ha hecho que las universidades públicas costarricenses tengan como prioridad transferir los conocimientos científicos a las comunidades rurales, para que hagan uso de ese conocimiento en pro de un desarrollo sostenible de su comunidad. La figura 1 muestra un diagrama que contempla la pluralidad de las actividades del proyecto, a nivel investigativo, trabajo de campo y de divulgación.

Así, una primera fase operativa comprende la adquisición de material vegetal, la obtención de extractos y el análisis fitoquímico inicial. La segunda

fase comprende el establecimiento de plantaciones y el análisis de la composición y bioactividad de los compuestos para en una tercera fase darse la transferencia de conocimientos a la población y la capacitación en manejo agroecológico, productivo a las comunidades meta.

I FASE OPERATIVA

El estudio se llevó a cabo del 2012 al 2013, con dos grupos sociales organizados, uno ubicado en Cabuyal de San Pedro de Poás, Alajuela denominado Damas Verdes y en Llano Bonito de León Cortés, San José con un grupo conocido como PROAL. Los materiales de ambas especies fueron obtenidos de árboles clasificados por los productores como los más prolíferos ubicados en la Zona Alta de Copey de Dota y Tarrazú. Además se colectó material promisorio en Tres Ríos de Cartago y en San Pedro de Poás. Se obtuvo el voucher de cada espécimen con el apoyo del taxónomo curador del Herbario Nacional de Costa Rica.

Los árboles se propagaron de manera tradicional para establecer parcelas en cada una de las comuni-



Figura 1. Estrategia pluridisciplinaria hacia el desarrollo sostenible a través del aprovechamiento racional de recursos naturales con potencial bioactividad (Navarro-Hoyos y Monagas, 2011)

dades mencionadas. Los requerimientos agroecológicos fueron analizados por cultivo (distanciamientos de siembra, patologías del cultivo, requisitos nutricionales, fenología y cosecha en plantas seleccionadas en el campo, entre otros).

Se establecieron parcelas de adaptación en las diferentes localidades de los grupos organizados ya sea en parcelas o como cerca viva, también se mantendrá material en fincas experimentales de las universidades.

Una vez establecidas las áreas de siembra por especie, se les dio seguimiento para su desarrollo, se evaluó altura y cobertura por especie.

II FASE OPERATIVA

Preparación del material vegetal

El material vegetal de cada especie, una vez adquirido, en la comunidad agrícola de referencia y asignado un *voucher*, se separó en las partes de estudio correspondientes, procesándose y liofilizándose de forma separada y valorando el contenido de humedad.

Obtención de extractos

El material liofilizado, molido y pesado, se extrajo con solventes de distinta polaridad, según la metodología del equipo investigativo, enfocándose en la obtención de extractos ricos en polifenoles.

Estos extractos fueron analizados mediante pruebas químicas y técnicas de espectroscopia RMN, ¹H, ¹³C y 2D, para decidir sobre su proceso de fraccionamiento por cromatografía de columna, tanto sílice como con sustratos específicos, como HP20 o sephadex, se aplicó asimismo análisis HPLC-DAD, MS y RMN, que permitió la elucidación estructural de distintos compuestos.

Además se realizó la determinación de la actividad antioxidante por el método de ORAC así como de la citotoxicidad en líneas celulares cancerígenas.

III FASE OPERATIVA

Capacitación agroecológica y productiva

Las poblaciones seleccionadas utilizan plantas medicinales con el fin de ofrecer algún producto comercial que les permita ampliar sus horizontes y su mercado. Las plantas que se estudiaron en este

proyecto les brindarán a los grupos una mayor fortaleza para incluir los mismos en los productos que ya ofrecen comercialmente.

Para cada especie se programaron charlas que evidenciaron el potencial que tiene y su fase de domesticación, esto les permitirá a las comunidades, sembrarlas y reproducirlas con éxito, pues se establecerán la distancia de siembra, la producción de plantas en vivero, el tipo óptimo del sustrato, los requerimientos nutricionales, etc.

Se profundizó en el tema de buenas prácticas para el manejo agroecológico y productivo, incluyendo la manipulación del material y las regulaciones existentes así como el potencial de mercado, a través de talleres de capacitación que brindaron las bases para el desarrollo y comercialización de estos productos como materia prima o potencial uso de derivados en nichos de mercado apropiados.

Resultados y discusión

I FASE OPERATIVA

En lo que respecta al manejo agronómico, se georeferenciaron y se propagaron ambas especies en diferentes grupos de mujeres, dándole seguimiento a los cultivos. Así, se cuenta con colecciones de plantas en grupos organizados como Damas Verdes y PROAL.

Ambas especies se colectaron en la zona de Copey de Dota situada a unos 1600 msnm donde la calidad del clima registra temperaturas promedio de 21 °C.

Se ubicó el material en las áreas con temperaturas semejantes a los lugares de extracción para asegurarse del buen crecimiento de las plantas. Se utilizó para su reproducción material mejorado con injertos para obtener mejor calidad de frutos, los mismos fueron realizados por personal del vivero de CoopeTarrazú.

Se utilizó para su siembra un distanciamiento de 3 x 2 sin embargo, en algunas zonas se utilizaron para repoblar áreas de potrero por parte de los niños de la Escuela de la comunidad de Cabuyal y también en la zona comunal del grupo Damas verdes y en la de PROAL a orillas de cercas.

II FASE OPERATIVA

El material de frutos colectado de los árboles seleccionados fue llevado a los laboratorios de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica donde se procesaron para elaborar los respectivos extractos. El material fresco se separó para extraer las semillas. El exocarpo y mesocarpo en el caso del *Prunus domestica* y todo el pericarpo y eje de la inflorescencia en el caso de la *Annona cherimolla* se procesaron y liofilizaron, para luego obtenerse distintos extractos y análisis.

Así, una vez procesado y liofilizado el material de pulpa y cáscaras de los frutos de ambas especies, fueron sometidos a diferentes procesos, incluyendo extracción total con metanol así como extracción fraccionada, con diferentes solventes orgánicos, tal como hexano, n-butanol, cloroformo, acetona, agua, hacia la obtención de extractos polifenólicos, obteniendo rendimientos que oscilaron entre 2,1% y

7,9% para la extracción metanólica y entre 3,6% y 15,7% para otros procesos de extracción.

Se trabajó en la cuantificación de polifenoles totales, del potencial antioxidante y actividad citotóxica y se obtuvo en la caracterización de extractos compuestos como flavonas, diterpenos oxidados, ácidos polihidroxilados, flavonoides glicosilados, ácidos hidroxicinámicos glicosilados y flavan-3-oles; así como valores de polifenoles totales (PT) que oscilan entre 40,84 y 80,79 GAE (equivalentes de ácido galico) / g de extracto, valores correlacionables de proantocianidinas totales (PRO) y de potencial antioxidante entre $1,89 \pm 0,09$ y $6,48 \pm 0,38$ TE (equivalentes de trolox) / g de extracto, según la metodología ORAC .

III FASE OPERATIVA

Se hicieron cuatro talleres, dos con cada grupo o comunidad. El inicial, de inducción sobre conocimientos técnicos en la temática de antioxidantes, polifenoles, importancia de esas moléculas como



Figura 2. Taller de elaboración de productos y buenas prácticas agrícolas. Grupo PROAL, Llano Bonito de León Cortés. Costa Rica



Figura 3. Manejo de plantas en vivero y campo. Grupos de mujeres San Pedro de Poás. Costa Rica.

efecto protector al ser humano. El segundo sobre los procedimientos de siembra, técnicas de colecta para este tipo de ensayos y elaboración de productos artesanales, como cremas y geles (figuras 2 y 3).

Asimismo, se realizó la transferencia de conocimientos y realimentación con grupos de productores, incluyendo cooperativas, dando seguimiento a las demandas de estudio de otras variedades de estos frutos, cultivadas localmente.

Conclusión

En la presente investigación se desarrollaron estudios de los frutos de las especies *Annona cherimola* y *Prunus domestica*, cultivadas en las regiones de Poás y Los Santos de Costa Rica. Se encontraron principios activos y características de potencial bioactivo similares o mejores a las encontradas en especies foráneas, lo que muestra la importancia de este conocimiento científico en la capacitación y realimentación efectuada con comunidades, en las que se logró el establecimiento de parcelas y manejo agroecológico, así como con grupos productores para los que esta transferencia de conocimiento y realimentación es importante para potenciar el consumo de sus cultivos.

Referencias bibliográficas

Acosta-Montoya, Ó., Vaillant, F., Cozzano, S., Mertz, C., Pérez, A. M. y Castro, M.V. (2010). Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schtdl.) during three edible maturity stages. *Food Chemistry*, 119(4), 1497-1501.

Araya, H., Clavijo, C. y Herrera, C. (2006). Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivados en Chile. *Arch Latinoam Nutr, Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 56(4), 361-365.

Borges, G., Mullen, W. y Crozier, A. (2010). Comparison of the polyphenolic composition and antioxidant activity of European commercial fruit juices. *Food & function*, 1(1), 73-83.

Byrne, D. H., Noratto, G., Cisneros-Zevallos, L., Porter, W. y Vizzotto, M. (2009). Health benefits of peach, nectarine and plums. In *II International Symposium on Human Health Effects of Fruits and Vegetables: FAVHEALTH 2007 841* (pp. 267-274).

Campos-Vargas, R., Defilippi, B. G., Romero, P., Valdés, H., Robledo, P. y Prieto, H. (2008). Effect of harvest time and L-cysteine as an antioxidant on flesh browning of fresh-cut cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 68(3), 217-227.

Castillo-Juárez, I., González, V., Jaime-Aguilar, H., Martínez, G., Linares, E., Bye, R. y Romero, I. (2009). Anti-Helicobacter pylori activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *Journal of ethnopharmacology*, 122(2), 402-405.

Chen, C. Y., Chang, F. R., Pan, W. B. y Wu, Y. C. (2001). Four alkaloids from *Annona cherimola*. *Phytochemistry*, 56(7), 753-757.

Chen, C. Y., Chang, F. R., Teng, C. M. y Wu, Y. C. (1999). Cheritamine, A New N-Fatty Acyl Tryptamine and Other Constituents from the Stems of *Annona cherimola*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 46(1), 77-86.

Chun, O. K., Kim, D. O. y Lee, C. Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(27), 8067-8072.

Chun, O. K., Kim, D. O., Moon, H. Y., Kang, H. G. y Lee, C. Y. (2003). Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25), 7240-7245.

Donovan, J. L., Meyer, A. S. y Waterhouse, A. L. (1998). Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(4), 1247-1252.

Georgé, S., Scalbert, A., Bellamy, A., Amiot-Carlin, M. J., Du Chaffaut, L., Brat, P. y Mennen, L. (2005). Determination of the Polyphenol Content of Fruits and Vegetables. Establishment of a Database and Estimation of the Polyphenol Intake in the French Diet. In *I International Symposium on Human Health Effects of Fruits and Vegetables 744* (pp. 61-70).

INBIO. (2010). *Annona cherimola* Mill, Recueprado de <http://darnis.inbio.ac.cr/FMPro?-DB=UBIpub.fp3&-lay=WebAll&-Format=/ubi/detail.html&-Op=bw&id=1359&-Find>

INTA (2009) Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria. El Cultivo del Ciruelo (*Prunus domestica*). Área: Manejo integrado de cultivos / frutales de altura (Calvo, J), *Proyecto Microcuencia Plantón-Pacayas, INTA-ICE-INIA-Ministerio de Educación y Ciencia de España*, Boletín Técnico No. 9, San José, Costa Rica.

Kim, D. O., Chun, O. K., Kim, Y. J., Moon, H. Y. y Lee, C. Y. (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6509-6515.

Kristl, J., Slekovec, M., Tojnko, S., & Unuk, T. (2010). Extractable antioxidants and non-extractable phenolics in the total antioxidant activity of selected plum cultivars (*Prunus domestica* L.): Evolution during on-tree ripening. *Food Chemistry*, 125(1), 29-34.

Lombardi-Boccia, G., Lucarini, M., Lanzi, S., Aguzzi, A. y Cappelloni, M. (2004). Nutrients and antioxidant molecules in yellow plums (*Prunus domestica* L.) from conventional and organic productions: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(1), 90-94.

Martínez-Vázquez, M., De la Cueva Lozano, D. G., Estrada-Reyes, R., González-Lugo, N. M., Ramírez Apan, T. y Heinze,

- G. (2005). Bio-guided isolation of the cytotoxic corytenchine and isocoreximine from roots of *Annona cherimolia*. *Fitoterapia*, 76(7), 733-736.
- Mendiola, J. A., Marin, F. R., Señoráns, F. J., Reglero, G., Martín, P. J., Cifuentes, A. y Ibáñez, E. (2008). Profiling of different bioactive compounds in functional drinks by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1188(2), 234-241.
- Mertz, C., Gancel, A. L., Gunata, Z., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Vaillant, F., Perez A.M., Ruales, J. y Brat, P. (2009). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(5), 381-387.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica (2008) *Memoria Anual 2007*, Ministro J. Flores, MAG, San José Costa Rica.
- Monagas, M., Hernández-Ledesma, B., Gómez-Cordovés, C. y Bartolomé, B. (2005). Commercial dietary ingredients from *Vitis vinifera* L. leaves and grape skins: antioxidant and chemical characterization. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(2), 319-327.
- Murillo E. (2002) *Actividad Antioxidante de Bebidas de Frutas y de Té Comercializadas en Costa Rica*, Florida Ice and Farm Co. S.A., Panamá.
- Navarro-Hoyos, M. y Monagas, M. (2011) *Polifenoles de U. tomentosa: proantocianidinas y bioactividad*. AECID & CRUSA Report, San Jose, Costa Rica.
- Noratto, G., Porter, W., Byrne, D. y Cisneros-Zevallos, L. (2009). Identifying peach and plum polyphenols with chemopreventive potential against estrogen-independent breast cancer cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(12), 5219-5226.
- PREVDA-COMCURE, Programa Regional de Reducción de Vulnerabilidad y Degradación Ambiental (2008). *Plan de Manejo de la Cuenca del Río Reventazón- Parímina*, CNE, Sistema de Integración Centroamericana-Unión Europea (SICA-UE), San José, Costa Rica.
- Proteggente, A. R., Pannala, A. S., Paganga, G., Buren, L.V., Wagner, E., Wiseman, S., et al. (2002). The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free radical research*, 36(2), 217-233.
- Quesada, P. (2005) *Calidad de Frutos de Anona (Annona cherimola Mill) caracterizados en Costa Rica*, *Rev. Agr. Trop.* 35: 69-76 (2005).
- Requena, T., Monagas, M., Pozo-Bayón, M. A., Martín-Álvarez, P. J., Bartolomé, B., Del Campo, R., et al. (2010). Perspectives of the potential implications of wine polyphenols on human oral and gut microbiota. *Trends in food science & technology*, 21(7), 332-344.
- Santos Pimenta, L. P., Pinto, G. B., Takahashi, J. A. y Boaventura, M. A. D. (2003). Biological screening of Annonaceous Brazilian Medicinal Plants using *Artemia salina* (Brine Shrimp Test). *Phytomedicine*, 10(2), 209-212.
- Sato, A., Watanabe, J., Goto, M., & Ishikawa Takano, Y. (2010). Evaluation for anti-oxidant activities of *Prunus* sp. using oxygen radical absorbance capacity. *J. Japanese Society of Food Science and Technology*, 57 (1), 44-48.