

Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2016, 33: 137-161

Efecto de la forma de propagación y la frecuencia de fertilización nitrogenada sobre la actividad antioxidante en frutos de guanábana (*Annona muricata* L.)

Effect of the pattern of spread and frequency of nitrogen fertilization on antioxidant activity in fruits of soursop (*Annona muricata* L.)

Efeito da forma de propagação e da frequência da fertilização nitrogenada sobre a atividade antioxidante em frutos de graviola (*Annona muricata* L.)

Mabel Fuenmayor¹, Gretty Ettiene², Evelyn Pérez-Pérez³, Johanna Raga⁴

¹MSc. en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Ingeniería, División de Estudios para Graduados, Universidad del Zulia (LUZ).

²Departamento de Química, Facultad de Agronomía-LUZ. ³Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola (CESID Frutícola y Apícola) CORPOZULIA, municipio Mara, estado Zulia.

⁴Laboratorio de Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ingeniería-LUZ.

Resumen

Se evaluó el efecto de la forma de propagación y la frecuencia de fertilización nitrogenada sobre la actividad antioxidante en frutos de guanábana (*Annona muricata* L.). Se seleccionaron frutos de una parcela experimental del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de CORPOZULIA, ubicado en el municipio Mara, estado Zulia, Venezuela, para lo cual se seleccionaron 16 plantas de *A. muricata* de 15 años de edad. Se empleó un arreglo de tratamientos factorial 2 x 4, en un diseño experimental completamente al azar, con dos frecuencias de fertilización nitrogenada (quincenal y trimestral, respectivamente) y cuatro formas de propagación (pie franco; *A. muricata*/*A. glabra*; *A. muricata*/*A. montana*; *A. muricata*/*A. muricata*). Se estudió como variables respuesta, capacidad antioxidante (CA), fenoles totales (FT), flavonoides totales (FLT) y vitamina C (VC). Se observó que el contenido de fitoquímicos fue afectado por el portainjerto. *Annona muricata* (portainjerto) fertilizado quincenalmente presen-

Recibido el 27-10-2014 ● Aceptado el 14-03-2016

Autor de correspondencia e-mail: gettiene@fa.luz.edu.ve

tó la mayor CA, mientras que la fertilización trimestral favoreció mayores contenidos de FT y FLT. El portainjerto *A. montana*, con fertilización quincenal presentó mayor contenido de VC.

Palabras clave: *Annona muricata*, fenoles totales, flavonoides totales, vitamina C.

Abstract

This research was carried out to evaluate the effect of propagation form and fertilization type on the antioxidant activity of the soursop fruits (*Annona muricata* L.). The fruits were selected from a lot of the Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola (CESID Frutícola y Apícola) of CORPOZULIA, located in Mara municipality, Zulia state, Venezuela. There were selected 16 plants of *A. muricata* of 15 years of age. A split plot 2 x 4 design was used in a completely randomized design with two nitrogen fertilization frequency (biweekly and quarterly, respectively) and four forms of propagation (grafted, *A. muricata*/*A. glabra*, *A. muricata*/*A. montana*, *A. muricata*/*A. muricata*). The response variables were evaluated: antioxidant capacity (AC), total phenols (TP), total flavonoids (TF) and vitamin C (VC). The analysis of variance determined that there was a highly significant ($P < 0.01$) of the simple effects and interaction. The rootstock *A. muricata* fertilized biweekly showed the highest antioxidant capacity, while quarterly fertilization favored higher contents of total phenols and flavonoids. *Annona montana*, fertilized biweekly showed the highest content of vitamin C. It was concluded that the soursop was a fruit with high antioxidant potential and rich in total phenols, flavonoids and vitamin C, which the nutraceutical potentiates how a food with high functionality.

Key words: *Annona muricata*, total phenols, total flavonoids, vitamin C.

Resumo

O efeito da forma de propagação e a frequência da fertilização nitrogenada sobre a atividade antioxidante em frutos de graviola (*Annona muricata* L.) foram avaliados. Alguns frutos de uma parcela experimental do Centro Socialista de Investigação e Desenvolvimento Frutícola e Apícola (CESID Frutícola y Apícola) de CORPOZULIA foram selecionados, este centro esta situado no município Mara do estado Zulia em Venezuela, para isso foram selecionadas 16 plantas de *A. muricata* de 15 anos de idade. Empregou-se um arranjo de tratamentos fatorial 2 x 4, num desenho experimental completamente ao acaso, com duas frequências de fertilização nitrogenada (quinzenal e trimestral, respectivamente) e quatro formas de propagação (pé franco; *A. muricata*/*A. glabra*; *A. muricata*/*A. montana*; *A. muricata*/*A. muricata*). Estudaram-se como variáveis, resposta, capacidade antioxidante (CA), fenóis totais (FT), flavonóides totais (FLT), e vitamina C (VC). Observou-se que o conteúdo de fitoquímicos foi afetado por o porta-enxerto. *A. muricata* (porta-enxerto) fertilizado quinzenalmente apresentou a maior CA,

enquanto que a fertilização trimestral favoreceu maiores conteúdos de FT e FLT. O porta-enxerto *A. montana* com fertilização quinzenal apresentou maior conteúdo de VC.

Palavras chave: *Annona muricata*, fenóis totais, flavonoides totais, vitamina C.

Introducción

El guanábano (*Annona muricata* L.) es un árbol frutal perteneciente a la familia Annonaceae. Las especies de esta familia son originarias de América tropical, siendo Colombia y Brasil su centro de origen. Esta especie se encuentra dispersa tanto en forma silvestre, como cultivada en las Antillas, el sur de México, Brasil y las Islas del Pacífico; también, es cultivada en el sur de Florida, desde el sureste de China hasta Australia y tierras bajas y calientes del este y oeste de África (Yamarte *et al.*, 2006).

En Venezuela este rubro ha sido cultivado con poco aprovechamiento, y en los últimos años no se han reportado datos precisos sobre su producción y consumo. La información más reciente fue aportada por Yamarte *et al.* (2006), quienes indicaron que en el estado Zulia para ese momento existía una superficie sembrada de 415 ha, de éstas, el municipio Mara, contaba con 17 ha y el sur del Lago de Maracaibo con 400 ha, aproximadamente.

El guanábano se propaga por semillas o por injertos sobre portainjertos de las especies *A. reticulata* y *A. glabra*. Si se propaga por semillas, estas deben ser obtenidas de plantas madres selectas, cuyas características deben incluir: elevada producción y excelente calidad de frutos, así como alta resistencia a plagas y enfermedades. Las semillas de guanábano generalmente presentan una germinación

Introduction

Soursop (*Annona muricata* L.) is a fruit tree that belongs to the Annonaceae family. The species of this family come from Tropical America, being Colombia and Brazil its center of origin. This specie is scattered wildly cropped in the Antilles, south of México, Brazil and the islands of the Pacific; also, it is cropped in the south of Florida from the southeast of China until Australia and low and hot lands and west of Africa (Yamarte *et al.*, 2006).

In Venezuela this product has not been too cropped, and in the last years none accurate data has been reported about its production and consumption. The more recent information was provided by Yamarte *et al.* (2006), who indicated that in Zulia state there was a sowed surface of 415 ha out of which in Mara County there were 17 ha and in the South of Maracaibo's Lake with 400 ha, approximately.

Soursop propagates by seed or root on a rootstock of the species *A. reticulata* and *A. glabra*. If it propagates by seeds these should be obtained by selected mother plants which characteristics must include: high production and excellent quality of fruits as well as high resistance and irregular, due to different levels and type of dormancy, which makes that the sexual propagation becomes difficult (De Queiroz *et al.*, 2005).

desigual e irregular, que se debe a diferentes niveles y tipos de dormancia, esto hace que la propagación sexual sea difícil (De Queiroz *et al.*, 2005).

Las plantas propagadas sexualmente en vivero muestran variabilidad en su crecimiento y producción en campo. Sin embargo, plantas de semillero de guanábano cultivadas en la Región del Cerrado en Brasil, generalmente comienzan a florecer y a producir a la misma edad que las propagadas por injertos, tienen producción de frutos en campo similar y mayor longevidad (De Queiroz *et al.*, 2005). Debido a la alta variabilidad que presentan las plantas de semillero, la propagación vegetativa es deseable. Para el establecimiento de un huerto de guanábanos, se debe evaluar los diferentes métodos de propagación vegetativa, tales como estacas, acodos e injertos (De Queiroz *et al.*, 2005).

El mesocarpio (pulpa) de la guanábana contiene proteínas, ácidos grasos, fibra, carbohidratos, minerales y vitaminas (De Queiroz *et al.*, 2005; García *et al.*, 2010; Ramírez y Pacheco, 2011; Ávila *et al.*, 2012; Clamens *et al.*, 2014; Vit *et al.*, 2014). Sin embargo, en los últimos años, se ha considerado un fruto importante debido a sus propiedades antioxidantes (Ávila *et al.*, 2012; García *et al.*, 2012; George *et al.*, 2012; Vit *et al.*, 2014). En este sentido, Adelowe y Ojewole (2009), indicaron que los extractos de varias partes morfológicas de *A. muricata* han sido ampliamente utilizados en diferentes partes del mundo en el tratamiento de infinidad de dolencias en los seres humanos, incluyendo la diabetes mellitus.

The plants that propagated sexually in the greenhouse show variability in their growth and in the field production. However, the seedbed plants of soursop cropped in the Region of “Cerrado” in Brazil, generally start to flower and produce at the same age than the propagated by roots, have a similar fruit production and higher longevity (De Queiroz *et al.*, 2005). Due to the high variability of the seedbed plants, the vegetative propagation is desirable. For establishing a soursop orchard the different vegetative propagation methods must be evaluated, such as stakes, layers and roots (De Queiroz *et al.*, 2005).

The mesocarp (pulp) of soursop has proteins, fatty acids, fiber, carbohydrates, minerals and vitamins (De Queiroz *et al.*, 2005; García *et al.*, 2010; Ramírez and Pacheco, 2011; Ávila *et al.*, 2012; Clamens *et al.*, 2014; Vit *et al.*, 2014). However, in the last years, it has been considered as an important fruit due to its antioxidant properties (Ávila *et al.*, 2012; García *et al.*, 2012; George *et al.*, 2012; Vit *et al.*, 2014). In this sense Adelowe and Ojewole (2009), indicated that the extracts of different morphologic parts of *A. muricata* have been widely used in different parts of the world in the treatment of different diseases in human beings, included mellitus diabetes.

Hamizah *et al.* (2012), mentioned that the extracts of soursop leaves have antioxidant properties, anti-inflammatory, antispasmodic, low pressure medicine and analgesic. Likewise, there were different chemical substances such as alkaloids, phenols, flavonoids, essential oils and acetogenins, which constitute a wide and big group

Hamizah *et al.* (2012), señalaron que los extractos de hojas de guanábano presentaron propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antiespasmódicas, hipotensoras y efectos analgésicos. Así mismo, se ha encontrado diferentes sustancias químicas, como alcaloides, fenoles, flavonoides, aceites esenciales y acetogeninas, las cuales constituyen un amplio y numeroso grupo de metabolitos secundarios de las plantas (Lin *et al.*, 2007; García *et al.*, 2012).

La guanábana, usualmente es consumida en forma fresca o procesada en productos industriales como helados, jugos, concentrados, yogures y productos saborizantes (Ocampo *et al.*, 2007). Sin embargo, aun con todos los beneficios que presenta para la salud, en Venezuela, su consumo se encuentra por debajo de las recomendaciones internacionales.

Por todo lo anteriormente indicado, es necesario conocer la influencia que puede ejercer el tipo de material sembrado, el tipo de propagación y los planes de fertilización sobre la calidad fitoquímica de los frutos obtenidos, debido a que son factores determinantes en el incremento de la producción y el rendimiento. Con respecto a la fertilización, es importante destacar, que las recomendaciones de fertilización deben ser el resultado de diferentes estudios que consideren factores climáticos, del suelo y propios del cultivo, así como los sistemas de producción bajo los cuales se desarrollan. Estos factores pudieran incidir en la respuesta a la aplicación de los diferentes fertilizantes químicos (Ardelan *et al.*, 2010).

of secondary metabolites of the plants (Lin *et al.*, 2007; García *et al.*, 2012).

Soursop is usually consumed fresh or processed in industrial products such as ice creams, juices, yogurts and flavoring products (Ocampo *et al.*, 2007). However, even with all the health benefits that soursop has, in Venezuela it is consumed under the international recommendations.

Because of the latter, it is necessary to know the influence of the type sown, the type of propagation and the fertilization plan on the phytochemical quality of the fruits obtained, since these are determining factors in the increment of the production and the yield. Regarding the fertilization, it is important to mention that the fertilization recommendations must be the results of different researches that consider climatic factors, the soil and the own characteristics of the crop, as well as the production systems where they develop. These factors might influence in the response to the application of different chemical fertilizers (Ardelan *et al.*, 2010).

In the current research was evaluated the effect of the propagation way and the frequency of the nitrogen fertilization on the antioxidant activity in the mesocarp (pulp) of soursop fruits (*Annona muricata* L.), coming of an experimental plot of the Socialist Center of Fruit and Beekeeping Research and Development (CESID-Frutícola and Apícola) de CORPOZULIA.

Materials and methods

Location of the essay: the essay was carried out at the Socialist

En este trabajo se evaluó el efecto de la forma de propagación y de la frecuencia de fertilización nitrogenada sobre la actividad antioxidante en el mesocarpio (pulpa) de frutos de guanábana (*Annona muricata* L.), provenientes de una parcela experimental del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola (CESID-Frutícola y Apícola) de CORPOZULIA.

Materiales y métodos

Ubicación del ensayo: el ensayo se realizó en el Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola (CESID-Frutícola y Apícola) de CORPOZULIA (10°49'46,6" N; 71°46'29,2" O) ubicado en la planicie de Maracaibo, específicamente, en el municipio Mara, estado Zulia. Esta zona presenta condiciones de bosque muy seco tropical (Ewel *et al.*, 1976) con precipitación anual de 600 a 800 mm distribuidos en dos picos bien definidos de abril a mayo y de octubre a noviembre, siendo éste último el más pronunciado. Presenta una evaporación de 2.000 a 2.200 mm, una temperatura media anual de 28°C y una humedad relativa de 75%. Los suelos están clasificados como Typic Haplargids, con textura franco arenosa; 78,00% arena; 8,00% arcilla; 14,0% de limo y 0,90% de materia orgánica; 0,12 ds.m⁻¹ de conductividad eléctrica y pH 6,9 (COPLANARH, 1975).

Material vegetal: se seleccionaron 16 plantas de guanábano: cuatro plantas injertadas sobre *A. muricata* (Mmu), cuatro plantas injertadas sobre *A. montana* (Mmo), cuatro plantas injertadas sobre *A. glabra* (MGl) y

Center of Fruit and Beekeeping Research and Development (CESID-Frutícola and Apícola) of CORPOZULIA (10°49'46,6" N; 71°46'29,2" W) located in the Maracaibo's plain, specifically in Mara parish, Zulia state. This area has very dry tropical forest conditions (Ewel *et al.*, 1976) with annual precipitation from 600 to 800 mm, distributed in two well defined peaks from April to May and from October to November, being the last one the most pronounced. It has evaporation from 2,000 to 2,200 mm, and annual mean temperature of 28°C and relative humidity of 75%. The soils were classified as Typic Haplargids, with sandy clay texture; 78.00% sand, 8.00% clay; 14.0% slime and 0.90% of organic matter, 0.12 ds.m⁻¹ of electrical conductivity and pH 6.9 (COPLANARH, 1975).

Vegetal material: sixteen soursop plants were selected: four plants grafted on *A. muricata* (Mmu), four plants grafted on *A. montana* (Mmo), four plants grafted on *A. glabra* (MGl) and four ungrafted plants (UP) with 15 years old sown at a distance of 8 m x 8 m and irrigated by microsaspersion, three times per week for five hours. Also, 480 kg.year⁻¹ of nitrogen fertilizer (urea) were applied to the soil as long to fortnightly fractioning (FN) and quarterly (QN), and a dose of potassium sulfate (K₂SO₄) of 240 kg.year⁻¹, applying 80 g quarterly.

A total of four fruits were harvested per plant under physiologic ripening phase, were taken to the laboratory, washed with water and immersed in a ripener solution (ETHREL®), at a reason of 2 mL.L⁻¹,

cuatro plantas a pie franco (PF), de 15 años de edad sembradas a una distancia de 8 m x 8 m y regadas por microaspersión, tres veces por semana durante cinco horas. Se aplicaron directamente al suelo, 480 kg.año⁻¹ de fertilizante nitrogenado (urea), fraccionado quincenal (NQ) y trimestralmente (NT), y una dosis de sulfato de potasio (K₂SO₄) de 240 kg.año⁻¹, aplicando 80 g trimestralmente.

Se cosecharon un total de cuatro frutos por planta en estado de madurez fisiológica, se transportaron al laboratorio, se lavaron con agua de chorro y se sumergieron en una solución de madurador (ETHREL®), a razón de 2 mL.L⁻¹, durante 10 min, para asegurar la uniformidad de la maduración. Una vez maduros, el mismo día se despulparon y homogeneizaron para la determinación inmediata de vitamina C, flavonoides y fenoles totales. Una parte de la pulpa (mesocarpio) se preservó en una cava de enfriamiento a -20°C en bolsas plásticas cerradas herméticamente (Ziploc®) para la evaluación de la capacidad antioxidante.

Obtención de los extractos:

la extracción de los fenoles totales (FT) y flavonoides totales (FLT) se realizó empleando extracción ultrasónica. Para ello, se tomó 1 g de pulpa fresca y 10 mL de solución extractora metanol:agua (80:20% v/v), se sometió a extracción en un ultrasonido (Elma®, LC-130H), aplicando una frecuencia de 35 KHz, durante 20 min. El extracto obtenido, se filtró con lana de vidrio y los extractos se recogieron en un balón volumétrico de 50 mL. Posteriormente, se repitió la extracción sobre el residuo, con las mismas condiciones iniciales, se filtró la mezcla y

for 10 min, to assure the uniformity of ripening. Once ripened, the same day the mesocarp were eliminated and the fruits were homogenized for the immediate determination of vitamin C, flavonoids and total phenols. A part of the mesocarp (pulp) was preserved in a freezer at -20°C in plastic bags hermetically closed (Ziploc®) for evaluating the antioxidant capacity.

Obtaining of the extracts: the extraction of the total phenols (TP) and total flavonoids (TF) was carried out employing ultrasonic extraction. For that, 1 g of fresh and 10 mL of extracting solution of methanol:water were taken (80:20% v/v), submitted to extraction in an ultrasound (Elma®, LC-130H), applying a frequency of 35 KHz for 20 min. The extract obtained was filtered with glass-wool and the extracts were put on a 50 mL volumetric balloon. Consequently, the extraction was repeated on the residue with the same initial conditions, the mix was filtered and both extracts were combined. Finally, the volume completed until the gauging capacity with distilled water. The extracts were stored in amber glass vials until its analysis.

The extracts to measure the antioxidant capacity (AC) were obtained employing the method of Swain and Hillis (1959) with some modifications. For that, 3 g of soursop pulp were mixed with 25 mL of methanol and homogenized (Ultra-Turrax®). The homogenized extracts were preserved at 4°C for 12 h and then were centrifuged at 12.000 rpm for 20 min. Subsequently, were stored at -20°C until their analysis.

Determination of total phenols (TP): it was performed by

se combinaron ambos extractos. Finalmente, se completó el volumen hasta la línea de aforo con agua destilada. Los extractos se almacenaron en viales de vidrio color ámbar hasta su análisis.

Los extractos para medir la capacidad antioxidante (CA) se obtuvieron empleando el método de Swain y Hillis (1959), con algunas modificaciones. Para ello se tomó 3 g de la pulpa de guanábana se mezclaron con 25 mL de metanol y se homogeneizó (Ultra-Turrax®). Los extractos homogeneizados se conservaron a 4°C por 12 h y luego fueron centrifugados a 12.000 rpm por 20 min. Posteriormente, se almacenaron a -20°C hasta su análisis.

Determinación de fenoles totales (FT): se realizó por espectrofotometría de absorción molecular, de acuerdo con lo establecido por Kim *et al.* (2003). El método se basó en su carácter reductor, utilizando como reactivo una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico denominado Folin-Ciocalteu, que se redujeron al oxidar los compuestos fenólicos (Huang *et al.*, 2005; Kuskoski *et al.*, 2005), originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La absorbancia del color azul formado se midió a 750 nm (Du *et al.*, 2009; Peng-Min *et al.*, 2011) en un espectrofotómetro UV-visible, SPECTRONIC 20 (BAUSCH & LOMB®). Para el desarrollo del color, se tomó una alícuota de 2 mL del extracto y fue transferida a un balón volumétrico de 25 mL que contenía 9 mL de agua destilada, inmediatamente, se adicionó 1 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, se agitó, y se dejó en

spectrophotometry of molecular absorption according to what Kim *et al.* (2003) established. The method is based on its reducing trait, using as a reactive a mix of phosphotungstic and phosphomolybdic acids in a basic mean Folin-Ciocalteu, which reduce when oxidizing the phenolic compounds (Huang *et al.*, 2005; Kuskoski *et al.*, 2005); thus, originating blue oxides of wolfram (W_8O_{23}) and molybdenum (Mo_8O_{23}). The absorbance of the blue formed was measured at 750 nm (Du *et al.*, 2009; Peng-Min *et al.*, 2011) in an UV-visible spectrophotometer, SPECTRONIC 20 (BAUSCH & LOMB®). For developing the color, a 2 mL extract aliquot was used and transferred to a 25 mL volumetric balloon with 9 mL of distilled water, immediately 1 mL of the Folin-Ciocalteu reactive was added and agitated, and set aside for 5 min, once passed this time, 10 mL of Na_2CO_3 were added at 7% m/v, taking a bluish coloring; later, using distilled water the solution was taken to the initial volume, was manually agitated and after 90 min the absorbance was measured. A standard curve of gallic acid (0, 0.25, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2 and 4 $mg \cdot L^{-1}$). The TP content in the fruits was expressed in mg of gallic acid for 100 g of the pulp's fruit.

Determination of total flavonoids (TF): it was done by spectrophotometry of molecular absorption using the method reported by Floegel *et al.* (2011), with slight modifications. An extract aliquot of the sample extract (5 mL) was transferred to a 10 mL volumetric balloon, with a little volume of distilled water, at zero time was added 0.3 mL of $NaNO_2$ at

reposo durante 5 min, una vez transcurrido este tiempo se le agregó 10 mL de Na_2CO_3 al 7% m/v, tomando una coloración azulada, posteriormente, se llevó a volumen final con agua destilada, se agitó manualmente y después de 90 min se midió la absorbancia. Se preparó una curva estándar de ácido gálico (0; 0,25; 0,8; 1,6; 2,4; 3,2 y 4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). El contenido de FT en los frutos se expresó en mg de ácido gálico por 100 g de pulpa de fruta.

Determinación de flavonoides totales (FLT): se realizó por espectrofotometría de absorción molecular, empleando el método reportado por Floegel *et al.* (2011), con ligeras modificaciones. Una alícuota del extracto de la muestra (5 mL), fue transferido a un balón volumétrico de 10 mL, conteniendo un volumen pequeño de agua destilada, a tiempo cero se adicionó 0,3 mL de NaNO_2 al 5% m/v, se dejó reposar 5 min y se le adicionó 0,3 mL de AlCl_3 al 10% m/v, se dejó en reposo 6 min y se agregó 2 mL de NaOH 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, finalmente, se aforó con agua destilada, se desarrolló un color rosado y antes de 30 min se leyó la absorbancia a 510 nm (Du *et al.*, 2009; Peng-Min *et al.*, 2011), en un espectrofotómetro UV-visible, SPECTRONIC 20 (BAUSCH & LOMB®). Se preparó una curva estándar de catequina (0, 2, 4, 6, 8 y 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (Kim *et al.*, 2003). Los resultados se expresaron en mg de catequina (Cat). 100 g^{-1} de pulpa fresca.

Determinación de capacidad antioxidante (CA): la capacidad antioxidante total se evaluó por el método del catión-radical ABTS (2,2'azinobis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico) reportado por Miller *et al.*

5% m/v, and let still at 5 min, 0.3 mL of AlCl_3 added to 10% m/v and left for 6 min and added 2 mL of NaOH 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, finally it gauged with distilled water, a pink color appeared and before 30 min absorbance was read at 510 nm (Du *et al.*, 2009; Peng-Min *et al.*, 2011), in an UV-visible spectrophotometer, SPECTRONIC 20 (BAUSCH & LOMB®). A standard catechin curve was prepared (0, 2, 4, 6, 8 and 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (Kim *et al.*, 2003). The results were expressed in mg of catechin (Cat). 100 g^{-1} of fresh pulp.

Determination of the antioxidant capacity (AC): the total antioxidant capacity was evaluated by the ABTS radical-cation method (2,2'azinobis 3-ethylbenzotiazolin 6-sulfonic acid) reported by Miller *et al.* (1993). ABTS^+ cation generated chemically by the reaction of an ABTS 7 mM solution with 2.45 mM potassium persulphate solution, both in 1:1 proportion. The mix was stored in an amber glass recipient covered with foil paper and in a dark place at environment temperature ($\pm 25^\circ\text{C}$), for a minimum time of 16 h before its use, for obtaining a green-bluish solution. After the formation of the radical ABTS^+ , dilutions with ethanol were done until obtaining an absorbance of 0.60-0.70 \pm 0.02 a 750 nm (wave longitude of maximum absorption), this was obtained mixing approximately 80 mL of the ABTS^+ solution with 1,000-1,200 mL of ethanol. The measure was done by UV spectrophotometry at 750 nm using a CaryUV-50 Varian® spectrophotometer (Mulgrave, Victoria, Australia).

The quantification was done using a standard Trolox curve (0.5, 1.0,

(1993). El catión ABTS⁺ se generó químicamente por la reacción de una solución de ABTS 7 mM con una solución de persulfato de potasio 2,45 mM, ambas soluciones en una proporción 1:1. Esta mezcla se almacenó en un recipiente de vidrio color ámbar cubierto con papel de aluminio y en oscuridad a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), por un tiempo mínimo de 16 h antes de su uso, para obtener una solución de color verde-azulada. Posterior a la formación del radical ABTS⁺, se realizaron diluciones con etanol hasta obtener una absorbancia de 0,60-0,70 \pm 0,02 a 750 nm (longitud de onda de máxima absorción), esto se logró mezclando aproximadamente 80 μL de la solución de ABTS⁺ con 1.000-1.200 μL de etanol. La medición se realizó por espectrofotometría UV a 750 nm empleando un espectrofotómetro CaryUV-50 Varian[®] (Mulgrave, Victoria, Australia).

La cuantificación se realizó a través de una curva estándar de Trolox (0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), como blanco se empleó etanol puro. Para ello, al radical ABTS⁺ generado se le determinó la absorbancia ($Abs\ radical$) t_{5min} , y se añadió 20 μL de extracto de cada estándar de ácido gálico y se dejó reaccionar por 5 min, en oscuridad para proceder a las lecturas espectrofotométricas a 750 nm ($Abs\ radical + antioxidant$) t_{5min} (Kim *et al.*, 2003). La capacidad antioxidante de las muestras se determinó siguiendo el mismo procedimiento aplicado a los estándares, sustituyendo el estándar, por 20 μL de la muestra. La capacidad antioxidante se calculó de la siguiente manera: $CA = (Abs\ radical)t_{5min} - (Abs\ radical + antioxidant)t_{5min}$. Los resul-

3,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and pure ethanol was used as blank. For that, the absorbance ($Abs\ radical$) t_{5min} was determined on the generated ABTS⁺, and 20 μL of extract of each standard of gallic acid were added, and let reacted for 5 min in the dark, to proceed to do the spectrophotometer readings at 750 nm ($Abs\ radical + antioxidant$) t_{5min} (Kim *et al.*, 2003). The antioxidant capacity of the samples was determined following the same procedure applied to the standards, substituting the standard by 20 μL of the sample. The antioxidant capacity was calculated as: $AC = (radical\ Abs)t_{5min} - (radical\ Abs + antioxidant)t_{5min}$. The results were expressed in $\text{mmol TEAA}\cdot 100\text{g}^{-1}$ (antioxidant activity equal to Trolox, by the acronyms in English).

Determination of vitamin C (VC): the content of VC was determined according to the tritration method with the coloring 2,6-dichloroindophenol established in the COVENIN 1295-82 norm (COVENIN, 1982). This method based in the reduction of 2,6 dichloroindophenol (indicator redox coloring) to its colorless specie in presence of the VC. In the final point, the excess of non-reduced coloring causes a soft pink color in the acid medium. The extraction was done employing magnetic agitation. For that, 20 g of the sample was weighted, previously homogenized, was mixed with 70 mL of oxalic acid at 1% m/v and put on a magnetic agitator (Beide SH2, Fisher Scientific[®]) for 10 min. Subsequently, the supernatant liquid was filtered in 100 mL volumetric balloons, taking the gauge to the solution of oxalic acid at 1% m/v.

tados se expresaron en mmol TEAA.100g⁻¹ (actividad antioxidante equivalente a Trolox, por sus siglas en inglés).

Determinación de vitamina C (VC): el contenido de VC se determinó según el método de titulación con el colorante 2,6-dicloroindofenol, establecido en la norma COVENIN 1295-82 (COVENIN, 1982). Este método se fundamenta en la reducción del 2,6 dicloroindofenol (colorante indicador redox) a su especie incolora en presencia de la VC. En el punto final, el exceso de colorante no reducido da un color rosado tenue en medio ácido. La extracción se realizó empleando agitación magnética. Para ello, se pesaron 20 g de muestra previamente homogeneizada, se mezclaron con 70 mL de ácido oxálico al 1% m/v y se colocó en una plancha de agitación magnética (Beide SH2, Fisher Scientific®) por 10 min. Posteriormente, se filtró el líquido sobrenadante en balones volumétricos de 100 mL, llevando al aforo con la solución de ácido oxálico al 1% m/v. Se empleó como estándar ácido ascórbico (0,1 mg.mL⁻¹). El contenido de VC, se expresó en mg de ácido ascórbico.100g de pulpa⁻¹.

Diseño experimental: se empleó un diseño experimental completamente al azar con arreglo de tratamientos factorial 2 x 4. El factor fertilización con dos niveles (fertilización nitrogenada a los 15 y 90 días, respectivamente) y el factor propagación con cuatro niveles (propagación a pie franco; *A. muricata/A. glabra*; *A. muricata/A. montana*; *A. muricata/A. muricata*), generando la combinación de los mismos ocho tratamientos: PF15 (pie franco 15 días de fertilización),

Ascorbic acid was used as standard (0.1 mg.mL⁻¹). The VC content was expressed in mg of ascorbic acid.100 g of pulp⁻¹.

Experimental design: a 2 x 4 completely split plot randomized design was applied. The fertilization factor with two levels (nitrogen fertilization within 15 and 90 days, respectively) and the propagation factor with four levels (ungrafted propagation; *A. muricata/A. glabra*; *A. muricata/A. montana*; *A. muricata/A. muricata*), generating the combination of the same eight treatments: UP15 (ungrafted 15 of fertilization), UP90 (ungrafted 90 days of fertilization), M/G15 (*A. muricata/A. glabra* 15 days of fertilization), M/G90 (*A. muricata/A. glabra* 90 days of fertilization), M/Mon15 (*A. muricata/A. montana* 15 days of fertilization), M/Mon90 (*A. muricata/A. montana* 90 days of fertilization), M/M15 (*A. muricata/A. muricata* 15 days of fertilization), M/M90 (*A. muricata/A. muricata* 90 days of fertilization), with eight replications, for a total of 64 observations. Each fruit represented an experimental unit.

The data obtained was processed using the statistical software SAS, version 8 (2000), applying the General Lineal Model (GLM) and the variance analysis (ANOVA). When detecting statistical significant differences among the interactions, mean tests were performed using the quadratic minimum mean tests (LSMEANS).

Results and discussion

Total phenols (TP): ANOVA detected a highly significant effect (P<0.01) among the factors under

PF90 (pie franco 90 días de fertilización), M/G15 (*A. muricata/A. glabra* 15 días de fertilización), M/G90 (*A. muricata/A. glabra* 90 días de fertilización), M/Mon15 (*A. muricata/A. montana* 15 días de fertilización), M/Mon90 (*A. muricata/A. montana* 90 días de fertilización), M/M15 (*A. muricata/A. muricata* 15 días de fertilización), M/M90 (*A. muricata/A. muricata* 90 días de fertilización). Con ocho repeticiones, para un total de 64 observaciones. Cada fruto representó una unidad experimental.

Los datos obtenidos se procesaron con el Programa Estadístico SAS, versión 8 (2000), aplicando el Modelo Lineal General (GLM) y empleando el análisis de varianza (ANOVA). Al detectarse diferencias estadísticas entre las interacciones, se realizaron pruebas de medias utilizando la prueba de medias mínimas cuadráticas (LSMEANS).

Resultados y discusión

Fenoles totales (FT): el ANOVA detectó un efecto altamente significativo ($P < 0,01$) entre los factores de estudio forma de propagación (FP), frecuencia de fertilización nitrogenada (FFN) y la interacción. La prueba de medias de LSMEANS determinó diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$) en la concentración de FT (figura 1) entre los tratamientos PF15 y M/G90 al compararlos con los tratamientos M/G15, M/Mon15, M/M15 y M/M90. Por otra parte, no detectó diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos PF15, M/G90 y M/Mon90; sin embargo, todos difirieron significativamente ($P < 0,05$) del resto de los tratamientos,

research propagation way (PW), frequency of nitrogen fertilization (FNF) and the interaction. LSMEANS mean test determined the significant statistical differences ($P < 0.05$) in the TP concentration (figure 1) among the treatments UP15 and M/G90 when comparing them to treatments M/G15, M/Mon15, M/M15 and M/M90. On the other hand, none significant differences ($P > 0.05$) were detected among the treatments UP15, M/G90 and M/Mon90; however, they all differed significantly ($P < 0.05$) from the rest of the treatments, excepting the treatments M/G90, and UP15 and UP90 which did not present differences in between.

The treatment that allowed obtaining the highest concentration of TP was M/M90 (95 mg AG.100 g⁻¹ of pulp) and the lowest concentration was for M/Mon15 (57 mg AG.100 g⁻¹ of pulp; figure 1). These results were higher to those reported by Márquez (2009), who found TP concentrations from 37-61 mg AG.100 g⁻¹ of soursop pulp cv. Elita, stored at 23°C and 65% of relative humidity. As well as those obtained by Batista *et al.* (2014) in fresh pulp of soursop (79.30 mg AG.100 g⁻¹) and submitted to freezing by 30, 60 and 90 days (81.89 mg AG.100 g⁻¹, 64.79 mg AG.100 g⁻¹ and 60.79 mg AG.100g⁻¹, respectively) and those determined by Ramírez and Pacheco (2011) in pulp samples of pineapple, guava and soursop (8.9; 56.9 and 39.6 mg AG.100 g⁻¹ of pulp, respectively).

Thaipong *et al.* (2006), reported higher concentrations in guava cultivars (170-345 mg AG.100 g⁻¹ of pulp) and Kim *et al.* (2003) in plum cultivars (174 to 375 mg of AG.100 g⁻¹

exceptuando los tratamientos M/G90, y PF15 y PF90 los cuales no presentaron diferencias entre sí.

El tratamiento con el cual se obtuvo la mayor concentración de FT fue M/M90 (95 mg AG.100 g⁻¹ de pulpa) y la menor concentración fue para M/Mon15 (57 mg AG.100 g⁻¹ de pulpa; figura 1). Estos resultados fueron superiores a los reportados por Márquez (2009), quien encontró concentraciones de FT entre 37-61 mg AG.100 g⁻¹ de pulpa de guanábana cv. Elita, almacenadas a 23°C y 65% de humedad relativa. Así como a los obtenidos por Batista *et al.* (2014), en pulpa fresca de guanábana (79,30 mg AG.100 g⁻¹) y sometida a congelación por 30, 60 y 90 días (81,89 mg AG.100 g⁻¹, 64,79 mg AG.100 g⁻¹ y 60,79 mg AG.100 g⁻¹, respectivamente) y los determinados por Ramírez y Pacheco (2011), en mues-

of fresh biomass). Alothman *et al.* (2009), obtained higher concentrations in guava fruits (123 to 191 mg AG.100 g⁻¹ of fresh biomass), but similar in banana (24.4 to 72.2 mg AG.100 g⁻¹ of fresh biomass) and pineapple (34.7 to 54.7 mg AG.100 g⁻¹ of fresh biomass).

García *et al.* (2012) evaluated the propagation effect on the chemical characteristics in soursop fruits in the selected plants in the current research. Regarding the TP content, none significant differences were found ($P < 0.05$) in the grafted plants on *A. Montana* (195 mg tanic acid.100 g⁻¹ of the pulp), regarding the fruits coming from plants at UP (130 mg tanic acid.100 g⁻¹ of the pulp). However, none significant differences were detected in the plants grafted on *A. glabra*. These results agreed to the ones presented in this research, since the mean tests

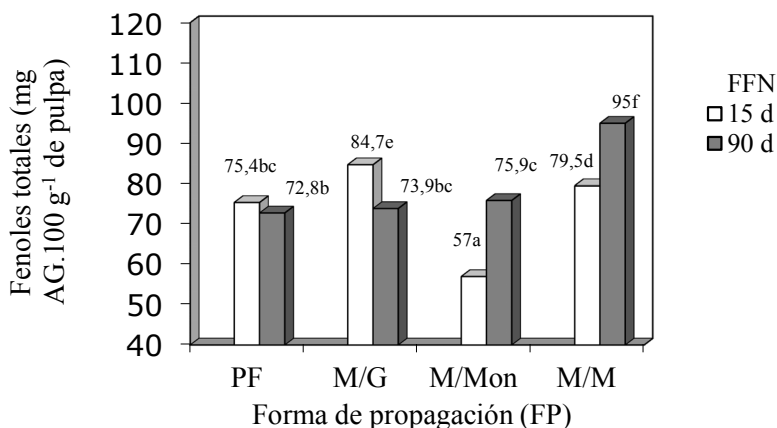


Figura 1. Efecto de la forma de propagación (FP) y la frecuencia de fertilización nitrogenada (FFN) sobre el contenido de fenoles totales en frutos de guanábana.

Figure 1. Effect of the propagation way (PW) and the frequency of nitrogen fertilization (FNF) on the content of total phenols in soursop fruits.

tras de pulpas de frutas de piña, guayaba y guanábana (8,9; 56,9 y 39,6 mg AG.100 g⁻¹ de pulpa, respectivamente).

Thaipong *et al.* (2006), reportaron concentraciones mayores en cultivares de guayaba (170-345 mg AG.100 g⁻¹ de pulpa) y Kim *et al.* (2003), en cultivares de ciruela (174 a 375 mg de AG.100 g⁻¹ de biomasa fresca). Alothman *et al.* (2009), obtuvieron mayores concentraciones en frutos de guayaba (123 a 191 mg AG.100 g⁻¹ de biomasa fresca), pero similares en banana (24,4 a 72,2 mg AG.100 g⁻¹ de biomasa fresca) y piña (34,7 a 54,7 mg AG.100 g⁻¹ de biomasa fresca).

García *et al.* (2012), evaluaron el efecto de la forma de propagación sobre las características químicas en frutos de guanábana en las mismas plantas seleccionadas en este trabajo. Con respecto al contenido de FT, encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en las plantas injertadas sobre *A. montana* (195 mg ácido tánico.100 g⁻¹ de pulpa), con respecto a los frutos provenientes de las plantas a PF (130 mg ácido tánico.100 g⁻¹ de pulpa). Sin embargo, no detectó diferencias significativas en las plantas injertadas sobre *A. glabra*. Estos resultados coincidieron con los obtenidos en la presente investigación, debido a que la prueba de medias detectó efecto significativo en las plantas a PF15 (75,4 mg AG.100 g⁻¹ de pulpa), con respecto a las plantas injertadas sobre *A. muricata* (M/M15) (95 mg AG.100 g⁻¹ de pulpa).

La diferencia presentada en cuanto al contenido de FT en los frutos de las plantas PF con respecto a las plantas injertadas pudiera deberse al efecto que el portainjerto y la frecuencia de fertilización nitrogenada,

detectado a significant effect in the plants at UP15 (75.4 mg AG.100 g⁻¹ of the pulp), in relation to the plants grafted on *A. muricata* (M/M15) (95 mg AG.100 g⁻¹ of the pulp).

The difference presented about the TP content in the fruits of UP plants regarding the grafted plants might be due to the effect that the rootstock and the nitrogen fertilization frequency had on the phyto-chemical content in the fruits. In this sense, Alia *et al.* (2005) mentioned that these differences in the fruits varied among the species, varieties, seasons and locations. This comment is supported and explained by Strail *et al.* (2007) who affirmed that the phenolic compounds depended on different factors, among which were: the variety, cultivar, season, vegetative conditions (specially the nutrient content and the intensity of sun energy), healthy of the fruits, storing methods in post-harvest and ripening phase, among others.

Regarding the fertilization influence in the TP content, Ardelan *et al.* (2010) in *Satureja hortensis* observed that the TP content increased with the use of chemical fertilizers. The highest content of TP was obtained with the use of 1,000 mg of fertilizer.plant⁻¹ (24.5 mg AG.g⁻¹ of dry biomass) compared to the witness treatment (without chemical fertilizers, 23.6 mg AG.g⁻¹ dry biomass).

Total flavonoids (TF): for the TF, ANOVA detected a highly significant effect ($P < 0.01$) among the factors under research PW, FNF and the interaction. The LSMEANS mean test determined significant differences ($P < 0.05$) in the TF

tuvieron sobre el contenido de fitoquímicos en los frutos. En este sentido, Alia *et al.* (2005), señalaron que estas diferencias en los frutos varió ampliamente entre especies, variedades, temporadas y localidades. Opinión compartida y ampliada por Strail *et al.* (2007), quienes afirmaron que la concentración de los compuestos fenólicos dependió de varios factores entre los que mencionaron: la variedad, el cultivar, la estacionalidad, condiciones vegetativas (especialmente el contenido de nutrientes y la intensidad de la energía solar), sanidad de los frutos, métodos de almacenamiento en postcosecha y el estado de madurez, entre otros.

Con respecto a la influencia de la fertilización en el contenido de FT, Ardelan *et al.* (2010), en *Satureja hortensis* observaron que el contenido de FT se incrementó con el uso de fertilizantes químicos. El contenido más alto de FT se obtuvo con el uso de 1.000 mg fertilizante.planta⁻¹ (24,5 mg AG.g⁻¹ de biomasa seca) en comparación con el tratamiento testigo (sin fertilizantes químicos, 23,6 mg AG.g⁻¹ de biomasa seca).

Flavonoides totales (FLT):

Para los FLT, el ANOVA detectó un efecto altamente significativo ($P < 0,01$) entre los factores de estudio FP, FFN y la interacción. La prueba de medias de LSMEANS determinó diferencias significativas ($P < 0,05$) en el contenido de FLT (figura 2) entre los tratamientos PF15, PF90, M/Mon15 y M/Mon90, al compararlos con los tratamientos M/G15, M/G90, M/M15 y M/M90. Por otra parte, la prueba de medias de LSMEANS detectó diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos M/G15, M/G90,

content (figure 2) among the treatments UP15, UP90, M/Mon15 and M/Mon90. On the other hand, LSMEANS mean test detected significant differences ($P > 0.05$) among the treatments M/G15, M/G90, M/M15 and M/M90. None significant differences were detected ($P > 0.05$) among the treatments UP15, UP90, M/Mon15 and M/Mon90. However, all these treatments differed significantly ($P < 0.05$) from the rest of the evaluated treatments.

The highest concentration of TF was obtained with M/M90 (54.9 mg Cat.100 g⁻¹ of the pulp) and the lowest concentration M/Mon15 (33.5 mg Cat.100 g⁻¹ of the pulp; figure 2). These results were superior to the ones obtained by Alothman *et al.* (2009), in pineapple (1.24 and 4.14 mg Cat.100 g⁻¹ of fresh pulp), banana (4.70 and 23.7 mg Cat.100 g⁻¹ of fresh pulp) and guava (13.9 and 40.9 mg Cat.100 g⁻¹ of fresh pulp), and the ones obtained by Chuquimia *et al.* (2008), in four vegetal species of the Andean region of Bolivia called amañoke, achacana, chijura and siki (6.68; 0.06; 0.05 and 0.063 mg Cat.g⁻¹ of fresh biomass, respectively). As well as those published by Kim *et al.* (2003), in plum cv. Gala (62 mg Cat.100⁻¹ g of fresh biomass).

As well as in TP, it was observed that in the rootstock and in the nitrogen fertilization frequency the TF concentration affected both the UP fruits and the ungrafted plants. The TF contents were lower than in the TP contents. This was expected since the TF constituted a sub-group of the phenolic compounds and these were different in fruits of the same plant.

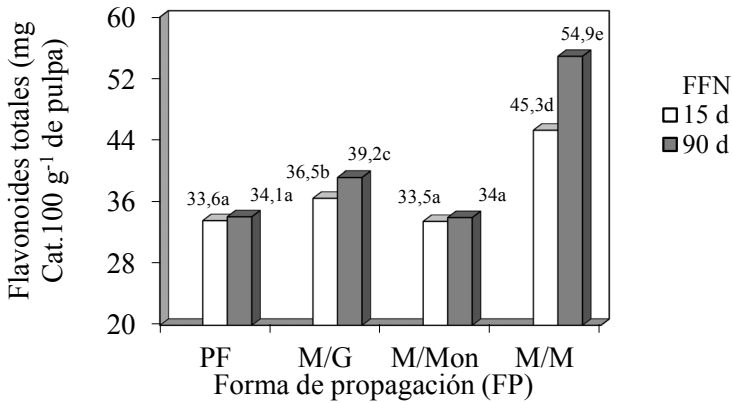


Figura 2. Efecto de la forma de propagación (FP) y la frecuencia de fertilización nitrogenada (FFN) sobre el contenido de flavonoides totales en frutos de guanábana.

Figure 2. Effect of the propagation way (PW) and the frequency of nitrogen fertilization (FNF) on the content of total flavonoids in soursop fruits.

M/M15 y M/M90. No se detectaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos PF15, PF90, M/Mon15 y M/Mon90. Sin embargo, todos difirieron significativamente ($P < 0,05$) del resto de los tratamientos evaluados.

La mayor concentración de FLT se obtuvo con M/M90 (54,9 mg Cat.100 g⁻¹ de pulpa) y la menor concentración M/Mon15 (33,5 mg Cat.100 g⁻¹ de pulpa; figura 2). Estos resultados fueron superiores a los obtenidos por Alothman *et al.* (2009), en piña (1,24 y 4,14 mg Cat.100 g⁻¹ de pulpa fresca), banana (4,70 y 23,7 mg Cat.100 g⁻¹ de pulpa fresca) y guayaba (13,9 y 40,9 mg Cat.100 g⁻¹ de pulpa fresca), y a los obtenidos por Chuquimia *et al.* (2008), en cuatro especies vegetales de la región andina de Bolivia llamadas amañoke, achacana, chijura y siki (6,68; 0,06; 0,05 y 0,063 mg Cat.g⁻¹ de biomasa fresca, respectivamente). Así

The quantitative distribution of the TF varied among the different organs of the plant and among different species and cultivars. This variability was conditioned by the genetic and other factors among these were the climatic area where the research took place, the mineral nutrition of the plant, the ripening phase, the position in the tree, the origin, storing, type of tissue (skin or pulp), the graft/rootstock relation and the agricultural practices (Murcia *et al.*, 2003; Palomo *et al.*, 2010).

Antioxidant capacity (AC): the variance analysis (ANOVA) detected in the variable antioxidant capacity a highly significant effect ($P < 0.01$) of the simple effects PW and FNF and the interactions. The LSMEANS test showed that there was a significant difference ($P < 0.05$) (figure 3) among the treatments UP15, M/

como, los publicados por Kim *et al.* (2003), en ciruela cv. Gala (62 mg Cat.100⁻¹ g de biomasa fresca).

De la misma manera que en FT, se observó que el portainjerto y la frecuencia de fertilización nitrogenada afectó la concentración de FLT, tanto en los frutos a PF como en los frutos de las plantas injertadas. Los contenidos de FLT fueron menores que los contenidos de FT. Esto se encontró dentro de lo esperado, debido a que los FLT constituyeron un subgrupo de los compuestos fenólicos y los mismos fueron diferentes en frutos aún de la misma planta.

La distribución cuantitativa de los FLT varió entre los diferentes órganos de la planta y entre las diferentes especies y cultivares. Esta variabilidad estuvo condicionada por la genética y por otros factores, entre los que se incluyeron la zona climática donde se desarrolló, la nutrición mineral de la planta, el estado de madurez, la posición en el árbol, el origen, almacenamiento, tipo de tejido (piel o pulpa), la relación injerto/portainjerto y las prácticas agrícolas (Murcia *et al.*, 2003; Palomo *et al.*, 2010).

Capacidad antioxidante (CA): el análisis de la varianza (ANOVA) detectó para la variable capacidad antioxidante un efecto altamente significativo ($P < 0,01$) de los efectos simples FP y FFN y su interacción. La prueba de medias de LSMEANS mostró que hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) (figura 3) entre los tratamientos PF15, M/G90, M/Mon90, M/M15 y M/M90. Mientras que los tratamientos PF90, M/G15 y M/Mon15 no presentaron diferencias entre sí, el tratamiento M/Mon15 presentó diferen-

G90, M/Mon90, M/M15 and M/M90. Meanwhile, treatments UP90, M/G15 and M/Mon15 did not present differences in between, treatment M/Mon15 presented significant differences ($P < 0.05$) when compared to treatments UP15, M/G90, M/Mon90, M/M15.

The best treatment was M/M15 (13.6 mg AG.100 g⁻¹ of pulp), since it presented the highest antioxidant capacity, and the one that registered the lowest antioxidant capacity was treatment M/M90 (7.1 mg AG.100 g⁻¹ of the pulp). The results obtained were similar to the ones reported by Kuskoski *et al.* (2005), who determined the antioxidant capacity of the pulps of tropical fruits with higher consumption in the market in the south of Brazil (blackberry, grape, acaí, guava, strawberry, acerola, pineapple, mango, soursop, cupuaçu and passion fruit), applying the ABTS method with two time measures (1 and 7 min), the TEAC values (antioxidant capacity equal to Trolox) obtained in soursop pulps oscillated from the minimum and maximum of 0.4 and 16.8 mg Trolox.g⁻¹ of fresh pulp.

On the other hand, Márquez (2009) reported superior AC values (132.7 and 232.8 mg AG.100 g⁻¹), in soursop pulp cv. Elita, stored at 23°C and 65% of relative humidity.

Proteggente *et al.* (2002), obtained higher contents of AC for other fruits such as: pear, apple, orange, grape, strawberry and blackberry (63.8; 70.6; 85.9; 212.5; 648.5 and 462.1 mg Trolox.100 g⁻¹ fresh pulp, respectively).

The antioxidant activity depends on genetic and environmental factors,

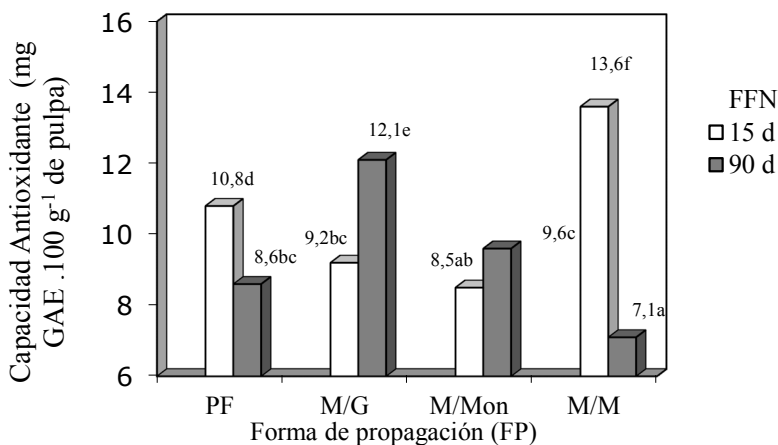


Figura 3. Efecto de la forma de propagación (FP) y la frecuencia de fertilización nitrogenada (FFN) sobre la capacidad antioxidante en frutos de guanábana.

Figure 3. Effect of the propagation way (PW) and the frequency of nitrogen fertilization (FNF) on the antioxidant capacity on soursop fruits.

cias significativas ($P < 0,05$) al compararlo con los tratamientos PF15, M/G90, M/Mon90, M/M15.

El mejor tratamiento fue M/M15 (13,6 mg AG.100 g⁻¹ de pulpa), debido a que presentó la mayor capacidad antioxidante y el que registró la menor capacidad antioxidante fue el tratamiento M/M90 (7,1 mg AG.00 g⁻¹ de pulpa). Los resultados obtenidos fueron similares a los reportados por Kuskoski *et al.* (2005), quienes determinaron la capacidad antioxidante de las pulpas de los frutos tropicales de mayor consumo en el mercado del sur de Brasil (mora, uva, acaí, guayaba, fresa, acerola, piña, mango, guanábana, cupuaçu y maracuyá), aplicando el método ABTS con medidas a dos tiempos (1 y 7 min), los valores TEAC (capacidad antioxidante equivalente al Trolox) obtenidos de las pulpas de gua-

production techniques and post-harvest factors; therefore, its evaluation during ripening periods might be affected by storing situations and temperature, among others (Javanmardi and Kubota, 2006).

Vitamin C: the results obtained for vitamin C in soursop fruits showed a similar response to the rest of the variables, since ANOVA determined that there was a highly significant effect ($P < 0.01$) of the factors under research PW, FNF and their interaction. The LSMEANS test determined that there were significant differences ($P < 0.05$) in the content of vitamin C (figure 4) among the treatments M/G15, M/G90 and M/Mon90, when compared to treatments UP15, UP90, M/Mon15, M/M15 and M/M90. Meanwhile, treatments UP15 and M/M90 did not show significant

nábana oscilaron entre mínimos y máximos de 0,4 y 16,8 mg Trolox.g⁻¹ de pulpa fresca.

Por otra parte, Márquez (2009), reportó valores de CA superiores (132,7 y 232,8 mg AG.100 g⁻¹), en pulpa de guanábana cv. Elita, almacenada a 23°C y 65% de humedad relativa.

Proteggente *et al.* (2002), obtuvieron contenidos superiores de CA para otras frutas como: pera, manzana, naranja, uva, fresa y mora (63,8; 70,6; 85,9; 212,5; 648,5 y 462,1 mg Trolox.100 g⁻¹ pulpa fresca, respectivamente).

La actividad antioxidante dependió de factores genéticos, ambientales, técnicas de producción y factores postcosecha; por lo tanto, su evaluación durante los períodos de maduración, podría verse afectada por situaciones de almacenamiento y temperatura, entre otros (Javanmardi y Kubota, 2006).

Vitamina C: los resultados obtenidos para vitamina C en los frutos de guanábana mostraron una respuesta similar al resto de las variables, debido a que el ANOVA determinó que hubo un efecto altamente significativo (P<0,01) de los factores de estudio FP, FFN y su interacción. La prueba de medias de LSMEANS determinó que hubo diferencias significativas (P<0,05) en el contenido de vitamina C (figura 4), entre los tratamientos M/G15, M/G90 y M/Mon90, al compararlos con los tratamientos PF15, PF90, M/Mon15, M/M15 y M/M90. Mientras que los tratamientos PF15 y M/M90 no registraron diferencias significativas (P>0,05) entre sí, pero resultaron significativamente diferentes (P<0,05) al resto de los tratamientos

diferencias (P>0.05) in between, but were significantly different (P<0.05) to the rest of the treatments (figure 4). Likewise, there were not significant differences (P>0.05) among the treatments UP90 and M/M15. However, there were significant differences (P>0.05) to the rest of the treatments.

The ungrafted fruits of the plants (30 and 31.9 mg AA.100 g⁻¹ pulp) and grafted on *A. montana* (37.4 and 25.8 mg AA.100 g⁻¹ of pulp) and *A. muricata* (33.1 and 28 mg AA.100 g⁻¹ pulp) differed from the fruits coming from grafted plants on *A. glabra* (24.4 and 24.1 mg AA.100 g⁻¹ de pulp), respectively.

García *et al.* (2012) and Clamens *et al.* (2014), obtained in the same soursop plants studied in this research lower concentrations of VC in the fruits of grafted plants on *A. glabra* (19.03 mg AA.100 g⁻¹ of pulp) and on *A. montana* (15.0 mg AA.100⁻¹ g of pulp).

Soto (2005) in Chironja fruits detected significant differences among the average content of vitamin C for the different rootstock evaluated: Sunki Benecke, Naronja, Cleopatra and Sun Chu Sha (44.8; 36.9; 44.0 and 44.1 mg AA.100 g⁻¹ of fruit, respectively). This agreed to the results of the current research, which indicates the importance in nutritional aspects of the selected rootstock.

The rootstock with higher effects on the content of vitamin C in soursop was *A. montana* (37.4 mg AA.100 g⁻¹ of pulp) with a fortnightly frequency of nitrogen fertilization.

The values obtained in the current research were superior to those

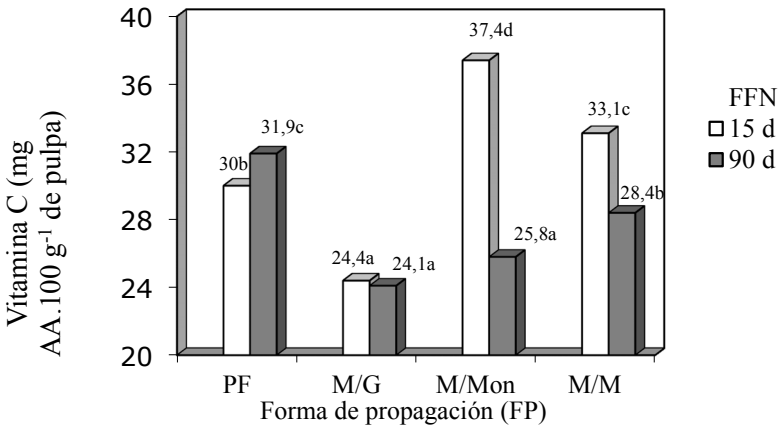


Figura 4. Efecto de la forma de propagación (FP) y la frecuencia de fertilización nitrogenada (FFN) sobre la concentración de vitamina C en frutos de guanábana.

Figure 4. Effect of the propagation way (PW) and the frequency of nitrogen fertilization (FNF) on the content of vitamin C in soursop fruits.

(figura 4). Del mismo modo, no se encontró diferencias significativas ($P>0,05$) entre los tratamientos PF90 y M/M15. Sin embargo, presentaron diferencias significativas ($P>0,05$) con el resto de los tratamientos.

Los frutos de las plantas a pie franco (30 y 31,9 mg AA.100 g⁻¹ pulpa) y las injertadas sobre *A. montana* (37,4 y 25,8 mg AA.100 g⁻¹ de pulpa) y *A. muricata* (33,1 y 28 mg AA.100 g⁻¹ pulpa) difirieron de los frutos provenientes de las plantas injertadas sobre *A. glabra* (24,4 y 24,1 mg AA.100 g⁻¹ de pulpa), respectivamente.

García *et al.* (2012) y Clamens *et al.* (2014) obtuvieron en frutos de guanábana de las mismas plantas estudiadas en este trabajo, concentraciones menores de VC, en los frutos de las plantas injertadas sobre *A. glabra* (19,03 mg AA.100 g⁻¹ de pulpa) y sobre *A. montana* (15,0 mg AA.100 g⁻¹ de pulpa).

reported by Ojeda *et al.* (2007) in soursop where registered 19.4 to 20.8 mg AA.100 g⁻¹ of pulp. Even though soursop is not considered a source of vitamin C, such as orange, guava, papaya, semeruco, cashew apple and mango (53; 184; 62; 1162; 237 and 73 mg AA.100 g⁻¹ of pulp, respectively) (Arenas *et al.*, 2005; Latham, 2002), it provided a considerable content of this vitamin.

Márquez (2009), reported a crescent behavior with the post-harvest days from 22 to 30 mg AA.100 g⁻¹ of pulp, being more intense in the evolution phase of ripened fruits to over-ripened corresponding to days 6 and 9. During the post-harvest, vitamin C had an important role as an oxide-reducing regulator, besides of being an inhibiting antioxidant of the enzymatic browning (Shwartz *et al.*, 2009).

Soto (2005) en frutos de Chironja, detectó diferencias significativas entre el contenido promedio de vitamina C para los diferentes portainjertos evaluados: Sunki Benecke, Naronja, Cleopatra y Sun Chu Sha (44,8; 36,9; 44,0 y 44,1 mg AA.100 g⁻¹ de fruta, respectivamente). Esto concordó con los resultados de la presente investigación, lo que indica la importancia en términos nutricionales del portainjerto seleccionado.

El portainjerto con mayores efectos sobre el contenido de vitamina C en guanábana fue *A. montana* (37,4 mg AA.100 g⁻¹ de pulpa) con una frecuencia de fertilización nitrogenada quincenal.

Los valores obtenidos en este estudio fueron superiores a los reportados por Ojeda *et al.* (2007) en guanábana donde registraron 19,4 a 20,8 mg AA.100 g⁻¹ de pulpa. A pesar de que el fruto del guanábano no es considerado fuente de vitamina C, como es el caso de la naranja, la guayaba, la papaya, el semeruco, el merey y el mango (53; 184; 62; 1162; 237 y 73 mg AA.100 g⁻¹ de pulpa, respectivamente) (Arenas *et al.*, 2005; Latham 2002), aportó un contenido considerable de ésta vitamina.

Márquez (2009), reportó un comportamiento creciente con los días postcosecha de 22 a 30 mg AA.100 g⁻¹ de pulpa, siendo más intenso en la etapa de evolución de frutas maduras a sobremaduras correspondiente a los días 6 a 9. Durante la etapa de postcosecha la vitamina C cumplió una importante función como regulador óxido-reductor, además de ser un antioxidante inhibidor del pardeamiento enzimático (Shwartz *et al.*, 2009).

When reducing the respiratory rate and therefore the metabolic processes, the biochemical mechanisms own of the fruit's behavior free the vitamin C presenting the typical growing in the over-ripening phase of soursop (Abdulnabi *et al.*, 1997). This might explain the results obtained in this research, since the fruits were cropped in physiologic ripening, later, etephon was applied which induces the maturity of the consumption for its corresponding processing; that is, there were ripened fruits and in some cases over-ripened.

According to the results obtained in soursop fruits, it can be catalogued as a fruit with a high antioxidant potential and rich in total phenols, flavonoids and vitamin C, which constitutes a potential source to be employed as a nutraceutical food with high functionality by being its benefit proved for its consumption in the human health.

Conclusions

The phytochemical content was affected by the rootstock. This shows that the selection of this pair must be considered to obtain the harvest with the best nutritional quality, since the root is the support of the tree and the responsible of the absorption of water and nutrients.

The fruits coming from grafted plants on *A. muricata* with a quarterly frequency of nitrogen fertilization presented higher content of total phenols (TP) and total flavonoids (TF). Meanwhile, the fruits coming from plants grafted on *A. muricata* with a fortnightly frequency of nitrogen

Al disminuir la tasa respiratoria y por tanto los procesos metabólicos, los mecanismos bioquímicos propios del comportamiento de la fruta liberan la vitamina C presentándose el crecimiento característico en la etapa de sobremaduración de la guanábana (Abdulnabi *et al.*, 1997). Probablemente, esto puede explicar los resultados obtenidos en esta investigación, ya que los frutos se cosecharon en madurez fisiológica y posteriormente, se les aplicó etefón, que induce la madurez de consumo, para su respectivo procesamiento, es decir había frutos maduros y en algunos casos sobremaduros.

De acuerdo a los resultados obtenidos en los frutos de guanábana, se podría catalogar como una fruta de alto potencial antioxidante y rica en fenoles totales, flavonoides y vitamina C, lo cual constituye una fuente potencial para ser empleada como alimento nutraceutico con alta funcionalidad, por ser de comprobado beneficio su consumo para la salud humana.

Conclusiones

El contenido de fitoquímicos fue afectado por el portainjerto. Lo cual demuestra que se debe tomar en cuenta la selección de este para obtener la cosecha con la mejor calidad nutricional, debido a que la raíz además de ser soporte del árbol, es responsable de la absorción de agua y de nutrientes.

Los frutos provenientes de las plantas injertadas sobre *A. muricata* con una frecuencia de fertilización nitrogenada trimestral, presentaron mayor contenido de fenoles totales (FT) y flavonoides totales (FLT). Mientras

fertilization presented higher antioxidant capacity (AC). The fruits of grafted plants on *A. montana*, fertilized every fifteen days presented a higher content of vitamin C.

The use of rootstock of *A. muricata* and *A. montana* provide the fruits phytochemical contents that might be attractive to the foment of the fruit consumption of soursop for its fresh consumption and for its processing in the agro-industry.

Acknowledgment

The authors want to thank the CONDES (Project CC-0579-10), FONACIT (S1-000000795, F1-200100117), Socialist Center of Fruit and Beekeeping Research and Development (CESID-Fruticola y Apícola) of CORPOZULIA by their financing, counseling and supply of vegetal matter. Likewise, the authors also want to thank the technician César Gonzalez (CESID-Frutícola and Apícola).

End of english version

que los frutos provenientes de las plantas injertadas sobre *A. muricata* con una frecuencia de fertilización nitrogenada quincenal presentaron mayor capacidad antioxidante (CA). Los frutos de las plantas injertadas sobre *A. montana*, fertilizadas quincenalmente, presentaron mayor contenido de vitamina C.

El empleo de portainjertos de *A. muricata* y *A. montana* le proporciona a los frutos contenidos de fitoquímicos que pueden ser atractivos

para el fomento del consumo de frutos de guanábana para consumo fresco y también para el procesamiento en la agroindustria.

Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento a CONDES (Proyecto CC-0579-10), FONACIT (S1-000000795, F1-200100117), Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola (CESID-Frutícola y Apícola) de CORPOZULIA, por el financiamiento, la asesoría y el suministro del material vegetal. Asimismo, al TSU César González (CESID-Frutícola y Apícola).

Literatura citada

- Abdulnabi, A., A. Emhemed, G. Hussein and A. Pcter. 1997. Determination of antioxidant and vitamins in tomatoes. *Food Chemistry* 60(2):207-212.
- Adewole, S.O. and J.A.O. Ojewole. 2009. Protective effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on serum lipid profiles and oxidative stress in hepatocytes of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal of Traditional* 6(1):30-41.
- Alia, I., M. Colinas, M. Martínez y R. Soto. 2005. Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn). II. Cambios en fenoles totales y actividad enzimática. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28(001):25-32.
- Alothman, M., B. Rajeev and A. Karim. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry* 115:785-788.
- Ardelan, A., M. Khoshkhui, K. Javidnia, O. Firuzi, O. Taffazoli and A. Khalighi. 2010. Effects of fertilizer on yield, essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activity in *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) cultivated in Iran. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(1):33-40.
- Arenas, L., N. Laguado y M. Marín. 2005. Frutas tropicales como fuente de vitamina C. *AGROTECNICO*. Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia 18:37.
- Ávila, R., M.P. de Camacaro, A. Giménez y E. Hernández. 2012. La guanábana: una materia prima saludable para la industria de alimentos y bebidas. *REDIP. UNEXPO. VRB. Venezuela*. 2(2):134-142.
- Batista, M.O., A. Rebouças São José, V. Santos Moreira, T. Nair Hojo Rebouças, M. Pereira Bomfim. 2014. Caracterização química e determinação da atividade antioxidante em massa da graviola (*Annona muricata* L.). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 15(1):7-14.
- Chuquimia, F., J. Alvarado, J. Peñarrieta, B. Bergenstahl y B. Akesson. 2008. Determinación de la capacidad antioxidante y la cuantificación de compuestos fenólicos y flavonoidicos de cuatro especies vegetales de la región andina de Bolivia. *Revista Boliviana de Química* 25(1):75-83.
- Clamens, C., J. Chacín, C. Hernández, R. Guerrero y M.C. García. 2014. Evaluación del contenido de fenoles y vitamina C del fruto de *Annona muricata* L. (guanábana) en diferentes estadios de crecimiento. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas* 48(1):39-47.
- COPLANARH (Comisión del Plan Nacional de Aprovechamiento de los Recursos Hidráulicos). 1975. Atlas Inventario Nacional de Tierras. Región Lago de Maracaibo. Tecnicolor S.A. Caracas.
- COVENIN 1295-82. 1982. Alimentos. Determinación de ácido ascórbico (vitamina C). Primera revisión.
- De Queiroz, A., M. Cordeiro, S. De Andrade, F. Ferreira, H. De Filgueiras, R. Alves and D. Kuimpara. 2005. *Annona* species. International Centre for Underutilised Crops. University of Southampton, Southampton, UK.

- Disponible en: <http://www.icuciwmi.org/files/R7187-Annona%20monograph%202005.pdf>. Consulta 19/01/2014.
- Du, G., M. Li, F. Ma and D. Liang. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry* 113:557.
- Ewel, J., A. Madriz y J. Toti. 1976. Mapas de zona de vida de Venezuela. MAC-FONAIAP. Segunda Edición. Sucre. Caracas. Venezuela. 265 p.
- Floegel, A., D. Kim, S. Chung, S. Koo and O. Chun. 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 24:1043-1048.
- García, A., G. Ettiene, E. Pérez, y M. Marín. 2010. ¡A comer frutas para estar sanos! AGROTECNICO. Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia. 28:34-36.
- García-Soto, A., G. Ettiene, E. Pérez-Pérez, L. Sandoval, L. Montilla y E. Soto. 2012. Propagación y fertilización del cultivo del guanábano. II. Características químicas de frutos. *Revista Facultad de Agronomía (LUZ)*. 29:20-36.
- George, V.C., D.N. Kumar, V. Rajkumar, P. K. Suresh and A. Kumar. 2012. Quantitative assessment of the relative antineoplastic potential of the n-butanolic leaf extract of *Annona muricata* Linn. *In: Normal and immortalized human cell lines. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 13: 699-704.
- Hamizah, S., A.H. Roslida, O. Fezah, K.L. Tan, Y.S. Yor and C.I. Tan. 2012. Chemopreventive potential of *Annona muricata* L. Leaves on chemically-induced skin papillomagenesis in mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 13:564-569.
- Huang, D., B. Ou and R. Prior. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:1841-1856.
- Javanmardi, J. and C. Kubota. 2006. Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology* 41(2):151-155.
- Kim, D., S. Weon and Ch. Lee. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry* 81:321-326.
- Kuskoski, E., A. Asuero, A. Troncoso, J. Mancini and R. Fett. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas* 25(4):726-732.
- Latham, M. 2002. Nutrición humana en el mundo en desarrollo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Colección FAO: Alimentación y Nutrición. N° 29. Roma, Italia. Depósito de documentos de la FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s00.htm>. Consulta 23/02/2014.
- Lin, L., S. Mukhopadyay, R. Robbins and J. Harnly. 2007. Identification and quantification of flavonoids of Mexican oregano (*Lippia graveolens*) by LC-DAD-ESI/MS analysis. *Journal of Food Composition and Analysis* 20:361-369.
- Márquez, C. 2009. Caracterización fisiológica, físico-química, reológica, nutracéutica, estructural y sensorial de la guanábana (*Annona muricata* L. cv. Elita). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 274 p.
- Miller, N., C. Rice, M. Davies, V. Gopinathan and A. Milner. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science* 84:407-412.
- Murcia, A., P. Parras, A. Jiménez, A. Vera y M. Martínez. 2003. Polifenoles y flavonoides: su importancia en la prevención de enfermedades. *Nuevos*

- alimentos para nuevas necesidades, Consejería de Sanidad (CM)-ISP. Murcia, España. 121-142 p.
- Ocampo, D., L. Betancur, A. Ortiz y R. Ocampo. 2007. Estudio cromatográfico comparativo de los ácidos grasos presentes en semilla de *Annona cherimolioides* y *Annona muricata* L. Vector 2:103-112.
- Ojeda, G., J. Coronado, R. Nava, B. Sulbarán, D. Araujo y L. Cabrera. 2007. Caracterización físico química de la pulpa de la guanábana (*Annona muricata*) cultivada en el occidente de Venezuela. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas 41(2):151-160.
- Palomo, I., J. Yuri, R. Moore, A. Quilodrán y A. Neira. 2010. El consumo de manzanas contribuye a prevenir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y cáncer: antecedentes epidemiológicos y mecanismos de acción. Revista Chilena de Nutrición 37(3):377-385.
- Peng-Min, L., D. Guo-Rong and M. Feng-Wang. 2011. Phenolics concentration and antioxidant capacity of different fruit tissues of astringent versus non-astringent persimmons. Scientia Horticulturae 129:710-714.
- Proteggente, R., A. Pannala, G. Paganga, L. Van Buren, E. Wagner, S. Wiseman, F. Van De Put, C. Dacombe and C. Rice-Evans. 2002. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. Free Radicals Research 36(2):217-233.
- Ramírez, A. y E. Pacheco. 2011. Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana. Interciencia 36(1):71-75.
- SAS Institute. 2000. Software SAS version 8, North Carolina, USA.
- Shwartz, E., I. Glazer, I. Bar-Ya'akov, I. Matityaha, I. Bar-Ilan, D. Holland and R. Amir. 2009. Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of two commercially important pomegranate accessions. Food Chemistry 115(3):965-973.
- Soto, J. 2005. Detección de fitoquímicos, contenido de Vitamina C y ácido fólico en Chironja (*Citrus sinensis* x *Citrus paradisi*) injertada en diferentes patrones de cítrica. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, Facultad de Ciencias Agrícolas. 94 p. Disponible en: <http://grad.uprm.edu/tesis/sotovega.pdf>. Consulta 15/02/2014.
- Strail, P., B. Klejdus and V. Kubán. 2007. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. Talanta 71(4):1741-1751.
- Swain, T. and W. Hillis. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica* I-the quantitative analysis of phenolic constituents. Journal of Science of Food and Agriculture 10:63-68.
- Thaipong, K., U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros Zevallos and D. Hawkins. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assay for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis 19:669-675.
- Vit, P., B. Santiago, E.M. Pérez-Pérez. 2014. Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana *Annona muricata* L. Interciencia 39(5):350-353.
- Yamarte, M., M. Marín, D. Bautista y L. Avilán. 2006. Características del crecimiento de las ramas del guanábano (*Annona muricata* L.) bajo las condiciones de un bosque muy seco tropical. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). 23:1-16.