



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO FITOQUÍMICO DE *ARCTOSTAPHYLOS
PUNGENS.***

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA**

PRESENTA

JESUITAS VELAZQUEZ ROMERO

ASESOR: DRA. YOLANDA CABALLERO ARROYO



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX. AÑO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

	Páginas
CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN.....	6
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	6
1.2 OBJETIVOS.....	7
1.3 GENERALES.....	7
1.3.1 PARTICULARES.....	7
1.4 MARCO TEÓRICO.....	8
CAPÍTULO II ANTECEDENTES DE LA PINGÜICA.....	9
2.1 Descripción y familia de <i>Arctostaphylos pungens</i> (pingüica).....	9
2.2 Origen y distribución geográfica.....	10
2.3 Importancia.....	11
CAPÍTULO III DESCRIPCIÓN ESTRUCTURAL Y FUNDAMENTOS DE LAS DETERMINACIONES REALIZADAS.....	12
3.1 ¿Que son los Glicósidos?.....	12
3.2 Identificaciones.....	14
3.2.1 Glicósidos por medio de (IR).....	14
3.2.2 Hidroquinona.....	17
3.2.3 Alcaloides.....	18
3.2.4 Fenoles.....	20

3.2.5 Cromatografía en capa fina.....	21
3.2.6 Prueba de Benedict para Azúcares reductores.....	24
3.3 Determinaciones Cuantitativas.....	25
3.3.1 Cenizas totales.....	25
3.3.2 Humedad.....	25
3.3.3 Minerales.....	27
3.3.4 Fenoles (Follin Ciocalteau).....	29
3.3.5 Hidroquinona.....	31
3.3.6 Carbohidratos reductores (GLUCOSA).....	32
3.3.7 Ácido ascórbico (VITAMINA C).....	34
3.3.8 Análisis de lípidos.....	35
3.3.8.1 Ácidos grasos saturados e insaturados.....	37
3.3.8.2 Caracterización de lípidos.....	41
3.3.9 Extracción del aceite.....	45
3.3.9.1 Método soxhlet.....	45
CAPITULO IV DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	46
4.1 Obtención de la muestra.....	46
4.2 Preparación de la muestra.....	47
4.3 Identificación de pruebas cualitativas.....	47
4.3.1 Glícosido (IR).....	47

4.3.2. Hidroquinona por cromatografía de capa fina y punto de fusión triple.....	48
4.3.3. Alcaloides por método de DRAGENDORF.....	49
4.3.4. Fenoles mediante FeCl_3	49
4.3.5. Azúcares reductores por prueba de Benedict.....	50
4.4 Cuantificaciones de los compuestos identificados en la pingüica.....	50
4.4.1 Carbohidratos (Glucosa) por método de Dinitrosalicílico (DNS).....	50
4.4.2 Fenoles por método de Follin-Ciocalteau.....	51
4.4.3 Cenizas totales por calcinación.....	51
4.4.4 Humedad, método por secado en estufa.....	52
4.4.5 Determinación de lípidos y ácidos grasos saturados e insaturados por cromatografía de gases.....	53
4.4.5.1 Caracterización de lípidos.....	53
4.4.6 Minerales por espectrofotometría de absorción atómica.....	53
4.4.7 Hidroquinona mediante titulación directa.....	54
4.4.8 Ácido ascórbico (Vitamina C) por titulación con 2,6 Diclorofenol Indofenol.....	55
CAPITULO V RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
CAPITULO VI CONCLUSIONES.....	68
CAPITULO VII RECOMENDACIONES.....	69
CAPITULO VIII BIBLIOGRAFÍA.....	70

CAPITULO IX ANEXOS.....	73
9.1 IR de Glucósido obtenido.....	73
9.2 Cromatograma obtenido en Cromatografía de Gases.....	74
9.3 IR de Arbutina en KBR con que se comparó la muestra.....	75

1. INTRODUCCIÓN

1.1 JUSTIFICACIÓN

El hombre siempre ha mostrado interés por conocer y entender los fenómenos que observa y busca comprender lo que la naturaleza le proporciona. Esto se ha logrado, a través de los años, mediante el conocimiento empírico que ha sido transmitido por tradición oral. Con el avance de la ciencia, el interés por conocer más acerca de la naturaleza se vuelve más preciso y seguro. En el área de los productos naturales existe gran interés en el estudio de las plantas que tienen uso farmacológico. Con este objetivo se plantea el estudio químico del fruto de *Arctostaphylos pungens* comúnmente llamado pingüica, con la finalidad de identificar algunos de los componentes que puedan explicar las propiedades farmacológicas que la tradición popular atribuye a este fruto. Se realizarán en el laboratorio varias determinaciones siguiendo los fundamentos científicos: Cuantificación de cenizas y determinación de humedad, entre otras. El compuesto orgánico de mayor interés en esta planta es la Arbutina, que es un glúcósido, componente descrito en *Arctostaphylos uva-ursi* planta de la familia de la pingüica. Por lo que se harán las pruebas requeridas para el aislamiento e identificación de este glúcósido en el estudio de la pingüica. El aglicón de la arbutina es la hidroquinona, compuesto al que se atribuyen propiedades farmacológicas, como el control de infecciones en vías urinarias. Esta información es una de las razones para el uso frecuente de este fruto. Para el aislamiento e identificación del glúcósido y de otros compuestos presentes en la planta, se aplicarán los conocimientos adquiridos en los diferentes cursos de mi formación académica.

1.2 OBJETIVOS

1.3 OBJETIVOS GENERALES:

- ✎ Hacer una investigación bibliográfica sobre los compuestos que han sido encontrados en *Arctostaphylos pungens*, o plantas de la misma familia para conocer usos, distribución y características.
- ✎ Identificar todos los compuestos posibles en nuestra planta de estudio
- ✎ Contribuir al estudio químico de *Arctostaphylos pungens*.

1.3.1 OBJETIVOS PARTICULARES:

- ✎ Una vez identificado el componente principal de *Arctostaphylos pungens*; llevar a cabo su cuantificación para conocer la dosis máxima que puede ser consumida y evitar toxicidad.
- ✎ Describir si *Arctostaphylos pungens* tiene el efecto farmacológico que ha sido atribuido.
- ✎ Contribuir al conocimiento e identificación de los compuestos presentes en *Arctostaphylos pungens*, y valorar las propiedades que se le atribuyen, con resultados académicos y la bibliografía adecuada.

1.4 MARCO TEÓRICO

La pingüica crece en su mayoría en nuestro territorio, su nombre científico es *Arctosthapylos pungens*, se ha comercializado a lo largo de nuestro país, ya que se le atribuye como efecto terapéutico principal, curar la infección de vías urinarias, su uso tiene como sustento la tradición oral con las recomendaciones que nos han sido heredados de nuestros antepasados. Por esta razón es útil conocer si lo que se consume realmente tiene el efecto que tradicionalmente se le ha asignado, dado que es un producto que se comercializa y se utiliza en los alimentos y como medicamento. Es importante tener los resultados que confirmen si su consumo representa un beneficio o por el contrario que pueda ser perjudicial.

En este trabajo buscamos la evidencia de que la muestra adquirida en el mercado de Sonora, sea de consumo no solo seguro sino además con el efecto terapéutico que le ha sido atribuido. Durante el desarrollo experimental se determinará la presencia de otros metabolitos primarios y se determinará cual es el consumo seguro no tóxico para el ser humano.

Como metabolitos primarios, se aislarán los lípidos, y se determinará la posible presencia de ácidos grasos como los omega 3, 6 y 9. Es importante también la determinación de minerales que contribuyen al efecto terapéutico de algunos productos naturales. Es fácil adquirir la pingüica, ya que se encuentra disponible en diversos lugares toda la época del año y su costo no es elevado, además de crecer incluso en zonas bastante áridas Este trabajo permitirá reconocer lo que nuestros antepasados nos legaron, recordando que en épocas ancestrales no se contaba con medicamentos sintéticos que ayudaran a mejorar la salud y tenían que utilizar lo que la naturaleza ofrecía.

CAPITULO II ANTECEDENTES

2.1 DESCRIPCIÓN Y FAMILIA DE *Arctostaphylos pungens*.

Arctostaphylos pungens, es un arbusto de 1 a 3.5 metros de alto, ramificado que contiene una corteza lisa y rojiza, hojas anchamente ovaladas a lanceoladas tiesas de 1-1.5 cm, tiene sabor ácido con flores en forma de jarrita, en racimos densos, fruto globoso, carnoso, moreno de rojizo a amarillento, agridulce de 5-8 mm que regularmente no abren, comestible, permaneciendo de uno a dos meses en la planta, cayendo después al suelo.



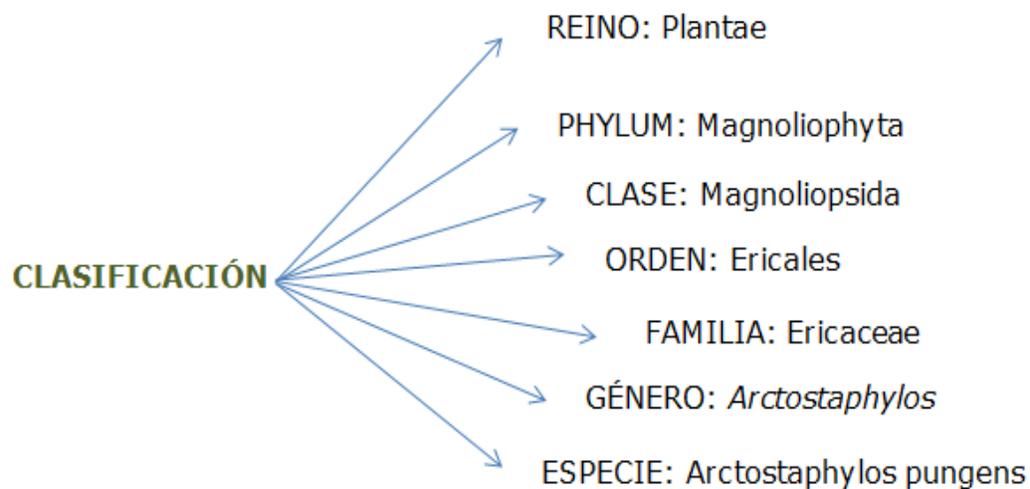
FIGURA 1 fruto, hojas y flores de *A. pungens*

El nombre científico de *Arctostaphylos pungens* proviene del griego *arktos* = "oso", y *staphule* = "racimo de uvas", haciendo referencia al nombre común de las especies conocidas y tal vez haciendo alusión a los osos que se alimentan de los frutos de uva.

pungens: Epíteto latino que significa "espinoso".

Pertenece a la Familia: Ericaceae.

La familia Ericaceae consta de unos 80 géneros y 2,000 especies. Sus miembros son de arbustos y pequeños árboles, familia productora de ácidos fenólicos, heterósidos fenólicos (por ejemplo, arbutósido), ácido ursólico, y ausencia de saponinas.



NOMBRES POPULARES: (Estado de México), Manzanilla, manzanita del monte, (Chihuahua), Pingüica (Puebla, Querétaro, Sonora y Manzanillo), Tepezquite (San Luís Potosí, y Oaxaca), Tepezquitl (Guanajuato y Veracruz), Marbanitas (Hidalgo, Michoacán y Jalisco), Pinqua.

2.2 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Arctostaphylos pungens es originaria de Estados Unidos al sudoeste y al norte y centro de México, donde crece en chaparrales y bosques.

DISTRIBUCIÓN: Zonas montañosas de Arizona, hacia el Suroeste de los Estados Unidos y de amplia distribución en México.

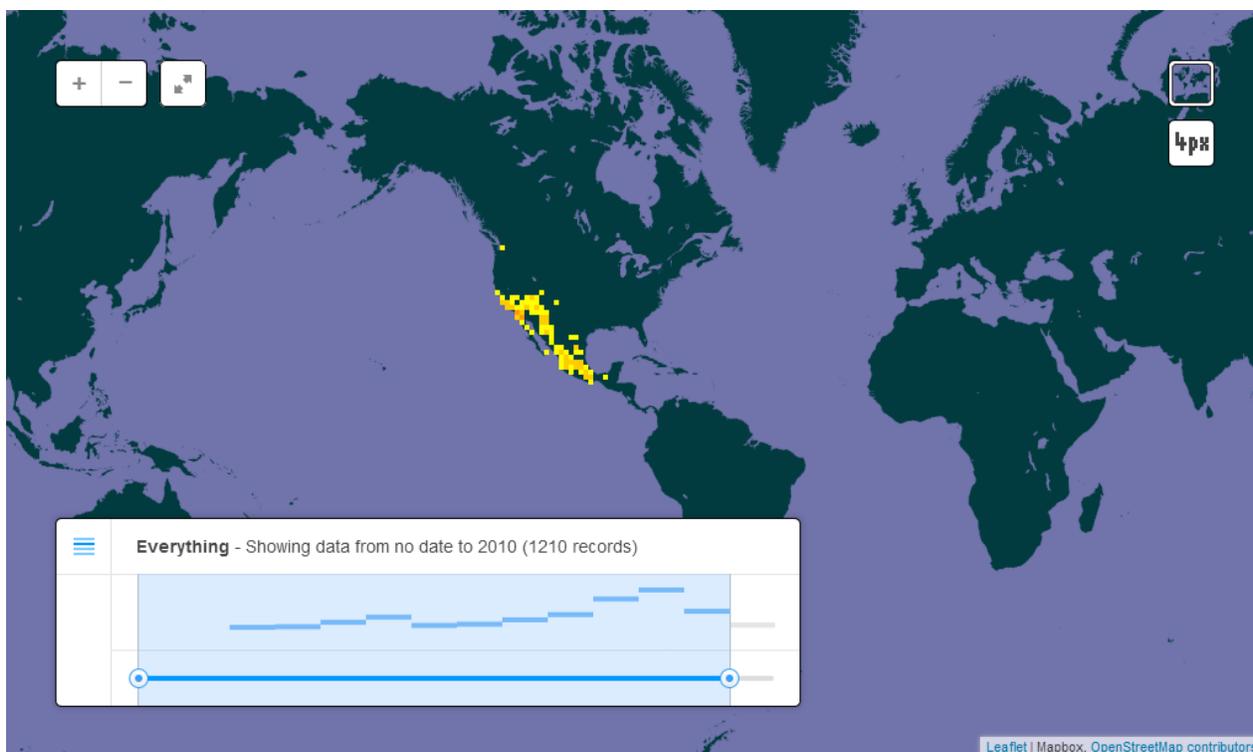


FIGURA 2. Distribución Geográfica de *A. pungens*.

Tiene un periodo de crecimiento activo en primavera, madurando al final de la misma o principios del verano tornándose el fruto de amarillo a café-rojizo, muy tolerante a la sequía.

En México crece de manera abundante en estados del Norte como Chihuahua, Coahuila, Nuevo León y el Sur de la Ciudad de México.

2.3 IMPORTANCIA

Uso tradicional

Los frutos, hojas y raíces de esta planta son utilizados desde el tiempo de los mayas (Jean Bruneton, 2002)² para curar enfermedades de los riñones. Para el desarrollo de este trabajo solo se utilizó el fruto.

Usos

Se ha reportado (Martha Patricia Olivares, 1999.)¹ que en Chihuahua se usa para el tratamiento de la tos, la hoja y el fruto cocidos se toman tres veces al día. En otros estados de la república se recomienda principalmente para

el tratamiento de afecciones del riñón. La raíz o toda la planta en infusión se toma como agua de tiempo en ayunas.

En la región tarahumara se usa en general el fruto en té, para el tratamiento de enfermedades urinarias.

Maximino Martínez, (1993)³. En su libro "Las Plantas Medicinales de México" menciona que en las hojas se ha encontrado "arbutina" sustancia que se reporta tiene propiedades diuréticas, la arbutina es un glicósido, considerado el principal encargado de llevar a cabo la acción farmacológica que se atribuye a *Arctostaphylos pungens*.

Estudios del Instituto Médico Nacional demostraron que los frutos incrementan la orina y disminuyeron la albúmina cuando se ingieren dos tomas.

En la Ciudad de México el nombre conocido es pingüica, su mayor consumo es en jugos, combinados con otras frutas como guayaba y piña, que pueden encontrarse en puestos ambulantes cerca de estaciones del metro y mercados, consumido como diurético y en gran medida para la infección de vías urinarias, es la información que proporcionan los vendedores.

CAPÍTULO III DESCRIPCIÓN ESTRUCTURAL Y FUNDAMENTOS DE LAS DETERMINACIONES CUALITATIVAS REALIZADAS

3.1 ¿QUÉ SON LOS GLICÓSIDOS?

Los glicósidos son moléculas compuestas por uno o más glúcidos, generalmente monosacáridos, y un compuesto no glucídico, llamado aglicón o aglicona. Al referirnos a un glicósido específico, el sufijo *-sido* se agrega al nombre del carbohidrato; por ejemplo, galactósido, glucósido, xilósido y fructósido. El nombre de glucósido tiene como prefijo el nombre del sustituyente alquilo unido al oxígeno anomérico, el cual no es parte en sí del anillo principal. Son productos del metabolismo secundario de las plantas por medio de la condensación de un azúcar con otras moléculas orgánicas

cuyos enlaces alfa o beta forman un enlace con el hidroxilo del hemiacetal. La fracción de azúcar se denomina glúcido y la otra parte aglicón o genina. La actividad farmacológica más importante que tiene la pingüica se debe al aglicón, el azúcar es inactivo farmacológicamente, pero es necesario para mantener la función del glucósido pues permite su solubilidad y absorción. Estos compuestos son fácilmente hidrolizados a través de una catálisis proteolítica en la unión con los enlaces alfa y beta. En el laboratorio esta hidrólisis se realiza por digestión con ácidos diluidos, pero en estado natural es catalizada por enzimas que son específicas según el tipo de enlace alfa o beta

En las plantas, los glicósidos tienen diversas funciones un ejemplo se tiene con los flavonoides cuya función es la protección contra la luz ultravioleta, contra insectos o contra hongos, virus y bacterias, otra función importante es la de funcionar como antioxidantes, atrayentes de polinizadores y controladores de las hormonas vegetales.

Muchos glicósidos, al ser hidrolizados, producen el carbohidrato que puede ser empleado por las plantas como sustrato metabólico para la producción de energía o incluso para la formación de compuestos de importancia estructural en las células. La función de los glicósidos es muy diversa, algunos son empleados en la industria alimentaria, otros se utilizan en la industria farmacéutica para el diseño de fármacos para el tratamiento de diversas alteraciones de la salud como hipertensión, desórdenes circulatorios, agentes anticancerígenos, entre otros.

La arbutina, contenida en la pingüica es un glicósido fenólico, al llevarse a cabo la hidrólisis ya sea enzimática o ácida libera glucosa e hidroquinona.

La arbutina o arbutósido es un polvo blanco o ligeramente amarillento, soluble en agua, se ha aislado de *Arctostaphylos uva-ursi* y *A. pungens* al hidrolizarse genera glucosa e hidroquinona. Se conocen sus propiedades diuréticas, antiinflamatorias y antimicrobianas.

3.2.1 IDENTIFICACIÓN DE GLICÓSIDOS POR INFRARROJO (IR)

La espectroscopia en el IR es uno de los recursos con los que se cuenta para la determinación de estructuras de los compuestos orgánicos. Permite la identificación de los grupos funcionales, ya que muestran absorciones específicas y características en la región del infrarrojo lo que permite establecer estructuras de los compuestos

Un espectro IR es característico para un compuesto dado, de manera que la espectroscopia IR es un método excelente para confirmar la estructura de un compuesto desconocido. Es poco probable que dos compuestos orgánicos muestren espectros IR idénticos, tanto en posición como en intensidad de las señales de absorción

En la espectroscopia de infrarrojo se pueden reconocer e identificar los tipos de absorción característicos de diversos grupos funcionales, lo cual permite proponer una estructura. Se tienen, además, otros recursos para establecer correctamente una estructura.

La espectroscopia en el infrarrojo mide los cambios en las vibraciones de estiramiento y flexión que ocurren cuando una molécula absorbe energía electromagnética.

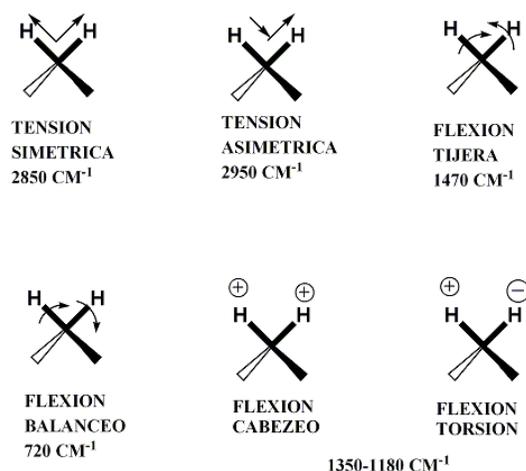


FIGURA 3. Modos vibratorios de estiramiento

Los movimientos vibratorios posibles de una molécula dependen de dos cosas: (1) la masa de los átomos que forman un enlace dado y (2) la naturaleza del enlace en sí, esto es, su energía de enlace.

Las energías asociadas a los modos vibratorios de las moléculas pueden ilustrarse mediante un sistema de bolas y resortes, que también se mueven con diversas vibraciones de estiramiento y flexiones. Los átomos (o bolas) de mayores masas se mueven con menos frecuencia, y cuanto más fuerte es el enlace (o resorte), más rápido es el movimiento. Se puede derivar una relación matemática de la física clásica, al asociar la frecuencia de vibración de un enlace dado, a la fuerza del enlace. La ecuación es:

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{m^*}}$$

Donde ν es la frecuencia de absorción en cm^{-1}

c = velocidad de la luz (3.0×10^{10} cm/seg.)

k = constante de fuerza del enlace

m^* = masa reducida de dos átomos que constituyen el enlace; es decir, $m^* = (m_1 + m_2) / m_1 y m_2$ son las masas de dos átomos.

La relación establece que la frecuencia de vibración es directamente proporcional a la raíz cuadrada de la constante de fuerza del enlace, k . La constante de fuerza es particular para un enlace dado, así como característico de él.

La frecuencia del movimiento depende no sólo de la fuerza del enlace y de los átomos que intervienen, sino también del ambiente y de la molécula completa, es decir; cuando a un enlace de una molécula le llega la radiación electromagnética IR, la amplitud de la vibración de este enlace aumenta. Las energías asociadas con los enlaces están cuantizadas en la misma forma

que lo están los electrones en los átomos; solo ciertas energías afectan ciertos enlaces.

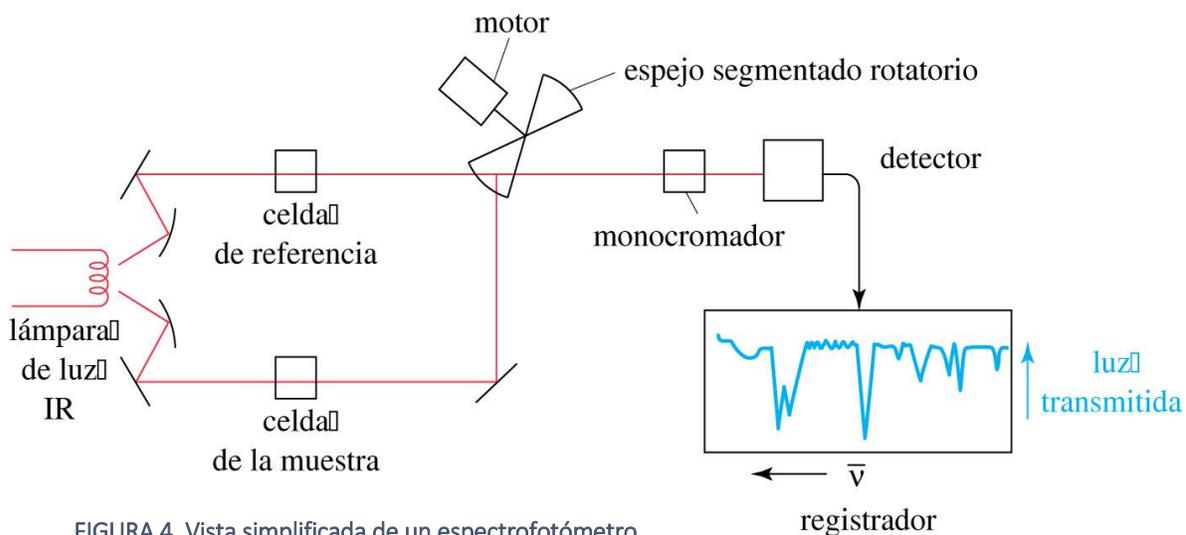


FIGURA 4. Vista simplificada de un espectrofotómetro.

En el momento en que la energía “correcta” golpea un enlace, la amplitud de una vibración en particular aumenta repentinamente y en una cierta cantidad; el cambio no es tan gradual como cuando se incrementa el impacto sobre el sistema de bolas y resortes. El espectrofotómetro cambia la frecuencia (y, por tanto, la energía) de la radiación IR continuamente, y cuando la energía de la radiación que pasa por la muestra es exactamente igual a la energía necesaria para flexionar o estirar un cierto enlace, la muestra absorbe dicha energía. Cuando se absorbe radiación transmitida, la cantidad de radiación que pasa por la muestra decrece considerablemente. El espectro IR entonces registra en la gráfica el cambio en la intensidad de la radiación como función de la longitud de onda. Una vez proporcionada la información se pudo observar la presencia del glicósido arbutina que a su vez puede presentarse hidrolizado en forma de hidroquinona y por ello se buscó uno o ambos compuestos.

3.2.2 HIDROQUINONA

Siendo la hidroquinona el aglicón descrito en la pingüica, se comentarán algunas de sus propiedades

La Hidroquinona y sus derivados, como la monometilhidroquinona, son inhibidores de la síntesis de melanina. Por ello forman parte de la composición de especialidades indicadas en el tratamiento de hiperpigmentaciones melanínicas, tales como la hiperpigmentación de cicatrices, cloasma (manchas cutáneas del embarazo), manchas asociadas a la vejez, etc. La reglamentación francesa permite la incorporación de hidroquinona en un 2% en productos cosméticos. La actividad antimelanínica de la hidroquinona es irregular y puede producir leucomalanodermias con despigmentación "en confetis" e hipomelanosis a distancia de la zona tratada. Es una sustancia cristalina, blanca cuando es pura y es soluble en agua. Es un agente que se oxida de forma reversible a semi-quinona., su aspecto es de agujas largas, es un compuesto inodoro.

Punto de fusión: 173-174°C

Punto de Ebullición: 287°C

Punto de inflamación: 165°C (vaso cerrado)

Solubilidad en agua 25°C, 70 gramos/Litro

Solubilidad orgánica (agua/agua a 25°C), Alcohol etílico 57%, Acetona 20%, cetona 27%, Acetato de etilo 22%

Almacenamiento: Protegido de la luz, bien cerrado en contenedores en lugar fresco y oscuro, lejos del calor y de agentes oxidantes, etiquetado como corrosivo.

Toxicidad: No se ha informado de la existencia de efectos secundarios; sin embargo, es tóxica si se ingiere en elevadas cantidades; 1 g (equivalente a 6-20 g de material vegetal) ha provocado zumbidos en los oídos, náuseas y vómitos, sensación de ahogo, disnea, cianosis, convulsiones, delirio y

colapso. Una dosis de 5 g (equivalente a 30-100 g de material vegetal) ha resultado mortal. El uso prolongado de *A. pungens*, por su contenido de hidroquinona, puede provocar insuficiencia hepática crónica, debido al elevado contenido en taninos.

Se advierte que la eficacia como antiséptico urinario solo se dará cuando la orina sea alcalina. Se aconseja a los pacientes que eviten la ingestión de alimentos muy ácidos, como las frutas ácidas y sus zumos para facilitar su efecto. La presencia de hidroquinona puede conferir un color marrón verdoso a la orina, que se oscurece tras la exposición al aire debido a la oxidación de la hidroquinona.

Existen diversos métodos para identificar a la hidroquinona, como cromatografía de capa fina, IR, Cromatografía de gases, etc. Los métodos serán descritos a lo largo de este trabajo.

3.2.3 ALCALOIDES

Otro grupo importante de metabolitos secundarios son los alcaloides.

El nombre de alcaloide, que literalmente significa parecido al álcali, tiene su origen en el comportamiento químico de estos compuestos.

Los alcaloides son sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico y mayoritariamente de origen vegetal. Tienen una estructura generalmente compleja y ejercen acciones fisiológicas diversas incluso a dosis muy bajas. Algunos son tóxicos y dan precipitados con ciertos reactivos que se emplean para identificarlos. Hay, sin embargo, algunas sustancias que se consideran alcaloides y que no cumplen las características generales de los mismos. En la siguiente tabla se describen las características generales de los alcaloides.

Características generales de los alcaloides	
Compuestos orgánicos	Contienen nitrógeno heterocíclico
Se forman a partir de aminoácidos	Estructura Compleja
Origen vegetal	Tóxicos
Sustancias Nitrogenadas	Actividad fisiológica incluso a dosis muy bajas
Carácter básico	Precipitan con ciertos reactivos

Tabla 1. Propiedades de los alcaloides.

Existen algunas excepciones a estas características generales:

- ♦ Hay alcaloides que no se biosintetizan a partir de aminoácidos: esteroídicos y diterpénicos.
- ♦ No todos los alcaloides son de origen vegetal, también hay alcaloides de origen animal y bacteriano.
- ♦ No todos los alcaloides son bases: por ejemplo, la colchicina y las bases xánticas no son básicas.
- ♦ No todos los alcaloides tienen nitrógeno heterocíclico: tienen nitrógeno no cíclico, por ejemplo, la efedrina y la colchicina.
- ♦ No todos los alcaloides tienen estructura compleja: la coniína tiene estructura sencilla.
- ♦ Las betalaínas, no son tóxicas y también son alcaloides.

ORIGEN BIOSINTÉTICO: en los vegetales los alcaloides proceden del metabolismo secundario y se forman generalmente a partir de los aminoácidos, aunque hay también alcaloides de origen diverso, como los esteroídicos y las bases xánticas.

Distribución: Los principales productores de alcaloides son los vegetales, aunque también se pueden formar alcaloides en bacterias, insectos y otros animales.

Los alcaloides no están presentes en todos los vegetales. Se encuentran sobre todo en vegetales superiores. Los vegetales inferiores, las Gimnospermas y las Monocotiledóneas no producen prácticamente alcaloides y, dentro de las Angiospermas, las Dicotiledóneas concentran prácticamente todas las especies que poseen alcaloides. Dentro de las Dicotiledóneas se pueden encontrar familias en las que abundan los alcaloides (Solanáceas, Papaveráceas, Rubiáceas, Apocináceas) y familias más pobres en alcaloides.

Los alcaloides son utilizados para diferentes funciones: como medicinas (la cocaína es un anestésico local), como aliviadores del dolor (morfina y codeína).

Un compuesto empleado para identificar alcaloides es el reactivo de Drangendorf, éste reactivo contiene tetrayodo bismutato de potasio, con el cual los alcaloides forman un complejo de coordinación con el Bismuto y dan un precipitado color rojo-naranja cuando la prueba es positiva.

3.2.4 FENOLES

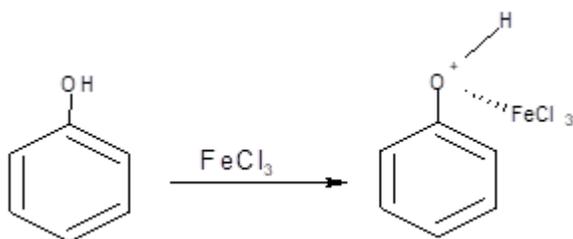
Los fenoles o polifenoles son compuestos provenientes del metabolismo secundario de las plantas. Estos compuestos en las células vegetales actúan como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, y como agentes protectores frente a la acción de patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa.

Participan en la asimilación de nutrientes, síntesis proteica, actividad enzimática, fotosíntesis, formación de componentes estructurales y alelopatía. Los compuestos fenólicos están relacionados a las características sensoriales como el sabor, astringencia, dureza y con las propiedades nutritivas.

La principal función que poseen los polifenoles en los humanos es la actividad antioxidante, esta característica se debe a la reactividad del grupo fenol.

En las células animales los antioxidantes protegen al organismo de los radicales libres, moléculas altamente reactivas que pueden dañar el organismo a nivel celular. Si los radicales libres no son inactivados, reaccionan y causan destrucción en las membranas celulares, proteínas y en el ADN. El daño oxidativo a nivel celular es exacerbado cuando el balance de radicales libres excede la cantidad de antioxidantes endógenos. Esto puede aumentar el riesgo al desarrollo de cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades degenerativas.

La identificación de fenoles se puede realizar con el reactivo cloruro férrico, la prueba se considera positiva cuando la reacción, entre la muestra y el reactivo, da una coloración intensa azul, verde o púrpura, debido a la formación de un complejo de hierro. La reacción se muestra a continuación



3.2.5 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

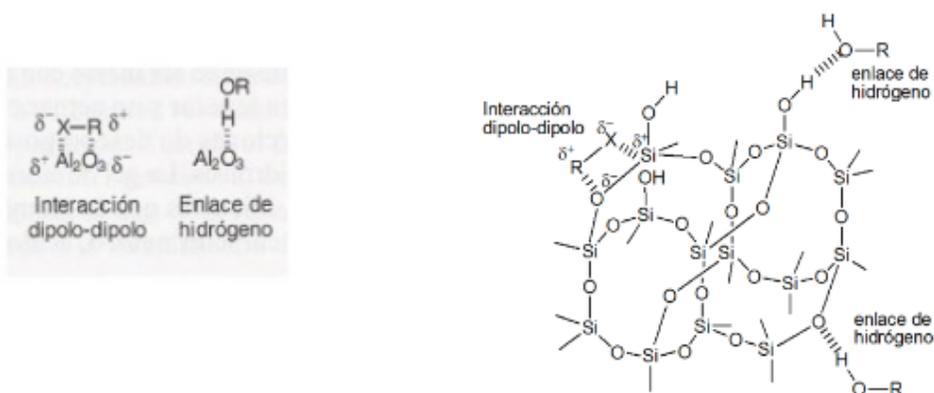
Una técnica muy empleada para determinar pureza o presencia de otros compuestos es la cromatografía en capa fina (por sus siglas en inglés, thin-layer chromatography OTLC) es una técnica analítica rápida y sencilla, muy utilizada en el laboratorio de química orgánica que permite entre otras cosas:

- Determinar el grado de pureza de un compuesto.
- Comparar muestras, empleando las características del R_f de las manchas observadas en las placas

La muestra a analizar se deposita cerca de un extremo de una lámina de plástico o aluminio que previamente ha sido recubierta de una fina capa de

adsorbente (fase estacionaria) entonces, la lámina se coloca en una cámara cerrada que contiene uno o mezcla de eluyentes o fase móvil. A medida que asciende por capilaridad a través del adsorbente se produce una distribución diferencial de los productos presentes en la muestra entre el disolvente y el adsorbente.

Los dos adsorbentes, fase estacionaria, más ampliamente utilizados son el gel de sílice (SiO_2) y la alúmina (Al_2O_3), la gel de sílice se utiliza para analizar sustancias polares. El proceso de adsorción se debe a las interacciones intermoleculares de tipo dipolo-dipolo o enlaces de hidrógeno entre el soluto y el adsorbente. El adsorbente debe ser inerte con las sustancias a analizar y no actuar como catalizador en reacciones de descomposición. El adsorbente interacciona con las sustancias mediante interacción dipolo-dipolo o mediante enlace de hidrógeno si lo presentan.



El orden de elución de un compuesto se incrementa al aumentar la polaridad de la fase móvil o eluyente.

El eluyente puede ser un disolvente único o dos miscibles de distinta polaridad. En el siguiente recuadro se muestran los disolventes más comunes en orden creciente de polaridad del eluyente.

Hexano < tetraclorometano < cloroformo < diclorometano < acetato de etilo < acetona < 2-propanol < metanol < agua

En general, estos disolventes se caracterizan por tener bajos puntos de ebullición y viscosidad, lo que permite moverse con rapidez.

La retención se puede explicar en base a la competencia que se establece entre el soluto a separar y la fase móvil para adsorberse a los centros activos polares de la fase estacionaria. Así, las moléculas de soluto se encuentran adsorbidas en la fase estacionaria y a medida que se produce la elución va siendo desplazada por la fase móvil. La retención y la selectividad en la separación depende de los valores respectivos de las constantes de los diferentes equilibrios químicos que tienen lugar que están en función de:

- La polaridad del compuesto, determinada por el número y naturaleza de los grupos funcionales presentes. Los solutos más polares quedarán retenidos puesto que se adsorben más firmemente a los centros activos de la fase estacionaria, mientras que los no polares se eluirán con mayor facilidad.

- Naturaleza del disolvente: Así para un mismo compuesto un aumento en la polaridad del disolvente facilita su desplazamiento en placa.

Revelado de placas

La mayor parte de las placas de cromatografía llevan un indicador fluorescente que permite la visualización de los compuestos activos a la luz UV y emite la luz visible. La presencia de un compuesto activo en UV evita que el indicador absorba la luz en la zona en la que se encuentra el producto, y el resultado es la visualización de una mancha en la placa que indica la presencia de un compuesto. Con ello se puede observar el comportamiento de los compuestos frente al testigo o referencia que utilizamos para llevar a cabo esta prueba.

3.2.6 IDENTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES (BENEDICT)

Todos los monosacáridos poseen un grupo reductor libre, los disacáridos maltosa y lactosa tienen grupos reductores libres, pero la sacarosa no los posee, ya que se pierden los grupos reductores de sus componentes cuando ésta es formada.

Los monosacáridos y algunos disacáridos son azúcares reductores, ya que en medio alcalino reducen con facilidad a agentes oxidantes suaves como los iones metálicos Cu^{2+} y Ag^+ . Estas reacciones redox constituyen la base de las pruebas de Fehling, Benedict, y Tollens que permiten identificar, e incluso cuantificar, la presencia de azúcares reductores en un material biológico.

La prueba de Benedict se basa en la reacción de un azúcar reductor con el ion Cu^{2+} . El reactivo de Benedict está formado por soluciones de carbonato de sodio, sulfato de cobre, y citrato de sodio. El Na_2CO_3 confiere a la solución un pH alcalino necesario para que la reacción pueda llevarse a cabo. El citrato de sodio mantiene al ion Cu^{2+} en solución ya que tiene la propiedad de formar complejos coloreados poco ionizados con algunos de los metales pesados. Si se le agrega al reactivo una solución de azúcar reductor y se calienta hasta llevar la mezcla a ebullición, el azúcar en solución alcalina se convertirá en D-gluconato y el Cu^{2+} se reducirá a Cu^{+1} , el cual, en medio alcalino, precipita en forma de Cu_2O de color rojo ladrillo.

Llevándose a cabo la siguiente reacción:



3.2 DETERMINACIONES CUANTITATIVAS

3.3.1 CENIZAS TOTALES

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas normalmente no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes.

El valor principal de la determinación de cenizas (y también de las cenizas solubles en agua, la alcalinidad de las cenizas y las cenizas insolubles en ácido) es que supone un método sencillo para determinar la calidad de ciertos alimentos. Las cenizas de los alimentos deberán estar comprendidas entre ciertos valores, lo cual facilitará en parte su identificación. (Pearson, 1993)⁴ El método utilizado fue el de cenizas totales, en este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una temperatura que fluctúa entre los 550 -600°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza. (Nollet, 1996)⁵, está diseñado para medir la cantidad total de materia que queda después de la ignición, incluyendo cenizas fisiológicas que proceden del tejido mismo de las plantas, como las no fisiológicas que son el residuo de la materia extraña (ejemplo, arena y tierra) adherida a la superficie de la planta.

3.3.2 HUMEDAD

Todos los alimentos, cualquiera que sea el método de industrialización a que hayan sido sometidos, contienen agua en mayor o menor proporción. Las cifras de contenido en agua varían entre un 60 y un 95% en los alimentos naturales. En los tejidos vegetales y animales, puede decirse que existe en

dos formas generales: "agua libre" Y "agua ligada". El agua libre o absorbida, que es la forma predominante, se libera con gran facilidad. El agua ligada se halla combinada o absorbida. Se encuentra en los alimentos como agua de cristalización (en los hidratos) o ligada a las proteínas y a las moléculas de sacáridos y absorbida sobre la superficie de las partículas coloidales. (Hart, 1991)⁶.

Existen varias razones por las cuales, la mayoría de las industrias de alimentos determinan la humedad, las principales son las siguientes:

- a) El comprador de materias primas no desea adquirir agua en exceso.
- b) El agua, si está presente por encima de ciertos niveles, facilita el desarrollo de los microorganismos.

*Métodos de secado.

Los métodos de secado son los más comunes para valorar el contenido de humedad en los alimentos; en dónde se calcula el porcentaje en agua por la pérdida en peso debida a su eliminación por calentamiento bajo condiciones normalizadas. Aunque estos métodos dan buenos resultados que pueden interpretarse sobre bases de comparación, es preciso tener presente que:

- a) algunas veces es difícil eliminar por secado toda la humedad presente
 - b) a cierta temperatura el alimento es susceptible de descomponerse, con lo que se volatilizan otras sustancias además de agua, y
 - c) también pueden perderse otras materias volátiles aparte de agua.
- (Pearson, 1993)⁴.

*Método de secado en estufa, el que elegimos para este trabajo

La determinación de secado en estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles.

El principio operacional del método de determinación de humedad utilizando estufa y balanza analítica, incluye la preparación de la muestra, pesado, secado, enfriado y pesando nuevamente de la muestra (Nollet, 1996)⁵. Se reporta el resultado obtenido por diferencia de peso.

3.3.3 MINERALES

Los minerales son sustancias nutritivas de origen inorgánico. Forman parte de los tejidos animales y vegetales.

Los alimentos contienen minerales en cantidades pequeñas, pero en su mayoría, una dieta adecuada, contiene las cantidades de minerales que el organismo necesita.

Los minerales no se destruyen por efectos de cocción o preparación de alimentos. Solamente se pierden al disolverse en el agua de cocción, si esta no se utiliza posteriormente en otras preparaciones. Aproximadamente el 4% del peso corporal está formado por minerales. El calcio y el fósforo son los más abundantes en los organismos, los demás están presentes en cantidades muy pequeñas, algunas veces tan pequeñas que se le conocen como elementos traza.

LOS MINERALES SE CLASIFICAN EN:

- a) Minerales mayores.
- b) Minerales traza.
- c) Otros minerales.

a) Minerales mayores.

Son aquellos que forman parte de los tejidos corporales en cantidades importantes. Del 4% del peso corporal que constituyen los minerales en total, los minerales mayores suman aproximadamente el 3.25% del peso

corporal. Son los siguientes: Calcio (Ca), Fósforo (P), Potasio (K), Azufre (S), Sodio (Na), Cloro (Cl) y Magnesio (Mg).

b) Minerales Traza.

Constituyen elementos minerales que juegan un papel importante en el funcionamiento del organismo, pero que son muy específicos para ciertas funciones y por lo tanto se necesitan en pequeñas cantidades. Representan alrededor del 0.4% del peso corporal y son de vital importancia, son: Hierro (Fe), Manganeso (Mn), Cobre (Cu), Yodo (I), Cobalto (Co), Selenio (Se), Zinc (Zn), Cromo (Cr), Flúor (F) y Molibdeno (Mo).

c) Otros minerales.

Son aquellos minerales, que, en los análisis de sustancias y tejidos corporales, se han detectado y que, por su presencia, se puede suponer que juegan un papel importante en el funcionamiento del organismo pero que es desconocido, y que por lo tanto se encuentran en cantidades casi insignificantes y son: Aluminio (Al), Arsénico (As), Bario (Ba), Boro (B), Bromo (Br), Cadmio (Cd), Plomo (Pb), Níquel (Ni), Silicio (Si), Estroncio (Sr) y Vanadio (V).

Algunas funciones de los minerales en el organismo son:

- Ser integrantes de compuestos orgánicos como fosfo-proteínas, Fosfolípidos, hemoglobina, tiroxina, así como de algunas enzimas, hormonas y vitaminas.
- Formar parte de las estructuras esqueléticas duras y de tejidos suaves del organismo.
- Regular la permeabilidad de la membrana celular, la presión osmótica y el equilibrio hídrico entre los compartimientos intra y extracelulares.
- Regular la contracción muscular y conservar el equilibrio ácido-base.

Por ello es necesario contar con una cantidad suficiente de cada uno de ellos. La gran mayoría pueden ingerirse de la dieta.

La determinación de minerales se llevó a cabo por espectrofotometría de absorción atómica que es un método instrumental de análisis, que determina gran variedad de elementos, principalmente metálicos. El principio general de esta técnica es la medición de energía absorbida por el elemento químico a determinar tras hacer incidir sobre una muestra, conteniendo dicho elemento, una radiación de luz monocromática específica. La radiación absorbida se determina por diferencia entre la radiación incidente (inicial) y la radiación después de la interacción con la muestra, se basa en la interacción entre la materia y la energía. El tipo de espectrometría depende de la cantidad física medida tras dicha interacción, normalmente la cantidad que se mide es una intensidad de energía absorbida o producida.

Para realizar las medidas con esta técnica el analito debe ser transformado en átomos gaseosos aplicando calor. Estos átomos en forma gaseosa absorben la radiación electromagnética a una longitud de onda que es específica para cada elemento, produciendo una señal medible, esta técnica se fundamenta en tres conceptos:

- Todos los átomos pueden absorber energía.
- La longitud de onda (λ) a la cual energía se absorbe es específica para cada elemento.
- La cantidad de energía absorbida en esta λ específica es proporcional a la concentración del elemento en la muestra sobre un intervalo limitado de la concentración, de acuerdo a la ley de Lambert- Beer.

3.3.4 FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO DE FOLLIN-CIOCALTEU.

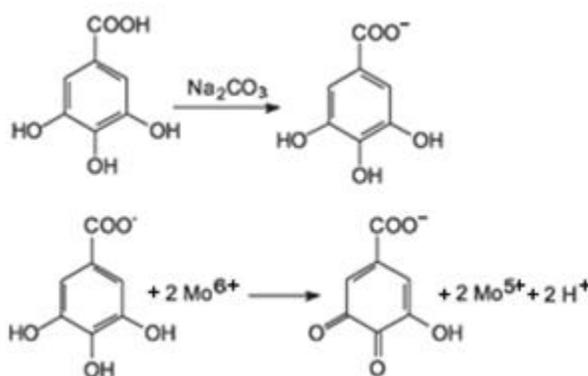
Los compuestos fenólicos constituyen un grupo importante de metabolitos secundarios de los vegetales, donde desempeñan diversas funciones. Son compuestos que intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas,

así como en procesos defensivos contra agentes patógenos, depredadores o radiación ultravioleta. Tradicionalmente se han considerado como sustancias antinutritivas debido al efecto adverso de uno de sus componentes principales, los taninos, en la digestibilidad de proteínas. Sin embargo, actualmente existe gran interés en estos compuestos debido a la gran variedad de actividades biológicas que presentan, considerándose uno de los compuestos fitoquímicos alimentarios más importantes por su contribución al mantenimiento de la salud humana. La actividad biológica de los polifenoles está relacionada con su carácter antioxidante, el cual es debido a su habilidad para quelar metales, inhibir la actividad de la enzima lipooxigenasa y actuar como atrapadores de radicales libres. De hecho, diversas organizaciones internacionales, en el ámbito de la nutrición, recomiendan un consumo diario como mínimo de cinco raciones de fruta o verdura, para asegurar una adecuada ingesta de antioxidantes y prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Existen numerosos estudios que proporcionan datos que apoyan la correlación negativa entre la ingestión de compuestos fenólicos y el riesgo de padecer ciertas enfermedades, incluyendo las enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedad de Alzheimer, cataratas y otras disfunciones relacionadas con la edad. Además de estos efectos beneficiosos para la salud, también se ha estudiado su efecto antiinflamatorio y su efecto preventivo en el tratamiento de asma. La cantidad de compuestos polifenólicos y tipos presentes en un alimento varía en función de la especie vegetal, variedad y parte del vegetal considerada (fruto, semillas, brotes, hojas), horas de exposición solar, grado de madurez, condiciones de cultivo, procesado, condiciones de almacenamiento, etc.

La determinación de la cantidad de fenoles se realiza por diferentes métodos. En este trabajo empleamos el método de Follin-Ciocalteu. Se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El

reactivo de Follin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). El color es proporcional al número de grupos hidroxilo, que presentes en la molécula.

Para este procedimiento se requiere tener estándares similares a la muestra, por lo que se realizó una curva patrón con ácido gálico en concentraciones de 0.1 a 500 mg/L. La reacción que se lleva a cabo es la siguiente: Ácido gálico con molibdeno, componente del reactivo de Follin-Ciocalteu:



3.3.5 HIDROQUINONA

En nuestro trabajo fue fundamental la cuantificación del contenido de Hidroquinona ya que está relacionada con su efecto farmacológico o con su posible toxicidad si está en una concentración elevada

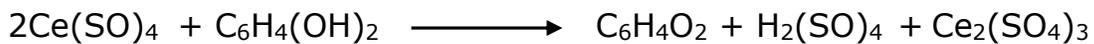
Toxicidad:

La hidroquinona es tóxica si se ingiere en elevadas cantidades; 1 g (equivalente a 6-20 g de material vegetal) ha provocado zumbidos, náuseas y vómitos, sensación de ahogo, disnea, cianosis, convulsiones, delirio y colapso. Una dosis de 5 g (equivalente a 30-100 g de material vegetal) ha

resultado mortal. El uso prolongado de gayuba puede provocar insuficiencia hepática crónica, debido al elevado contenido en taninos.

Para llevar a cabo la cuantificación de Hidroquinona se utilizó el método de Titulación directa (FEUM 10ª Edición)¹⁶. El titulante fue sulfato cérico, que se adiciona hasta obtener un color rojo-violeta. Cada mL de SV de sulfato cérico 0.1 N es equivalente a 5.506 mg de Hidroquinona. Se emplea un blanco para hacer la corrección en la cuantificación.

La reacción a que da lugar la titulación es la siguiente:



La titulación se efectúa en medio acuoso ya que se emplea una disolución de H_2SO_4 que facilita la reacción y permite que la difenilamina se mantenga disuelta. Se adiciona ácido sulfúrico al principio para mantener estable la solución

3.3.6 CARBOHIDRATOS REDUCTORES (GLUCOSA)

Los carbohidratos son compuestos orgánicos polares, hidrosolubles, formados por Carbono, Hidrógeno y Oxígeno principalmente, se presentan en forma de azúcares, almidones y fibras y son uno de los tres principales macronutrientes que, junto con las grasas y las proteínas, aportan energía en el cuerpo humano. Se ha comprobado que al menos el 55% de las calorías diarias que ingerimos provienen de los Carbohidratos.

Aunque es importante mantener un equilibrio adecuado entre las calorías que ingerimos y las que gastamos las investigaciones científicas sugieren que:

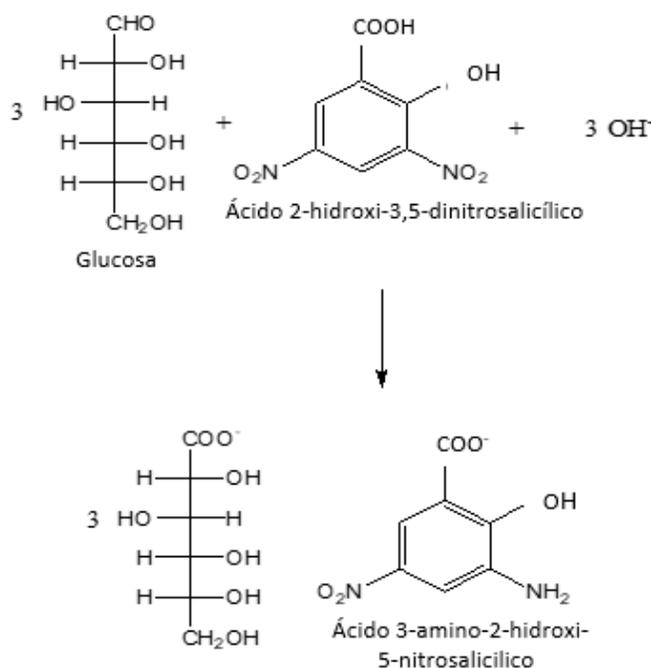
- ✓ Una dieta que contenga un nivel óptimo de Carbohidratos puede prevenir la acumulación de grasa en el cuerpo.
- ✓ El almidón y los azúcares aportan una fuente de energía de la que se puede disponer rápidamente para el rendimiento físico.

También es importante hacer notar que los azúcares realzan el sabor, la textura y la apariencia de los alimentos y hacen que la dieta sea más variada y agradable.

Los carbohidratos desempeñan diversas funciones siendo la de reserva energética y formación de estructuras las dos más importantes. Por otro lado, son los encargados de mantener la actividad muscular, la temperatura corporal, la tensión arterial, el correcto funcionamiento del intestino y la actividad neuronal.

El método utilizado en este trabajo para la cuantificación de carbohidratos fue el del Ácido Dinitrosalicílico (DNS).

Se emplea una solución alcalina del ácido dinitrosalicílico (DNS) el azúcar se oxida y a la vez reduce un grupo nitro de dicho ácido, para dar el monoamino correspondiente. Esta reacción da un producto colorido en solución alcalina. Para este procedimiento se requiere tener estándares similares a la muestra y construir una curva patrón. La reacción que se lleva a cabo es la siguiente:



3.3.7 ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C)

La Vitamina C es un metabolito importante, es un antioxidante hidrosoluble que no puede ser sintetizado por el organismo a partir de la glucosa, ya que se carece de la enzima necesaria para llevar a cabo la síntesis. Por tanto, se depende completamente del aporte exógeno, convirtiéndose así en un micronutriente esencial.

El contenido de Vitamina C no solo varía de un alimento a otro, sino que dentro de un mismo tipo de medicamento su concentración sufre variaciones que dependen del grado de maduración y procedencia. Son los alimentos vegetales (Patatas, Col, pimientos y frutas) son los que mayor cantidad de Vitamina C presentan.

En las funciones fisiológicas de la Vitamina C resaltan la importancia de este metabolito como sustrato en reacciones de hidroxilación de prolina y lisina, en la formación de colágeno, de la dopamina, la noradrenalina, y del triptófano para generar 5-hidroxitriptófano.

También actúa como donador de electrones en el metabolismo de la tirosina, ácido fólico, histamina, corticoesteroides y ácidos biliares.

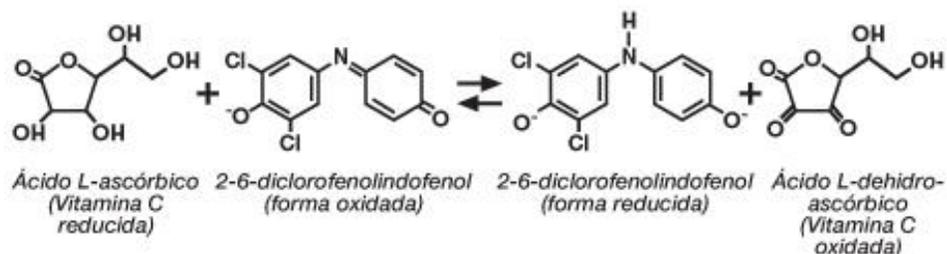
Observaciones recientes han señalado su implicación en la respuesta inmune, en las reacciones alérgicas y en las funciones leucocitarias.

Es un compuesto que participa en reacciones de óxido-reducción, reacciona directamente con especies dañinas en las que está presente el oxígeno, y que pueden tener implicaciones en los procesos carcinogénicos o de arterioesclerosis. Forma parte de un sistema orgánico de defensa y se considera un agente antioxidante de primera línea.

El método de elección para la determinación de Vitamina C fue el de: *2,6-Diclorofenol Indofenol*, el cual se fundamenta en la reducción de una solución de 2,6 - diclorofenol indofenol (DFI) por el ácido ascórbico (vitamina C), éste se oxida y pasa a ácido deshidroascórbico, reacción que ocurre a

medida que se añade solución titulante (DFI) sobre la solución que contiene el ácido ascórbico.

El método se basa en la fuerte capacidad reductora del ácido ascórbico, el cual es capaz de reducir al 2,6 diclorofenol indofenol (azul en medio básico y rojo en medio ácido) a una leucobase incolora. El punto final está determinado por la aparición de una coloración rosada debida a la presencia de DFI sin reducir, en medio ácido.



3.3.8 ANÁLISIS DE LÍPIDOS

Los lípidos (del griego "lipos" =grasa) se encuentran presentes en todos los organismos vivos y desempeñan un papel importante en el mantenimiento de la vida. A diferencia de las proteínas y los carbohidratos los lípidos son polimórficos y presenta variadas estructuras. Un grupo importante son los ésteres de ácidos monocarboxílicos y del glicerol

Los lípidos son moléculas orgánicas, cuya característica fundamental es ser insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos apolares como: cloroformo, éter, benceno disulfuro de carbono y etanol caliente. Esta propiedad no polar e hidrofóbica es la que caracteriza a los lípidos.

Algunos lípidos, además de C, H y O poseen también átomos de nitrógeno, fósforo y azufre.

Las funciones biológicas principales de los lípidos son las siguientes:

- a) *Estructural*: Son componentes de las membranas celulares, dentro de este grupo tendríamos a los fosfolípidos y a los glicolípidos.
- b) *Energética*: Tienen un elevado poder energético y suponen un incremento de peso mínimo si lo comparamos con el que tendría si esa energía se acumulara en forma de glucógeno. La combustión de 1 g de estos compuestos genera alrededor de 9.3 Kcal.
- c) *Reserva*: Estos compuestos se almacenan donde es necesario disponer de grandes cantidades de energía a largo plazo, además, se encuentran rodeando a diversos órganos sirviéndoles de protección y aislante frente a la pérdida de calor en ambientes fríos.
- d) *Reguladora*: Las hormonas esteroideas, las prostaglandinas y las vitaminas liposolubles, son lípidos que actúan regulando distintas actividades fisiológicas.
- e) Actúan como componentes de la superficie celular, en relación con el reconocimiento de las células, la especificidad de la especie y la inmunidad de los tejidos.

SAPONIFICABLES.

Al someterlos a hidrólisis alcalina algunos lípidos forman "jabones", que son las sales de los ácidos carboxílicos correspondientes. Dentro de este grupo de lípidos saponificables tenemos:

- I. Lípidos simples:
 - a) Acilglicéridos.
 - b) Ceras.
- II. Lípidos complejos:
 - a) Fosfoglicérido
 - b) Esfingolípidos.
 - c) Lipoproteínas.

INSAPONIFICABLES

Son los que no contienen ácidos grasos y por tanto no tienen la capacidad de formar "jabones". Se mencionan algunos ejemplos

- I. Prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos.
- II. Derivados de Isopreno.
- III. Esteroides.

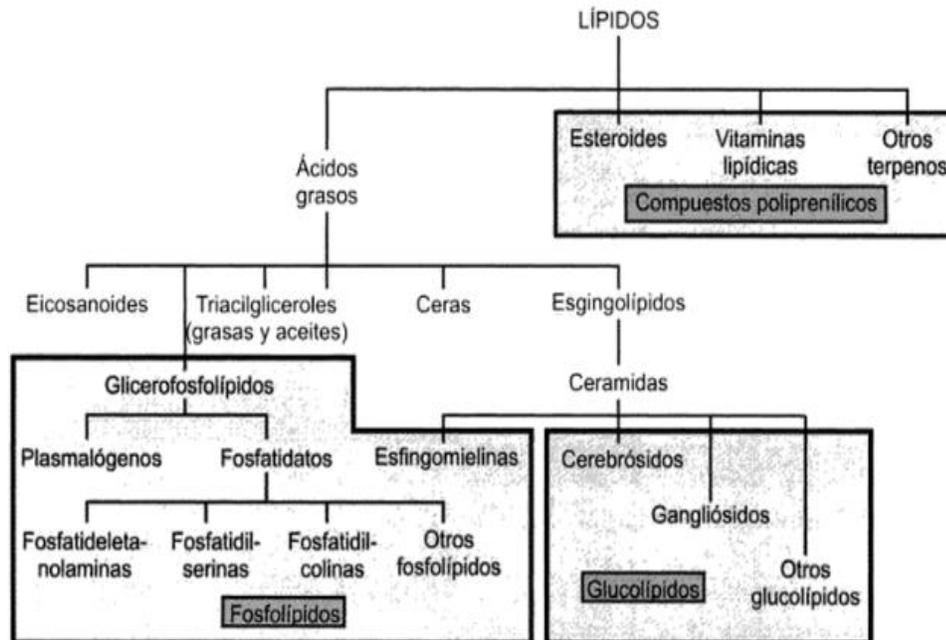


Figura 5. Organización de los tipos principales de lípidos.

3.3.8.1 ÁCIDOS GRASOS SATURADOS EN INSATURADOS

Los ácidos grasos son ácidos monocarboxílicos que contienen cadenas hidrocarbonadas de longitudes variables (entre 12 y 20 carbonos). Los ácidos grasos se numeran a partir del extremo carboxilato. Se emplean letras griegas para designar determinados átomos de carbono. El carbono α de un ácido graso es adyacente al grupo carboxilato, el carbono β está a dos átomos del grupo carboxilato. El carbono omega es el más alejado del grupo éster y se toma como referencia para nombrar ácidos tan importantes como omega 3, 6, 9 etc. Los ácidos grasos pueden tener cadenas de carbono

saturadas, mientras que otros tienen uno o más enlaces dobles de carbono-carbono y se conocen como insaturados.

ESTRUCTURA DE UN ÁCIDO GRASO

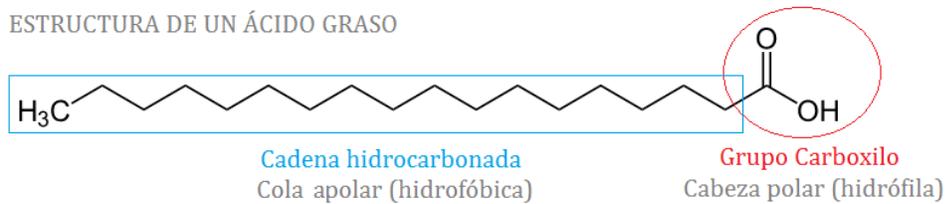


Figura 7. Estructura general de Ácidos Grasos.

ÁCIDOS GRASOS SATURADOS: Los ácidos grasos saturados se clasifican de acuerdo con la longitud de la cadena: corta menor de 6 carbonos, media entre 6 a 10 carbonos, y larga igual a 12 carbonos o mayor. En general, las grasas de los alimentos con mayor proporción de ácidos saturados de cadena larga permanecen sólidas a temperatura ambiente, por ejemplo; la grasa externa de un trozo de carne es sólida por su mayor contenido de ácidos grasos saturados de cadena larga, mientras que la grasa de pollo es semisólida a temperatura ambiente porque tiene menor proporción de ácidos grasos saturados de cadena larga.

Los ácidos grasos saturados son más resistentes a la oxidación, al calor, a la luz, no sólo son una fuente de energía, sino que también forman parte de la estructura de la membrana plasmática y el organismo los puede sintetizar u obtenerlos directamente de la dieta.

<i>Nombre del ácido graso</i>	<i>Denominación</i>	<i>N.º de carbonos</i>	<i>Alimentos fuente</i>
Butírico	Butanoico	4	Mantequilla de vaca
Caproico	Hexanoico	6	Mantequilla de vaca
Caprílico	Octanoico	8	Aceite de coco
Cáprico	Decanoico	10	Aceite de coco
Láurico	Dodecanoico	12	Aceite de coco y de palma
Mirístico	Tetradecanoico	14	Aceite de coco y de palma
Palmítico	Hexadecanoico	16	Aceite de palma y de grasa animal
Estearico	Octadecanoico	18	Mantequilla de cacao y grasa animal
Arcaico	Eicosanoico	20	Mantequilla de maní

TABLA 2. Ejemplos de ácidos grasos saturados en algunos alimentos.

ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS: Estos ácidos se clasifican según el número de dobles enlaces y de hidrógenos en la cadena de carbonos, es decir, a menor número de hidrógenos menor saturación, contrario a los ácidos grasos saturados, que tiene los carbonos completamente saturados con hidrógenos. A causa de la presencia de los dobles enlaces, los ácidos grasos insaturados son más reactivos químicamente que los ácidos grasos saturados.

El grado de insaturación-dobles enlaces, determina el punto de fusión, temperatura a la cual la grasa sólida se hace líquida. Si un alimento contiene mayor proporción de ácidos grasos insaturados, se requiere menor temperatura para alcanzar el punto de fusión, al contrario: es necesaria más temperatura para sí contiene mayor cantidad de ácidos grasos saturados.

A diferencia de los ácidos grasos saturados que tienen una estructura lineal, los insaturados tienen una unión adaptable en los dobles enlaces. Esta característica de su configuración, más la presencia de dobles enlaces, contribuyen a que sean líquidos a temperatura ambiente.

Uno de los ácidos mayormente encontrados en los alimentos es el ácido oleico, se encuentra en aceites de oliva y canola, que contienen el mayor porcentaje de ácidos grasos mono insaturados, son abundantes también en el cacahuate, el aguacate, la nuez macadamia y los pistaches.

Ácidos grasos cis-polinsaturados: tiene más de un doble enlace. A este grupo pertenecen los ácidos graso linoleico, con dos dobles enlaces, y el alfa-linoleico con tres dobles enlaces.

Estos ácidos forman parte de dos familias importantes, los ácidos grasos Omega-3 y Omega-6. El nombre de cada familia se denomina según su posición del primer doble enlace de la cadena de ácidos grasos, contando a partir del grupo metilo. Si éste está localizado entre los carbonos sexto y

séptimo, el ácido graso pertenece a la familia Omega-6, y si está entre los carbonos tres y cuatro pertenecen a la familia Omega-3.

En los alimentos el ácido graso alfa-linolénico, es el principal ácido graso de la familia Omega-3, el ácido linoleico del grupo de las Omega-6, y el oleico de los Omega-9. El alfa-linolénico y el linoleico son ácidos grasos esenciales que el organismo no sintetiza y que por tanto se tiene que obtener de la dieta, pues las células de organismo solo producen dobles enlaces en los ácidos grasos, después del carbono 9. Al contrario, el organismo sintetiza los ácidos grasos de la familia Omega-9, dado que el doble enlace está después del carbono 9.

Si no se consume suficiente cantidad de ácidos grasos esenciales durante un periodo prolongado, se produce descamación, prurito de la piel y diarrea. Se han observado otros síntomas como infecciones y, se puede producir también retardo en el crecimiento y en la cicatrización de heridas y anemia. Estas deficiencias se han visto en personas con nutrición parenteral con poca o ninguna grasa, durante dos o tres semanas y en niños que reciben fórmulas bajas en grasa.

El ácido graso alfa-linolénico, de la familia Omega-3, es esencial para el crecimiento y precursor de la síntesis de ácidos grasos de cadena más larga: eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA). Estos ácidos grasos forman parte de la corteza cerebral y del centro de la visión del ojo, la retina, y son necesarios para el cumplimiento de funciones y desarrollo de estos órganos. Los principales alimentos fuente son los pescados, mariscos, salmón, atún, sardina y anchoas.

El ácido linoleico es el principal ácido graso Omega-6. El organismo es capaz de sintetizar el ácido graso araquidónico con 20 átomos de carbono, a partir del linoleico. Cualquier dieta que contenga verduras de hoja, aceites

vegetales, maíz, soya y girasol, semillas, nueces y cereales integrales, aporta suficiente cantidad del ácido graso linoleico.

<i>Nombre del ácido graso</i>	<i>Denominación</i>	<i>Número de carbonos</i>	<i>Número de dobles enlaces</i>	<i>Alimentos fuente</i>
Caproleico	9-decenoico	10	1	Mantequilla
Lauroleico	9-docecenoico	12	1	Mantequilla
Miristoleico	9-tetradecenoico	14	1	Mantequilla
Palmitoleico	9-hexadecenoico	16	1	Algunos aceites de pescado y grasa de res
Oleico	9-octadecenoico	18	1	Aceites de oliva y de canola
Eláidico*	9-octadecenoico	18	1	Margarinas
Vaccénico	11-octadecenoico	18	1	Margarinas
Linoleico	9, 12-octadecadienoico	18	2	Aceites de girasol, maíz, soya
Linolénico	9, 12,15-octadecatrienoico	18	2	Aceites de soya, maíz, canola
Gadoleico	9 eicosenoico	20	1	Algunos aceites de pescado

TABLA 3. Ejemplos de ácidos grasos insaturados de los alimentos.

Los ácidos grasos de cadena más larga como el EPA, el DHA, el Omega-3 y el araquidónico Omega-6, son precursores de compuestos biológicamente activos denominados *eicosanoides*. Estos compuestos similares a hormonas incluyen las prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos, importantes reguladores de funciones vitales como la presión y la regulación sanguínea, las respuestas inmune e inflamatoria y las funciones gástricas. En este trabajo se buscó si la pingüica contiene algún ácido graso y de qué tipo, así como la cantidad.

A continuación se describirán, entre otros métodos, el de cromatografía de gases, el cual fue utilizado en el presente trabajo tanto para ácidos grasos como para otro grupo de lípidos.

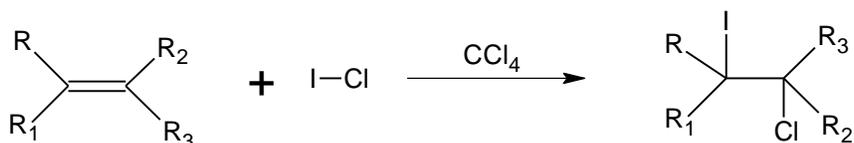
3.3.8.2 CARACTERIZACIÓN DE LÍPIDOS

Existen varias formas de análisis para evaluar las características físicas y químicas de las grasas, pero los más comunes son los desarrollados por la

American Oil Chemist's Society (AOCS), mismas que son utilizadas a nivel industrial, se basan en métodos instrumentales de cromatografía y de resonancia magnética.

Otras determinaciones utilizadas para evaluar la calidad de los aceites y grasas son: el índice de yodo, el índice de saponificación, el punto de fusión, el índice de solidificación y el índice de refracción. Son determinaciones empleadas en la industria para la caracterización e identificación de las grasas comerciales. Los resultados de los análisis pueden ofrecer información sobre la naturaleza, la calidad, el origen y el posible comportamiento de la grasa en diferentes condiciones de procesamiento en la elaboración de alimentos.

ÍNDICE DE YODO: El valor del índice de yodo de un aceite es una medida de su grado de insaturación, pues mide el contenido de dobles enlaces capaces de reaccionar con el reactivo empleado. El método de Wijs, que fue el utilizado en este estudio, emplea una solución de cloruro de yodo (ICI) que se adiciona a las dobles ligaduras (Wade, 2004)³¹.



El excedente de ICl se hace reaccionar con KI, la reacción efectuada es la siguiente:



El yodo liberado se cuantifica con una solución estandarizada de tiosulfato de sodio usando una solución de almidón como indicador.



El punto final se registra, cuando desaparece el complejo azul de yodo con el almidón. El índice de yodo se define como el número de gramos de yodo absorbidos por 100 g de aceite o grasa.

ÍNDICE DE REFRACCIÓN: se define como la relación de la velocidad de la luz en el aire (como el vacío) con respecto a la velocidad de la luz en el aceite. Es decir, mide la relación aire/sustancia, de una muestra concreta. Sirve para identificar la pureza del aceite o grasa, ya que si está adulterado cambiará el valor del Índice de Refracción. Se obtiene midiéndolo directamente en un refractómetro a 20-25°C para los aceites y a 40°C para las grasas.

CROMATOGRAFÍA DE GASES: Es un método físico de separación en el cual los componentes de la mezcla se distribuyen entre dos fases, una sólida o líquida dispuesta sobre un soporte de gran área superficial, conocida como fase estacionaria, y la otra fase que es un fluido que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico, que se utiliza como portador de la mezcla y que pasa a través de la fase estacionaria, esta fase se conoce como fase móvil. Los componentes son separados por su diferente velocidad de migración que depende de su polaridad relativa. La clasificación más frecuente en cromatografía, la marca el tipo de fase móvil, en este sentido la cromatografía de gases emplea como fase móvil un gas.

En una cromatografía de gases (CG), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de un gas inerte, que funciona como fase móvil. A diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito a través de la columna. Hay dos clases de cromatografía de gases: cromatografía gas sólido (de absorción) y cromatografía gas líquido (de partición). De ellas, la más importante es la cromatografía gas-líquido, usada en forma de una columna capilar.

Esta técnica se emplea si los componentes de la mezcla problema son volátiles o semi-volátiles. La cromatografía de gases proporciona información cualitativa y cuantitativa de los componentes presentes en una mezcla. Los componentes son separados por sus diferencias de partición entre la fase móvil y la fase estacionaria en la columna.

Un cromatógrafo de gases consiste en varios módulos básicos ensamblados para:

- a) Proporcionar un gasto fijo o constante del gas transportador (fase móvil).
- b) Permitir la introducción de vapores de la muestra en la corriente de gas que fluye.
- c) Contener la longitud apropiada de fase estacionaria.
- d) Mantener la columna a la temperatura apropiada o las secuencias del programa de temperatura.
- e) Detectar los componentes de la muestra conforme se eluyen de la columna.
- f) Proveer una señal legible proporcional en magnitud a la cantidad de cada posible componente.

Mediante la cromatografía de gases puede establecerse el contenido de ácidos grasos totales y la composición promedio de ácidos grasos, así como determinar cuáles esterifican cada posición del glicerol en los triglicéridos. Estas determinaciones resultan de gran utilidad, ya que la composición de ácidos grasos de los triglicéridos es característica de los distintos tipos o variedades de aceites y grasas.

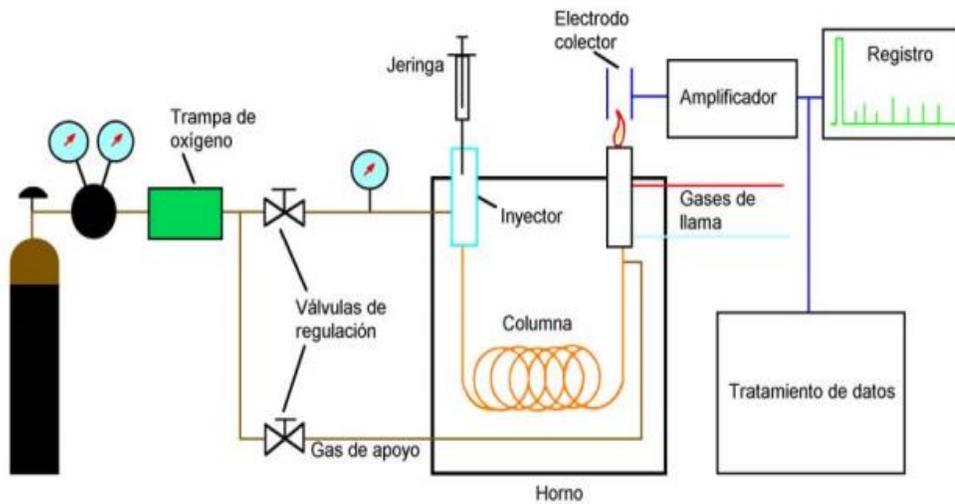


FIGURA 7. Cromatógrafo de Gases.

3.3.9 EXTRACCIÓN DEL ACEITE

3.3.9.1 EXTRACCIÓN MÉTODO SOXHLET

Los lípidos se pueden extraer de su fuente natural por medio de una extracción continua. Extracción sólido-líquido en continuo: En ocasiones es necesario extraer un compuesto orgánico de una mezcla sólida generalmente inorgánica, poco soluble tanto en disolventes como en agua. Aunque el compuesto orgánico sea muy soluble en el disolvente, puede aislarse fácilmente llevando a cabo una extracción en continuo con un extractor soxhlet. El sólido se coloca en el depósito superior del aparato, dentro de un cartucho de celulosa que actúa como filtro. Al calentar el matraz, el vapor del disolvente asciende por el tubo lateral y condensa en el refrigerante cayendo sobre el sólido que se encuentra en el cartucho. El disolvente extrae poco a poco el sólido y va llenando el depósito superior hasta que, cuando alcanza la parte alta del tubo lateral estrecho, cae de nuevo al matraz y el depósito superior se vacía completamente por efecto "sifón". El proceso se repite automáticamente.

La concentración del compuesto orgánico extraído va aumentando en el matraz hasta que la extracción finaliza.

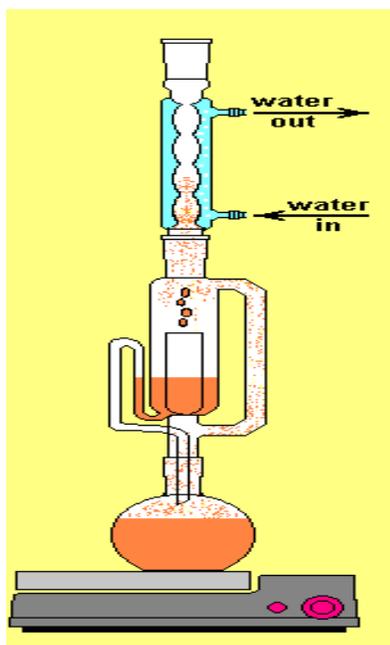


Figura 6. Equipo Soxhlet.

CAPÍTULO IV DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

Para la realización de este trabajo se utilizó el fruto de *Arctostaphylos pungens*, mejor conocido como pingüica, se consiguió en la Merced de la Ciudad de México a 40 pesos el Kilo, misma que se puede degustar en los puestos de jugos y licuados que se encuentran distribuidos por toda la Ciudad, señalando los vendedores que en efecto se recomienda para enfermedades del riñón, infección de vías urinarias y como complemento para los jugos antigripales, muy consumido por la población, combinándose con piña, apio y jugo de naranja a un precio de 25 pesos el medio litro.



Figura 8: Frutos de *Arctostaphylos pungens*.

4.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

En el presente trabajo se estudió el fruto, los metabolitos principales se aislaron por los métodos empleados en la química orgánica identificándolos por sus propiedades fisicoquímicas y relacionándolas con las propiedades farmacológicas que se les atribuyen.

La muestra se sometió a distintos tratamientos ya que las pruebas que se determinaron lo requerían. Las características de la muestra utilizada permitieron realizar las diferentes pruebas establecidas en el proyecto de trabajo. El fruto se encontraba seco, se procedió a moler para realizar las determinaciones que se mencionan en la parte correspondiente

4.3 IDENTIFICACIONES, PRUEBAS CUALITATIVAS.

4.3.1 GLICÓSIDOS (IR)

- ♦ Moler la pingüica en un molino (moulinex) hasta obtener un polvo fino uniforme.
- ♦ Instalar equipo soxhlet para la extracción del aceite.

- ♦ Pesar 34 g del polvo de pingüica y colocar en un cartucho de papel filtro, acomodar en cartucho en el equipo soxhlet.
- ♦ Usar hexano y metanol como disolventes, mantener a reflujo durante 3 ó 5 h respectivamente.
- ♦ Recuperar los disolventes por destilación simple.
- ♦ Trasvasar a un vaso de precipitados previamente pesado y evaporar en la campana los remanentes de los disolventes.
- ♦ Enviar a infrarrojo (IR) a la unidad de posgrado (USAI) de la Facultad de Química, UNAM, edificio B.
- ♦ Equipo a utilizar: Espectrofotómetro FTIR de rejilla, modelo 1605, marca Perkin-Lambda en pastilla de bromuro de potasio.

4.3.2 HIDROQUINONA POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA Y PUNTO DE FUSIÓN TRIPLE

- ♦ Moler 2 g de pingüica, y adicionar agua suficiente para cubrir el polvo.
- ♦ Agitar hasta obtener una mezcla uniforme. Filtrar
- ♦ Dejar a evaporación natural la solución acuosa obtenida, hasta que se logre obtener una pulpa.
- ♦ Utilizar la pulpa para llevar a cabo la hidrólisis acuosa inducida con HCl al 20 %.
- ♦ Preparar dos placas con sílice en gel como adsorbente, usar etanol como eluyente y unas gotas de hexano en la primera placa. Se hizo una placa usando acetona como eluyente. Las placas se observaron con luz UV.
- ♦ En las placas se colocaron 3 muestras: la referencia de hidroquinona, el extracto acuoso de la pingüica y el producto de la reacción de hidrólisis ácida.
- ♦ Dejar eluir, sacar las placas de la cámara de elusión para observar comportamiento.
- ♦ Calcular el Rf de cada una de las muestras aplicadas.

Para el punto de fusión triple

- ♦ Realizar una comparación de los puntos de fusión de la hidroquinona obtenida en la extracción con el método soxhlet, fase metanol y el p.f de una referencia de hidroquinona pura. Esta prueba ayudará a ver la calidad del extracto metanólico en la muestra obtenida.
- ♦ Hacer una mezcla entre el producto obtenido por extracción de pingüica y la hidroquinona pura.
- ♦ Determinar punto de fusión triple y registrar resultados.

4.3.3 ALCALOIDES MEDIANTE PRUEBA DE DRAGENDORFF

- ♦ Hacer una muestra acuosa de 2 mL aproximadamente del reactivo de Dragendorff.
- ♦ Preparar la cantidad necesaria de muestra de pingüica con la porción necesaria de agua. Filtrar la muestra.
- ♦ Añadir 0.5 mL de reactivo de Dragendorff. La prueba se hizo en un tubo de ensayo y se observó la coloración.
- ♦ Usar como testigo una muestra de cafeína al 5%.
- ♦ Realizar por triplicado.

4.3.4 FENOLES MEDIANTE LA PRUEBA DE FeCl_3

- ♦ Tomar dos muestras para realizar la prueba.
- ♦ Muestra 1: Usar la fracción metanólica obtenida en la extracción del método soxhlet.
- ♦ Muestra 2: Tomar 1 g de pingüica molida con 2 mL de agua.
- ♦ Adicionar a ambas muestras cloruro férrico al 1%, observar coloración.
- ♦ Se recomienda usar un doble testigo, la muestra de extracción con hexano y una prueba de fenol al 5%.

- ♦ Realizar por triplicado.

4.3.5 AZÚCARES REDUCTORES POR PRUEBA DE BENEDICT

- ♦ Colocar la cantidad necesaria de polvo de pingüica con 1 mL de agua destilada en un tubo de ensayo de 16X150. Agitar el tubo y decantar para realizar la prueba
- ♦ Adicionar 1 mL de reactivo de Benedict (complejo cúprico con ión citrato) al líquido decantado.
- ♦ Calentar a ebullición en un mechero bunsen y dejar enfriar a temperatura ambiente
- ♦ La formación de un precipitado que va de color amarillo hasta rojo indicará positivo, observar resultado.
- ♦ Usar una muestra de Glucosa al 5% como testigo.
- ♦ Realizar por triplicado.

4.4 PRUEBAS CUANTITATIVAS

4.4.1 DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS REDUCTORES (GLUCOSA) POR MÉTODO DE DNS (ácido dinitrosalicílico)

- ♦ Tomar 1 mL de la solución acuosa de la muestra.
- ♦ Adicionar 1mL del reactivo de DNS y calentar por 5 minutos en un baño de agua hirviente.
- ♦ Enfriar.
- ♦ Diluir con 10 mL de agua destilada.
- ♦ Leer la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm frente a un blanco de reactivos y agua tratada como la muestra.
- ♦ Realizar una curva estándar en concentraciones de 0.2-2mg/mL, con 8 puntos.

- ♦ Interpolar los valores de absorbancia obtenidos.
- ♦ Hacer la determinación por triplicado
- ♦ Usar espectrofotómetro UV Marca: PYE-UNICAM Modelo. SP6-400

4.4.2 FENOLES POR MÉTODO DE FOLLIN-CIOCALTEAU

- ♦ Tomar 0.1 g de polvo de pingüica y colocarla en un matraz aforado de 100 mL.
- ♦ Aforar con agua destilada caliente.
- ♦ Agitar. Filtrar.
- ♦ Hacer diluciones de 0.1 y 1.0 mg/mL.
- ♦ En una placa de 96 pozos agregar 20 µL de agua con micropipeta, 20 µL de la muestra y 20 µL del reactivo de Follin-Ciocalteu.
- ♦ Dejar reposar por 10 minutos a temperatura ambiente en la obscuridad.
- ♦ Adicionar 10 µL de una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20%.
- ♦ Dejar reposar por 60 minutos.
- ♦ Transcurrido este tiempo, medir absorbancia a 700 nm.
- ♦ Realizar cada muestra por triplicado.
- ♦ Hacer una curva patrón de ácido gálico de concentraciones de 0.1-1.0 mg/L.
- ♦ Obtener los valores de concentración de fenoles totales interpolando las mediciones de absorbancia en la curva patrón.
- ♦ La curva se realiza por sextuplicado.

4.4.3 CENIZAS TOTALES POR MÉTODO DE CALCINACIÓN

- ♦ Tomar 1 g de muestra del cartucho que se utilizó para extraer compuestos orgánicos

- ♦ Calentar dos crisoles de sílice a una temperatura de 550 °C por 2 h en una mufla hasta registrar peso constante.
- ♦ Colocar la muestra y calcinar con un mechero bunsen hasta que ya no salga humo negro.
- ♦ Ahora calcinar en una mufla bajo las mismas condiciones durante 2 horas.
- ♦ Una vez que se obtienen cenizas blancas a ligeramente grises homogéneas, dejar enfriar los crisoles en un desecador por 30 minutos.
- ♦ Pesar.
- ♦ Realizar por duplicado
- ♦ El resultado se obtiene del porcentaje por diferencia entre el peso inicial y el final de la muestra.
- ♦ Reportar el promedio.

4.4.4 HUMEDAD MEDIANTE PÉRDIDA POR SECADO

- ♦ Colocar un pesafiltro en las siguientes condiciones: Poner a 130°C y dejar por 2 h hasta lograr un peso constante.
- ♦ Pesar 2 gramos de muestra de pingüica en el pesafiltro que se trató en el punto anterior.
- ♦ Secar la muestra en estufa durante 2 h entre 100°-110°C.
- ♦ Retirar de la estufa, tapar, dejar enfriar en el desecador a temperatura ambiente.
- ♦ Pesar nuevamente hasta peso constante.
- ♦ Realizar por duplicado.
- ♦ Calcular el porcentaje de humedad como pérdida por secado entre peso inicial y peso final.
- ♦ Reportar el promedio.

4.4.5 DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS Y ÁCIDOS GRASOS SATURADOS E INSATURADOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

- ♦ Tomar 0.28 g del aceite obtenido en la extracción por el método de soxhlet con hexano.
- ♦ Enviar a la Unidad de posgrado (USAI) de la facultad de Química edificio B para su análisis.
- ♦ En la USAI se utilizó un equipo Marca HP Mod. GP5890 serie 11 columna carborwax 20m (fase estacionaria) 30mx0.25mm (diámetro interno) x 0.25mm de espesor de la película. Usando una rampa de 100 °C por un minuto, se calentó aumentando 10°C por minuto hasta 240 °C por 5 minutos y un inyector de Spitless 220 con un detector Fil 240 °C.

4.4.5.1 CARACTERIZACIÓN DE LÍPIDOS

- ♦ La determinación se hizo por medio de la cromatografía de gases, siguiendo el procedimiento descrito en el punto 4.4.5 en donde se pudo observar el tipo de ácidos grasos, saturados e insaturados, contenidos en la muestra del extracto no polar de la pingüica.

4.4.6 MINERALES POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

- ♦ Colocar los crisoles que contienen las cenizas en la campana, adicionar 10 mL de agua destilada y 5 mL de HCl concentrado, digerir en horno hasta que el volumen se reduzca a la tercera parte a temperatura aproximada de 15-20 °C.
- ♦ Retirar los crisoles y enfriar, filtrar, usando papel filtro cuantitativo y recibir el filtrado en un balón de 100 ml.

- ♦ Hacer diluciones y colocar la décima parte del volumen de dilución (0.5 mL) de solución de, lantano para Ca^{2+} y Mg^{2+} y 0.5 mL de solución de Litio para Na^+ y K^+ .
- ♦ Preparar estándares que contengan: Para K 0.2 μg K/mL y para Fe 0.5 μg Fe/mL.
- ♦ Hacer lecturas de absorbancia de los estándares y la muestra.
- ♦ Realizar curva de calibración, concentración vs absorbancia con los valores obtenidos de las lecturas.
- ♦ Interpolar en dicha curva los valores de absorbancia para obtener resultados.

El análisis de espectrofotometría de absorción atómica fue realizado siguiendo el procedimiento técnico: PT-USAI-FQ-AA-002. La muestra se digiere en horno de microondas marca CEM, modelo MDS 2000.

4.4.7 HIDROQUINONA MEDIANTE TITULACIÓN DIRECTA

- ♦ Llevar a cabo la cuantificación de hidroquinona por método de valoración. Titulación directa según FEUM 10^a Edición.
- ♦ Corroborar la pureza del ácido sulfúrico para garantizar la concentración de 0.1 N que es lo que nos indica la FEUM y con ello agregar el volumen de la concentración que se requiere para poder asegurar la hidrólisis de la arbutina.
- ♦ Disolver 250 mg de la muestra con una mezcla de agua y ácido sulfúrico 0.1 N.
- ♦ Titular con sulfato cérico 0.1 N hasta observar un color rojo-violeta.
- ♦ Realizar una prueba en blanco y efectuar las correcciones necesarias.
- ♦ Considerar que, cada mililitro de SV de sulfato Cérico 0.1 N equivale a 5.506 mg de Hidroquinona.
- ♦ Realizar por triplicado.

- ♦ Inducir la hidrólisis con H_2SO_4 , con emulsina y con agua para determinar cuál de los componentes anteriores es la mejor elección para llevar a cabo la hidrólisis.

4.4.8 DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C) POR TITULACIÓN CON 2,6 DICLOROFENOL INDOFENOL

- ♦ Colocar una muestra de 0.4 g de polvo de pingüica en matraz Erlenmeyer de 250 mL.
- ♦ Adicionar 10 mL de agua destilada. Agitar y decantar
- ♦ Agregar unas gotas de almidón como indicador.
- ♦ Titular con 2,6-dinitrofenolindofenol, se observará el color azul característico
- ♦ Realizar la titulación por triplicado hasta obtener una coloración rosa tenue, que indicará un punto de equilibrio.

CAPÍTULO V RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracción de compuestos polares y no polares

Extracción de compuestos no polares y polares	Compuestos no polares 6.9%
	Compuestos polares 25.9%

Se llevó a cabo la extracción de los compuestos no polares y polares de la pingüica, estos últimos están en mayor proporción lo que indica abundancia de metabolitos polares en el material estudiado y su posible participación en los efectos terapéuticos atribuidos a esta planta

Identificación de arbutina en la pingüica

Debido a que se ha descrito la presencia del glicósido arbutina en esta planta se procedió a realizar las reacciones recomendadas para el estudio de estos

compuestos. La presencia del carbohidrato le confiere solubilidad parcial en agua por lo que se colocó la muestra molida en un matraz, se adicionó la cantidad de agua necesaria para agitar unos minutos. Se filtró y se repitió el proceso dos veces más. Una parte del extracto se dejó secar y se determinó su espectro de IR lo que permitió observar la presencia de arbutina por las características de las bandas de absorción que son similares a las descritas en la literatura. Con ello se cumplió uno de los objetivos de este trabajo. (Anexos 1 y 2)

Otra parte del extracto acuoso ya mencionado se sometió a una hidrólisis con solución al 20% de HCl. Con la solución obtenida se realizó una cromatografía en placa fina empleando como referencia una muestra pura de hidroquinona corroborando con ello la presencia de este compuesto. Se indica enseguida el método de cuantificación ya que es importante conocerlo y poder establecer si su consumo es seguro.

Cuantificación de hidroquinona

La pureza del ácido sulfúrico fue del 90 % y con él se preparó la solución al 0.1 N. Se hizo la titulación por triplicado.

Titulación de la muestra 1er Bloque			
Muestras	Vol de $Ce(SO_4)_2$ Consumido	Vol. Sin el blanco	mg de HQ presentes
253.6 mg	0.4 ml	0.3 ml	1.651 mg
249.4 mg	0.3 ml	0.2 ml	1.102 mg
261 mg	0.5 ml	0.4 ml	2.202 mg
X prom. 254.66 mg	0.4 ml	0.3 ml	1.651 mg

Titulación de la muestra 2do Bloque			
Muestras	Vol de $Ce(SO_4)_2$ Consumido	Vol. Sin el blanco	mg de HQ presentes
250.8 mg	0.3 ml	0.2 ml	0.885 mg
256.7 mg	0.35 ml	0.25 ml	1.106 mg
244.2 mg	0.25 ml	0.15 ml	0.664 mg
X prom. 250.56 mg	0.3 ml	0.3 ml	0.885 mg

Titulación de la muestra 3er Bloque con Emulsina			
Muestras	Vol de $Ce(SO_4)_2$ Consumido	Vol. Sin el blanco	mg de HQ presentes
252.9 mg	0.2 ml	0.1 ml	0.442 mg
269.4 mg	0.3 ml	0.2 ml	0.885 mg
260.6 mg	0.25 ml	0.15 ml	0.664 mg
X prom. 260.96 mg	0.25 ml	0.15 ml	0.663 mg

Para el primer y segundo bloque de muestras el promedio de HQ presente es de: 0.506 g por cada 100 g de muestra, en el caso del bloque que se hizo con Emulsina el valor obtenido fue de: 0.254 g por cada 100 g de pingüica. Se alcanza a notar que es más baja la cantidad de HQ, lo cual se debe a que la hidrólisis por elección resultó mejor en medio ácido y con agua, método que recomienda la FEUM 10ª Ed. La cantidad presente de HQ en la pingüica no alcanza los niveles tóxicos para el organismo humano, pues se requeriría consumir al menos 197.31 g de pingüica equivalente a 1 g de HQ, sobrepasando la ingesta segura se podrán sentir náuseas, vómitos, delirios e incluso colapso o convulsiones; sin embargo, cuando se consume en jugos de los puestos callejeros se le agregan aproximadamente 15 g, en donde se contiene apenas el 0.5 % de HQ. No se debe consumir una dosis de 5 g de HQ o podrá resultar mortal.

Prueba de alcaloides

Presencia de alcaloides	Negativo
-------------------------	----------

La prueba fue realizada con el reactivo de Dragendorff; Sin embargo, al resultar negativa no fue necesario plantear una cuantificación.

Prueba de fenoles totales

Presencia de fenoles	Positivo
----------------------	----------

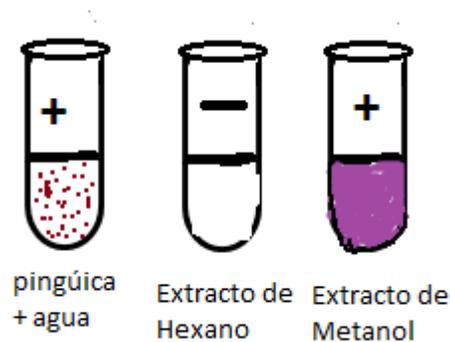


FIGURA 9: Prueba de Fenoles con FeCl_3 positiva.

La prueba de fenoles fue positiva para la muestra en solución acuosa y también con la muestra obtenida en el extracto metanólico. Se procedió a cuantificar los fenoles. La prueba fue negativa para el extracto no polar ya que los fenoles son polares.

Cuantificación de Fenoles por Método (Follin-Ciocalteu)

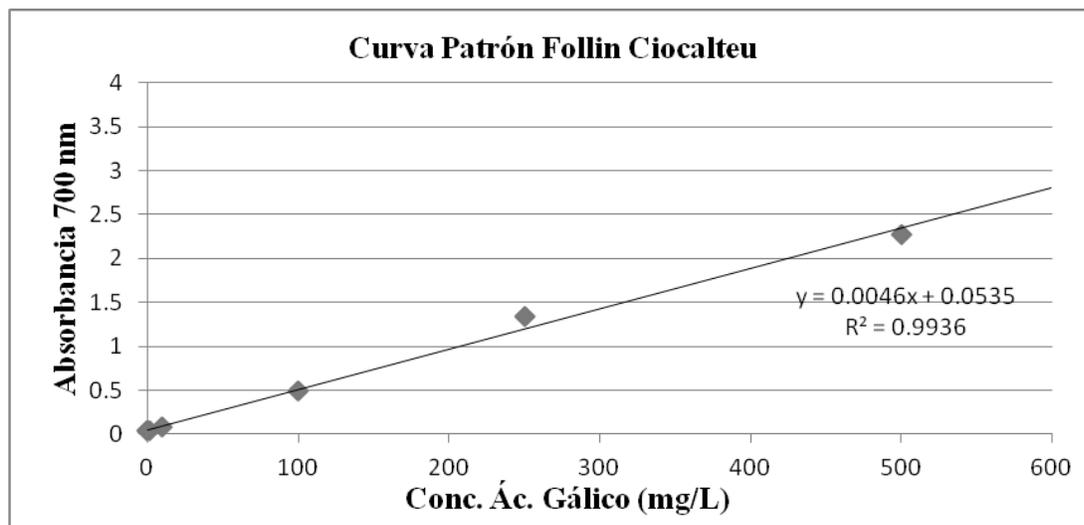


Gráfico 1: Curva patrón para la determinación de Fenoles Totales por el método de Follin-Ciocalteu.

Cuantificación de fenoles	28.6 mg fenoles totales/100g muestra
---------------------------	--------------------------------------

La cuantificación de los fenoles fue de gran interés, ya que son compuestos provenientes del metabolismo secundario de las plantas que participan en la asimilación de nutrientes, síntesis proteica, actividad enzimática, fotosíntesis y formación de compuestos estructurales. También contribuyen a la pigmentación, mismos que dan el color, rojo, azul, violeta, naranja y púrpura.

En el organismo humano se ha demostrado su efecto antioxidante, característica que se debe al grupo fenol, por lo que protegen de enfermedades asociadas al estrés oxidativo y problemas cardiovasculares la cantidad presente en la pingüica es mínima. No se clasificó el tipo de fenoles que se encuentran en nuestra muestra; sin embargo, la cantidad de fenoles no es tóxica para el consumo humano, estudios en animales e in vitro demuestran que para ser tóxicos se debería de consumir entre el 1-5 % total de la dieta, y no sobrepasar entre 25 mg- 1 g por día. Aun así, se

recomienda ser prudente y no consumir ni recomendar un consumo elevado de compuestos fenólicos hasta que no se conozca de manera más clara su bioactividad.

Azúcares Reductores

Benedict

Positivo

Testigo: Glucosa.

Una vez realizada la prueba de azúcares y dando positiva, se procede a hacer la cuantificación, pues es importante conocer la cantidad de azúcar presente en la muestra, ya que existen condiciones en que se recomienda evitar consumo de azúcar y/o moderar su consumo.

Método de DNS para azúcares reductores

Determinación de carbohidratos reductores (Glucosa) Método de DNS

1.7g Glucosa/100g muestra

Glucosa[mg/mL]	Abs (nm)
0.2	0.27
0.4	0.46
0.7	0.64
1	0.89
1.2	0.99
1.5	1.1
1.7	1.17

Tabla 3. Absorbancia de la Glucosa

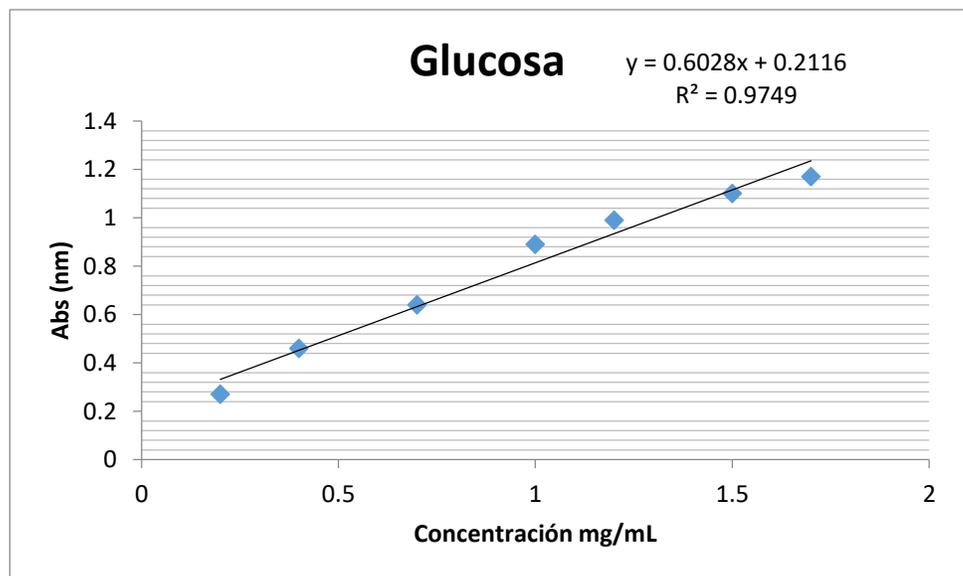


Gráfico 2: Curva de Glucosa

La cantidad de azúcares reductores pudo cuantificarse por el método de DNS una vez que fueron identificados por el método cualitativo de Benedict, el resultado fue de 1.7 g/100 g de pingüica, siendo de suma importancia conocer la cantidad de azúcar presente en cualquier alimento, pues si bien es cierto que desempeña un papel fundamental para la obtención de energía y funcionamiento celular también representa un impacto en la salud si se consume de manera excesiva. De acuerdo con el resultado obtenido la cantidad de azúcar no es excesiva para su consumo, por lo que puede ser útil para personas que no pueden consumir altas cantidades de azúcar en su dieta.

Cenizas Totales

No. De Muestra	Muestra (g)	Cenizas (g)	% Cenizas
1	1.0070	0.0232	2.30
2	1.0310	0.0242	2.34
Promedio	1.019	0.0237	2.32

Tabla 4. Resultados de Cenizas Totales.

Las cenizas de un alimento se definen como el residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica; el valor promedio de cenizas para la pingüica es de 2.32 % (Tabla 4), este valor es relativamente alto comparado con lo reportado en la literatura que es de 1.15% de cenizas, esto se debe a que tiene una cantidad considerable de minerales; es decir nutrimentos inorgánicos como Ca, K, Na, Mg, Fe, que fueron los cuantificados por absorción atómica, también es debido a que tiene elementos traza, ambos son esenciales para llevar a cabo una amplia gama de funciones metabólicas en el cuerpo humano.

Minerales

Muestra	Fe	Ca	Na	Mg	K
ppm	ND	ND	6718.5	7237.0	ND
mg/100g	--	--	671.85	723.7	--

Tabla 5. Resultado de Minerales.

▪ Hierro

Concentración ppm	Absorbancia
1	0.062
2	0.1178
3	0.1656
4	0.2109
5	0.2543

Tabla 6. Determinación de Hierro.



Gráfico 3. Curva de Calibración de Hierro.

▪ Calcio

Concentración ppm	Absorbancia
0.2	0.2023
0.4	0.2704
0.6	0.333
0.8	0.3494
1	

Tabla 7. Determinación de Calcio.

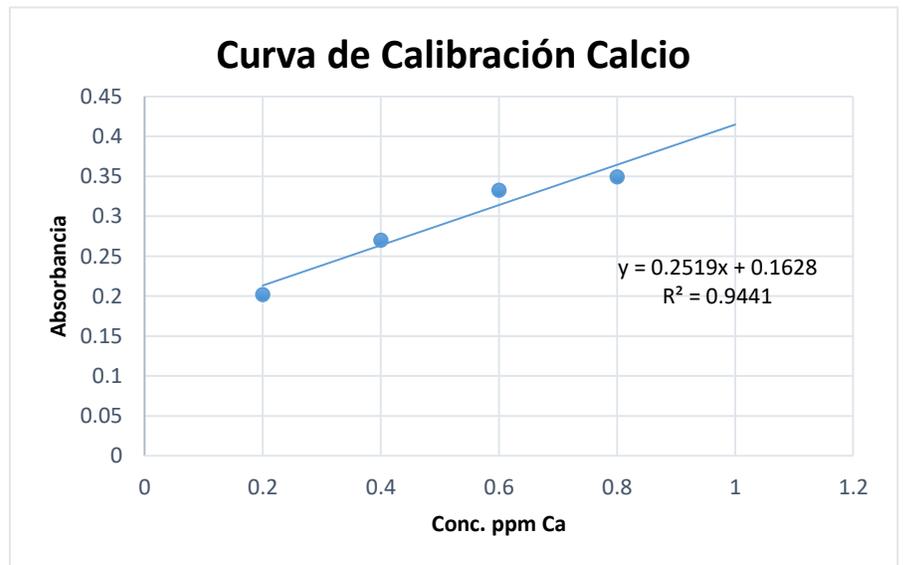


Gráfico 4. Curva de Calibración de Calcio.

- Sodio

Concentración ppm	Absorbancia
0.2	0.1329
0.4	0.1934
0.6	0.2686
0.8	0.3239
1	0.3988

Tabla 8. Determinación de Sodio.

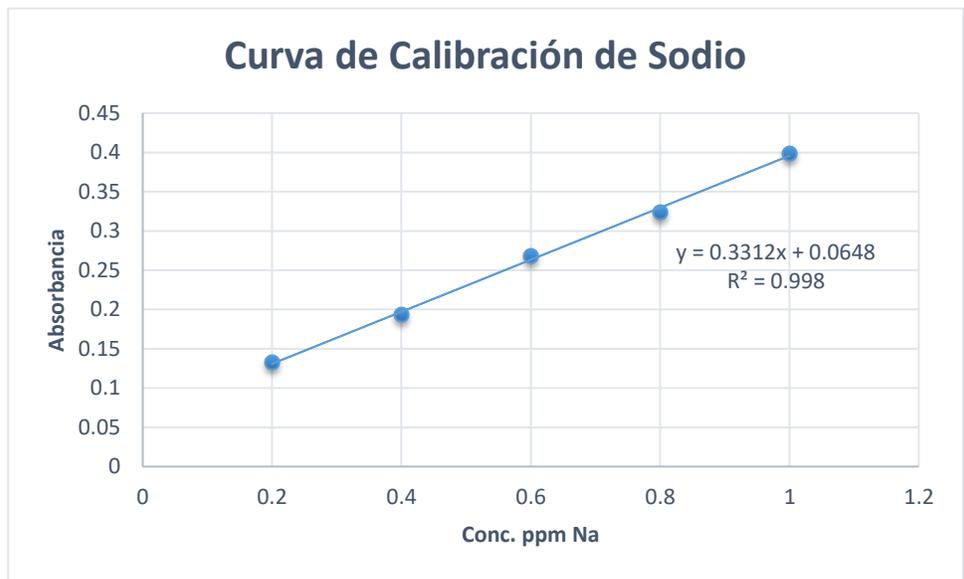


Gráfico 5. Curva de Calibración de Sodio.

- Magnesio

Concentración ppm	Absorbancia
0.2	0.1745
0.4	0.3054
0.6	0.4052
0.8	
1	0.5773

Tabla 9. Determinación de Magnesio.

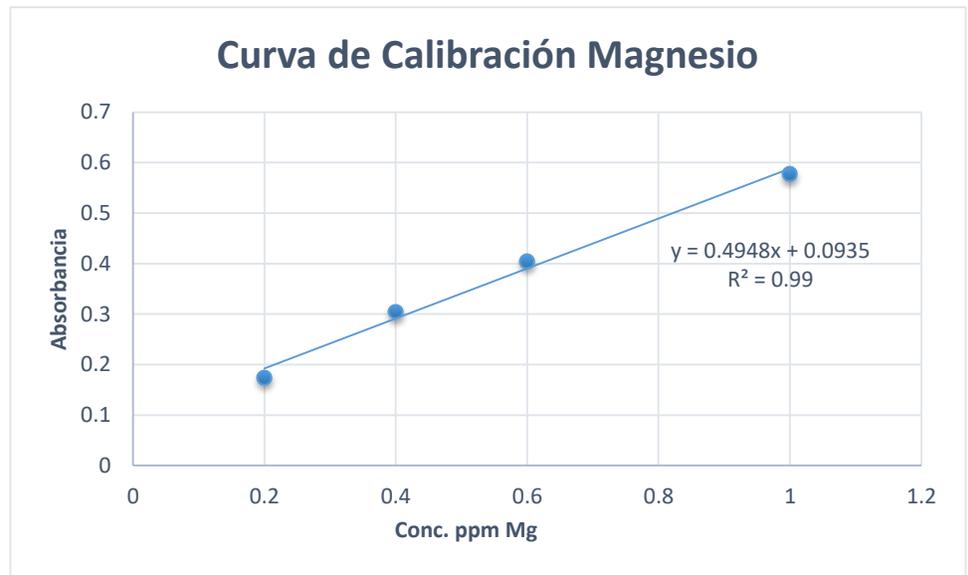


Gráfico 6. Curva de Calibración de Magnesio.

- Potasio

Concentración ppm	Absorbancia
0.2	0.2246
0.4	0.4199
0.6	0.5287
0.8	0.6682
1	0.7929

Tabla 10. Determinación de Potasio.

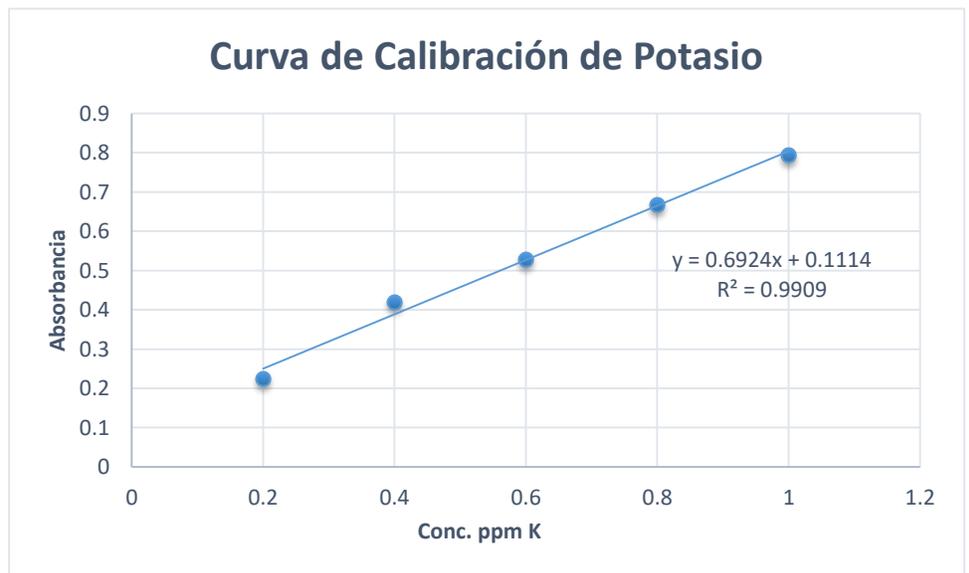


Gráfico 7. Curva de Calibración de Potasio.

Se llevó a cabo la determinación de minerales por el método de absorción atómica, en dónde se pudo concluir que Na y Mg se encuentran en una cantidad alta (Tabla 5), obteniendo para el Na 671.85 mg/100 g este valor es superior al de varios alimentos como el huevo que contiene 140 mg o el arroz con 6 mg, la mayoría de los alimentos contienen Na; sin embargo varían en la cantidad descrita, el Na se encuentra limitado para una persona adulta y sana de no más de 2300 mg/día, siendo indispensable para múltiples funciones celulares en el cuerpo humano. Para el caso del Mg contiene 723.7 mg/100 g quedando por encima de alimentos como las almendras que aportan 100 mg/100 g o el aguacate que aporta 58 mg/200g, cabe mencionar que una ingesta diaria recomendada es de 400 mg de Mg para que las funciones bioquímicas del organismo se lleven a cabo correctamente, ya que una deficiencia de este mineral puede causar síntomas como cansancio, falta de apetito o dolor de cabeza. Se hicieron las pruebas para Ca, K y Fe, sin encontrarse estos minerales en la pingüica. Es importante mencionar que la composición de la muestra varía de acuerdo a la época del año en que se recolectó, el terreno, la forma de conservación hasta su adquisición y la técnica y hora en que se cultivó, ya que en la literatura podrán encontrarse otros valores reportados siendo esta la causa de las diferencias encontradas en el análisis que se realizó en este trabajo.

Determinación de Humedad

No. De muestra	Peso de mtra húmeda (g)	Pesos de mtra seca (g)	% de humedad
1	2.0778	1.8943	6.48
2	2.0137	1.8833	8.83
Promedio	2.04575	1.8888	7.65

Tabla 11. Resultados de la determinación % de humedad

Se realizó la determinación de humedad por el método de secado en estufa, el porcentaje de agua contenido en la muestra de pingüica fue del 7.65 % y aunque no es considerada como un nutrimento por los cambios que sufre durante el aprovechamiento en el organismo, es indispensable para que se lleven a cabo un gran número de las funciones bioquímicas propias de las células.

El organismo humano está formado de alrededor del 60%-70% de agua, por lo que resulta imprescindible la ingesta de líquidos, en algunos alimentos como las verduras su contenido es alto, la pingüica por otro lado no contiene una cantidad elevada de agua, pues la muestra utilizada, que es el fruto, se encontraba prácticamente seco viniendo así desde los lugares en donde crece y permaneciendo seca durante su transportación y almacenamiento, haciendo que se pierda aún más su humedad, siendo la forma en la que se consume por ello se mezcla con frutas y agua en su preparación.

Determinación y Caracterización de Lípidos por Cromatografía de gases.

Ácidos grasos encontrados	% Encontrado
Omega 3-Oleico	4.98
Omega 6- Linoleico	27.76
Omega 9 Linolénico	29.47
Palmítico	22.85
Araquídico	1.24
Behénico	2.12

Tabla 12. Resultados de la Determinación de Lípidos

Se realizó el espectro de IR de la grasa obtenida, el cual mostró bandas características de una cera. En el espectro (Anexo 1) se observan claramente bandas en 2915 y 2848 cm^{-1} , que indican la presencia de enlaces C-H (metilos y metilenos), así como una banda en 1734 cm^{-1} que indica presencia de un carbonilo, y varias bandas en la zona entre 1000 y 1200 cm^{-1} características de enlace C-O y la banda en 719.52 cm^{-1} , más de 4 metilenos juntos. Por lo anterior se decide hacer una cromatografía de gases para lograr conocer de manera cualitativa y cuantitativamente la cantidad y tipo de lípidos presentes en la pingüica.

Se mandó una muestra de 0.28 g de aceite que se recuperó de la extracción del disolvente Hexano, un disolvente no polar, a cromatografía de gases (Anexo 3), encontrando ácidos grasos saturados (11.5%), insaturados (88.42%), de los insaturados los más abundantes fueron Linoleico: 27.8% y Linolénico: 29.5%, es la primera vez que se lleva a cabo una investigación

acerca de los ácidos grasos presentes en la pingüica, lo que constituye una aportación al conocimiento de esta planta.

Las cantidades de ácidos grasos presentes en la muestra son benéficos para la salud ayudando al desarrollo muscular y proteger las articulaciones entre otras funciones, dando a la pingüica una ventaja más para su consumo, ya que aporta una cantidad considerable de ac. Linoleico, un ácido graso esencial que ayuda a proteger los músculos del corazón y el linolénico que, aunque no es esencial el cuerpo lo produce en cantidades muy pequeñas y ayudan a reducir los niveles de colesterol en la sangre.

Determinación de Ácido ascórbico (Vitamina C)

Determinación de ácido ascórbico (Vitamina C)	32.89 mg. Vit.C /100g muestra
--	--------------------------------------

Se realizó la cuantificación de ácido ascórbico (Vitamina C) tomando en cuenta que la vitamina C se oxida muy rápido en presencia de luz y aire. Esta vitamina es de las más conocidas y de las 13 más esenciales que necesita el cuerpo, una vitamina hidrosoluble que no se acumula en el organismo, ya que es desechada por la orina, es por ello que debe consumirse de manera diaria en una cantidad recomendada de 80 mg al día para una persona adulta. En la pingüica la cantidad presente fue de 32.89 mg/100 g de muestra, la vitamina C total es la suma del ácido L-ascórbico (AA) y su forma oxidada, el ácido dehidroascórbico (DHAA), no es un valor alto considerando que se consumen alrededor de 15 g de pingüica en un jugo; sin embargo comparado con otra fuente de Vitamina C como lo es la naranja se encuentran 55 mg/100 g o el Kiwi tiene 94 mg/100 g la diferencia no es tan grande pero al contrario estas frutas se pueden consumir en mayor cantidad, no como la pingüica que se ingiere en porciones pequeñas.

La vitamina C es un potente antioxidante con lo que previene el envejecimiento prematuro y estimula a que se fortalezca el sistema inmunitario, entre otros beneficios.

CAPÍTULO VI CONCLUSIONES

Se cumplieron los objetivos planteados al inicio de este trabajo. No se encontró una información amplia sobre estudios previos realizados por lo que nuestros resultados son un aporte al estudio y conocimientos sobre la planta seleccionada y complementan lo ya descrito para *Artostaphylos uva-ursi*, especie de la misma familia de *Arctostaphylos pungens*.

En la muestra de pingüica se lograron identificar diversos compuestos, tales como, Arbutina, Hidroquinona, Vitamina C, Glucosa, Ácidos grasos Omegas 3, 6 y 9, Fenoles, entre otros. Se identificó a la hidroquinona, metabolito de interés, que al entrar en contacto con las vías urinarias tiene un efecto antiinflamatorio y antibacteriano lo que justifica las propiedades, que la tradición oral ha atribuido a esta planta. Se cuantificó ya que era importante establecer un consumo seguro, los resultados indican que no debe consumirse más de 300 g para que no produzca efectos tóxicos, la cantidad aproximada que se consume en un jugo en los puestos ambulantes que es donde se comercializa es de entre 10 y 20 g, siendo completamente aceptable su ingesta, sin alcanzar el nivel tóxico y además de que podrá ayudar a combatir la infección de vías urinarias, será un buen aporte de Vitaminas, minerales y de los compuestos que fueron identificados en la muestra, además por las cantidades obtenidas son benéficas y no perjudiciales para el organismo. Los resultados obtenidos en este trabajo avalan el uso tradicional de este fruto.

CAPÍTULO VII RECOMENDACIONES

Las recomendaciones para el consumo de pingüica, es que no sea un uso prolongado y en grandes cantidades, en embarazo y lactancia es recomendable consultar al médico, se ha mencionado que en pequeñas proporciones puede utilizarse pero es mejor consultar al médico antes de consumir; por otro lado es de gran utilidad para cuando se padece una infección de vías urinarias y se decide por una terapia de tipo natural sin recurrir a la farmacológica y a un costo más accesible, si persisten las molestias por más de cinco días consultar con el especialista, cabe mencionar que en la investigación realizada a lo largo de este trabajo se habla de afecciones leves, si son de gravedad en lugar de tratar con pingüica consulte a su médico quien podrá recomendar la mejor elección de terapia. La pingüica en general representa un consumo seguro, ya que es una fuente rica en vitaminas y minerales, así como ácidos grasos, sin olvidar que no es una de las fuentes más ricas en dichos componentes, pero sí que aporta buenas cantidades que avalan su consumo y no un fruto al que hay que temerle por desconocer sus componentes.

CAPÍTULO VIII BIBLIOGRAFÍA

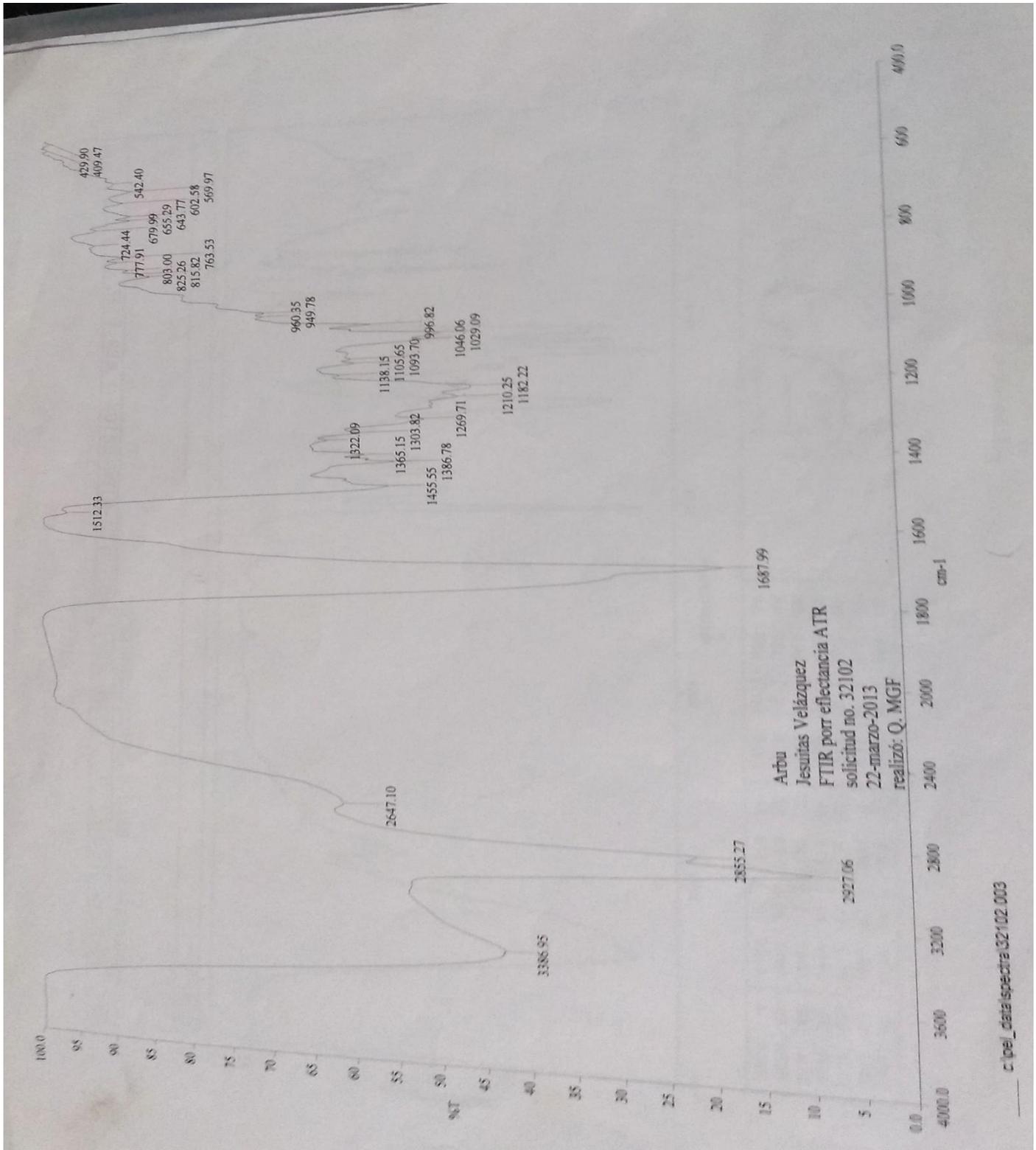
- 1.** Martha Patricia Olivares, 1999. Plantas Medicinales del Estado de Chihuahua, Vol 1, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, 1ª Edición.
- 2.** Jean Bruneton, 2002. Fitoquímica, Plantas Medicinales, Ed. Acribia, S.A, Zaragoza, España, 2ª Edición, 246.
- 3.** Martínez, M, 1993. Las plantas Medicinales de México, Editorial. Botas, México, 15.
- 4.** PEARSON. D. 1993. Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos, Acribia, S.A. Zaragoza (España).
- 5.** NOLLET. Leo M. L. 1996. Handbook of food analysis; M. Dekker, New York.
- 6.** HART F. L. 1991. Análisis moderno de los alimentos; Acribia. Zaragoza (España).
- 7.** Claudia Kuklinski, 2000. Farmacognosia Estudio Ed. Ediciones Omega S.A, Barcelona, 1ª Edición, 167.
- 8.** José Mariano Mocino y Martín de Sessé, 2010. La Real Expedición Botánica la Nueva España, Vol. 5, Siglo XXI Editores S.A de C.V, 3ª Edición, 236, 237.
- 9.** Trease y Evans, 1989. Farmacognosia, Ed. Nueva Editorial Interamericana-McGraw-Hill, 13ª Edición, 221.
- 10.** Plants.usda.gov/core/profile?symbol=arpu5... última consulta 19-Ago-2014.

- 11.** [www...gbif.org/species/2882572-Mapa](http://www.gbif.org/species/2882572-Mapa) de distribución...última consulta- 19-Ago-2014
- 12.** Aurelio G. Csakÿ, Ma. Angeles Martínez Grav, 2012. Técnicas Experimentales en síntesis Orgánica. Ed. Síntesis, 2^{da} Edición, 117.
- 13.** Nikolai Sharapin, 2000. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos, Ed. Convenio Andrés Bello, 1^{era} Edición, 83.
- 14.** www.ehu.es/biomoleculas/hc/sugar33c5.htm#9..última consulta 26-Ago-14.
- 15.** Joane Barnes et al, 2005. Plantas Medicinales. Ed. Pharma Editores, 1^a Edición.
- 16.** Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). 10^a Edición.
- 17.** Fundamentos y Técnicas de Análisis de Alimentos. Laboratorio de Alimentos 1. Departamento de Alimentos y Biotecnología. Facultad de Química, UNAM, 2007-2008.
- 18.** Domínguez, X.A, Franco, R. Plantas Medicinales de México. Revista Latinoamericana, disponible en Hemeroteca, Facultad de Química.
- 19.** Virginia Melo/Oscar Cuamatzi, 2007. Bioquímica de los Procesos Metabólicos. Ed. Reverté, 2^{da} Edición.
- 20.** Nielsen, S, et al, 1998. Food Analysis. Second Edition An Aspen Publications Gaithersburg Maryland.
- 21.** Gladys Velásquez, 2006. Fundamentos de Alimentación Saludable. Ed. Universidad de Antioquia, 1^a Edición.

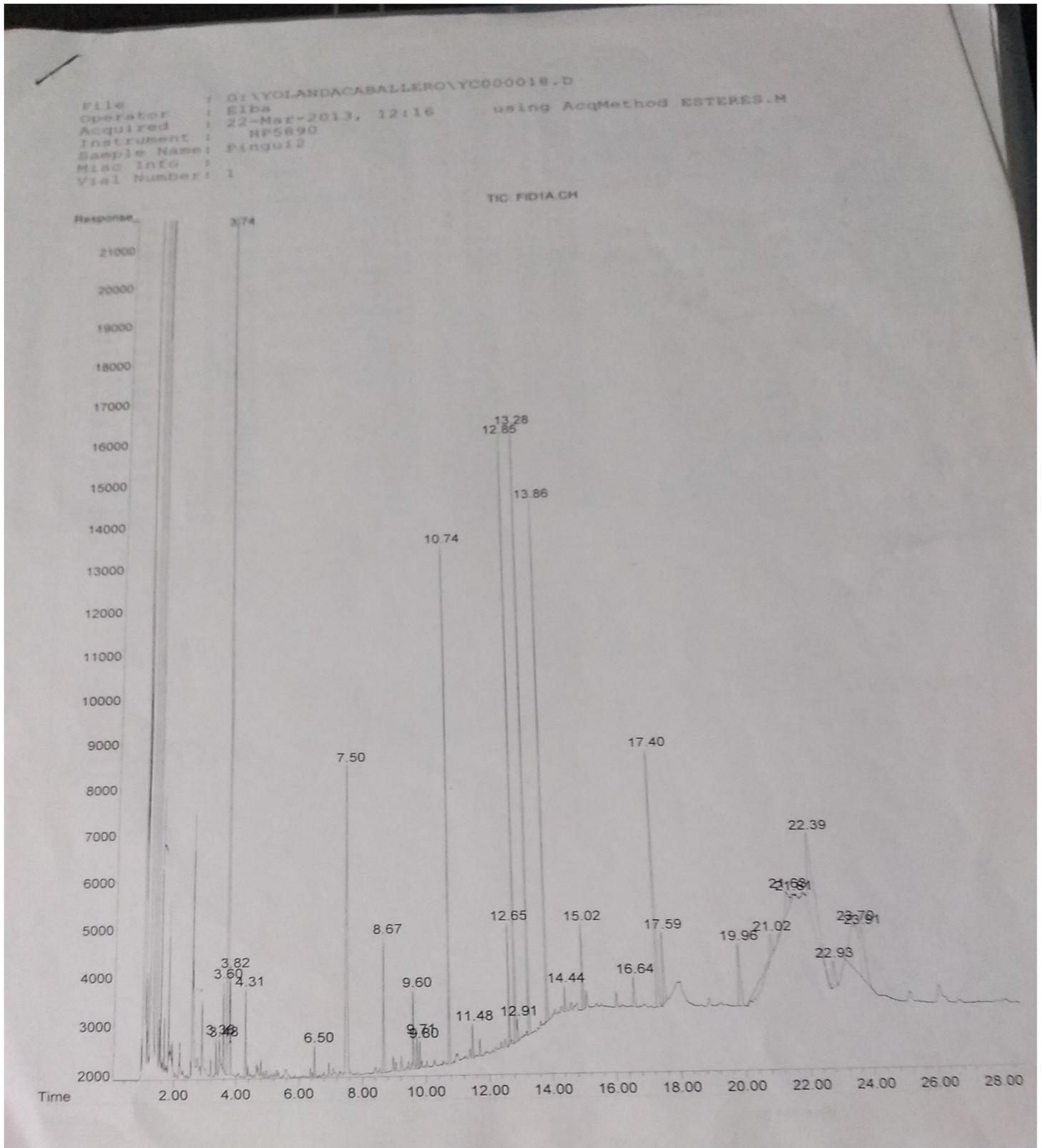
- 22.** Pedro A. García Bland, 1983. Fundamentos de Nutrición. Ed. Universidad Estatal a Distancia. 1ª Edición.
- 23.** García Mtz, Eva, et al. Determinación de Polifenoles Totales Por el Método de Follin-Ciocalteau. Departamento de Tecnología de Alimentos. Ed. Universidad Politécnica de Valencia.
- 24.** Rogelio Ocampo et al, 2008. Curso Práctico de Química Orgánica Enfocado a Biología y Alimentos. Ed. Universidad de Caldas, Ciencias Exactas y Naturales, 1ª Edición.
- 25.** Alfredo Entrala Bueno, 1995. Vitaminas. Aspectos Prácticas en Medicina. Ediciones Díaz de Santos, 140.
- 26.** elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-1365508...última consulta 30-Ago-19.
- 27.** lifeder.com/pingüica/...última consulta 01-Sep- 19.
- 28.** [Plantas-medicinales-farmacognosia.com/temas/glucosidos/](https://plantas-medicinales-farmacognosia.com/temas/glucosidos/) consulta 18-Sep-19
- 29.** Hangyy Zhou, Jin Zhao et al, Rutas químicas y biocatalíticas hacia la arbutina. Moléculas, 2019 septiembre 24...última consulta 11-Jul-2022 05:21 a.m acceso en línea :/0.3390/molecules/24183303
- 30.** Martínez Guijarro Ma. Remedios, 2020, Universidad Politécnica de Valencia.
- 31.** L. G. Wade, Jr., "Química Orgánica" Pearson-Prentice Hall, 5ª ed., 2004

CAPÍTULO IX ANEXOS

9.1 IR de la Grasa Obtenida



9.2 Cromatograma obtenido en cromatógrafo de Gases



9.3 IR comparativo de arbutina en KBR obtenido de la bibliografía.

