



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**Estudio de algunos fitoquímicos de capulín,
xoconostle, papaya, piñón y mamey frutas
originarias de México**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

RODRIGO FREY AGUILAR





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Hugo Rubén Carreño Ortiz

VOCAL: Profesor: Lucia Cornejo Barrera

SECRETARIO: Profesor: Dr. Arturo Navarro Ocaña

1er. SUPLENTE: Profesor: Jorge Arturo Aburto Anell

2° SUPLENTE: Profesor: Dr. Hilda Elizabeth Calderón Villagómez

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
FACULTAD DE QUÍMICA, U.N.A.M. EDIFICIO E LABORATORIO 321**

ASESOR DEL TEMA: DR. ARTURO NAVARRO OCAÑA

SUPERVISOR TÉCNICO: M EN C. Hilda Elizabeth Calderón Villagómez

SUSTENTANTE: FREY AGUILAR RODRIGO

ÍNDICE

1-Introducción	1
2-Hipotesis	2
3-Objetivo general	2
3.1-Objetivos particulares	2
4-Antecedentes	3
4.1-Consumo de frutas y vegetales	3
4.2-Frutas como alimento funcional y fuentes de nutraceuticos.	5
4.2.1-Antioxidantes	6
4.3-Compuestos fenolicos	7
4.3.1-Polifenoles.....	7
4.3.2-Acidos fenolicos	8
4.3.3-Flavonoides.....	10
4.3.4-Fuentes y roll de ácidos fenolicos y flavonoides en plantas	11
4.3.5-Hidrolisis de ácidos fenolicos	12
4.3.6-Extracción de flavonoides	12
4.3.7-Antocianinas.....	13
4.4-Betalainas	15
4.5-Terpenos	17
4.5.1-Carotenos	17
4.5.1.1-Carotenos en frutas y vegetales	19
4.5.1.2-Actividad biológica e ingesta diaria admisible (IDA).....	19
4.6-Esteroles	20
4.7-Ácidos grasos esenciales	21
4.8-Triterpenos pentaciclicos.....	23
4.9-Péptidos bioactivos	23
4.9-Frutas de estudio	26
4.9.1- <i>Prunus serótina</i>	26
4.9.2- <i>Opuntia joconostle</i>	28
4.9.3- <i>Carica papaya</i>	30
4.9.4- <i>Pinus edulis Eng. P. Cembroides</i>	32
4.9.5- <i>Pouteria sapota</i>	34
5-Materiales y metodología.....	37

5.1-Obtención y preparación de las muestras	39
5.1.1-Descripción de Etapa 1	39
5.2-Estudio de fitoquímicos totales	40
5.2.1-Descripción de la etapa 2	41
5.3-Identificación de ácidos fenólicos	45
5.3.1-Descripción de la etapa 3	46
5.4-Estudio del extracto etéreo de las semillas	47
5.4.1-Descripción de la etapa 4	47
5.4.2-identificación de esteroides y triterpenos pentacíclicos en hojas de árboles de frutas.....	49
5.5- Extracción e hidrólisis de proteína	50
Extracción y cuantificación de proteínas.....	50
Hidrólisis enzimática	51
6-Resultados y discusión	53
6.1-Obtención y preparación de muestras.....	53
6.2-Estudio de fitoquímicos totales.....	55
6.3-Identificación de ácidos fenólicos	61
6.4- Estudio del extracto etéreo de las semillas.	64
6.5- Extracción e hidrólisis de proteína	70
7-Conclusiones	74
8-Bibliografía	75
Anexo 1	79
A.1-Cromatogramas de los metil ésteres de los ácidos grasos de las semillas de frutas.	79
A.1.1-Capulín.....	79
A.1.2-Piñon	79
A.1.3-Papaya.....	80
A.1.4-Mamey	80
A.1.5-Xoconostle.....	81
A.1.6- Tiempos de retención de ácidos grasos	81
A.1.7- Cromatograma de estándares GLC-50 (sigma-aldrich).....	82
A.1.8- Cromatograma de estándares GLC-10 (sigma-aldrich).....	82

1-Introducción

Una amplia variedad de vegetales son altamente apreciados por su potencial terapéutico atribuido al contenido de componentes conocidos como fitoquímicos bioactivos. En la industria farmacéutica las plantas son la materia prima más importante para la obtención de drogas quimioterapéuticas ya que exhiben efectos farmacológicos aplicables para el tratamiento de infecciones bacterianas, fúngicas y enfermedades crónico degenerativas como diabetes y cáncer.

A fin de obtener principios activos medicinales inocuos y eficaces, se ha intensificado la búsqueda de fitoquímicos de origen vegetal derivados de vegetales considerados como alimentos funcionales. Estos últimos son componentes cotidianos de la dieta que además de aportar nutrientes contienen fitoquímicos bioactivos que son benéficos para la salud incluidos los polifenoles, carotenos y aceites funcionales.(Serrano, López, & Espuñes, 2006).

El interés en los posibles efectos benéficos a la salud de estos compuestos ha incrementado debido a su capacidad como antioxidantes.

El presente proyecto se enfocó a estudiar algunos de los compuestos previamente mencionados de las frutas mexicanas: *Prunus serótina*, *Opuntia joconostle*, *Carica papaya*, *Pinus edulis Eng. P. Cembroides* y *Pouteria sapota*, para identificar los compuestos presentes en ellas y concluir posibles fuentes de obtención de los fitoquímicos estudiados.

Para llevar a cabo el análisis de obtención de los compuestos se buscó en la literatura en que partes de las frutas podrían estar presentes los compuestos de interés, las frutas se separaron en su pericarpio (cascara), en su mesocarpio y/o endocarpio y en sus semillas y de cada una de estas partes se reportan los compuestos estudiados.

El plan de trabajo consistió en determinar la concentración de los compuestos fenólicos totales, antocianinas totales o betalainas, identificar los ácidos hidroxicinámicos, hidroxibenzoicos y triterpenos, conocer el perfil de ácidos grasos de las semillas de las frutas seleccionadas, el contenido proteínico de las semillas y concluir las fuentes óptimas para la generación de los compuestos de interés y más abundantes de cada una de las frutas seleccionadas.

2-Hipotesis

De acuerdo con la bibliográfica consultada se identificarán y cuantificarán los fitoquímicos presentes en las frutas seleccionadas y se podrá concluir de posibles fuentes de obtención de estos compuestos ya sea por interés comercial como bioquímico.

3-Objetivo general

Estudiar los fitoquímicos de las frutas originarias de México: *Opuntia xocconostle*, *Carica papaya*, *Prunus serotina*, *Pinus edulis Eng. P. Cembroides* y *Pouteria sapota* para analizar posibles fuentes de obtención de compuestos de interés comercial o bioquímico originados de su producción y/o procesamiento.

3.1-Objetivos particulares

- Cuantificar los fenoles, flavonoides, betalainas, carotenos y antocianinas totales presentes en las frutas en puntos de venta comparando con lo reportado en la literatura.
- Identificar los ácidos hidroxicinámicos y/o hidroxibenzoicos de las cascara de las frutas.
- Realizar el perfil de ácidos grasos de las semillas de las frutas seleccionadas
- Identificar la posible presencia de triterpenos pentacíclicos del extracto etéreo de las semillas y/o hojas de frutas.
- Extraer e hidrolizar las proteínas de las semillas de frutas para ver si se consigue obtener fracciones peptídicas con actividad antioxidante.

4-Antecedentes

4.1-Consumo de frutas y vegetales

La dieta tradicional mexicana pudiera ser de interés nutrimental porque incluye una larga variedad de plantas alimenticias autóctonas, especialmente frutas y vegetales. La producción y consumo de algunas plantas nativas mexicanas son limitadas a pesar de ser ricas en componentes de alta calidad nutrimental y en compuestos bioactivos como polifenoles.

Las frutas han sido asociadas con un rol protector en el mantenimiento de la salud. Los beneficios a la salud de frutas y vegetales combinada en la dieta humana son bien conocidos y son fuertemente apoyados por evidencia científica.(Hervert-Hernández, et al. , 2011).

Evidencia epidemiológica del rol protector de las frutas y vegetales en la prevención de cáncer es substancial, también se sugiere un rol protector en la prevención de cardiopatía coronaria y se está acumulando evidencia de un efecto protector en infartos. Además, una nueva base científica está emergiendo para la prevención de cataratas, enfermedades crónicas en los pulmones, diverticulosis y posiblemente hipertensión.(Van Duyn & Pivonka, 2000).

Resultados de estudios epidemiológicos de la relación entre la ingesta de nutrimentos en frutas y vegetales, como la vitamina C o β -caroteno, y el riesgo de infarto han sido inconsistentes. Sin embargo, la prevención de enfermedades tal vez no es atribuible a un solo nutrimento, si no a la interacción de los componentes nutrimentales y no nutrimentales en la fruta entera.(Steffen, 2006).

Las frutas y vegetales son considerados como fuentes ricas de algunos micronutrimentos esenciales de la dieta y fibra dietética, y más recientemente han sido reconocidos como fuentes importantes de una amplia selección de fitoquímicos que individualmente o en su combinación podrían beneficiar a la salud.

La fibra dietética no es un grupo químico bien definido sino una combinación de sustancias químicas heterogéneas, puede estar asociada a compuestos bioactivos como los polifenoles y carotenos. Los compuestos bioactivos asociados a la fibra dietética podrían explicar las diferencias nutrimentales cualitativas encontradas en un patrón de una dieta sana, como en la

dieta en países mediterráneos y otros. La ingesta diaria de fibra dietética es cuantitativamente similar en países mediterráneos y no mediterráneos europeos (aproximadamente 20 g per capita). Sin embargo hay diferencias cualitativas que surgen del hecho que una gran proporción de la ingesta de la fibra dietética en países mediterráneos viene de frutas frescas y vegetales, mientras que en países de Europa del norte la ingesta proviene de cereales. Una diferencia importante es que la fibra dietética de frutas y vegetales transporta una cantidad significativa de polifenoles y carotenos enlazados a la matriz de la fibra a través del intestino humano. Por lo tanto, los fitoquímicos asociados pueden hacer una contribución significativa a los beneficios a la salud.

Las frutas y vegetales también contribuyen en gran medida a la capacidad total antioxidante de la dieta, la cual es considerada un indicador de calidad de dieta. Aunque la capacidad total antioxidante de la comida es derivada del poder antioxidante acumulado y sinérgico de vitaminas, polifenoles, carotenoides y otros constituyentes menores, los polifenoles son los principales antioxidantes presentes en frutas y vegetales. (Hervert-Hernández, et al., 2011).

Se ha concluido que las frutas y vegetales incrementan significativamente los niveles de vitaminas antioxidantes en la sangre (β -caroteno y vitaminas C y E) y folato y reducen el nivel de homocisteína y de algunos marcadores que están elevados durante el estrés oxidativo, como malonaldehído (marcador en la peroxidación lipídica) y 8-hidroxideoxiguanosina (marcador en la oxidación del ADN). Varios estudios reportarán que el consumo diario de frutas y vegetales incrementaron la capacidad de capturar radicales de oxígeno en sangre, indicando una defensa antioxidante superior del cuerpo. (Dasgupta & Klein, 2014).

4.2-Frutas como alimento funcional y fuentes de nutraceuticos.

En la dieta están presentes más de 25,000 compuestos bioactivos y muchos de ellos juegan un rol en modificar la multitud de procesos que están relacionados a diversas enfermedades. La mayoría de los compuestos bioactivos presentes en una dieta típica son obtenidos de plantas, y estos químicos son llamados fitoquímicos.

Diversos compuestos bioactivos que poseen efectos farmacológicos terapéuticos provienen de alimentos funcionales de origen animal o de plantas, sean estas comestibles o no. Los alimentos funcionales se definen como los productos alimenticios de origen animal o vegetal, consumidos en la dieta diaria, que además de aportar nutrientes poseen componentes bioactivos. (Serrano et al., 2006).

Estos compuestos ejercen efectos farmacológicos que modulan funciones terapéuticas en el cuerpo que resultan benéficas para la salud. En ciertos casos, dichos componentes bioactivos han sido distribuidos comercialmente como productos nutraceuticos; los nutraceuticos se caracterizan por ser suplementos dietéticos bioactivos benéficos para la salud que se ingieren en forma concentrada en píldoras, pastillas, cápsulas o tónicos. En la industria farmacéutica, los alimentos funcionales de origen vegetal representan una fuente potencial de componentes bioactivos para el desarrollo de fármacos inocuos y altamente eficaces.(Serrano et al., 2006).

La mayoría de los fitoquímicos poseen actividad antioxidante. Se ha postulado que estos pueden ejercer un efecto *in vivo* como compuestos individuales ejerciendo su propiedad antioxidante al neutralizar oxígeno reactivo o compuestos reactivos de nitrógeno y contribuyen a la defensa antioxidante del cuerpo, y por lo tanto induciendo longevidad, manutención de las células y reparación del ADN. (Pallardy, 2008).

Los compuestos bioactivos de frutas y cereales pueden ser clasificados también como metabolitos secundarios. Los fitoquímicos como los polifenoles, carotenoides y lípidos funcionales son sustancias producidas de manera natural en la planta que promueven la salud y/o propiedades nutraceuticas y medicinales.

El interés en compuestos provenientes de plantas ha incrementado en los últimos años, especialmente en el área comercial y científica debido a los reportes con respecto a sus efectos benéficos y toxicológicos en la salud.

El instituto nacional de nutrición (NIH) menciona que los fitoquímicos bioactivos como los polifenoles, carotenoides y lípidos funcionales son "aquellos componentes en la comida o en suplementos alimenticios que no satisfacen las necesidades humanas alimenticias básicas (proteínas, hidratos de carbono, etc.) y son responsables de cambios en el estado de salud. (Hall & Zhao, 2011).

Los fitoquímicos pueden ser ampliamente clasificados como compuestos fenólicos, compuestos que contienen nitrógeno, compuestos organofosforados, fitoesteroles y carotenoides. (Dasgupta & Klein, 2014).

4.2.1-Antioxidantes

Los polifenoles en la comida y bebidas están relacionados a características sensoriales como es el color, amargor, astringencia, etc., los cuales son relevantes en productos como el vino, té y jugo de uva. Estos compuestos son intrínsecos variando de ácidos fenólicos a complejos taninos polimerizados. Debido a su inestabilidad inherente, los polifenoles sufren transformaciones en la presencia de luz, oxígeno, y como resultado del tratamiento térmico, almacenamiento y proceso de extracción. Por esa razón, el consumo diario y requerimientos de dieta para estos compuestos son difíciles de medir.

El conocimiento de que los polifenoles están asociados con la protección en contra de enfermedades provocadas por el daño oxidativo ha incrementado el interés de su estudio.(Gollücke, Ribeiro, & Aguiar, 2013).

El daño oxidativo puede conducir a un daño crónico de las células, el cual es uno de los mecanismos que pueden producir cáncer. Las frutas son ricas en fenoles antioxidantes (flavonoides, antocianinas), vitaminas (ej. Vitamina E). Estos antioxidantes suprimen directamente el daño oxidativo al atrapar radicales libres de oxígeno originados de varios

procesos metabólicos. También se conoce que suprimen el crecimiento de células cancerosas, lo que puede contribuir a la eliminación de cáncer en etapas tempranas. (Hall & Zhao, 2011).

4.3-Compuestos fenólicos

Los fitoquímicos, referidos como metabolitos secundarios tienen diversos roles en el tiempo de vida de las plantas como pueden ser estructurales, protección, etc.

Los compuestos fenólicos pertenecen a este grupo de compuestos y son sintetizados por las plantas durante su desarrollo y en respuesta a contradicciones como infecciones, herida, radiación UV, etc.

Aproximadamente 8000 compuestos que son sintetizados en la naturaleza pertenecen en la categoría de fenólicos, los cuales todos comparten una característica estructural: un anillo aromático que contiene al menos un sustituyente hidroxilo. Existe una clasificación de los compuestos fenólicos la cual los separa en fenoles simples y polifenoles, basada exclusivamente en el número de subunidades fenólicas presentes. (Stalikas, 2007).

4.3.1-Polifenoles

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas con actividad antioxidante que incluye a los fenoles ácidos y flavonoides. Representan un componente abundante de antioxidantes en la dieta humana. El interés en los posibles beneficios a la salud ha incrementado debido a las correspondientes capacidades antioxidantes. Los polifenoles presentes en el vino rojo y en el arroz inhiben la oxidación de LDL (low density lipoprotein, lipoproteína de baja densidad) y de ácidos poli insaturados, respectivamente. La actividad antioxidante de los polifenoles se ha relacionado con su capacidad para prevenir falla cardíaca, aterosclerosis, enfermedad cardiovascular y neoplasias. (Serrano et al., 2006).

Evidencias recientes muestran que hay un gran interés en los efectos anticarcinogénicos de compuestos polifenólicos, al potencial de prevenir enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares.

Los polifenoles se dividen en varios subgrupos incluidos los flavonoides, los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinamicos, lignanos, estilbenos, taninos y cumarinas (Figura 4.1) los cuales tienen efectos específicos tanto psicológicos como biológicos. (Hall & Zhao, 2011)

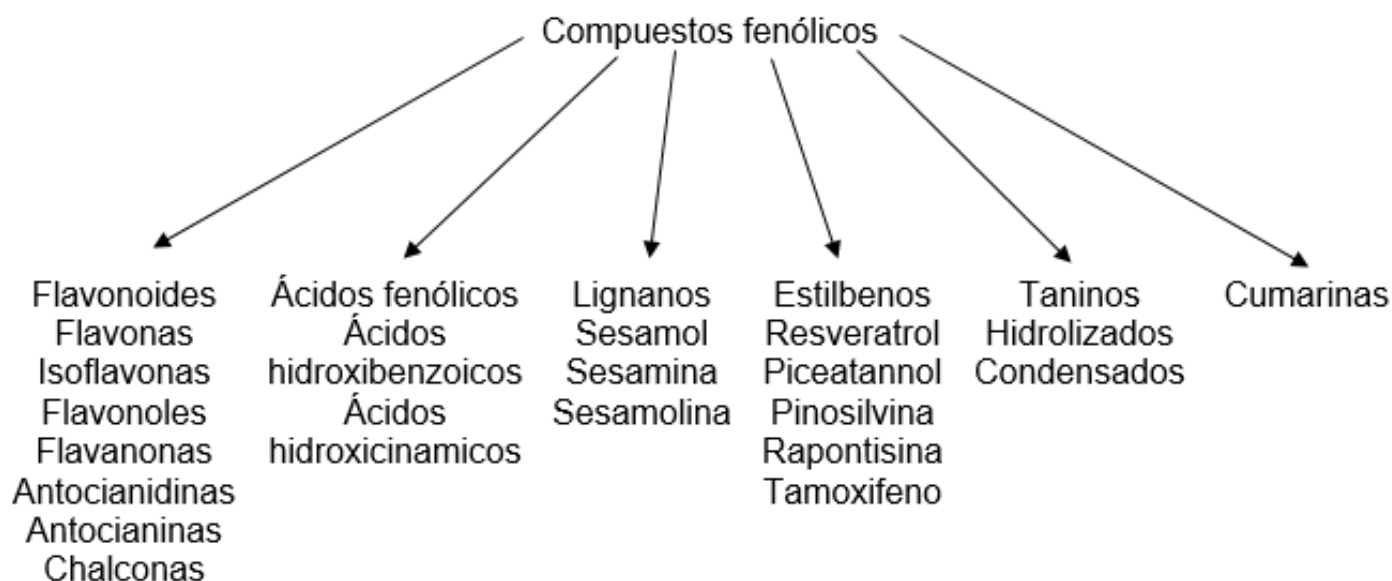


Figura 4.1-Familias de compuestos fenólicos

4.3.2-Acidos fenólicos

El termino acido fenólico, en general, designa a fenoles que poseen un grupo carboxilo. Sin embargo bajo el contexto de metabolitos de plantas, se refiere a un grupo distinto de ácidos orgánicos. Estos ácidos orgánicos contienen dos estructuras distintivas de carbono: las estructuras hidroxicinamicas e hidroxibenzoicas. (Tabla 4.1). Aunque la estructura básica sea la misma, el número y posición de los sustituyentes hidroxilo en el anillo aromático hacen diferencia y establecen variedad.

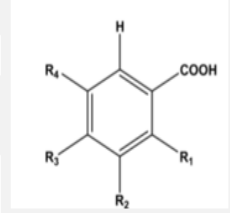
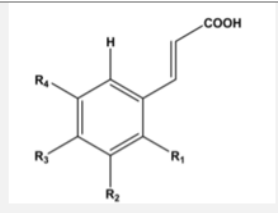
Existe una gran variedad de fenoles ácidos distribuidos en productos de origen vegetal como son la curcumina, presente en la raíz de cúrcuma y la mostaza, y otros fenoles ácidos como el ácido cafeico, ferúlico y clorogénico que están presentes en frutas, semillas de café y soya. Los fenoles ácidos como los ácidos: cumárico, cafeico y ferúlico, inhiben la actividad de agentes mutagénicos, estimulan la actividad de la enzima fenolsulfotransferasa implicada en la detoxificación de compuestos metabólicos potencialmente tóxicos y poseen actividad bactericida.

Los ácidos cafeico, p-cumárico, vainillínico, ferúlico y protocatecuico están presentes en casi todas las plantas.

Otros ácidos se han encontrado en fuentes naturales particulares (gentísico, siringico). Entre los ácidos cinámicos el más ocurrente en la naturaleza es el ácido clorogénico (ácido 5-O-cafeoilquinico) el cual es el ácido cafeico esterificado con el ácido quílnico.

Los ácidos fenólicos en plantas han sido asociados con diversas funciones, como obtención de nutrimentos, síntesis de proteína, actividad enzimática, fotosíntesis, componentes estructurales y alelopatía.

Tabla 4.1. Estructuras de los ácidos fenólicos más frecuentes en la naturaleza

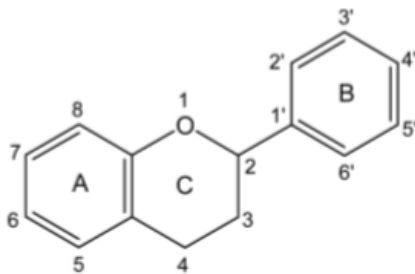
Ácidos hidroxibenzoicos						Ácidos hidroxicinámicos					
Nombre	R1	R2	R3	R4		Nombre	R1	R2	R3	R4	
Ácido benzoico	H	H	H	H		Ácido cinámico	H	H	H	H	
Ácido p-Hidroxibenzoico	H	H	OH	H		Ácido o-cumarico	OH	H	H	H	
Ácido vainillínico	H	OCH ₃	OH	H		Ácido m-cumarico	H	OH	H	H	
Ácido gálico	H	OH	OH	OH		Ácido p-cumarico	H	H	OH	H	
Ácido protocatecuico	H	OH	OH	H		Ácido ferúlico	H	OCH ₃	OH	H	
Ácido siringico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃		Ácido sináptico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	
Ácido gentísico	OH	H	H	OH		Ácido caféico	H	OH	OH	H	
Ácido verátrico	H	OCH ₃	OCH ₃	H							
Ácido salicílico	OH	H	H	H							

(Stalikas, 2007).

4.3.3-Flavonoides

Los polifenoles, a los que los flavonoides pertenecen, poseen al menos 2 subunidades fenólicas; compuestos que poseen, tres o más subunidades fenólicas son referidos como taninos (hidrosolubles y no hidrosolubles). Los flavonoides son moléculas planares omnipresentes en plantas, formados de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y malonato. La estructura básica de los flavonoides es el núcleo flavano, el cual consiste en 15 átomos de carbono arreglados en tres anillos (C6-C3-C6), los cuales están nombrados como A,B, y C (figura 4.2). Su variación estructural se origina, en parte, del grado y patrón de hidroxilación, metoxilación, prenilación o glicosilación. (Stalikas, 2007). Las principales subclases de flavonoides incluyen flavan-3-oles, flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianinas y chalconas (figura 4.3).

Figura 4.2-Núcleo Flavano, 2 anillos benzoicos (A y B) unidos a un anillo pirano (C)

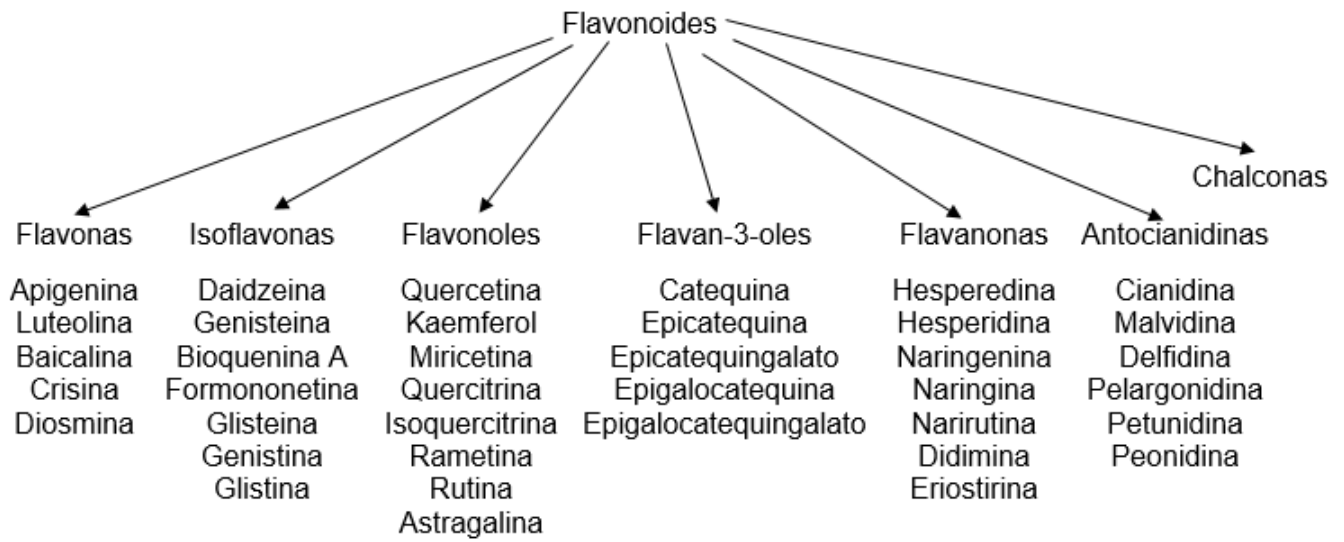


(Stalikas, 2007).

Las flavonas, como la quercetina, se encuentran en la cebolla y lechuga, otra flavanona denominada fisetina está presente en cítricos. Entre las catequinas figuran la catequina del vino rojo y la epicatequina del té; por último, en el grupo de las antocianinas figura la delfidina presente en las cerezas y en la cáscara de frutas con pigmentos oscuros coloridos.

Se ha demostrado que los flavonoides previenen la agregación platecaria e inducen la relajación muscular. Junto con los proteoglicanos, los flavonoides ejercen un efecto inhibitorio de los síntomas alérgicos. Algunos flavonoides como la procianidina B1 y el resveratrol presentes en extractos de semillas de uva y en la uva respectivamente, pueden aumentar la capacidad cerebral y la longevidad.(Serrano et al., 2006).

Figura 4.3-Familias más comunes de flavonoides en plantas



(Hall & Zhao, 2011).

4.3.4-Fuentes y rol de ácidos fenólicos y flavonoides en plantas

Los fenoles insolubles están distribuidos en las paredes celulares, mientras que los fenoles solubles están compartimentalizados en las vacuolas de las células de la planta. Varios ácidos fenólicos han sido encontrados durante diferentes etapas de maduración, mientras que las condiciones de crecimiento se sabe que tienen un impacto en el contenido de ácidos fenólicos. Muchos de los ácidos fenólicos como el ácido cinámico y derivados del ácido benzoico existen en todas las plantas y en la comida derivada de plantas (frutas, vegetales, granos). Sin embargo, solo una pequeña fracción existe en la forma de ácido libre. La fracción mayor está unida a través de enlaces éster, éter o acetal a celulosa, proteínas, lignina, flavonoides, glucosa, terpenos, etc.

Los flavonoides son universales en el reino planta; son los pigmentos más comunes antes de la clorofila y carotenoides. Generalmente están en las plantas como derivados glicosilados y su rol fisiológico en la ecología de las plantas es diverso. Debido a los atractivos colores de las flavonas, flavonoles y antocianinas pueden actuar como señales visuales para insectos polinizadores. En consideración de su astringencia, catequinas y otros flavonoles pueden

representar un sistema de defensa contra insectos dañinos a las plantas. En adición los flavonoides actúan como catalizadores en la faceta de luz de la fotosíntesis y/o como reguladores de canales de iones involucrados en fosforilación. Finalmente, debido a su propiedad de absorber luz UV, los flavonoides protegen a las plantas de la radiación UV del sol y atrapan especies reactivas de oxígeno (Stalikas, 2007).

4.3.5-Hidrolisis de ácidos fenólicos

La hidrolisis acida y saponificación son los medios más comunes de liberar a los ácidos, sin embargo se pueden descomponer bajo estas condiciones. La hidrolisis enzimática es una alternativa pero es una técnica menos usada.

El método de la hidrolisis acida involucra un tratamiento del extracto de planta o la muestra de alimento con ácido inorgánico (HCl) en reflujo o reflujo a altas temperaturas en un solvente acuoso o alcohólico (metanol siendo el más común). La concentración del ácido puede estar en un intervalo entre 1-2 N y el tiempo de reacción dura entre 30 minutos a una hora. Se ha reportado que el ácido clorhídrico acuoso destruye a los ácidos hidroxicinámicos.

La saponificación se hace en una solución de NaOH en concentraciones de 1 a 4 molar. La mayoría de las reacciones se realizan a temperatura ambiente de 15 minutos a 24 horas.

Se sabe que reacciones enzimáticas liberan a los ácidos fenólicos. Enzimas como pectinasas, celulasas y amilasas son usadas para la degradación de enlaces con hidratos de carbono. El modo de acción en el cual estos ácidos son liberados es conocido.

4.3.6-Extracción de flavonoides

Los primeros pasos de un procedimiento de preparación son molienda y homogeneización. La extracción es el principal paso para la recuperación y aislamiento de fitoquímicos bioactivos de plantas, antes de algún análisis. El método de extracción empleado depende de la naturaleza de la sustancia, tamaño de partícula de la muestra, como la presencia de sustancias interferentes. Se pueden usar pasos adicionales para remover compuestos fenólicos no deseados y sustancias no fenólicas como ceras, grasas, terpenos y clorofilas.

Las extracciones líquido-líquido y sólido-líquido son las más comúnmente utilizadas en el análisis de polifenoles y fenoles simples en plantas naturales.

Los solventes más comunes usados en la extracción son alcoholes (metanol, etanol), acetona, dietileter y acetato de etilo. Sin embargo ácidos fenólicos (ácidos benzoicos y cinámicos) no se extraen completamente con solventes orgánicos puros, y mezclas de alcohol-agua o acetona-agua son recomendadas. (Stalikas, 2007).

4.3.7-Antocianinas

Las antocianinas son los pigmentos más importantes de las plantas vasculares; son inocuas y de una fácil incorporación en medio acuoso, lo cual las hace interesantes para su uso como colorantes naturales solubles en agua.

Estos pigmentos son responsables de los colores naranja brillante, rosa, rojo, violeta y azul en las flores y frutas de algunas plantas.

Otra propiedad significativa es su actividad antioxidante, la cual juega un rol vital en la prevención de enfermedades neuronales y cardiovasculares, cáncer y diabetes, entre otras.

Las antocianidinas son las estructuras básicas de las antocianinas (tabla 2). Las antocianidinas o agliconas consisten en un anillo aromático [A] unido a un anillo heterocíclico [C] que contiene oxígeno, en cual también está unido por un enlace carbono-carbono a un tercer anillo aromático [B]. Cuando las antocianidinas están en su forma glicosilada se conocen como antocianinas.

El color exhibido por estas moléculas fue explicada por Pauling en 1939, que propuso que la estructura resonante del ion flavilo causa la intensidad de su color.

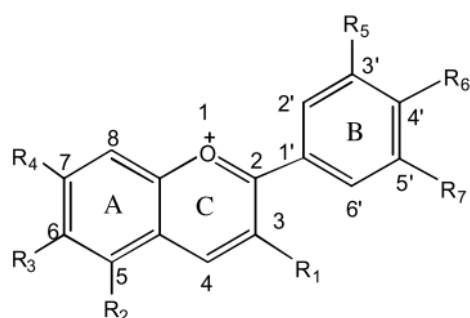
Existe una gran variedad de antocianinas en la naturaleza) los nombre y abreviaciones de las más comunes están en la tabla 4.2).

Las antocianinas pueden ser encontradas en diferentes formas químicas las cuales dependen del pH de la solución. A pH 1, el catión flavilio (color rojo) es la especie predominante y contribuye a colores purpuras y rojos. A un pH entre 2 y 4, las especies azules quinoidales son predominantes, a un pH entre 4 y 5 solo dos especies sin color pueden ser observadas, las

cuales son el carbinol y chalcona respectivamente (figura 4.5). A valores de pH mayores a 7, las antocianinas son degradadas dependiendo de sus grupos funcionales.

Las principales diferencias entre ellas son el número de grupos hidroxilos, la naturaleza y el número de azúcares unidos a su estructura. (Castañeda-Ovando et al., 2009)

Tabla 4.2-Identificación estructural de antocianidinas (agliconas)



Nombre	Abreviación	Patrón de sustitución							Color
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	
Apigenidina	Ap	H	OH	H	OH	H	OH	H	
Arrabidina	Ab	H	H	OH	OH	H	OH	OMe	N.R.
Aurantidinina	Au	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	
Capensinidina	Cp	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OMe	Azul-rojo
Carajurina	Cj	H	H	OH	OH	H	OMe	OMe	N.R.
Cianidina	Cy	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Naranja-rojo
Delfinidina	Dp	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Azul-rojo
Europinidina	Eu	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OH	Azul-rojo
Hirsutidina	Hs	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	OMe	Azul-rojo
3'-HidroxiAb	3'OHAb	H	H	OH	OH	OH	OH	OMe	N.R.
6-HidroxiCy	6OHCy	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH	Rojo
6-HidroxiDP	6OHDP	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH	Azul-rojo
6-HidroxiPg	6OHPg	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	N.R.
Luteolina	Lt	H	OH	H	OH	OH	OH	H	
Malvidina	Mv	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe	Azul-rojo
5-MetilCy	5-MCy	OH	OMe	H	OH	OH	OH	H	Naranja-rojo
Pelargonidina	Pg	OH	OH	H	OH	H	OH	H	
Peonidina	Pn	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H	Naranja-rojo
Petunidina	Pt	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH	Azul-rojo
Pulcelidina	Pl	OH	OMe	H	OH	OH	OH	OH	Azul-rojo
Ricionidina A	RiA	OH	H	OH	OH	H	OH	H	N.R.
Rosinidina	Rs	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	H	Rojo
Tricetinidina	Tr	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	Rojo

*N.R. No reportado

(Castañeda-Ovando, et al., 2009).

Figura 4.5-Formas químicas de antocianinas dependientes del pH y reacción de degradación.

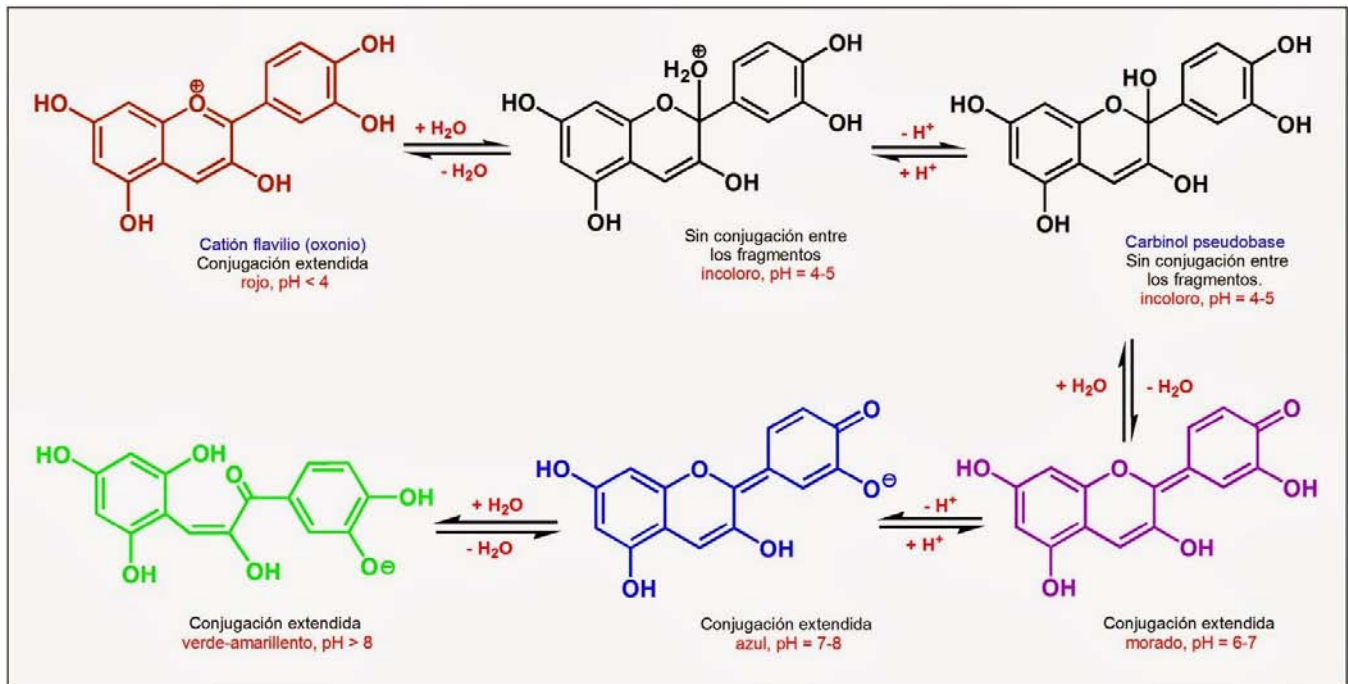


Imagen tomada de: <http://ubuscientia.blogspot.mx/> última revisión 9/5/2016

4.4-Betalainas

Las betalainas también son fitoquímicos considerados como potentes antioxidantes, sin embargo su presencia está restringida a solamente algunas familias de plantas relacionadas con el orden *Caryophyllales*, dentro de la cual destacan los géneros *Beta*, *Amaranthus*, *Opuntia* e *Hylocereus*. (García-Cruz & Salinas-Moreno, 2012).

De acuerdo a su estructura química, las betalainas pueden ser subdivididas en betacianinas (color rojo-violeta) o betaxantinas (amarillas). Las betacianinas son derivados de la betanidina, un compuesto imino formado del ácido betalámico, mientras que las betaxantinas resultan de la condensación de α -aminoácidos o aminas con el ácido betalámico como se muestra en la figura 4.6.

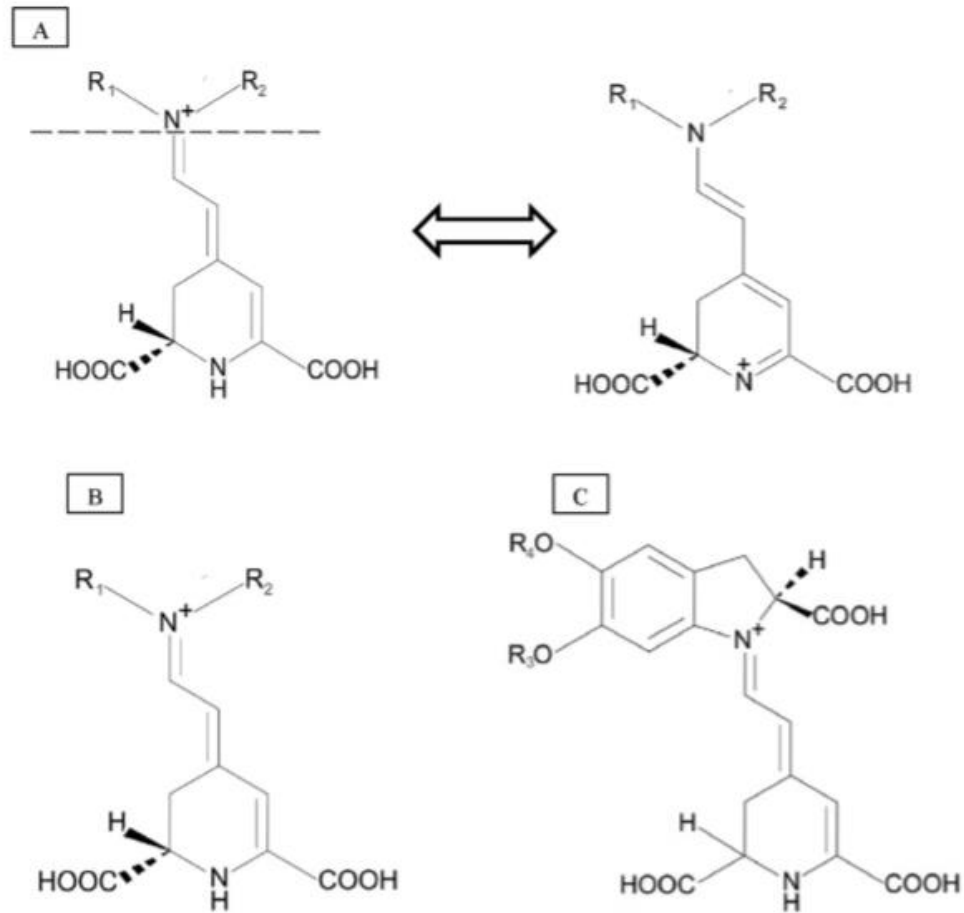


Figura 4.6- Estructura resonante de la betalaina B Estructura básica de la betacyanina C Estructura básica de betaxantina de acuerdo a Francisco y Paredes-López (2003).

La actividad antioxidante de las betalainas ha sido demostrada en varios modelos químicos y biológicos. En equivalentes trolox de capacidad antioxidante, las betalainas del betabel tuvieron una actividad antioxidante de 1.5 a 2.0 veces mayor que algunas antocianinas, como la cianidina-3-glucosido.

Las betalainas activan activamente en el atrapamiento de radicales libres y podrían consecuentemente prevenir el principio de cáncer o enfermedades cardiovasculares como por ejemplo se encontró que betalainas de *Opuntia ficus* poseen actividad anti proliferativa de células cancerosas (Gengatharan, et al., 2015).

4.5-Terpenos

Los isoprenoides o terpenoides de tanto de interés bioquímico como económico. Son hidrocarburos contruidos de varias unidades de isopreno (figura 4.7) (C_5H_8) presentes en los aceites esenciales, resinas, y en las estructuras de los carotenos y gomas. Todas las plantas pueden sintetizar carotenos y esteroides, pero la capacidad de sintetizar otros terpenos es muy irregular en el reino planta.

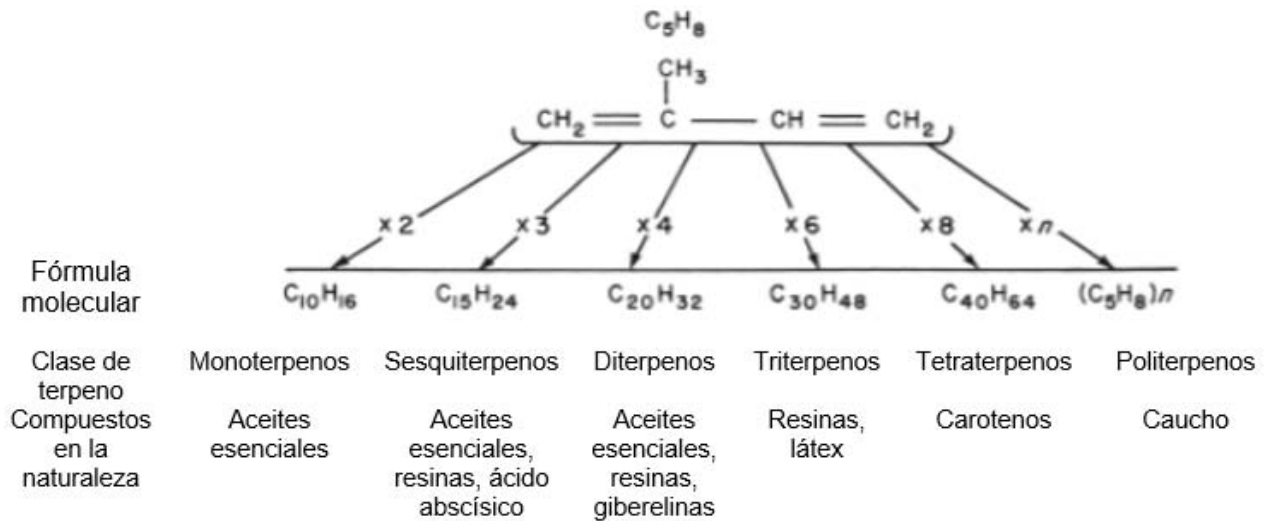


Figura 4.7- Estructura de los diferentes terpenos en la naturaleza

(Pallardy, 2008).

Tienen propiedades antioxidantes que protegen a lípidos y componentes celulares del ataque de agentes oxidantes como radicales libres de oxígeno, superóxido y grupos hidroxilo reactivos. Los terpenos mejor conocidos son el escualeno y los carotenoides

4.5.1-Carotenos

Los carotenos son pigmentos naturales que son metabolizados por plantas, algas y bacterias fotosintéticas; los cuales son responsables de los colores amarillo, naranja y rojo en varias frutas y vegetales. Los carotenoides pueden ser clasificados en dos grupos basado en sus grupos funcionales, xantofilas, que contienen oxígeno como grupo funcional, incluida la luteína y zeaxantina, y carotenos, los cuales contienen solo un esqueleto hidrocarbonado sin algún grupo funcional, como α -caroteno, β -caroteno y licopeno. La presencia de grupos polares (epoxi,

hidroxi y ceto), altera la polaridad de los carotenos (figura 4.8) y sus efectos en funciones biológicas. Las frutas y vegetales son las fuentes principales de carotenos y juegan un rol importante en la dieta debido a su actividad de vitamina A. Además de esto los carotenoides son importantes por su actividad antioxidante, comunicación intercelular y actividad del sistema inmune.

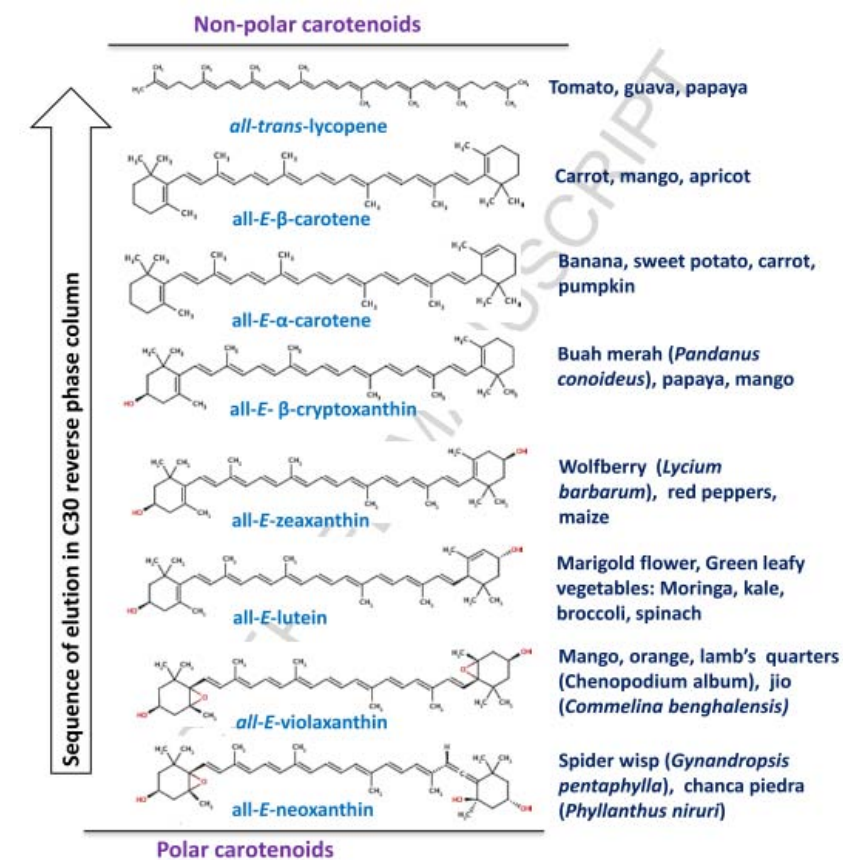


Figura 4.8-Diferentes polaridades y algunas fuentes de obtención de los carotenos

(Saini, Nile, & Park, 2015)

Los carotenos son pigmentos C₄₀ tetraterpenoides. Consisten en ocho unidades de isopreno unidos de una manera específica tal que la organización de unidades de isopreno es revertida en el centro de la molécula para que los grupos metilo no terminales en posición 1 y 5 y los otros dos grupos metilos centrales en posición 1 y 6. Los carotenos en las plantas pueden ser encontrados en forma libre o esterificada con ácidos grasos. Aunque la esterificación no altera las propiedades cromóforas del carotenoide, si modifica las propiedades químicas y biológicas

al cambiar su matriz. Estas propiedades también dependen del tipo de ácido graso al que se encuentra unido a la molécula de caroteno.

4.5.1.1-Carotenos en frutas y vegetales

El tipo y disponibilidad de carotenos en frutas y vegetales pueden ser predecidos por su color, como, como los vegetales y frutas amarillos-naranjas que generalmente son ricos en β -caroteno y en α -caroteno. α -criptoxantina y zeinoxantina pueden encontrarse en frutas naranjas, como la mandarina, naranja y papaya. Similarmente el licopeno es uno de los mayores constituyentes de jitomates y sus productos.

En la mayoría de las frutas y vegetales el β -caroteno domina generalmente en comparación con su isómero geométrico α -caroteno. El α -caroteno se puede encontrar en contenidos altos en un número limitado de frutas y vegetales, como el camote, zanahorias, calabaza y vegetales verdes oscuros como los frijoles verdes, espinaca y brócoli.

El contenido y tipos de carotenos en plantas depende de varios factores pre y post cosecha, genotipo, tiempo de madurez, método de cultivo, condiciones climáticas y procesamiento. Diferentes partes de una misma planta también pueden contener diferentes tipos y cantidades de carotenos. Por ejemplo, la cáscara de las frutas es generalmente más rica en carotenos comparado con la pulpa. El empaquetado y los métodos de procesamiento influyen en gran medida en el contenido de carotenos en los productos de comida procesada. Ya sea un secado térmico o no térmico, el proceso puede degradar significativamente el nivel de carotenos en los productos de comida. Para la mayoría de los vegetales, el secado resulta en una pérdida de 10 a 20% de carotenos. (Saini et al., 2015).

4.5.1.2-Actividad biológica e ingesta diaria admisible (IDA)

Los carotenos son componentes estructurales esenciales fotosintetizados los cuales protegen a las células del daño fotooxidativo y también juegan un rol ecológico por la atracción de polinizadores y dispersadores de semillas por el color en las hojas, flores y frutas.

Los animales superiores son incapaces de biosintetizar carotenoides, así que estos pigmentos esenciales son adquiridos a través de la dieta como precursores del retinol (Vitamina A).

La actividad provitamina A es la habilidad de los carotenos de formar vitamina A por la acción de la enzima caroteno dioxigenasa. (Figura 4.9). Cualquier caroteno que contenga al menos un anillo β -ionona puede ser partido para tener actividad provitamina A.

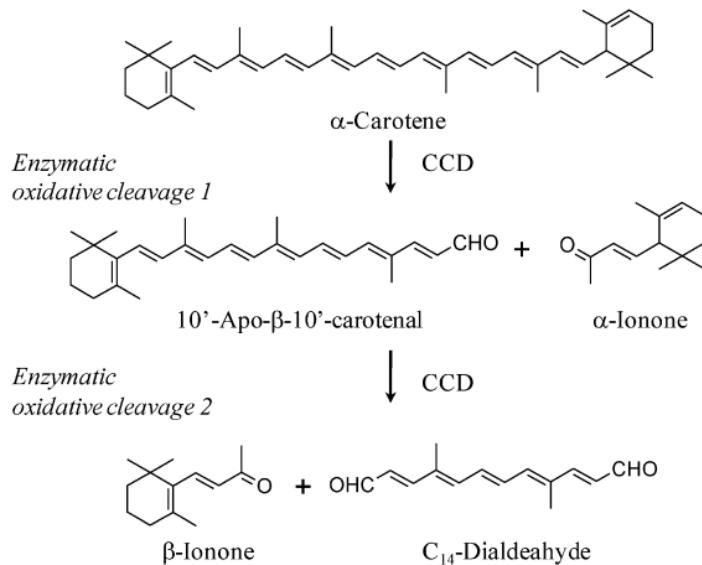


Figura-4.9- Ruptura oxidativa enzimática del β -Caroteno por la enzima caroteno dioxigenasa.

(<http://2011.igem.org/Team:WashU/Modeling>; Washinton University).

Como el β -caroteno contiene dos anillos de β -ionona este posee 100% de actividad provitamina A, y el licopeno carece de actividad de provitamina A, se debe a la ausencia del anillo de β -ionona.

La actividad biológica de carotenos está dada por su conversión a equivalentes de retinol (RE; 1 RE= 1 μ g de retinol). El porcentaje de absorción y conversión de carotenos es tomado en cuenta por la relación de que 1 RE= 6 μ g de β -caroteno y

12 μ g para otros carotenos, considerando una actividad biológica del 50 %. La ingesta diaria recomendable de carotenoides para hombres adultos es de 1000 RE, 800 RE para mujeres adultas y 1300 RE para mujeres en lactancia. Las unidades internacionales (IU) es la otra forma de medir la actividad biológica de carotenos; 1 IU es equivalente a 0.3 μ g de Z-retinol y 0.6 μ g de β -caroteno (1RE=3.3IU). La actividad biológica de carotenos puede ser estabilizada por la adición de grupos fenilos. (Saini et al., 2015).

4.6-Esteroles

Los fitoesteroles y fitoestanoles son los miembros más importantes de este grupo cuya estructura es semejante al colesterol de origen animal. Estas moléculas no son sintetizadas por

el humano, derivan exclusivamente de productos de origen vegetal como aceite de maíz, germen de trigo, nueces, cereales y frijoles. Los fitoesteroles son triterpenos insaturados con uno o dos dobles enlaces entre carbono y carbono. Los fitoesteroles más comunes en la naturaleza son los β -sitoesteroles, campesterol y estigmasterol (figura 4.10). Los fitoesteroles pueden formar ésteres con ácidos grasos, ácidos fenólicos o hexosas (usualmente glucosa). A diferencia de los fitoesteroles, los fitoestanoles como el campestanol y sitostanol, son triterpenos saturados ya que no contienen dobles enlaces C-C y son menos abundantes en la naturaleza. Los fitoesteroles y fitoestanoles inhiben la absorción intestinal de colesterol, por ello, su consumo se ha asociado con la disminución del riesgo de enfermedades del corazón. También se ha reconocido que los fitoesteroles y fitoestanoles poseen propiedades inmunomoduladores que podrían ser benéficas para la prevención del cáncer de colon, cáncer de mama y daño tisular asociado a inflamación. (Serrano et al., 2006).

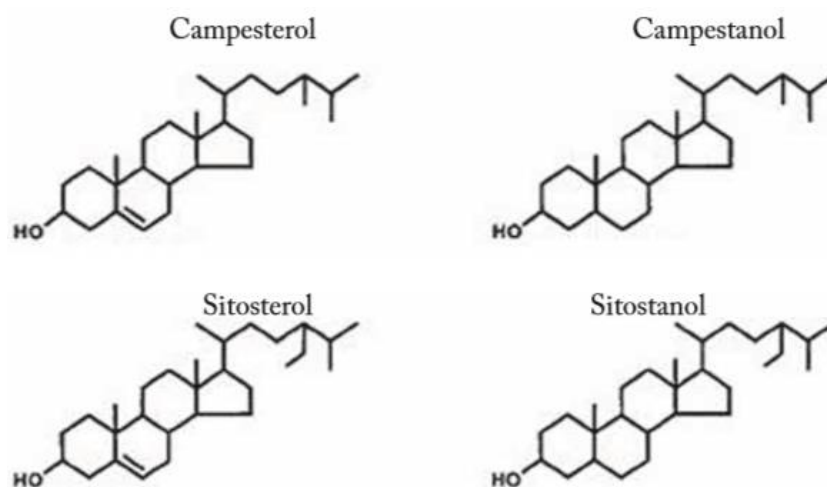


Figura 4.10--Estructura química de fitoesteroles y fitoestanoles vegetales

4.7-Ácidos grasos esenciales

Los ácidos grasos poli insaturados (polyunsaturated fatty acids PUFA) poseen un grupo polar carboxilo unido a una cadena hidrocarbonada de 16 a 20 carbonos con uno o más dobles enlaces. El término n-3 ó n-6 indica la posición de la primera doble ligadura del carbono 3,6 ó 9 considerando como carbono 1 al del grupo metilo terminal. Aunque el organismo humano puede

sintetizar ácidos grasos saturados de número par de carbonos, es incapaz de introducir dobles enlaces en el carbono 3 (C₃) ó 6 (C₆) aunque lo puede hacer en el C₉, por ello, los PUFA n-3 y n-6 son considerados como ácidos grasos esenciales (essential fatty acids EFA_s).

Por lo general, la letra griega omega (ω) es empleada en lugar de n- para denotar ω -3, ω -6, ω -9. Los ácidos grasos octadecanoides (18 carbonos) como el ácido α linolénico (LNA), linoleico (LA) y oleico (OA) (figura 4.11) son los miembros básicos de los PUFA de la serie n-3, n-6 y n-9, respectivamente. La ingesta deficiente de LNA y LA da lugar a la formación del ácido graso 5,8,11 eicosatrienoico a partir del OA. En humanos el ácido 5,8,11 eicosatrienoico no es precursor de eicosanoides (20 carbonos) a diferencia del LNA, a partir del cual se puede sintetizar aunque en forma limitada, eicosanoides n-3 como el ácido eicosapentaenoico (EPA) e incluso otro n-3 de 22 carbonos como el ácido docosahexaenoico (DHA). Los ácidos grasos esenciales n-3 y n-6 no son interconvertibles en el organismo por lo que su aporte debe de provenir necesariamente de fuentes exógenas. Aunque los aceites de pescados de agua fría como salmón, trucha y caballa poseen un alto contenido de EFA_s n-3, existen fuentes vegetales ricas de estos productos como son los aceites de lino, cártamo y nuez.

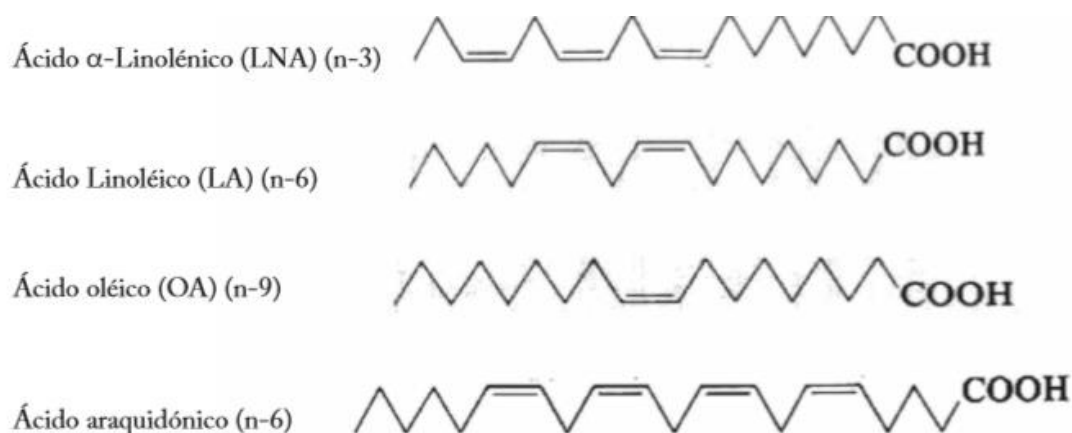


Figura 4.11-Estructura de algunos ácidos poli insaturados de las series n-3, n-6 y n-9

La actividad anti inflamatoria y sus efectos benéficos sobre el sistema circulatorio para la prevención de enfermedades coronarias de los EFA_s n-3 se ha atribuido a su capacidad de modificar la síntesis de prostaglandinas y lípidos. Se ha observado que los ácidos grasos esenciales n-6 como el ácido araquidónico y n-3 como el EPA y el DHA, aumentan la actividad de drogas anticancerígenas. Otras propiedades farmacológicas atribuidas a los PUFA_s n-3

incluyen: inhibición de la angiogénesis, actividad citotóxica sobre células tumorales y reducen los niveles de colesterol en sangre. (Serrano et al., 2006).

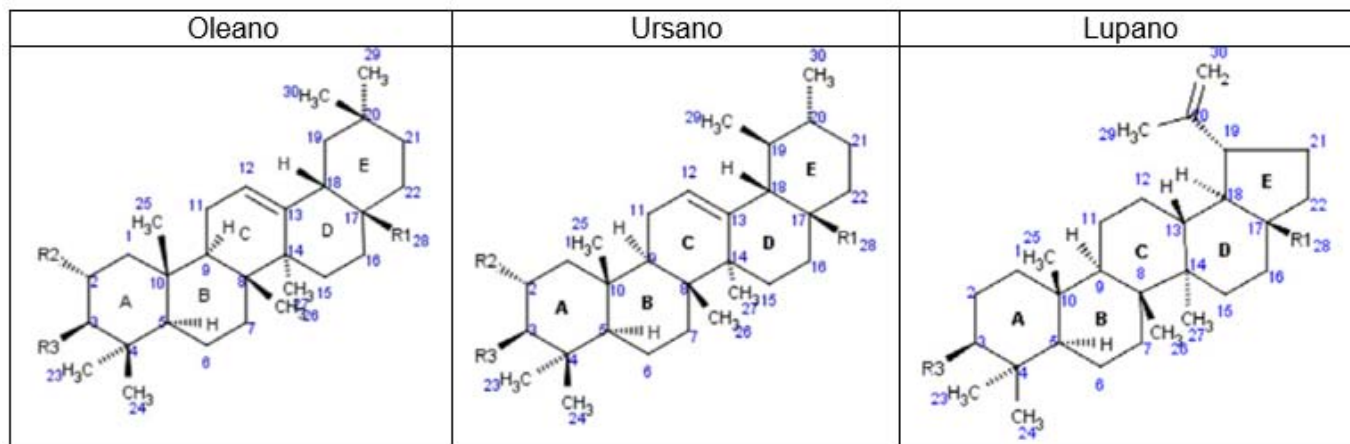
4.8-Triterpenos pentacíclicos

Los triterpenos pentacíclicos son metabolitos secundarios de plantas ampliamente distribuidos a través del reino planta, ya sea en su forma libre (sapogeninas) o unidos a glucósidos (saponinas). Estos constituyen a un grupo de compuestos isoprenoides de C₃₀ organizados en tres clases principales de acuerdo a su estructura base: lupano, ursano u oleano (figura 4.12); y también clasificados de acuerdo a la presencia, posición y números de grupos hidroxilo, y de ácido carboxílico en su estructura. Constituyen una fuente de interés para las industrias farmacéuticas, nutraceuticas y cosméticas debido a sus propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias, antitumorales o anti VIH. Adicionalmente tienen un potencial alto en nuevos efectos terapéuticos contra el cáncer y se ha revelado efectos hepato protectores. En años recientes los ácidos corosolico y maslinico han ganado interés comercial y científico debido a sus propiedades antidiabéticas. Los triterpenos pentacíclicos pueden ser encontrados en varias partes de plantas como en el fruto, hojas, cáscara y tallo, y son usados para el desarrollo de productos para la salud y suplementos alimenticios. (Jemmali, Chartier, Dufresne, & Elfakir, 2016).

4.9-Péptidos bioactivos

En paralelo con el desarrollo del área de los alimentos funcionales, hay una amenaza de numerosas enfermedades incluyendo el estrés oxidativo, enfermedades cardiovasculares, diabetes e inflamación. Estos tipos de perturbaciones fisiológicas y morfológicas se han asociado con el uso extensivo de aditivos sintéticos. La propagación continua de estas patologías hizo apresurar a los científicos para que comprobaran las causas reales de tales desordenes de salud a través de aplicaciones in vitro o in vivo de ingredientes naturales como una terapia alternativa.

Figura 4.12- Estructuras químicas las familias de triterpenos pentaciclicos del ursano, oleano y lupano.



Nombre	R1	R2	R3	Grupo de terpeno
β -amirina	CH ₃	H	OH	Oleano
Eritrodiol	CH ₂ OH	H	OH	Oleano
Ácido oleanolico	COOH	H	OH	Oleano
Ácido maslinico	COOH	OH	OH	Oleano
α -amirina	CH ₃	H	OH	Ursano
Uvaol	CH ₂ OH	H	OH	Ursano
Ácido ursolico	COOH	H	OH	Ursano
Ácido corosolico	COOH	OH	OH	Ursano
Lupeol	CH ₃	H	OH	Lupano
Betulina	CH ₂ OH	H	OH	Lupano
Ácido betulínico	COOH	H	OH	Lupano

Los péptidos son una especie de sustancias protectoras de la salud presentes en la naturaleza, los cuales están hechos de una serie de residuos de aminoácidos con tamaños variables de cadenas con bajo peso molecular en comparación con una masa proteínica. Estos péptidos están en la naturaleza dentro de una molécula origen (proteína). Sin embargo al ser digerida enzimáticamente la proteína nativa inicia la producción de fragmentos más activos llamados biopéptidos. La atención que se le ha dado a los péptidos sobre otros compuestos activos como los flavonoides y polifenoles es debido a su potencial terapéutico y medicinal, y especialmente a su regulación potencial de su consumo en la comida.

La producción, purificación y caracterización de biopéptidos de fuentes de alimentos son un área emergente de investigación bioquímica. La mayoría de las investigaciones están dirigidas

en las funcionalidades biológicas de biopéptidos incluyendo actividad antioxidante, antihipertensiva, antidiabética e inmunomoduladora.

Los biopéptidos pueden ser incorporados, suspendidos, dispersados o encapsulados en diferentes formas tales como emulsiones, liposomas, nutraceúticos y otros biopolímeros para que ganen su funcionalidad óptima, biodisponibilidad y estabilidad (Samaranayaka & Li-Chan, 2011).

Los péptidos con actividad biológica, han sido aislados principalmente a partir de hidrolizados proteínicos y de productos lácteos modificados por fermentación bacteriana, pero también se pueden generar durante la digestión gastrointestinal.

Considerando la relación que guarda la nutrición con el estado de salud, los péptidos con actividad biológica podrían ayudar a reducir la actual epidemia de enfermedades crónicas degenerativas que afectan a un amplio sector de la población mundial. Además de impactar el mercado de alimentos, donde el rubro de alimentos funcionales crece a un ritmo del 20 % anual. El futuro de los alimentos funcionales es predecible, pues la preocupación por la salud conlleva al aumento de la demanda de este tipo de productos por parte de los consumidores y al desarrollo de nuevos productos funcionales basados en efectos cuantificables sobre la salud.

Diversos estudios han demostrado que cualquier proteína independientemente de sus funciones y calidad nutrimental, puede ser empleada para generar péptidos con actividad biológica, potenciando así el uso de proteínas de origen no convencional o subutilizadas, como proteínas vegetales provenientes de fuentes silvestres, residuos de pesquerías, subproductos de la extracción de aceites etcétera (Cossio et al., 2012).

4.9-Frutas de estudio

4.9.1-Prunus serótina

El capulín es un árbol o arbusto monopódico, perenifolio o caducifolio, de 5 a 15 m. Se desarrolla sobre pendientes acentuadas y se le encuentra en zonas de cultivo (cafetal), es originaria de América y se extiende actualmente desde Canadá hasta Guatemala.

Habita en climas cálidos, semiáridos, semisecos y templados. En México se le encuentran en zonas montañosas. La especie puede propagarse por diferentes medios, además de la siembra con semillas.

Es intolerante a la sombra. Se desarrolla principalmente en claros (pionera). Especie somnante en la sucesión secundaria. Se establece bien después de perturbaciones como fuego, tala y ciclones. (Mcvaugh, 1951)

El fruto es de color púrpura y se da también en racimos parecidos a los de las uvas. Tiene hueso y es de forma ovalada.

Sus frutos maduros son muy dulces. Se consume en fresco y en forma de jalea, mermelada, jarabe y miel. También se utilizan para dar sabor a bebidas dulces y helado. (SIAP 2014).

En el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), se reportan las entidades productoras capulín en México, que, a manera de resumen, se presentan en el siguiente cuadro.

Ilustración-Fruto del capulín tomada del SIAP



Tabla 4.2-Producción de capulín por estados en el año 2014.

Ubicación	Sup. Sembrada	Sup. Cosechada	Producción	Rendimiento	PMR	Valor Producción
	(Ha)	(Ha)	(Ton)	(Ton/Ha)	(\$/Ton)	(Miles de Pesos)
Distrito Federal	20.3	18.7	19.87	1.06	6,209.01	123.37
Jalisco	3	3	15	5	6,000.00	90
México	12	12	83.8	6.98	5,446.48	456.41
Puebla	44	44	103.3	2.35	1,252.66	129.4
Veracruz	10	10	31.85	3.18	3,740.97	119.15
	89.3	87.7	253.82	2.89	3,618.07	918.34

Fuente: SIAP 2014

Compuestos reportados en la literatura del capulín

Tabla 4.3-Fitoquímicos reportados en la literatura para el género *Prunus*

Compuesto	Lugar de extracción	Cuantificación	Especie	Referencia	
<i>Antocianina (cianidina 3-glucosido)</i>	Fruto entero	31.7 mg cianidina 3-glucosido/100 g de fruto fresco	<i>Prunus serótina</i>	(Ordaz-Galindo, Wesche-Ebeling, Wrolstad, Rodriguez-Saona, & Argaiz-Jamet, 1999)	
<i>Fenoles totales</i>	Fruto entero	242 mg GAE/100 g fruta	<i>Prunus serótina</i>	(Hurtado & Pérez, 2014)	
<i>Fenoles totales</i>	Cascara	1382 mg GAE/100 g cascara	<i>Prunus serótina</i>		
<i>Flavonoides totales</i>	Fruto entero	0.97 mg rutina/1 g fruta fresca	<i>Prunus pérsica L.</i>	(Belhadj et al., 2016)	
<i>Acido palmítico (C:16:0)</i>	Semilla de fruta	En % de relación con el aceite	<i>Prunus serótina</i>	(Aguerreberere, Molina, Oomah, & Drover, 2011)	
<i>Ácido esteárico (C:18:0)</i>					C: 16:0 (4.26%)
<i>Ácido oleico (C:18:1)</i>					C: 18:0 (4.09%)
<i>Ácido linoleico (C:18:2)</i>					C: 18:1 (35.15%)
<i>Ácido linolenico</i>					C: 18:2 (26.72%) C: 18:3 (0.18%)

(C:18:3)			
<i>Ácido p-hidroxibenzoico</i>	Cascara de	3.08 a 7.18 µg/g	<i>Prunus dulcis</i> (Bartolomé et al., 2010)
<i>Ácido vainillínico</i>	semilla	11.1 a 19.2 µg/g	
<i>Ácido protocatecuico</i>		6.69 a 17.2 µg/g	
<i>Ácido p-cumarico</i>		0 a 1.06 µg/g	
<i>Ácido 3-O- cafeoilquinico</i>		1.76 a 3.77 µg/g	

4.9.2-*Opuntia joconostle*

Ilustración tomada de <http://holodieta.blogspot.mx/>



El fruto del cactus *Opuntia joconostle* conocido como xoconostle, es usado como condimento en la cocina mexicana, y en la elaboración de dulces, jaleas y bebidas.

El xoconostle puede permanecer en la planta por varios meses sin deteriorarse, y puede ser almacenado por varias semanas en un ambiente frío y seco sin que pierda sabor o humedad .Es cultivado en el área central de

México a lo largo del año. Tiene gran relevancia porque en zonas áridas y semi áridas la accesibilidad a otros vegetales es baja.(Morales. et al., 2012).

Los xoconostle han sido usados en medicina rural como tratamiento para la diabetes, hipertencion, obesidad y problemas respiratorios. (Osorio-Esquivel et al., 2011).

Compuestos reportados en la literatura de *Opuntia spp.*

Tabla 4.4-Fitoquímicos reportados en la literatura para el género *Opuntia*

Compuesto	Lugar de extracción	Cuantificación	Especie	Referencia
<i>Betacianinas totales</i>	Fruto entero	1044.32 mg/Kg de	<i>Opuntia ficus-indica</i>	(Jiménez-Aguilar, López-Martínez, Hernández-Brenes, Gutiérrez-Uribe, & Welti-Chanes, 2015)
<i>Betaxantinas totales</i>		fruta		
<i>Fenoles totales</i>	Pericarpio	499.92 mg/Kg de Fruta		
<i>Flavonoides totales</i>	Pericarpio	3.86 gGAE/Kg de fruta		
<i>Ácido mirístico (C: 14:0)</i>	Semilla de fruta	En % de masa en relación del aceite	<i>Opuntia microdasys</i>	(Chahdoura et al., 2015)
<i>Ácido palmítico (C:16:0)</i>		C: 14:0 (0.13%)		
<i>Ácido esteárico (C:18:0)</i>		C: 16:0 (13.9%)		
<i>Ácido oleico (C:18:1)</i>		C: 18:0 (2.8%)		
<i>Ácido linoleico (C:18:2)</i>		C: 18:1 (10.0%)		
<i>Ácido linolenico (C:18:3)</i>		C: 18:2 (71%)		
<i>Ácido ascórbico</i>		C: 18:3 (0.27%)		
<i>Fenoles totales</i>	pulpa	20.63 mg/100g fruta fresca	<i>Opuntia joconostle</i>	(Morales, Ramírez-Moreno, Sanchez-Mata, Carvalho, & Ferreira, 2012)
<i>Flavonoides totales</i>	Pulpa	38.57 mgGAE/g de extracto	<i>Opuntia joconostle</i>	
		3.9357 mgGAE/g de extracto		

Ácido-4 hidroxibenzoico	Pericarpio	28.3 µg/g fruta fresca	<i>Opuntia joconostle</i>	(Osorio-Esquivel et al., 2011)
Ácido cafeico	Pericarpio	96.93 µg/g fruta	<i>Opuntia joconostle</i>	
Ácido vainillínico	Pericarpio	fresca		
Ácido protocatecuico	Pericarpio	14.83 µg/g fruta fresca	<i>Opuntia joconostle</i>	
		107.84.103 µg/g fruta fresca	<i>Opuntia joconostle</i>	
Fenoles totales	Pericarpio	19.9 mgGAE/g pericarpio seco	<i>Opuntia joconostle</i>	
	Fruta entera	15.01 mgGAE/g fruta seca		

4.9.3- Carica papaya

Ilustración- Ilustración-Fruto
de la papaya tomada del
SIAP



La papaya es una planta de rápido crecimiento y tiempo de vida relativamente corto.

En general, se considera que esta planta es originaria del sur de México y Centroamérica, aunque existe cierta controversia ya que algunos investigadores sugieren que podría ser nativa del Caribe, en tanto otros la ubican entre Nicaragua y Honduras, o al Noroeste de América del sur, en la vertiente oriental de los andes.

Esta planta de tipo herbáceo puede alcanzar una altura que va desde 1.8 m en el caso de ejemplares silvestres, hasta 6.1 m en los cultivados y crece en climas tropicales.

La pulpa de papaya madura es de color amarillo, rojo anaranjado o rosado, lo que delata su alto contenido en beta caroteno y su consistencia es cremosa pero firme, carente de fibras, dulce y refrescante. Está cargada de nutrimentos, incluyendo vitamina A, vitamina C, complejo B, potasio, magnesio, fibra, ácido fólico y pequeñas cantidades de calcio y hierro.

Su desarrollo está íntimamente ligado a la cantidad de luz solar que recibe la planta, siendo este el principal factor para su cuidado, por lo que durante los meses de verano el contenido de azúcar en la fruta se eleva. (Propaya, 2009).

En el siguiente cuadro se presenta la producción de papaya por estado de la república en el 2014

Tabla 4.5-Producción nacional de *Carica papaya*

Ubicación	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Baja California Sur	11.4	0	0	0	0	0
Campeche	622	571	25,595.60	44.83	4,463.16	114,237.19
Chiapas	2,077.00	1,982.00	159,564.01	80.51	4,151.83	662,483.04
Colima	1,838.50	1,838.50	98,499.00	53.58	5,001.19	492,612.21
Guerrero	1,133.20	1,072.20	40,460.71	37.74	4,162.44	168,415.33
Hidalgo	1	1	8	8	7,500.00	60
Jalisco	484.5	435.25	22,779.00	52.34	4,569.18	104,081.41
Michoacán	2,128.50	1,385.00	48,045.60	34.69	3,791.93	182,185.49
Morelos	117.5	115.5	4,071.35	35.25	4,788.26	19,494.70
México	11	11	343.68	31.24	4,205.57	1,445.37
Nayarit	281	281	7,082.82	25.21	4,551.47	32,237.21
Oaxaca	2,560.30	2,545.30	273,280.46	107.37	4,366.67	1,193,325.95
Puebla	212.5	212.5	8,792.00	41.37	4,828.58	42,452.85
Quintana Roo	241	241	15,720.39	65.23	4,934.08	77,565.73
San Luis Potosí	130	123	4,768.00	38.76	3,916.76	18,675.10
Sinaloa	346	249	8,769.15	35.22	4,204.02	36,865.70
Tabasco	304	190	10,184.00	53.6	3,358.21	34,200.03
Tamaulipas	193	141	6,547.40	46.44	4,901.31	32,090.85
Veracruz	2,954.00	2,775.00	81,802.50	29.48	3,912.13	320,022.27
Yucatán	409.12	364.12	20,056.81	55.08	3,450.67	69,209.42
	16,055.52	14,533.37	836,370.48	57.55	4,306.30	3,601,659.84

Fuente: SIAP 2014

Compuestos reportados en la literatura de la papaya

Tabla 4.6-Fitoquímicos reportados en la literatura para el género *Carica*

Compuesto	Lugar de extracción	Cuantificación	Especie	Referencia
Carotenos totales	Pulpa	3.27 mg/100g fruto fresco	<i>Carica papaya</i>	(Gayosso-García Sancho, Yahia, & González-Aguilar, 2011)
β -Criptoxantina	Pulpa	1.2 mg/100g peso seco	<i>Carica papaya</i>	
β -Caroteno	Pulpa	0.8 mg/100g peso seco	<i>Carica papaya</i>	
Lycopeno	Pulpa	4.2 mg/100g peso seco	<i>Carica papaya</i>	
Ácido cafeico	Látex	120 mg/100g peso seco	<i>Carica papaya</i>	
Ácido p-Cumarico	Látex	150 mg/100g peso seco	<i>Carica papaya</i>	
Ácido ferulico	Látex	180 mg/100g peso seco	<i>Carica papaya</i>	
Fenoles totales	Pulpa	79.5 mg/100g fruta seca y congelada	<i>Carica papaya</i>	(Pavan, Sancho, & Pastore, 2014)
Flavonoides totales	Pulpa	15.9 mg/100g fruta seca y congelada	<i>Carica papaya</i>	

4.9.4- Pinus edulis Eng. P. Cembroides

Los productos forestales no maderables (PFNM) en México engloban a bienes de gran tradición en su aprovechamiento. La SEMARNAT 2004 define a los PFNM como los que no están constituidos por materiales leñosos, tales como semillas, resinas, fibras, gomas, ceras, rizomas, hojas, pencas y tallos; dentro de las semillas se encuentran productos como el piñón de varias especies mexicanas de pinos.



El piñón presenta alto valor nutricional y cualidades organolépticas aceptables en la repostería. Tiene buena aceptación en el mercado interior y exterior; su aprovechamiento y venta es de gran importancia para mejorar o complementar el ingreso de los productores, que cuentan con este tipo de bosques en sus predios. La comercialización y transformación del piñón no sólo genera beneficios a los dueños y poseedores de las áreas forestales, sino también, aporta

ganancias a empresas que lo emplean para uso culinario, tanto en repostería como en otros productos típicos regionales.

El piñon es un producto forestal no maderable, que contribuye económicamente al ingreso de los ejidatarios de Santa María las cuevas, Tlaxcala. (Atoyatenco, 2011).

En el siguiente cuadro se presenta la producción de piñon por estado de la república en el 2014.

Tabla 4.7- Producción nacional de *Pinus edulis* Eng. P. Cembroides

Ubicación	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Chiapas	102.3	102.3	35.8	0.35	6,500.00	232.7
Puebla	796	753.86	1,239.56	1.64	51,457.32	63,784.44
Veracruz	536	536	350.4	0.65	87,407.96	30,627.75
	1,434.30	1,392.16	1,625.76	1.17	58,215.78	94,644.89

Fuente: SIAP 2014

Compuestos reportados en la literatura de *Pinus spp.*

Tabla 4.8-Fitoquímicos reportados en la literatura para el género *Pinus*

Compuesto	Lugar de extracción	Cuantificación	Especie	Referencia
Fenoles totales	semillas	7.99 mgGAE/g semilla seca	<i>Pinus pinea</i>	(Kadri et al., 2015)
Flavonoides totales	Semillas	2.17 mg quercetina/g semilla seca	<i>Pinus pinea</i>	
Ácido palmítico (C:16:0)	Semillas	En % de masa en relación del aceite	<i>Pinus pinea</i>	
Ácido esteárico (C:18:0)		C: 16:0 (06.84%) C: 18:0 (03.56%)		
Ácido oleico (C:18:1)		C: 18:1 (34.63%) C: 18:2 (30.67%)		
Ácido linoleico (C:18:2)		C: 18:3 (22.21%) C: 20:0 (01.39%)		
Ácido linolenico (C:18:3)				
Ácido araquidónico (C:20:0)				

4.9.5- *Pouteria sapota*

El zapote mamey es un árbol tropical de gran tamaño (entre 20 y 50 m), de madera durable y pesada, que tolera clima tropical y subtropical. Pertenece al grupo de frutales perennifolios; es decir presenta hojas todo el año, pudiendo ser dañados por temperaturas menores de 10 a 13°C. Los frutos del zapote son ovoides y su pulpa de de color rojo salmón.

Ilustración-Fruto del mamey tomada del SIAP



El valor de uso lo da el valor comercial de su fruto, ya que este es utilizado como alimento, aunque también se fabrican alimentos procesados como pulpa congelada, mermelada de mamey para yogurt, helado, pastelería y repostería fina, además de elaboración a partir del hueso de aceites para uso cosmético y usos medicinales. El comercio del mamey se realiza a nivel local.

La especie *Pouteria sapota* son árboles multipropósito utilizados en la alimentación humana frutos ricos en vitamina A y C, proteínas, hidratos de carbono, calcio y hierro, como planta medicinal y en la obtención de madera. Cada 100 gramos de pulpa de mamey fresca contiene: 107 kcal, 1 g de proteínas, 0.5 g de grasas, 28 g de hidratos de carbono, 1.4 g de fibra, 0.7 g de cenizas, 22 mg de calcio, 14 mg de fósforo, 0.9 mg de hierro, 6 mg de sodio y 226 mg de potasio. En cuanto a contenido vitamínico posee 60 IU de vitamina A, 0.02 mg de tiamina, 0.02 mg de riboflavina, 1.4 mg de niacina y 23 mg de ácido ascórbico.

El zapote mamey, aún y cuando se considera como una de las frutas exóticas, es una de las más deliciosas frutas del continente americano. De igual forma, es ampliamente utilizado por sus características organolépticas.

En el siguiente cuadro se muestra la producción de mamey en el año 2014.

Producción nacional total por estados de la republica del mamey.

Tabla 4.9-Producción anual de *Pouteria sapota*

Ubicación	Sup. Sembrada	Sup. Cosechada	Producción	Rendimiento	PMR	Valor Producción
	(Ha)	(Ha)	(Ton)	(Ton/Ha)	(\$/Ton)	(Miles de Pesos)
Campeche	38	33	594	18	4,200.00	2,494.80
Chiapas	134	134	667.76	4.98	1,765.70	1,179.06
Colima	45	45	245.5	5.46	6,496.95	1,595.00
Guerrero	397.25	283.5	2,641.93	9.32	6,296.02	16,633.65
Hidalgo	4	2	6.56	3.28	7,000.00	45.92
Jalisco	18.5	10	45	4.5	8,400.00	378
Michoacán	162.5	123.5	833.47	6.75	5,628.01	4,690.78
Morelos	34.7	34.7	378.24	10.9	7,590.11	2,870.88
México	44	41	338	8.24	5,955.62	2,013.00
Nayarit	0.5	0.5	3.5	7	5,000.00	17.5
Oaxaca	40	40	263.05	6.58	5,173.29	1,360.83
Puebla	63	63	353.77	5.62	4,124.41	1,459.09
Tabasco	104	104	122.2	1.18	6,556.46	801.2
Veracruz	65	61	1,091.00	17.88	3,641.78	3,973.18
Yucatán	501.23	431.73	10,002.10	23.17	2,411.45	24,119.54
	1,651.68	1,406.93	17,586.08	12.5	3,618.34	63,632.45

Fuente: SIAP,2014

Compuestos reportados en la literatura de *Pouteria spp.*

Tabla 4.10-Fitoquímicos reportados en la literatura para el género *Prunus*

Compuesto	Lugar de extracción	Cuantificación	Especie	Referencia
Fenoles totales	Pulpa	2563 µg GAE/g de fruta fresca	<i>Pouteria sapota</i>	(Torres-Rodríguez, Salinas-Moreno, Valle-Guadarrama, & Alia-Tejagal, 2011)
Flavonoides totales	Pulpa de mamey	6414 mg rutina/100g muestra seca	<i>Pouteria campechiana</i>	(Kong, Khoo, Prasad, Chew, & Amin, 2013)
Flavonoides totales	Almendra de mamey	4242.3 mg rutina/100g muestra seca		
Carotenos totales	Pulpa	28.9-69.6 mg carotenos/g fruto fresco	<i>Pouteria sapota</i>	(Moore & Stearn, 2002)
δ-Tocoferol	Pulpa de mamey	0.360 mg/100g de fruta seca	<i>Pouteria sapota</i>	(Yahia, Gutiérrez-Orozco, & Arvizu-de Leon, 2011)
Ácido gálico	Fruta	170.91	<i>Pouteria sapota</i>	(Ennelly, 2004)
galocatequina	Fruta	172.85	<i>Pouteria sapota</i>	
dihidromiricetina	Fruta	200.77	<i>Pouteria sapota</i>	
Acido palmítico (C:16:0)	Semilla	C: 16:0 (10.50%)	<i>Pouteria sapota</i>	("Mamey sapote seed oil (<i>Pouteria sapota</i>). Potential , composition , fractionation and thermal behavior," 2015)
Ácido esteárico (C:18:0)		C: 18:0 (28.65%)		
Ácido oleico (C:18:1)		C: 18:1 (48.62%)		
Ácido linoleico (C:18:2)		C: 18:2 (10.77%)		
Ácido linolenico (C:18:3)		C: 18:3 (0.58%)		
Ácido araquidónico (C:20:0)		C: 20:0 (0.36%)		

5-Materiales y metodología

5.1-Disolventes y reactivos

Se usaron los disolventes: acetato de etilo, acetona, hexano, metanol, agua destilada, cloruro de metileno, n-butanol y ácido acético. Los reveladores en capa fina: anisaldehído, DPPH, cloruro férrico 1% en 1-propanol, sulfato cérico y ninhidrina. Los estándares de metilos de ácidos grasos y ácidos fenólicos de Sigma-Aldrich. Los estándares del laboratorio: la α -amirina y esteroides comerciales. Los reactivos: ácido clorhídrico, Fenol Folin-Ciocalteu de Hycel México, n-hexano HPLC de J.T. Baker, trifloruro de Boro solución en metanol al 14% de SIGMA, nitrito de sodio al 5%, Cloruro de aluminio al 10% y cloruro de carbonato de sodio al 2%, hidróxido de sodio. Las enzimas para la hidrólisis enzimática fueron: Alacalasa 2.4 L de Novozymes® y papaína 108014 ROCHE®.

5.2-Equipos

Cromatógrafo de gases Agilent technologies 6890N network GC system, inyector Agilent technologies 7683 series inyector, software Agilent1. Centrifuga 5810 R eppendorf 15 amp version, Rotavapor buchi R-215, Sonicador cole-parmer 8892, Balanza OHAUS Analytical plus, Balanza Swiss Made ES 2255m-DR, Espectrofotómetro GBC-cintral con software cintral, Agitadora Thermo scientific Max Q 4000. Placas de cromatografía en capa fina DC-Fertigfolien ALUGRAM xtra sil G/w254 20x20 cm MACHEREY-NAGEL.

5.3-Estrategia general

La metodología implementada se dividió en 5 etapas de acuerdo a los objetivos planteados, los cuales se muestran en el diagrama 5.1

En la primera fase se compraron las muestras en diferentes puntos de venta de la ciudad de México, se separaron por partes (Pericarpio, mesocarpio, endocarpio, semillas) para después ser liofilizadas, molidas, tamizadas y finalmente almacenadas a -20°C.

En la segunda fase se cuantificaron los fitoquímicos totales presentes en las pulpas de las frutas y en la cascara de papaya y xoconostle.

En la tercera fase para analizar los ácidos fenólicos de las cascaras de las frutas, se sometieron a una hidrólisis alcalina, para después bajar el pH y hacer a los ácidos fenólicos insolubles en agua para realizar una extracción con acetato de etilo y obtener un extracto el cual se identificaron los posibles ácidos fenólicos con cromatografía de capa fina.

Para realizar el análisis del extracto etéreo se sometieron a molienda las semillas de las frutas para extraer con n-Hexano el extracto etéreo de la harina de las semillas el cual se almacenó en viales de vidrio color ámbar a -20°C hasta el momento de su análisis.

El extracto etéreo se saponificó y los ácidos grasos libres se metilaron para poder ser analizados por cromatografía de gases.

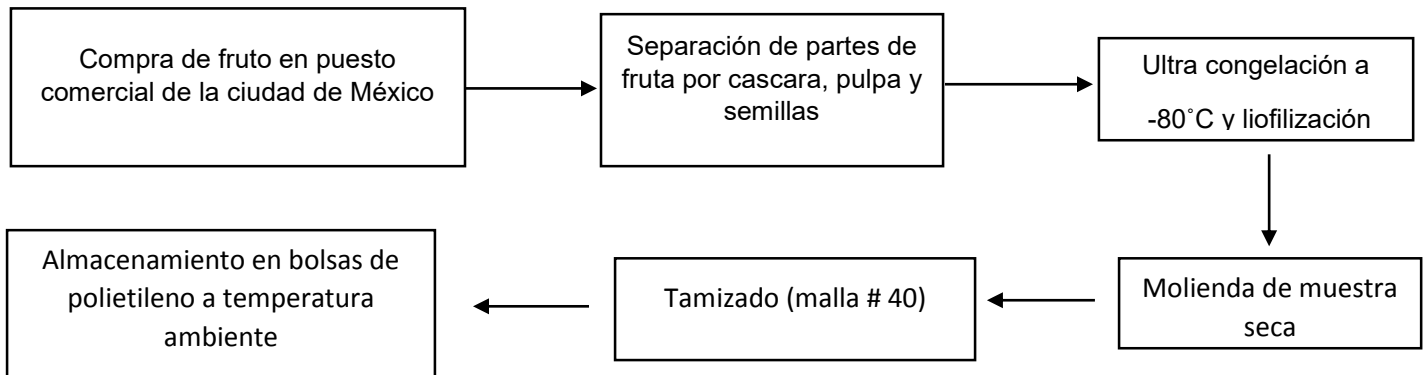


Diagrama 5.1-Plan general de trabajo del proyecto

5.1-Obtención y preparación de las muestras

En esta etapa se consiguieron las muestras comerciales para su análisis y se prepararon para su almacenaje y para su análisis posterior.

Diagrama de flujo de la etapa 1 del proyecto



5.1.1-Descripción de Etapa 1

Recolección de las muestras

El xoconostle se compró el 11/08/2015 en la ciudad de México en el Mercado San Pedro de los Pinos, el cual provenía de la central de abastos.

La papaya y el mamey se compraron el 18/08/2015 en la ciudad de México en la Comercial Mexicana Mixcoac.

El capulín utilizado estaba previamente liofilizado en el laboratorio ya que este fruto se da en los primeros meses del año y no había disponible en el mercado en el mes de Septiembre en el que comenzó la experimentación.

El piñón que proviene de Guanajuato se compró el 4/8/15, a la empresa Dulces y botanas SA en la sucursal Jesús María ubicado en la colonia centro delegación Cuahutemoc. Las muestras fueron molidas hasta formar una pasta y se guardaron en congelación hasta su uso.

Preparación de muestras

Los frutos se separaron en cascara, pulpa y semillas, cada una se pesó y se almacenaron a -80° C en el utracongelador, las muestras congeladas fueron colocadas en un liofilizador para su secado. Las muestras secas se molieron en una licuadora, posteriormente se realizó un tamizaje con malla #40 y fueron depositadas en bolsas de polietileno y almacenadas a temperatura ambiente.

Determinación de humedad

Se pesaron cada una de las partes de fruta y se tomó el peso húmedo. Una vez seca la muestra se determinó la humedad después de tener el peso seco (cascara, pulpa y semillas), el valor se obtuvo realizando solo una vez el secado por liofilización que duró 48 horas.

El contenido de humedad se calculó utilizando la siguiente fórmula:

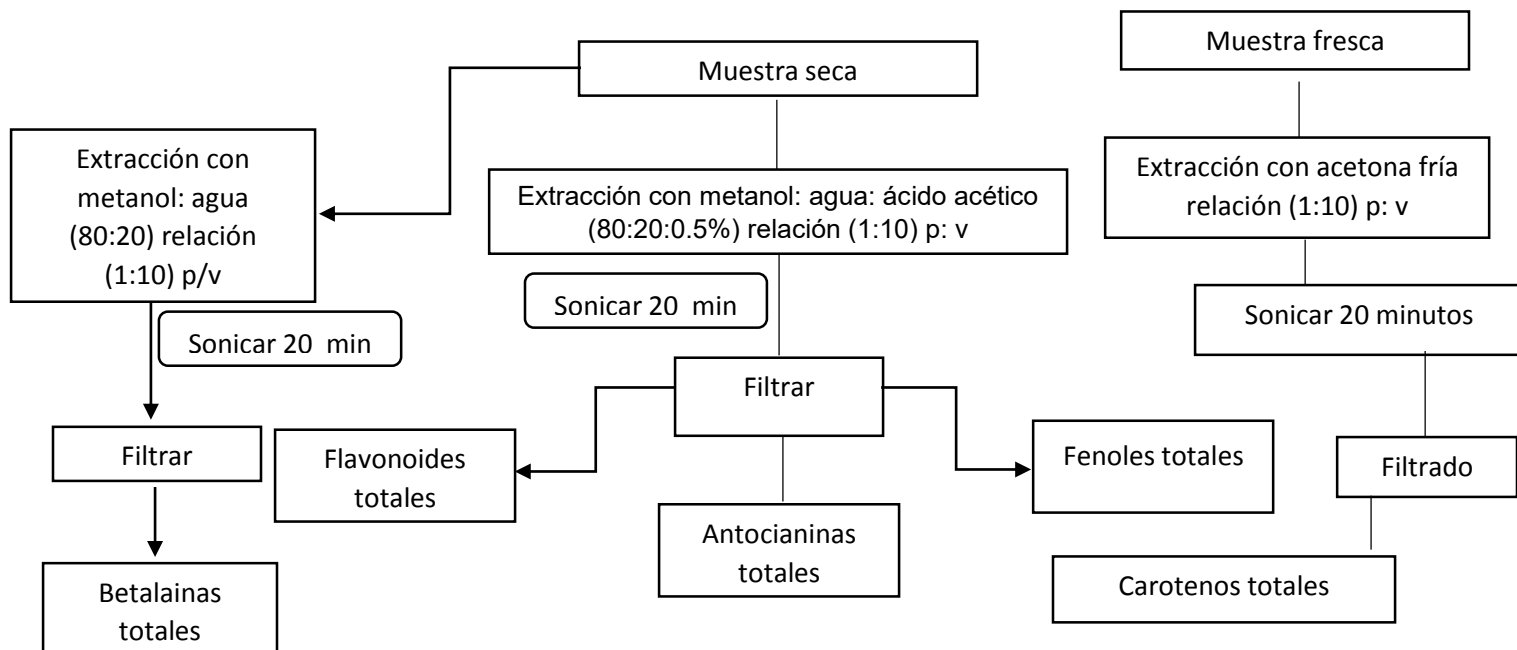
$$\% \text{ Humedad} = \frac{PMH - PMS}{PMH} * 100$$

Donde:

- PMH: peso de la muestra húmeda en g
- PMS: peso de la muestra seca en g

5.2-Estudio de fitoquímicos totales

En el siguiente diagrama se muestra la estrategia general de extracción de los fitoquímicos totales el cual consiste en la preparación de extractos para después ser cuantificados por los métodos respectivos.

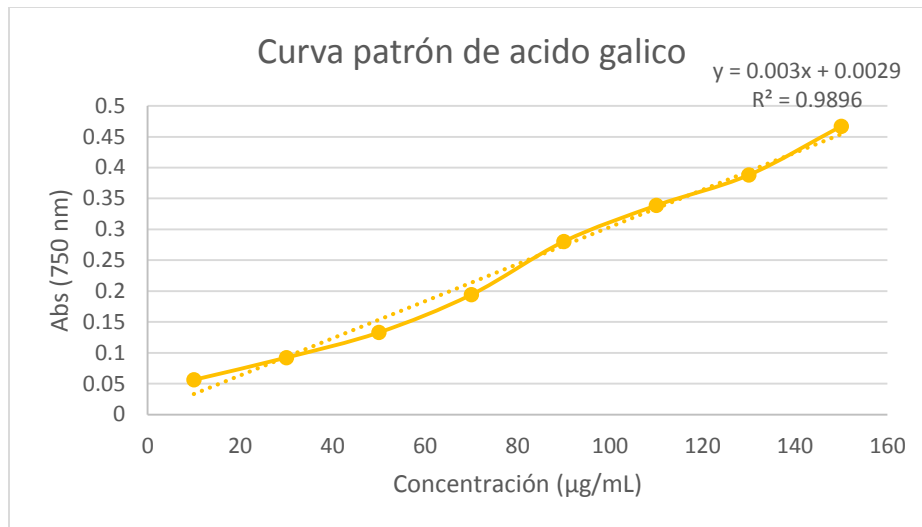


5.2.1-Descripción de la etapa 2

Fenoles totales

La concentración de los compuestos fenólicos totales se realizó con el ensayo espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. A partir del extracto obtenido como se explica en el diagrama previo, se tomaron 100 μL del extracto metanoico, se agregó 2 mL de carbonato de sodio al 2% y se agitó por dos minutos después se agregó el reactivo de Folin-Ciocalteu diluido (1:1) en agua y dejó reaccionar por 30 minutos para leer a una absorbancia a 750 nm.

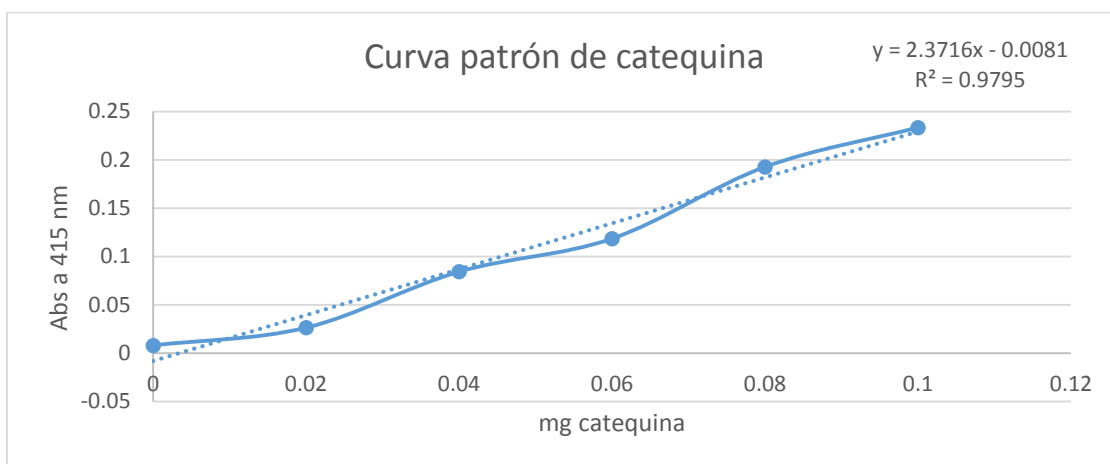
Para conocer la concentración de polifenoles totales se elaboró una curva patrón con ácido gálico.



Flavonoides totales

Los flavonoides totales se midieron por un ensayo colorimétrico similar al usado por (Pavan et al., 2014), a partir del extracto obtenido se tomó 1 mL de muestra y se agregaron 1.4 mL de agua y 300 µL de nitrito de sodio al 5% y se esperó 5 min. Después se agregaron 300 µL de cloruro de aluminio al 10%, 2 mL de sosa 1 M y se llevó a un volumen de 10 mL con agua para ser leído a 415 nm.

Para conocer la concentración de flavonoides se realizó una curva patrón usando como estándar catequina.



Antocianinas totales

El método usado para la determinación de antocianinas totales fue el de pH- diferencial, el cual es un método espectrofotométrico que muestra el contenido de antocianinas totales y se basa en el cambio de color que tienen las antocianinas a diferente pH (Aquilera-Órtiz, Alanis-guzmán, García-Díaz, & Hernández-Brenes, 2009).

A partir del extracto se colocan en tubos de ensayo 1800 μL de buffer de cloruros y buffer de acetatos cada uno por separado para después agregar en cada tubo 200 μL de la muestra.

Finalmente se lee a dos longitudes de onda (510 y 700 nm) y se calcula las antocianinas totales de acuerdo a la siguiente fórmula.

$$\text{Abs} = (A_{c510 \text{ nm}} - A_{c700 \text{ nm}}) - (A_{a510 \text{ nm}} - A_{a700 \text{ nm}})$$

Donde A_c es absorbancia de cloruros y A_a es absorbancia de acetatos

$$\text{AT} = \frac{\text{Abs} * \text{PM} * 10^3}{\epsilon * 1}$$

Dónde: Abs es la absorbancia total, PM es el peso molecular de la cianidina 3-glucosido (449.2 g/mol), ϵ es el coeficiente de extinción molar de la cianidina 3-glucosido (26900 L/cm*mol)).

Carotenos totales

El sistema de doble enlace conjugado constituye el cromóforo que absorbe luz el cual da a los carotenos su color atractivo y provee el espectro de absorción visible que sirve como base para su identificación y cuantificación. El color también permite un monitoreo visual de la separación de carotenos en matrices complejas y en cromatografía en columna, y principalmente por eso esta técnica clásica sigue como una opción viable para el análisis cuantitativo de carotenos.

Los carotenos al ser termosensibles se extrajeron con acetona fría para después ser extraído el β -caroteno con n-hexano relación (1:1), en dos extracciones. A continuación se realizó un lavado con 100 mL de agua por duplicado para eliminar la acetona de la fase hexanica.

Ya obtenido el extracto se hizo un barrido en el espectrofotómetro de 300 a 600nm observando un pico máximo en 450nm el cual pertenece al β -Caroteno, se tomó la absorbancia, cuidando que estuviera en el intervalo (0.3 a 0.7) para asegurar la linealidad postulada en la ley de Lambert

y Beer y se cuantificaron los carotenos totales en relación a la siguiente fórmula.(Rodriguez, 2001).

$$C = \frac{A * V * 10^6}{A^{1\%} * 100}$$

Donde:

C: μg de carotenos totales

V: volumen de extracción en mL

A: absorbancia en una longitud de onda

$A^{1\%}$: Coeficiente de absorción del caroteno en el solvente utilizado, en el caso del β -caroteno en hexano es 2592.

Betalainas totales

Para cuantificar las betalainas totales presentes en el xoconostle se utilizó en método espectrofotométrico de (García-Cruz & Salinas-moreno, 2012).

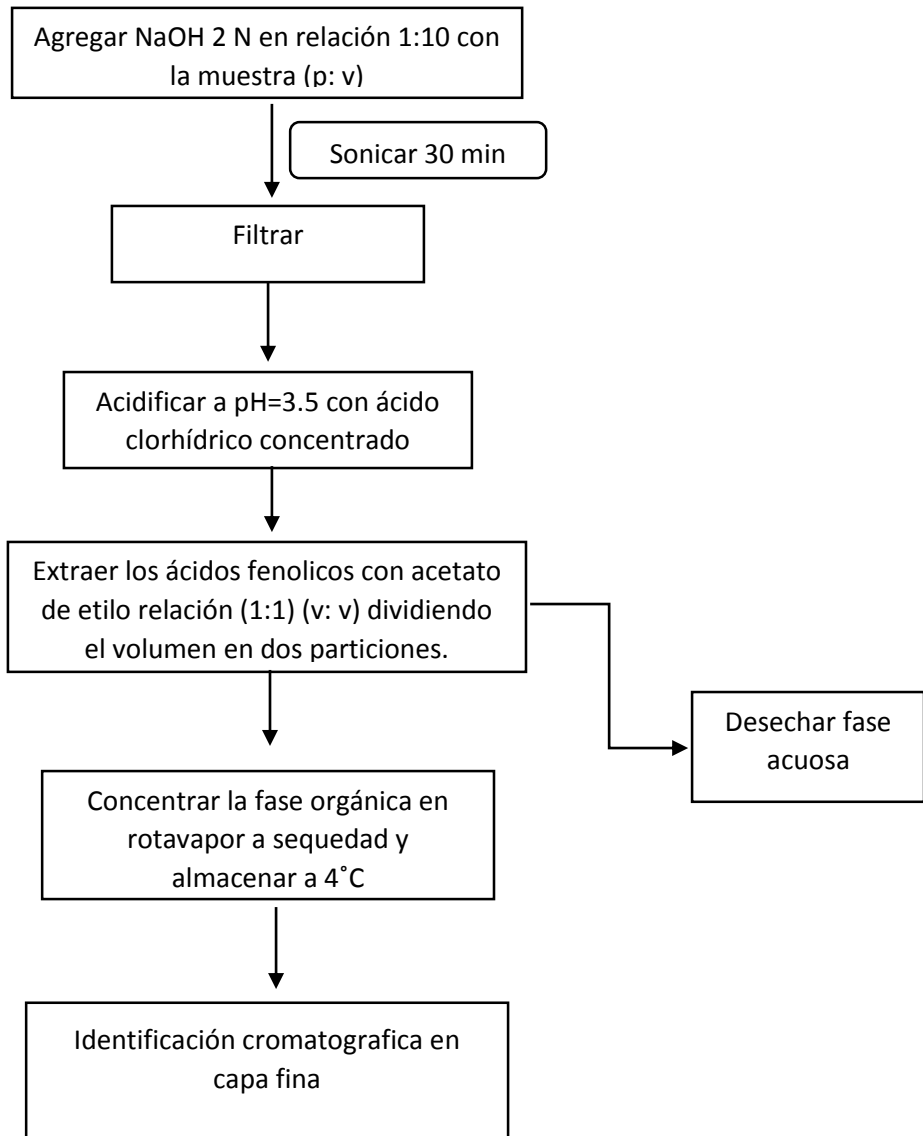
Se leyó directamente del extracto la absorbancia a 535 nm la cual corresponda a las betacianinas y se cuantifico de acuerdo a la siguiente fórmula.

$$B \text{ (mg betacianina/gmuestra)} = \frac{A * FD * PM * V}{\epsilon * P * L}$$

Donde A es la absorbancia a 535 nm , FD es el factor de dilución en la celda, PM es el peso molecular de la betanina 550 g/mol, V es el volumen del extracto, ϵ es el coeficiente de extinción molar de la betanina 60000 L/ mol*cm y L es la longitud de la celda.

5.3-Identificación de ácidos fenólicos

Esta etapa consistió en extraer e identificar los ácidos fenólicos presentes en las cascara de las muestras.



5.3.1-Descripción de la etapa 3

Hidrólisis alcalina y extracción

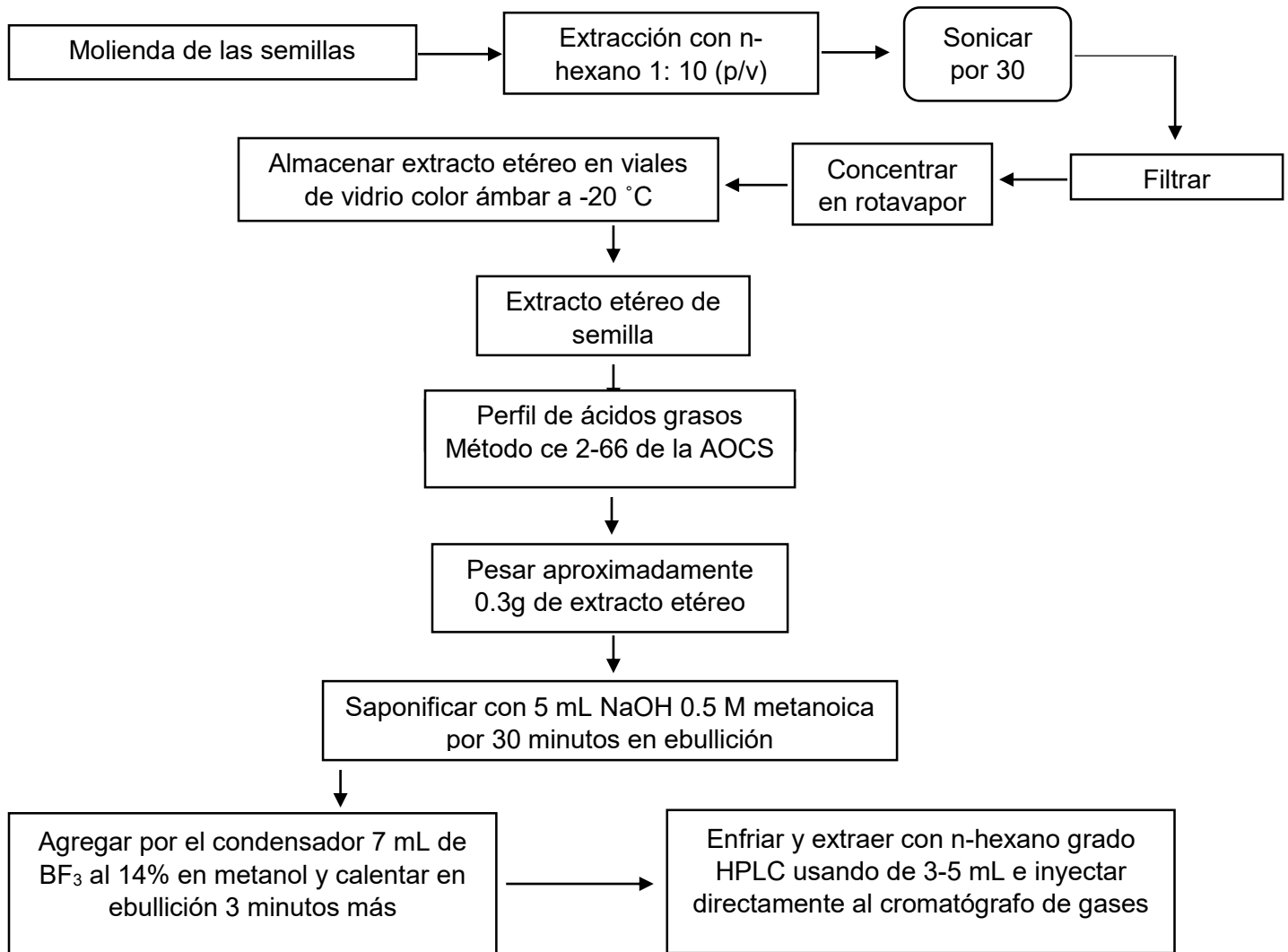
Se pesaron los gramos de cascara seca de las muestras, se agregó hidróxido de sodio 2 M en relación 1:10 (p/v) y se sónico durante 30 minutos para hidrolizar los ácidos fenólicos enlazados a la pared celular para su extracción posterior.

El pH se ajustó a 3.5 para cambiar la forma de sal a la ácida de los ácidos fenólicos y extraerlo con acetato de etilo. La fase orgánica fue recuperada y concentrada para obtener el extracto utilizado en la identificación de ácidos fenólicos.

Identificación con cromatografía en capa fina

Una vez obtenidos los extractos secos se resuspendieron en 3 mL de metanol y se realizó una cromatoplaqueta usando como eluyente Hexano: Acetato de etilo: Ácido acético (1:1:0.5%). La placa se reveló con cloruro férrico al 1% en 1-butanol para identificar los posibles compuestos comparando el R_f en la placa y el color con respecto a los estándares. Se realizó una segunda placa revelando ahora con DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate) un radical libre que sirve como indicador para actividad antioxidante.

5.4-Estudio del extracto etéreo de las semillas



5.4.1-Descripción de la etapa 4

Perfil de ácidos grasos

El perfil de ácidos grasos del extracto etéreo de las semillas se realizó según el método ce 2-66 de la AOCS por triplicado.

A partir del extracto etéreo recuperado de la harina de la semilla se pesaron 0.3 g y se colocaron en un matraz de bola de 50 mL junto con 6 mL de NaOH 0.5 M en metanol para ser puestos en un sistema a reflujo para realizar la saponificación de los triacilgliceroles. Se calentó a ebullición durante 30 minutos y se agregaron por el condensador 7 mL de BF₃ en metanol al 14% y se calentó por 3 minutos más.

Una vez enfriado el medio de reacción se colocó en un embudo de separación de 60 mL, se agregaron 15 mL de una solución de cloruro de sodio saturada y se agitó vigorosamente por 15 segundos para mejorar la extracción de los metil ésteres de los ácidos grasos. Se extrajeron con 4mL de n-hexano grado HPLC, se colocaron en viales para cromatografía de gases y se cuantificaron los ácidos grasos presentes.

Análisis cromatográfico

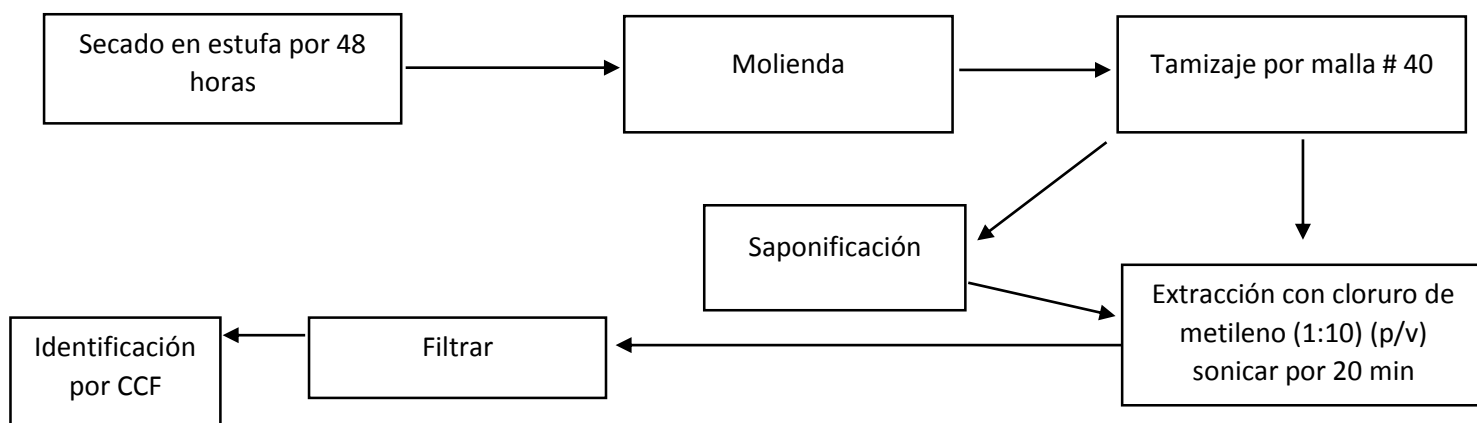
El perfil de ácidos grasos se determinó mediante la inyección de 1 µL de los ésteres metílicos diluidos en n-hexano grado HPLC. Fueron analizados en CG Agilent 6890N con un detector FID. Se empleó una columna HP-INNOWAX con diámetro interno de 0.25 mm, 30 m de longitud y 0.25 µ de película. Las condiciones del método se mencionan en la siguiente tabla.

Tabla -Condiciones de trabajo cromatográfico

Descripción	Ácidos Grasos
Inyector	220 °C 10.70 psi Total flow 23.3 mL/min
Programa de T	R ₁ :150 °C por 1 min R ₂ :15 °C/min hasta 225 por 5 min R ₃ : 5 °C/min hasta 230 °C por 20 min
Detector FID	275 °C H ₂ :40 mL/min N ₂ :20 mL/min Aire:450 mL/min

Para determinar la concentración de los ácidos grasos se hicieron curvas patrones de los estándares de metil esterres los cuales se muestran en el anexo junto con las cromatografías de los extractos etéreos.

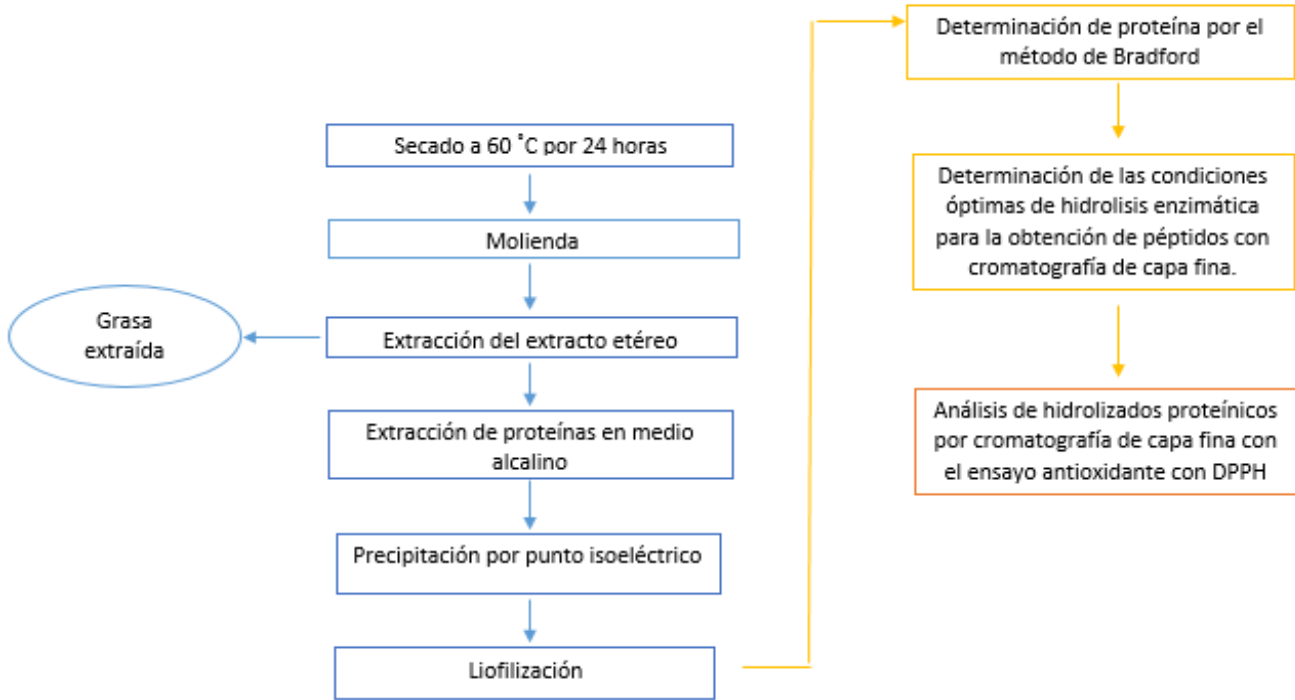
5.4.2-identificación de esteroides y triterpenos pentacíclicos en hojas de árboles de frutas.



Descripción de la identificación de terpenos y fitoesteroides

Las muestras fueron secadas en estufa a 60°C por 24 horas y tamizadas por una malla #40. Las muestras fueron extraídas con cloruro de metileno (1:10; p/v), se filtraron y concentraron en rotavapor, A otra fracción de las mismas muestras se realizó una saponificación previa a la extracción con cloruro de metileno con NaOH 0.5 M metanoica (1:25 p/v) para hidrolizar los posibles enlaces éster de los esteroides y terpenos. Una vez obtenido el extracto se realizó una cromatografía de capa fina para comprar con un estándar de α -amirina y esteroides comerciales, en la cual se utilizó como eluyente hexano:acetato de etilo (9:1) y se reveló con Anisaldehído.

5.5- Extracción e hidrolisis de proteína



La estrategia general aquí planteada en la figura fue la de obtener las proteínas de las semillas de frutas, cuantificar las proteínas por el método de Bradford, conocer las condiciones de hidrólisis que permitan obtener péptidos con actividad antioxidante.

Extracción y cuantificación de proteínas

A partir de las semillas de frutas se secaron a 60 °C por 24 horas y se sometieron a molienda hasta obtener un polvo fino.

Después de la molienda se extrajo el extracto etéreo de la harina producida en la molienda con una mezcla de 5 isómeros de hexano para conseguir la harina desengrasada respectiva.

A los diferentes polvos desengrasados según fue su rendimiento en la molienda se seleccionaron las frutas que se usaron para la extracción de sus proteínas por medio de una extracción alcalina a pH 10.5, la mezcla se almacenó en refrigeración por 24 horas y se

centrifugó a 12000 g. Se separó el sobrenadante y la fase sólida se descartó. Las proteínas se precipitaron llevando al sobrenadante al punto isoeléctrico de las proteínas a un pH de 4.5.

Nuevamente se centrifugó a 12000 g y se separó el sobrenadante del precipitado proteínico por decantación y filtración rápida (Wani, Kaur, Ahmed, & Sogi, 2008).

Las proteínas se liofilizaron y se almacenaron en refrigeración a 4°C para su uso posterior.

A las harinas desengrasadas se les determinó la proteína total por el método de Bradford para analizar la eficacia de la extracción realizada.

Se realizó una curva estándar con albumina sérica bovina y se obtuvo una correlación de los datos de $r^2 = 0.988$, siendo la ecuación de la recta $y = 0.0304x + 0.2188$, donde $[y] = \text{Abs a } 595 \text{ nm}$ y $[x] = \mu\text{g proteína/mL}$

Sabiendo la absorbancia de una muestra, se puede conocer su concentración de proteína,

teniendo la ecuación: $x = \frac{y - 0.2188}{0.0304}$

Ejemplo de cálculo: (xoconostle)

$$X = \frac{0.5408 - 0.2188}{0.0304} = 10.59 \mu\text{g proteína/mL} \quad \frac{10.59 \mu\text{g prot}}{\text{mL}} \times \frac{1 \text{ mg prot}}{1000 \mu\text{g prot}} \times \frac{50 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times \frac{10 \text{ mL}}{0.02 \text{ g harina}}$$

= 264.8 mg proteína/g harina desengrasada

Hidrólisis enzimática

Para conseguir los péptidos de las proteínas, se probaron las dos enzimas propuestas a las siguientes condiciones:

Tabla- Condiciones de hidrólisis probadas

Parámetro/Enzima	Alcalasa	Papaína
pH	8	7.5
Temperatura	50°C	35°C
Tiempo (min)	15,30,45,60	15,30,45,60
Concentración (Wenzima/proteína)	1/100 2/100 3/100 4/100	1/100 2/100 3/100 4/100

Cada muestra seleccionada fue sometida con cada enzima a diferentes concentraciones de la enzima con respecto a la proteína, manteniendo constante el tiempo máximo a una hora, la temperatura y pH óptimos teóricos de la enzima. Para la alcalasa su pH y temperatura de actividad óptima son 8 y 50 °C respectivamente, mientras que para la papaína es 7 y 37 °C.

Se dio seguimiento a la hidrólisis enzimática por medio de cromatografía en capa fina usando como eluyente n-Butanol-ácido acético glacial-agua (60:15:25, v/v) y revelando con ninhidrina para conocer el tiempo de hidrolisis necesario para conseguir péptidos y el tiempo máximo para no hidrolizar hasta aminoácidos.

6-Resultados y discusión

Los resultados que se presentan en el siguiente orden:

Preparación de muestras	<ul style="list-style-type: none">• Partes de fruta• Determinación de humedad
Determinación de fitoquímicos totales	<ul style="list-style-type: none">• Fenoles totales, flavonoides totales, antocianinas totales, carotenos totales, betalainas totales.
Identificación de ácidos fenólicos	<ul style="list-style-type: none">• Extracción de compuestos fenólicos• Identificación por cromatografía de capa fina
Estudio del extracto etéreo de las semillas	<ul style="list-style-type: none">• Perfil de ácidos grasos• Identificación de esteroides y triterpenos pentacíclicos
Extracción e hidrólisis de proteína de las semillas	<ul style="list-style-type: none">• Extracción de proteína soluble• Hidrólisis enzimática

6.1-Obtención y preparación de muestras

En esta parte se consiguieron las muestras a analizar en diferentes puntos de venta de la ciudad de México. Las frutas se prepararon de acuerdo a la metodología descrita, se determinó la humedad de la cascara, pulpa y semillas por separado de los alimentos evaluados, las fracciones que no fue posible determinar su humedad se investigó en la literatura.

En la figura 6.1 se observa la proporción entre cascara, pulpa y semillas con respecto al fruto entero.

Figura 6.1-Proporciones de las partes de frutas

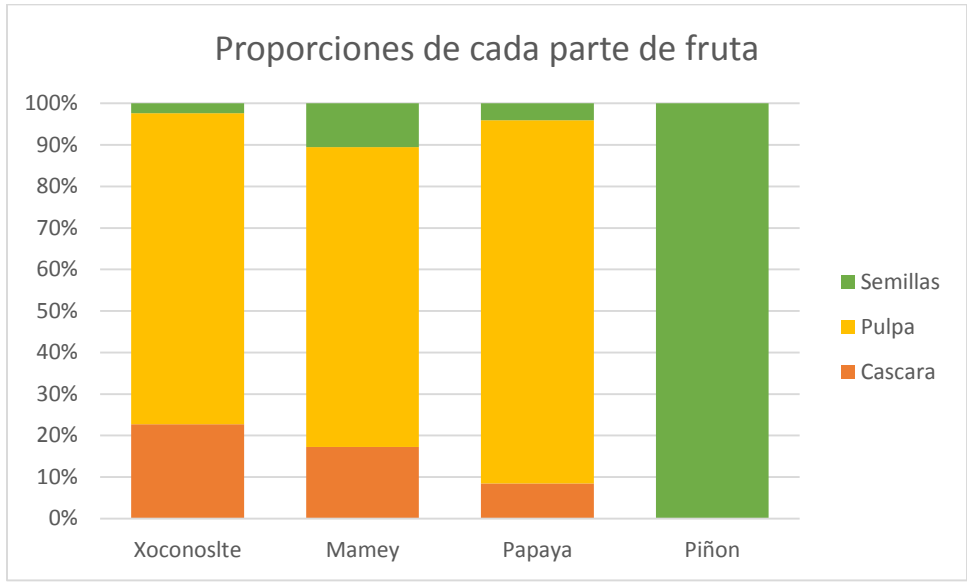


Tabla 6.1- Humedad relativa de los alimentos de estudio, reportado en % de humedad base húmeda. La humedad del capulín se tomó de las tablas de composición de Alimentos Mexicanos del instituto nacional de nutrición

Fruta	Cáscara	Pulpa	Semillas
Mamey	46.43%	75.1%	39.51%
Xoconostle	89.74%	93.24%	73.95%
Papaya	88.43%	91.20%	85.34%
Piñón	-	-	2.65%
Capulín	-	79.6%	7.04%

Las muestras con más humedad en la cáscara fueron el xoconostle y la papaya con 89.74% y 88.43% respectivamente, al igual que con la cáscara el xoconostle y la papaya tuvieron la mayor humedad en su pulpa con 93.24% y 91.20 % mientras que las muestras con menor humedad fueron el piñón y el mamey. (Osorio-Esquivel et al., 2011) reporta una humedad parecida para la cascara y la pulpa del xoconostle con 89.6% 91.9% respectivamente.

Las semillas de papaya presentaron el mayor contenido de humedad de todas y fue similar respecto a lo reportado por (Chielle, Bertuol, Meili, Tanabe, & Dotto, 2016). con una humedad de 79.0%. Las semillas con menor humedad fueron las del piñón, con un valor más bajo que el reportado por (Kadri et al., 2015), la cual se reporta para *Pinus pinea* una humedad de 8.47%. La humedad de las semillas de piñón es similar a otras semillas secas, siendo oleaginosas como Colza y girasol o leguminosas como la soya (8 a 12%).

6.2-Estudio de fitoquímicos totales.

6.2.1- Fenoles totales

Para la preparación de los extractos se utilizó como disolvente metanol: agua (80:20) para después realizar el método de cuantificación de folin-ciocalteu, el cual no en todas las metodologías de la literatura fue utilizado, por lo que aunque no es posible una comparación exacta se propone con fines de referencia.

La concentración de fenoles totales y su comparación a lo reportado recientemente se muestra en la figura 6.2.

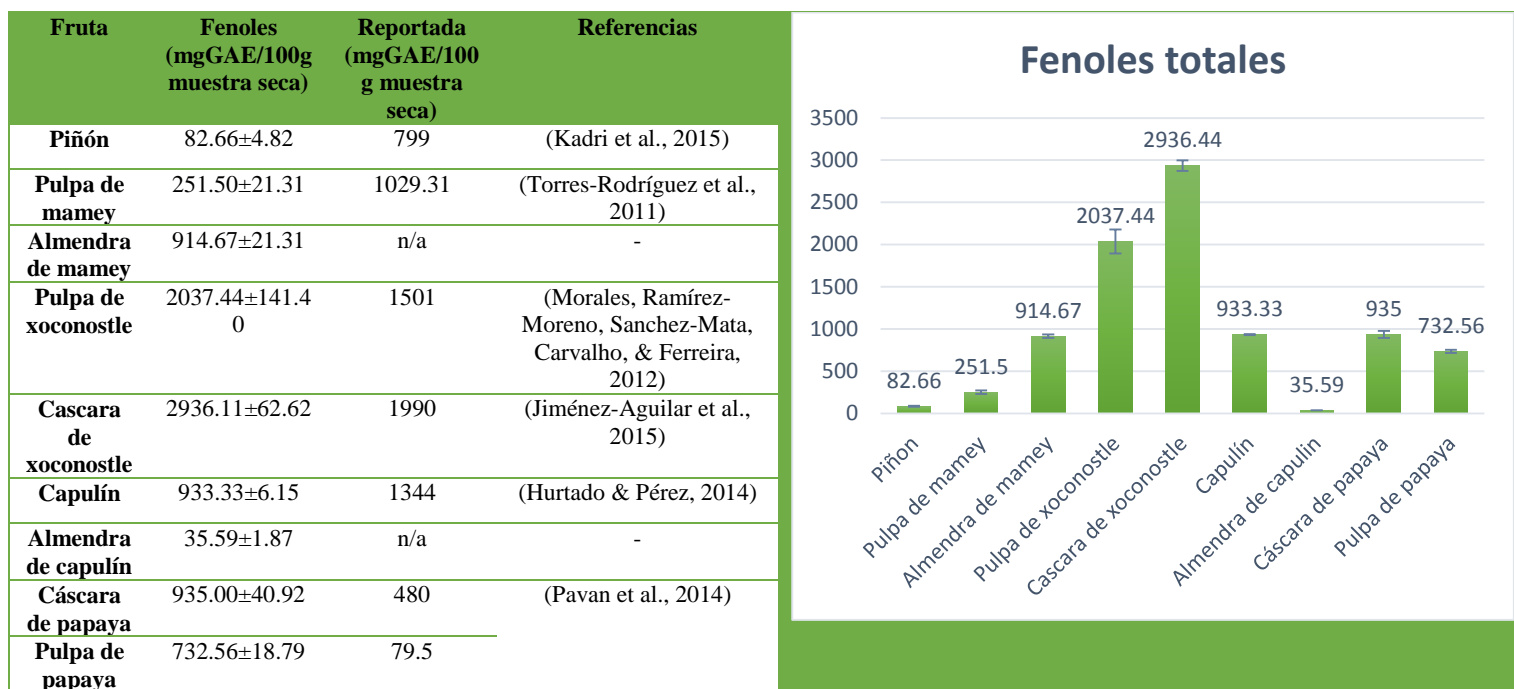


Figura 6.2- Compuestos fenólicos totales de las muestras, los resultados se expresan en mg de ácido gálico/100 g de muestra seca

La composición de polifenoles en las frutas puede ser afectada por muchos factores como por ejemplo la variedad, el estado de maduración, el área de cultivo, el tiempo de cosecha, las condiciones climáticas y la naturaleza de la fruta (climatérica o no climatérica).(Belhadj et al.,

2016). Por estas razones hubo tanto semejanzas a lo reportado como diferencias a los resultados obtenidos.

Los resultados del análisis del contenido total de polifenoles en los extractos metanoicos demostraron que el xoconostle es una buena fuente de compuestos fenólicos. La concentración de fenoles totales expresada como mg GAE/100 g muestra seca (Gallic acid equivalent; equivalentes de ácido gálico). Fue mayor en la cáscara de xoconostle con 2936.4 ± 62.62 , seguido de la pulpa de xoconostle con 2037.44 ± 141.40 . Los compuestos fenólicos ayudan a proteger a la planta en contra de la luz ultravioleta, y actúa como defensa en contra microorganismos patógenos en plantas. Este tipo de protección podría ser necesario para la fruta ya que esta crece en zonas semi áridas y podría explicar el alto contenido de fenoles en el pericarpio del xoconostle, seguido del mesocarpio de este (Osorio-Esquivel et al., 2011).

Se reportó por (Osorio-Esquivel et al., 2011), que los fenoles mayoritarios en el pericarpio de xoconostle son los ácidos cafeico y protocatecuico, mientras que en el mesocarpio solo se encuentra el ácido protocatecuico pero en menor cantidad.

La segunda fruta con mayor cantidad de polifenoles fue el capulín con 933.33 ± 6.15 , menor al valor reportado por (Hurtado & Pérez, 2014) con 1344 mg GAE/100 g de muestra seca.

La muestra con menor cantidad de polifenoles fue la almendra de capulín y el piñón con 35.59 ± 1.87 y 82.66 ± 4.82 respectivamente, el piñón varío en gran medida con lo comparado a la especie *Pinus pinea* la cual contiene 799, esto se debe a que en extracto metanoico el contenido total de fenoles y flavonoides varía de una especie a otra en semillas de pino ya que depende de la zona de cultivo y la especie misma (Kadri et al., 2015).

6.2.2-Flavonoides totales

Se utilizaron las mismas condiciones de extracción que se utilizaron en los compuestos fenólicos totales con la finalidad de conocer en qué porcentaje se encuentran los flavonoides respecto al contenido fenólico total.

La cantidad de flavonoides totales y la comparación respecto a lo reportado en la literatura se muestra en la figura 6.3.

La concentración de flavonoides totales se reporta como mg de equivalentes de quercetina/100 g de muestra seca.

La concentración de flavonoides se asemejo al comportamiento de los fenoles totales aunque fue notablemente menor en el caso de la pulpa de xoconostle, lo cual indica que solo 0.951% de los compuestos fenólicos son flavonoides, esto coincide con el resultado obtenido por (Osorio-Esquivel et al., 2011) quienes reportan que en el mesocarpio los fenoles predominantes son los ácidos hidroxibenzoicos. La cascara una vez más presentó una mayor cantidad de flavonoides que las demás muestras con 1370.62, lo cual representa 46.67% del contenido de fenoles totales de la muestra. La fruta que tuvo la mayor cantidad de flavonoides (835.61 ± 28.99) en relación a la concentración de los compuestos fenólicos totales fue el capulín con 89.53%, este resultado tiene sentido debido a la presencia de antocianinas características del género *Prunus*.

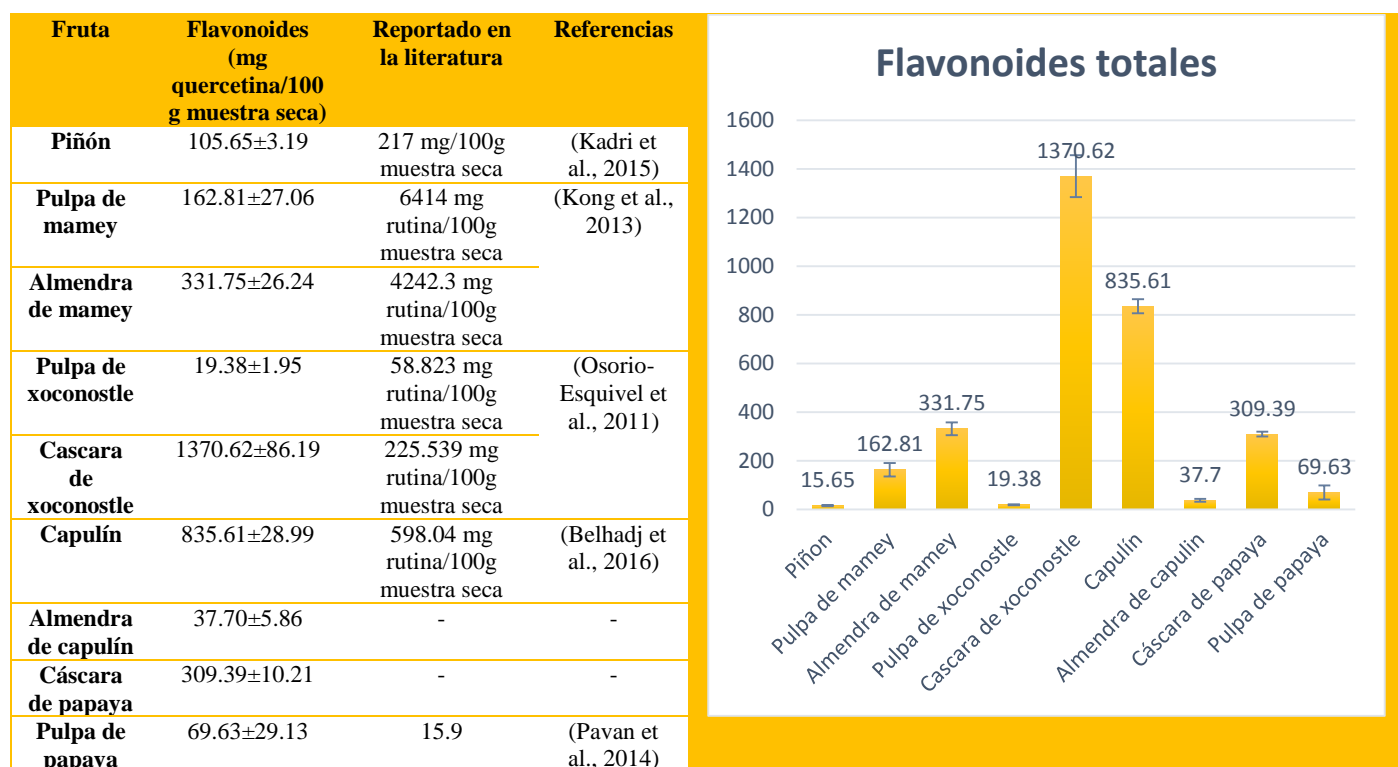


Figura 6.3-Flavonoides totales de las muestras, los resultados se expresan en mg de quercetina/100 g de muestra seca

El capulín presentó una mayor concentración de flavonoides con respecto a lo reportado por (Belhadj et al., 2016) 598.04, esto podría ser porque el contenido de flavonoides difiere y depende de la variedad y en el estado de maduración del fruto.

Tanto en la determinación de fenoles totales como en la de flavonoides totales se observó una baja concentración en las semillas respecto a la cáscara y en pulpa por lo que estas no son una buena fuente de obtención de compuestos fenólicos libres.

6.2.3-Antocianinas totales

El capulín fue a la única muestra que se determinó el contenido de antocianinas totales ya que es la única fruta seleccionada con una concentración apreciable.

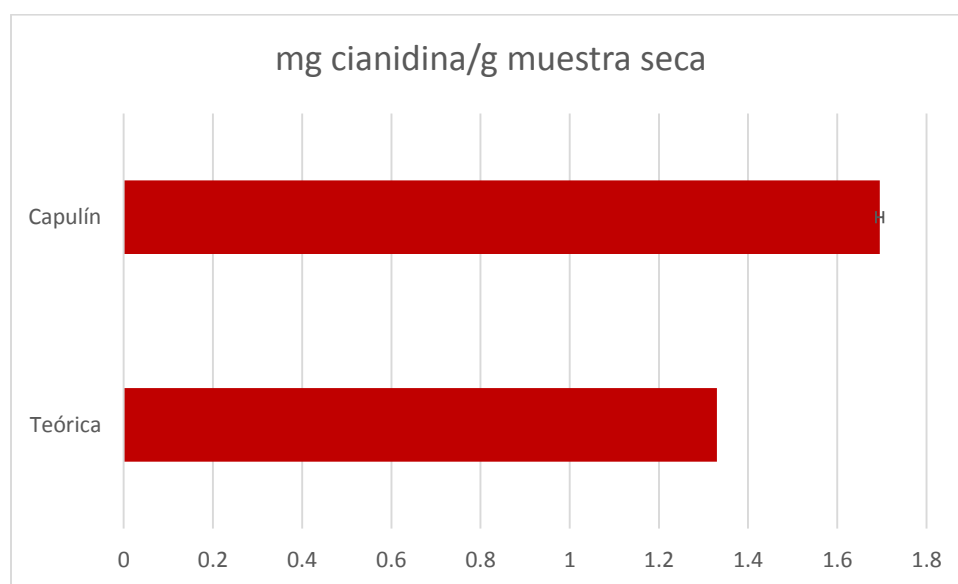


Figura 2.4-Antocianinas totales del fruto entero de capulín, comparado respecto a lo reportado por (Ordaz-Galindo et al., 1999).

La concentración total de antocianinas del fruto entero es 1.695 ± 0.008 mg de cianidina 3-glucosido/g muestra seca, valor que se asemeja mucho al estudio realizado por (Ordaz-Galindo et al., 1999) el cual es 1.554 mg de cianidina 3-glucosido/g muestra seca. Siendo la cianidina-3-glucosido y la cianidina-3-rutinosido (en mayor proporción) como las antocianinas mayoritarias en *Prunus serótina*. Otras frutas que se han reportado en tener estas antocianinas son el ruibarbo, la frambuesa, zarzamora y pasas.

6.2.4-Carotenos totales

La concentración de carotenos totales se reportó en base a mg de β -caroteno/100g de muestra seca debido al interés por su actividad antioxidante y pro vitamina A.

El contenido y tipos de carotenos en plantas dependen de varios factores pre y post cosecha, genotipo, tiempo de madurez, método de cultivo y condiciones climáticas y procesamiento.

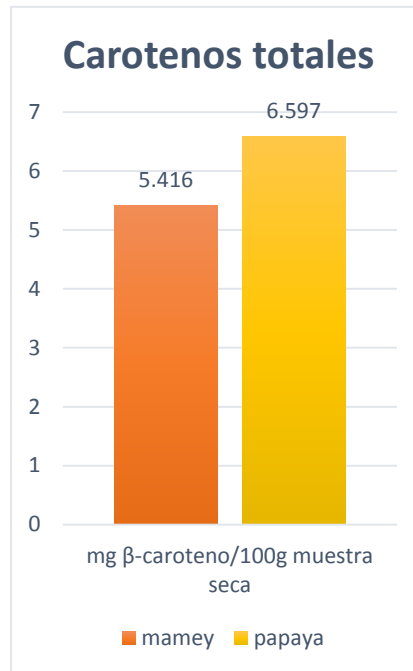


Figura 6.5-Carotenos totales reportados en beta caroteno de la papaya y del mamey

La fruta con la mayor concentración de carotenos totales fue la papaya con 6.597 y el mamey con 5.416 comparado con el estudio de (Gayosso-García Sancho et al., 2011). muestra que la cantidad de carotenos en la papaya es muy variable, el cual depende del estado de maduración del fruto, los valores obtenidos están en un intervalo de 10.454 a 37.159 mg de β -caroteno/100 g. También la diferencia de concentración determinada en comparación con la reportada podría deberse porque para la mayoría de los vegetales, el secado resulta en una pérdida de 10 a 20% de carotenos. (Saini et al., 2015).

Los equivalentes de retinol de la concentración de carotenos de las frutas en base seca serian 902.66 RE/100 g fruto seco para el mamey y 1099.5 RE/100 g de fruto seco para la papaya, lo que significa que con 100 g de ambos frutos considerando una actividad biológica del 50% la IDA para mujeres queda cubierta y la de los hombres solo con la papaya. (Saini et al., 2015).

6.2.4-Betalainas totales

El xoconostle es el único fruto de las muestras seleccionadas que presenta este tipo de compuestos.

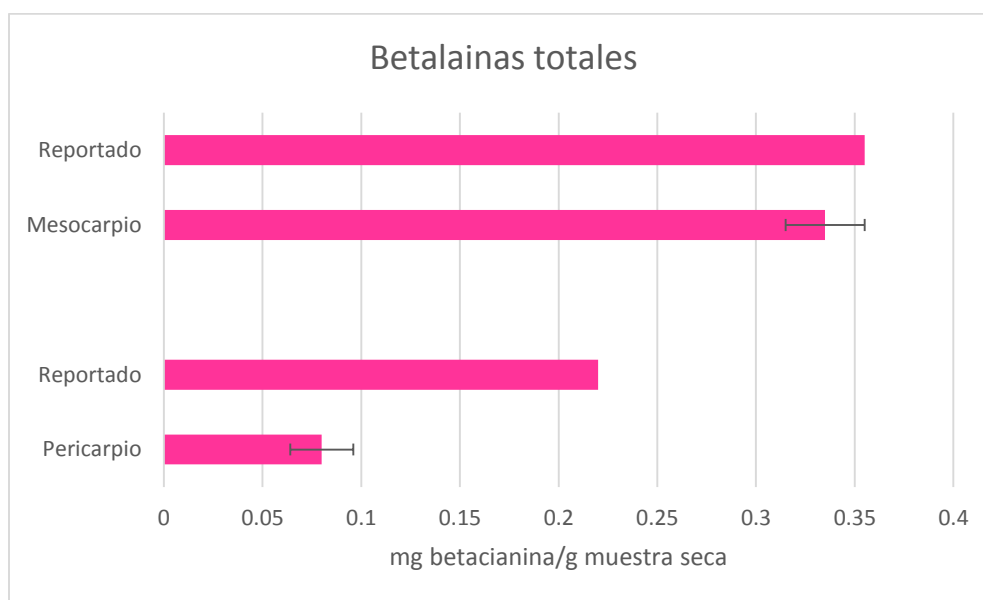


Figura 6.6-Betalainas totales del xoconostle comparado con lo reportado por (Osorio-Esquivel et al., 2011).

La concentración de betalainas totales reportadas en mg de betanina/g muestra seca fueron en el mesocarpio con 0.335 el cual fue mayor que en el pericarpio con 0.08 mg, comportamiento similar a lo reportado en la literatura los cuales son 0.22 mg betacianina/g muestra seca para el pericarpio y 0.355 mg betacianina/g muestra seca para el mesocarpio, asimismo se reporta en mg de betacianina debido a que los picos máximos de absorción espectrofotométrica se encuentran entre 534 a 538 nm mientras que no hay picos en 470 a 480 nm lo que indica la ausencia de betaxantinas en el xoconostle (Osorio-Esquivel et al., 2011).

6.3-Identificación de ácidos fenólicos

6.3.1- Extracción de compuestos fenólicos

Después de la hidrólisis alcalina el extracto se acidifica hasta un pH de 3.5 para protonar el ácido carboxílico pK_a (4 a 5) y facilitar su extracción con un solvente orgánico. Los ácidos fenólicos de la pared celular fueron extraídos con acetato de etilo, se eligió a este disolvente debido a que se menciona en trabajos publicados donde se utiliza para extracción de fitoquímicos como ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas. (Kushwaha & Karanjekar, 2011).

Los extractos se llevaron a sequedad en un rotavapor y se pesaron para conocer el rendimiento del extracto obtenido. Los datos se muestran en la tabla 6.2.

Tabla 3.2-Rendimientos de extracción de la hidrólisis alcalina de las cascara de fruta

Muestra	mg extracto/g cascara seca
Cáscara de mamey	10.233±4.371
Cáscara de semilla de mamey	10.350±2.950
Cáscara de capulín	4.333±1.678
Cáscara de xoconostle	6.750±0.150
Cascara de papaya	5.233±1.034

Los datos que se reportan a continuación están en mg de extracto obtenido/g de cascara seca. La cáscara de semilla de mamey fue la que tuvo mayor rendimiento de extracción con 10.350, seguida de la cáscara exterior con un valor semejante con 10.233, mientras que la menor fue el capulín con 4.333. La diferencia entre las muestras indica que a las condiciones de hidrolisis probadas el mamey presentó el mejor rendimiento y podría indicar que es el que contiene mayor cantidad de ácidos fenolicos aunque es probable que las condiciones de hidrolisis implementadas en la metodología no sean la óptimas para las muestras, ya que se han reportado condiciones de hidrolisis alcalina de ácidos fenólicos con concentraciones de NaOH 1-4 M (Stalikas, 2007). y hasta de 2-10 N (Kushwaha & Karanjekar, 2011). Como también el procedimiento de extracción (maceración, sonicacion, reflujo, ect.) por lo que podría mejorar la

cantidad de extracto obtenido de cada una de las muestras con un estudio más profundo respecto a las condiciones óptimas de extracción.

6.3.2-Identificación por cromatografía de capa fina

Para realizar la identificación cualitativa se utilizó la cromatografía de capa fina, usando como eluyente Hexano: Acetato de etilo: Ácido acético (1:1:0.5%). Revelando la cromatoplaqueta con cloruro férrico al 1% en 1-butanol para identificar a los ácidos fenólicos respecto a la coloración de los estándares utilizados.

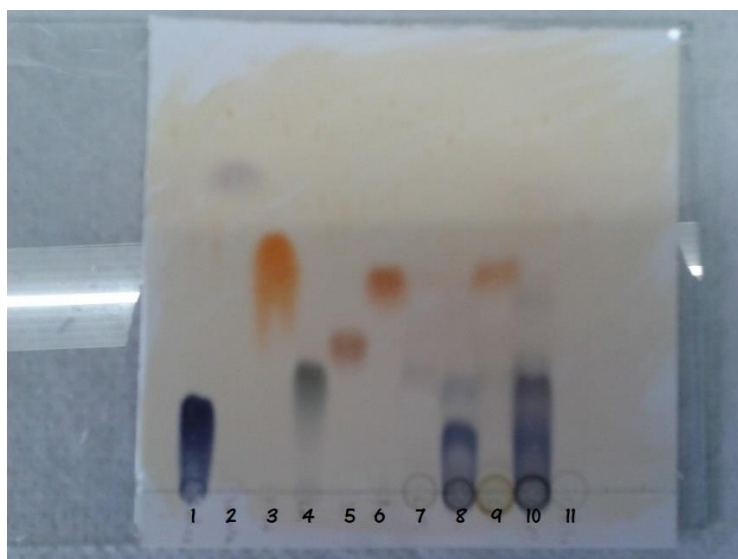


Figura 6.7-Ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos en las cascara de las frutas; de izquierda a derecha: 1 Ácido gálico, 2 vainillina, 3 Ácido P-cumárico, 4 Ácido Cafeico, 5 Ácido Sináptico, 6 Ácido ferúlico, 7 Cascara de papaya, 8 Cascara de mamey, 9 Cascara de xoconostle, 10 Cascara de semilla de mamey, 11 Cascara de capulín.

En la figura 6.7 se muestra en el costado izquierdo de la cromatoplaqueta las señales de los estándares de los ácidos fenólicos en las posiciones 1 a 6.

Se sabe que las intensidades de color y el área de las bandas son proporcionales a la cantidad del compuesto presente. Se aprecia que en la cascara de mamey y en la cascara de semilla de mamey (posiciones 8 y 10) que, correspondieron a la coloración del ácido gálico y dieron señales que corresponden con su RF de 0.18, lo que sugiere que está presente en *Pouteria sapota*, además la cascara de semilla presento otra señal más pronunciada la cual coincide con el RF de ácido cafeico 0.24. Esto concuerda con (Torres-Rodríguez et al., 2011). quienes reportan la presencia de los ácidos p-hidroxibenzoicos y ácido gálico en el mamey inmaduro,

lo cual probablemente indique que el ácido cafeico provenga de la descomposición del ácido clorogénico durante la maduración.

En la cáscara de papaya se observaron dos señales, una coincidió con el RF del ácido cafeico, mientras que la otra coincidió con el RF del ácido ferúlico 0.45. La cáscara de xoconostle solo presentó una mancha marcada a un RF de 0.47 el cual corresponde al ácido ferúlico. Lo observado concuerda con lo reportado por (Gayosso-García Sancho et al., 2011), en el cual se reporta la presencia de ácido cafeico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico en la semillas de la papaya.

El extracto obtenido en la cáscara de xoconostle mostró la probable presencia de ácido ferúlico ya que la muestra coincide con su RF de 0.45. Se ha reportado en la literatura que el pericarpio de xoconostle contiene una considerable cantidad de ácido cafeico (Osorio-Esquivel et al., 2011), sin embargo en la cromatoplaça la muestra coincide con el ácido ferúlico, lo que podría indicar a que el ácido cafeico, precursor del ácido ferúlico se biotransformo durante la maduración del fruto.

Finalmente la cascara de capulín presento mancha tenue a un RF de 0.67 el cual corresponde a la vainillina. (Bartolomé et al., 2010) reporta la presencia de ácido vainillinico como el principal componente de la cáscara de la semilla de capulín, seguido del ácido p-hidroxibenzoico. Lo cual se podría tratar del ácido vainillinico y no de la vainillina ya que probablemente presentarían RF similares.

En la siguiente tabla se presenta en resumen los ácidos fenólicos identificados por cromatografía de capa fina en las diferentes cáscaras de fruta.

Tabla 6.3-Posible presencia de ácidos fenólicos y vainillina de las cascara de frutas de acuerdo a la cromatografía de capa fina

Ácido fenólico	Cáscara de papaya	Cascara de mamey	Cascara de xoconostle	Cascara de semilla de mamey	Cascara de capulín
Ácido gálico		X		X	
Vainillina					X
Ácido P-cumárico					
Ácido cafeico	X	X		X	
Ácido sináptico					
Ácido ferúlico	X		X		

Para evaluar la presencia de actividad antioxidante en los extractos obtenidos se realizó un ensayo de atrapamiento de radicales libres por lo que se hizo otra cromatoplaca, con las mismas condiciones de elución de la placa anterior pero esta vez se utilizó DPPH como revelador, en el que indica una prueba positiva si el revelador cambia de color morado a amarillo como se aprecia en la figura 6.8.



La prueba de actividad antioxidante resultó positiva para todos los extractos obtenidos, en el que la cáscara de mamey tanto exterior como la de la semilla fueron las que presentaron mayor intensidad a lo que se debe por la concentración y tipos de compuestos presentes en el extracto.

Figura 6.8- Prueba de actividad antioxidante de los extractos de ácidos fenólicos con DPPH, siendo 1-cáscara de papaya, 2-Cáscara de mamey, 3-cáscara de xoconostle, 4-cáscara de semilla de mamey y 5- cascara de capulín.

6.4- Estudio del extracto etéreo de las semillas.

Los lípidos son formados de unidades estructurales con una gran hidrofobicidad. Esta característica de solubilidad es única para esta clase de compuestos. Los lípidos son solubles en solventes orgánicos pero no en agua. La insolubilidad en agua es la propiedad analítica usada para su separación de proteínas e hidratos de carbono.

El procedimiento empleado para el análisis fue el método ce 2-66 de la AOCS el cual consiste que a partir del extracto etéreo se derivatizan los ácidos grasos libres para su análisis

cromatográfico los cuales se hacen reaccionar con metanol en presencia de un catalizador (BF_3) para formar los metil ésteres respectivos de cada ácido graso.

El resultado promedio de los extractos obtenidos se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 6.4-Rendimiento de extracto etéreo con *n*-hexano de la harina de semilla de fruta

Harina de semilla	Rendimiento (g extracto/10g de harina)
<i>Piñón</i>	5.25±0.15
<i>Mamey</i>	4.22±0.065
<i>Papaya</i>	3±0.32
<i>Xoconostle</i>	3.85±0.33
<i>Capulín</i>	3.58±0.15

La semilla que mostró mayor cantidad de aceite/g harina fue el piñón con más del 50% en su peso. En comparación con otras especies, como *Pinus halepensis* (36.73%), *Pinus pinea* (19.78%), *Pinus pinaster* (24.15%) y *pinus canariensis* (23.92%) (Kadri et al., 2015), presentó una mayor concentración de extracto etéreo.

La semilla de mamey en segundo lugar de rendimiento presentó una concentración 42.2%, el cual es un valor cercano al reportado por (Solis F. Ayala T. 2015) 44.41%. Mientras que la semilla de papaya fue la de menor rendimiento con 30%.

6.4.1-Perfil de ácidos grasos

En la siguiente tabla se reportan las concentraciones de los ácidos grasos y se ilustra en la figura 6.9, reportados en g de ácidos grasos/100 g de extracto etéreo.

g AG/100 g EE	Harina de semilla				
	Capulín	Mamey	Papaya	Piñón	Xoconostle
C16:0	3.221±0.107	7.975±0.244	10.828±0.652	5.693±0.140	9.307±0.214
C16:1	0.225±0.018	0	0.374±0.011	0.266±0.009	0.453±0.013
C18:0	2.432±0.087	0	0	0	2.271±1.040
C18:1	26.574±0.871	68.586±1.688	50.360±3.216	41.009±0.874	9.975±0.306
C18:2	21.143±0.700	4.784±0.128	2.397±0.145	34.966±0.727	54.920±1.226
C18:3	0.245±0.024	0.459±0.057	0.291±0.006	0.392±0.013	0.524±0.017
C20:1	0.220±0.016	0.277±0.034	0.403±0.013	0.677±0.017	0.242±0.008
C:22:1	1.514±0064	0	0.157±0.004	0.189±0.007	0.251±0.008

Tabla 6.1- Perfil de ácidos grasos del extracto etéreo de la harina de las semillas de las frutas seleccionadas

Los ácidos grasos de mayor presencia en las semillas fueron el ácido oleico (C: 18:1), el ácido linoleico (C: 18:2) y el ácido palmítico (C: 16:0) respectivamente. Con respecto a los ácidos grasos insaturados el mamey fue la semilla que más contuvo ácido oleico en su extracto etéreo con 68.586%, seguido de la semilla de papaya con 50.360% y el piñón con 41.009%. Las muestras con más ácido linoleico fueron el xoconostle con 54.920%, el piñón con 34.966% y el capulín con 21.143%.

El ácido linolenico (C: 18:3) estuvo presente en una proporción menor a los dos ácidos mencionados anteriormente, siendo el xoconostle el que contiene más con 0.524%, seguido del mamey con 0.459% y el piñón con 0.392%.

El capulín presentó la cantidad más alta de ácido erúxico con 1.514%, aproximadamente 10 veces más que las demás semillas de frutas.

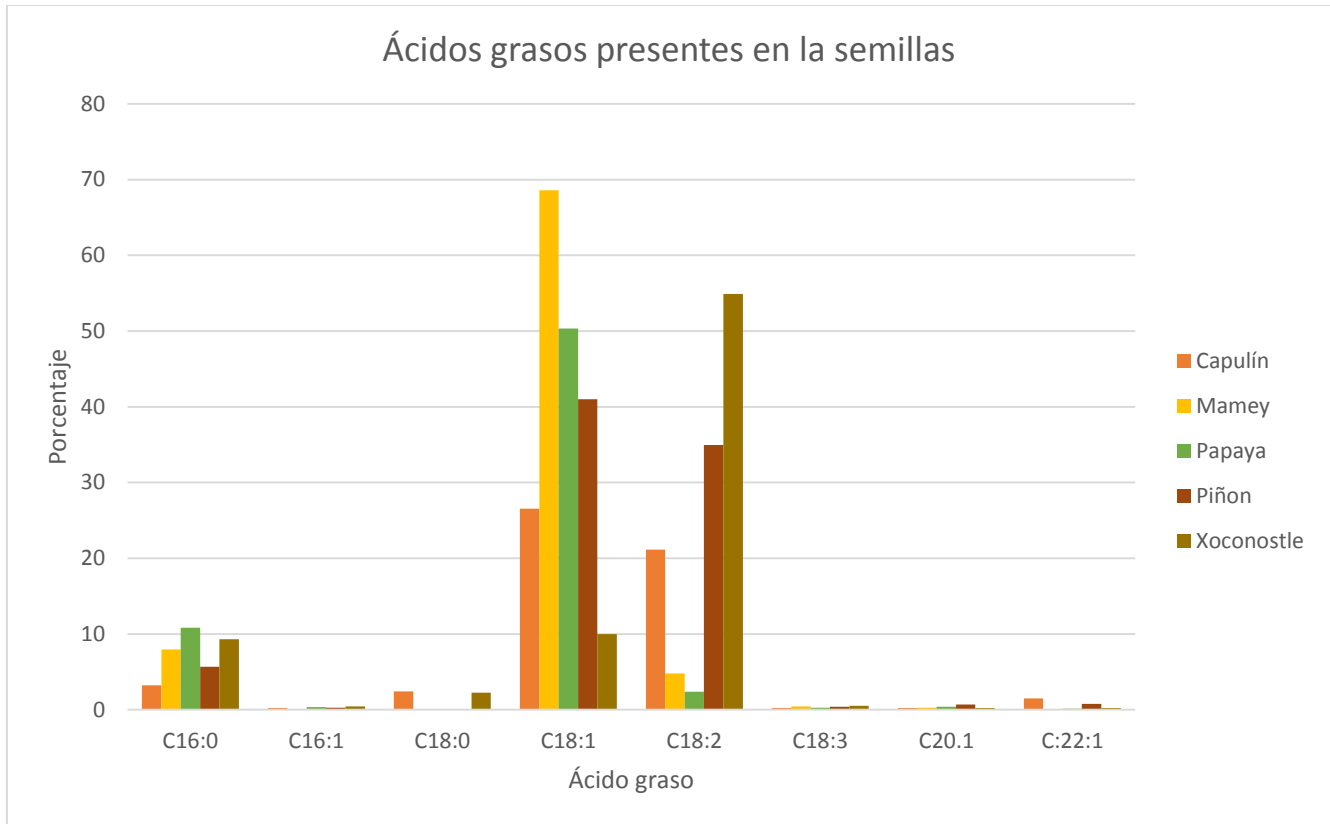


Figura 2.9-Perfil de ácidos grasos del extracto etéreo de las semillas de frutas, reportado en g ácido graso/ 100 g de extracto etéreo.

Con la finalidad de comparar las mejores posibles fuentes de cada ácido graso de las semillas de frutas se realizó una tabla comparativa respecto al rendimiento de extracción con la cantidad de ácido graso obtenido.

En la figura 6.10 se puede observar las fuentes mayoritarias para la extracción de cada ácido graso en relación a su rendimiento, siendo el xoconostle para el ácido palmítico, palmitoleico, esteárico y linoleico, el mamey para el ácido oleico, el capulín para el ácido erúxico y el piñón para el ácido eicosapentanoico.

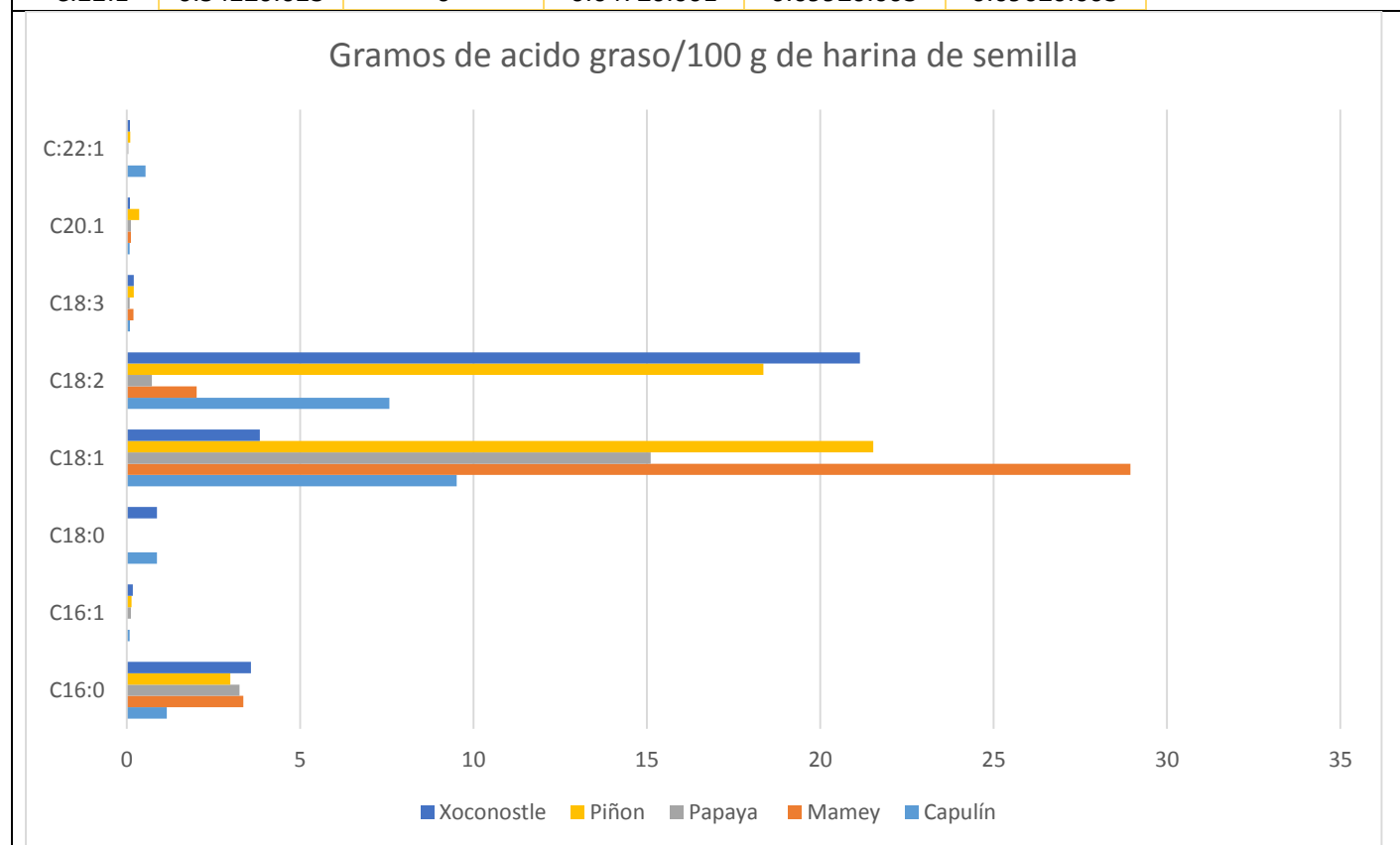
El mamey presentó una cantidad predominante de ácido oleico en relación con los demás ácidos grasos siendo el 68.6% de él total de ellos, valor muy aproximado al del aceite de oliva (72%) el cual se sabe que es una fuente abundante de este ácido graso (Lozano J. Segura A. 2012).

Con respecto a la harina representa el 28.9 % del peso total de la harina de semilla, siendo una fuente considerable de este ácido graso.

El xoconostle y el piñón mostraron cantidades apreciables de ácido linoleico, ambos con un porcentaje del 20% con respecto a la harina de semilla lo cual es de interés nutricional debido a que tanto el ácido linoleico y linolénico al ser metabolizados eventualmente proveerán eicosanoides, sustancias que poseen actividad hormonal y por lo tanto podrían regular diversas funciones del cuerpo (Kritchevsky D. 2002).

Figura 6.3- Concentración de ácidos grasos en harina de semilla reportado como g de ácido graso/100 g de harina

AG	Capulín	Mamey	Papaya	Piñón	Xoconostle
C16:0	1.153±0.038	3.365±0.103	3.248±0.196	2.989±0.073	3.583±0.082
C16:1	0.08±0.006	0	0.122±0.003	0.14±0.005	0.174±0.005
C18:0	0.871±0.031	0	0	0	0.874±0.401
C18:1	9.513±0.312	28.943±0.712	15.108±0.965	21.53±0.459	3.84±0.118
C18:2	7.569±0.251	2.019±0.054	0.719±0.044	18.357±0.382	21.144±0.472
C18:3	0.088±0.009	0.194±0.024	0.087±0.002	0.206±0.007	0.202±0.007
C20:1	0.079±0.006	0.117±0.014	0.121±0.004	0.355±0.009	0.093±0.009
C:22:1	0.542±0.023	0	0.047±0.001	0.099±0.003	0.096±0.003



6.4.2-Identificación de esteroides y triterpenos pentacíclicos

Los sistemas de elución que se aplicaron para la identificación de los compuestos triterpenos se encuentran descritos en la metodología. A continuación se presenta la cromatoplaaca obtenida de los extractos de cloruro de metileno de las muestras saponificadas junto a las no saponificadas de las hojas de los árboles de piñón, mamey, la piel de papaya y el piñón.

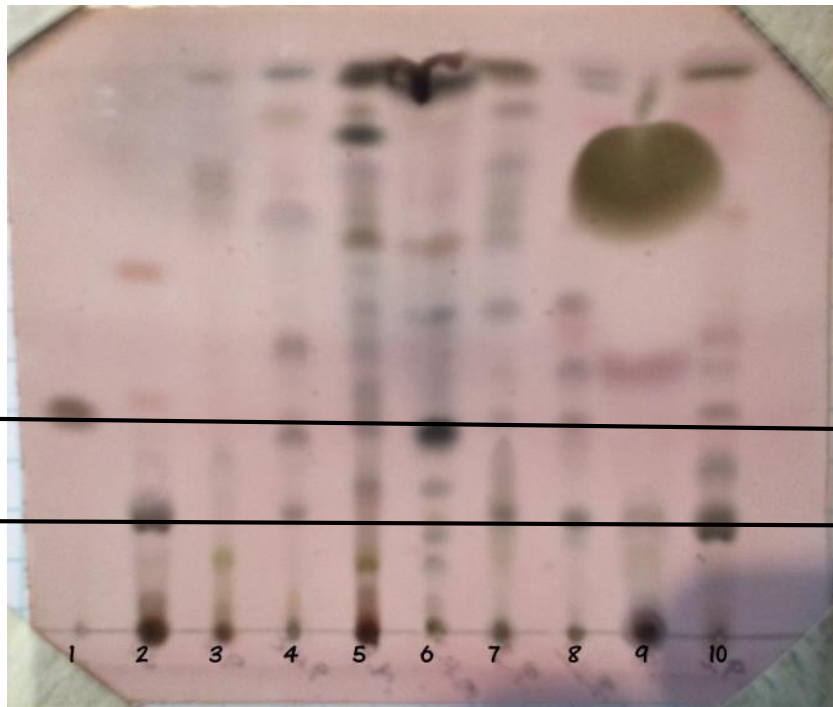


Figura 6.11-Cromatografía para identificar la alfa amirina en las muestras saponificadas y sin saponificar, siendo 1 α -amirina, 2 fitoesteroides comerciales, 3 hojas de piñón, 4 hojas de piños saponificadas, 5 hojas de mamey, 6 hojas de mamey saponificadas, 7 cáscara de papaya, 8 cascara de papaya saponificada, 9 piñón, 10 piñón saponificado

En la figura 6.11 se observa un cambio notorio en la presencia y concentración de los compuestos de cada una de las muestras después de haber sido sometidas a saponificación; siendo los extractos de cloruro de metileno sin saponificación previa las muestras 3, 5, 7 y 9 las hojas del piñón, de mamey, la cáscara de papaya y el piñón respectivamente y las muestras 4, 6, 8 y 10 sus extractos correspondientes con saponificación previa.

Los extractos que mostraron presencia de α -amirina fueron las hojas de piñón saponificadas, las hojas de mamey sin y saponificadas, la cáscara de papaya con y sin saponificar y el piñón saponificado.

En el caso de los fitoesteroles, se observó su presencia en las hojas de piñón saponificadas, en las hojas de mamey saponificadas en ambos tratamientos de la cáscara de papaya y en el piñón saponificado.

La α -amirina se utilizó como estándar ya que posee una estructura similar a los triterpenos pentacíclicos. Los extractos al ser saponificados mostraron una mayor cantidad de α -amirina y fitoesteroles en general, esto quiere decir que probablemente parte de los triterpenos pentacíclicos y esteroides se encuentran esterificados a ácidos grasos u a otros componentes del extracto etéreo y al saponificarlos se incrementa su concentración libre en el extracto por lo que se ve más marcado en la placa cromatográfica.

6.5- Extracción e hidrolisis de proteína

6.5.1-Extracción de proteína soluble

Los resultados de la extracción de la proteína liofilizada se muestran en la siguiente tabla y se determinó el rendimiento con la cantidad proteína teórica reportado en g de proteína/100 g de semilla seca.

Tabla 6.6- Cantidad de proteína extraída de las harinas desengrasadas de las semillas de frutas.

<i>Semilla</i>	<i>Proteína extraída</i> (g proteína/100 g semilla <i>seca</i>)	<i>Proteína teórica</i> (g proteína/100 g semilla <i>seca</i>)	<i>Rendimiento</i> %
<i>Piñón</i>	11.07	22.4	49.42
<i>Papaya</i>	7.63	2.26	337.61
<i>Xoconostle</i>	6.67	3.45	193.33
<i>Mamey</i>	5.66	13.3	42.55
<i>Capulín</i>	15.49	28.06	55.22

La semilla de fruta en la que se extrajo más proteína bajo las condiciones mencionadas en la metodología fue el capulín con 15.49 g de proteína/ 100 g de semilla seca.

La extracción de las proteínas como en el caso de la proteína de piñón y mamey no se esperaba tener un rendimiento óptimo debido a que la solubilidad de las proteínas depende de conocer número de grupos polares y apolares y por lo tanto el perfil de aminoácidos de la proteína (Frazier, 2009) para así usar el pH adecuado para solubilizar la proteína y el mejor pH para precipitarla con el punto isoeléctrico particular de la proteína, aunque para los objetivos planteados solo se requiere tener la cantidad suficiente de proteína para realizar las hidrólisis enzimáticas.

En el caso de la papaya se extrajo una masa de proteína mayor que la reportada por (Nwofia, Ojimekwe, & Eji, 2012) debido a la presencia de pectinas en la semilla de la fruta, ya que conforme el pH disminuye, la ionización de los grupos carboxilo es suprimida, y esto resulta en una reducción en la hidratación de los grupos de ácido carboxílico. Como resultado de la ionización reducida, las moléculas del polisacárido ya no se repelen y pueden formar un gel, lo cual provocó que se extrajeran junto con las proteínas de la semilla de papaya explicando el sobre rendimiento reportado en la tabla.

Los resultados de la proteína soluble total determinadas por el método de Bradford se reporta en mg de proteína/g de harina desengrasada en la siguiente tabla.

<i>Semilla de fruta</i>	Proteína soluble total (mg proteína/ g harina desengrasada)
<i>Piñón</i>	129.03
<i>Mamey</i>	152.55
<i>Xoconostle</i>	264.80
<i>Papaya</i>	161.5
<i>Capulín</i>	592.27

El capulín fue la semilla con más contenido de proteína soluble con 592.27mg de proteína/ g harina desengrasada, lo que se podría justificar ya que la mayoría de la proteína en el capulín corresponde a la fracción de albúmina (soluble en agua)(Capulín & Serotina, 2012) seguido del xoconostle con 264.8 mg proteína/ g harina desengrasada mientras que el piñón fue el más bajo con 129.03 mg proteína / g harina desengrasada.

6.5.2-Hidrólisis enzimática

Con el método de capa fina se le dio seguimiento a la hidrólisis para saber a qué condiciones se podía apreciar una hidrólisis de la proteína, se probaron 4 concentraciones (1 a 4%) las condiciones en las que se apreciaron mejores resultados fue a una concentración de enzima al 4 %, como se muestra en la figura 6.12.

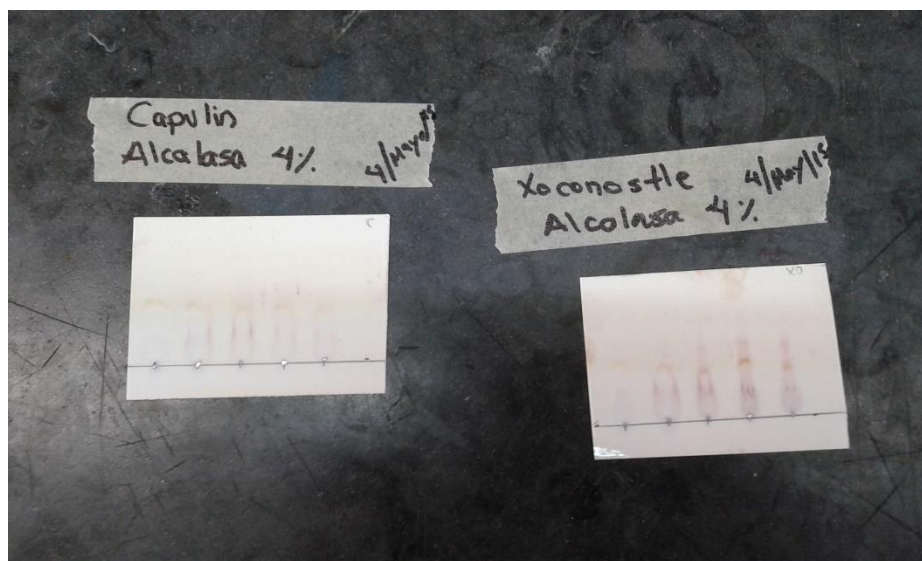


Fig.6.12.- Cromatografía de capa fina donde en la izquierda se muestra el control de la proteína sin tratamiento enzimático y de izquierda a derecha es el tiempo de hidrólisis a los que fue sometida la proteína, siendo de 15, 30, 45 y 60 minutos respectivamente.

Los resultados con la papaína al 4% fueron muy similares a los obtenidos con la alcalasa al 4%. Indicando una afinidad similar hacia los sustratos.

Cada enzima es responsable de la generación de diferentes fragmentos de péptidos con péptidos de bajo, mediano y alto peso molecular. Estas enzimas pueden trabajar solas o en la

presencia de otras enzimas, multiplicando su mecanismo de acción bajo una continua hidrólisis de enlaces peptídicos, y por lo tanto, incrementar la probabilidad de liberar más fragmentos pequeños activos. (Saadi, et al. 2015). Sabiendo esto se realizó una hidrólisis consecutiva, iniciado con alcalasa al 4% y finalizando con papaína al 4%, los resultados se muestran en las siguiente figura.

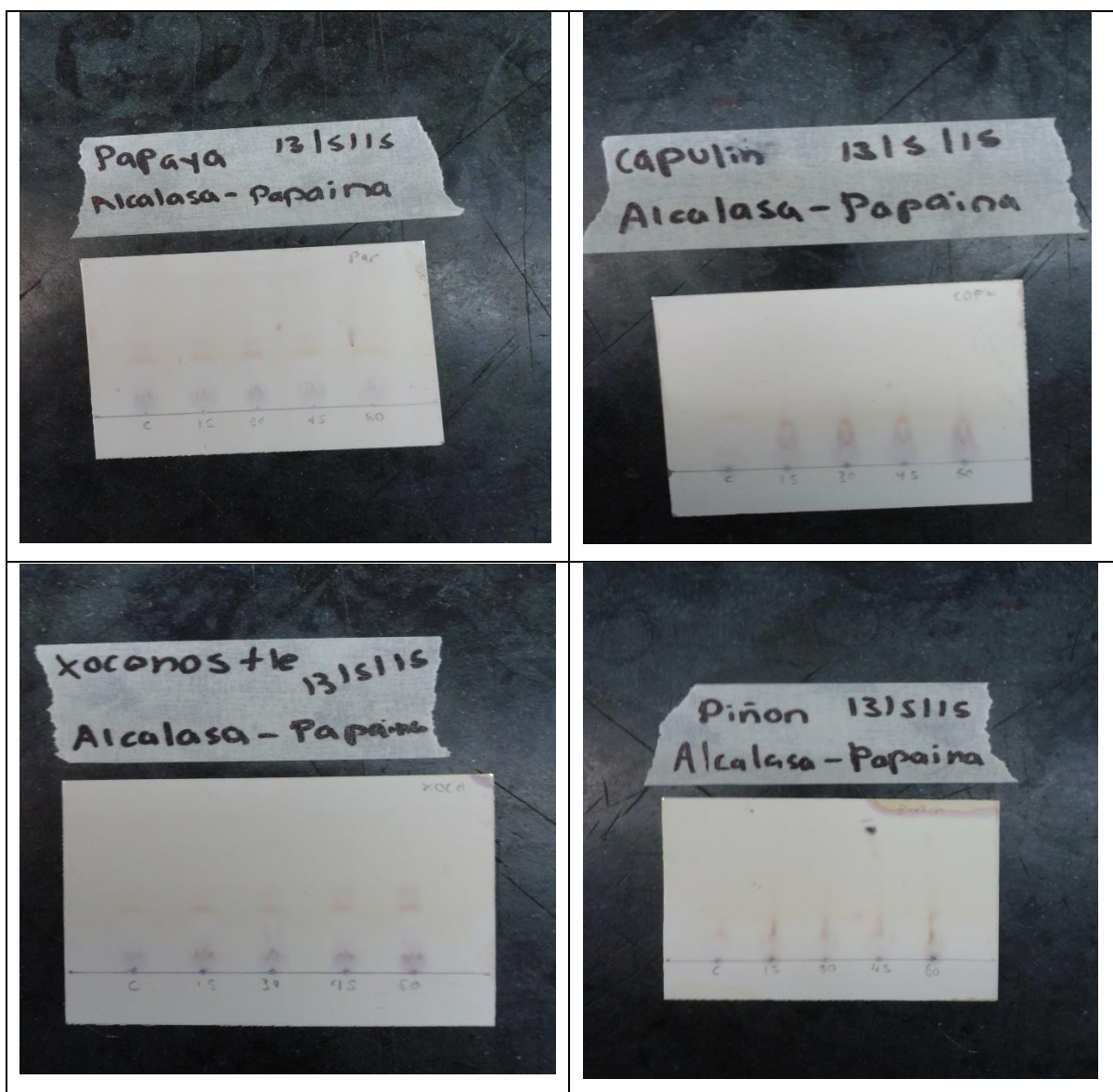


Fig.6.13- Cromatogramas revelados con ninhidrina de las hidrólisis consecutivas realizadas a las muestras seleccionadas, hidrolizando en primer lugar con alcalasa al 4% y después con papaína al 4% por 60 minutos cada una.

En la figura 6.13 se aprecia un buen avance de hidrólisis general a una hora para todas las muestras, permaneciendo constante las condiciones de hidrólisis previas observándose una mayor cantidad de compuestos con un RF de 0.4 a estas condiciones de tiempo a la temperatura y pH óptimos de cada enzima anotadas en la metodología. Con los extractos hidrolizados se realizó un ensayo con DDPH en una cromatoplaaca eluida con las mismas condiciones para ver si alguna presentaba actividad antioxidante sin embargo ninguna la presentó.

7-Conclusiones

- El xoconostle fue tanto en su pericarpio como en el mesocarpio la muestra con mayor cantidad de compuestos fenólicos.
- El capulín en relación a sus fenoles totales fue el que más flavonoides tiene.
- Las antocianinas totales del capulín fueron mayores a las reportadas en la literatura, siendo la cianidina-3-rutinosido y la cianidina- 3-glucosido como principales antocianinas.
- Tanto el mamey como la papaya secos resultaron en una buena fuente de β -caroteno para cubrir las necesidades de vitamina A.
- Se identificaron ácido cafeico, ferúlico, gálico y vainillina en los extractos hidrolizados de las cáscaras de frutas, siendo el mamey el extracto con más rendimiento, seguido de la cáscara de xoconostle.
- Las cascaras de mamey, xoconostle y papaya podrían ser consideradas como fuente de obtención de ácido gálico, ferúlico y cafeico respectivamente.
- Todos los extractos de ácidos fenólicos de las cáscaras de frutas mostraron actividad antioxidante.
- El extracto etéreo de la semilla de xoconostle presentó la mayor cantidad de ácido palmítico (C 16:0), ácido palmitoleico (C 16:1), ácido esteárico (C 18:0) y ácido linoleico (C 18:2), mientras que en el extracto de semilla de mamey el predominante fue el ácido oleico (C 18:1) y la mayor cantidad de ácido linolenico (C 18:3) y de ácido eicosapentanoico (C 20:1) se encontró en el aceite de piñón.

- El aceite del xoconostle, piñón y mamey pueden ser considerados como fuente importante de ácidos grasos insaturados.
- Se identificaron fitoesteroles y aumento de su concentración en el extracto en todas las muestras sometidas a una saponificación previa a su extracción.
- Se identificó la presencia de α -amirina en todas las muestras a excepción de la cáscara de papaya, tanto en la muestra sin saponificar como saponificada.
- La proteína del capulín presentó la mayor solubilidad en agua de las proteínas analizadas
- Las proteasas comerciales tuvieron afinidad con las proteínas hidrolizándolas
- Los extractos proteínicos hidrolizados no mostraron actividad antioxidante por el ensayo DPPH ya que no se formaron péptidos con capacidad de atrapar radicales libres de oxígeno.

8-Bibliografía

- Aguerreberre, I. A., Molina, A. R., Oomah, B. D., & Drover, J. C. G. (2011). Characteristics of *Prunus serotina* seed oil. *Food Chemistry*, 124(3), 983–990. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.040>
- Aquilara-Órtiz, M., Alanis-guzmán, M. G., García-Díaz, C. L., & Hernández-Brenes, C. M. (2009). CARACTERIZACIÓN Y ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS DE HIGO , VARIEDAD Mission Characterisation and stability of Mission variety fig anthocyanins. *Universidad Y Ciencia*, 25(2), 151–158.
- Hernández Moreno M. M. Islas Gutiérrez J. & Guerra de la Cruz V., S.L. (2011). Márgenes de comercialización del piñón en Tlaxcala México. Instituto Tecnológico Superior de San Martín Texmelucan.
- Bartolomé, B., Monagas, M., Garrido, I., Gómez-Cordovés, C., Martín-Álvarez, P. J., Lebrón-Aguilar, R., ... Andrés-Lacueva, C. (2010). Almond (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb) polyphenols: From chemical characterization to targeted analysis of phenolic metabolites in humans. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 501(1), 124–133. <http://doi.org/10.1016/j.abb.2010.03.020>
- Belhadj, F., Somrani, I., Aissaoui, N., Messaoud, C., Boussaid, M., & Marzouki, M. N. (2016). Bioactive compounds contents, antioxidant and antimicrobial activities during ripening of *Prunus persica* L. varieties from the North West of Tunisia. *Food Chemistry*, 204, 29–36. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.111>
- Raya-Pérez, J.C; Aguirre- Mancilla, C.L. Tapia-Aparicio, Ramirez-Pimentel, J.G. Covarrubias-Prieto J. Caracterización de las proteínas de reserva y composición mineral de la semilla de capulín (*Prunus serotina*) (2012). Polibotánica núm. 34, pp 203 a 215.

- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- Chahdoura, H., Barreira, J. C. M., Barros, L., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. F. R., & Achour, L. (2015). Seeds of *Opuntia* spp. as a novel high potential by-product: Phytochemical characterization and antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*, 65, 383–389. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.011>
- Chielle, D. P., Bertuol, D. A., Meili, L., Tanabe, E. H., & Dotto, G. L. (2016). Spouted bed drying of papaya seeds for oil production. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 852–860. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.022>
- Cossio, M. L. T., Giesen, L. F., Araya, G., Pérez-Cotapos, M. L. S., VERGARA, R. L., Manca, M., ... Héritier, F. (2012). No Title No Title. *Uma Ética Para Quantos?*, XXXIII(2), 81–87. <http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Dasgupta, A., & Klein, K. (2014). Fruits, Vegetables, and Nuts. *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements*, 209–235. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-405872-9.00012-4>
- Ennelly, E. D. J. K. (2004). Analysis of Polyphenolic Antioxidants from the Fruits of Three *Pouteria* Species by Selected Ion Monitoring Liquid Chromatography – Mass Spectrometry, 5873–5878.
- Frazier, R. a. (2009). *Food Chemistry. Food Chemistry* (Vol. 107). revised and extended edition . Ed. Springer. <http://doi.org/10.1007/978-3-40-69934-7>
- García-cruz, L., & Salinas-moreno, Y. (2012). Betalainas, Compuestos Fenólicos y actividad antioxidante en Pitaya de Mayo (*Stenocereus griseus* H .). *Revista Fitotecnica Mexicana*, 35, 1–5.
- Gayosso-García Sancho, L. E., Yahia, E. M., & González-Aguilar, G. A. (2011). Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Research International*, 44(5), 1284–1291. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.001>
- Gengatharan, A., Dykes, G. A., & Choo, W. S. (2015). Betalains: Natural Plant Pigments with Potential Application in Functional Foods. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 645–649. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.052>
- Gollücke, A. P. B., Ribeiro, D. A., & Aguiar, O. (2013). Polyphenols as Supplements in Foods and Beverages: Recent Methods, Benefits and Risks. *Polyphenols in Human Health and Disease*, 1, 71–77. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-398456-2.00007-4>
- Hall, C., & Zhao, B. (2011). *Phytochemicals in Cereals, Pseudocereals, and Pulses. Fruit and Cereal Bioactives Sources, Chemistry, and Applications*. <http://doi.org/doi:10.1201/b10786-6>
- Hervert-Hernández, D., García, O. P., Rosado, J. L., & Goñi, I. (2011). The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. *Food Research International*, 44(5), 1182–1189. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.021>

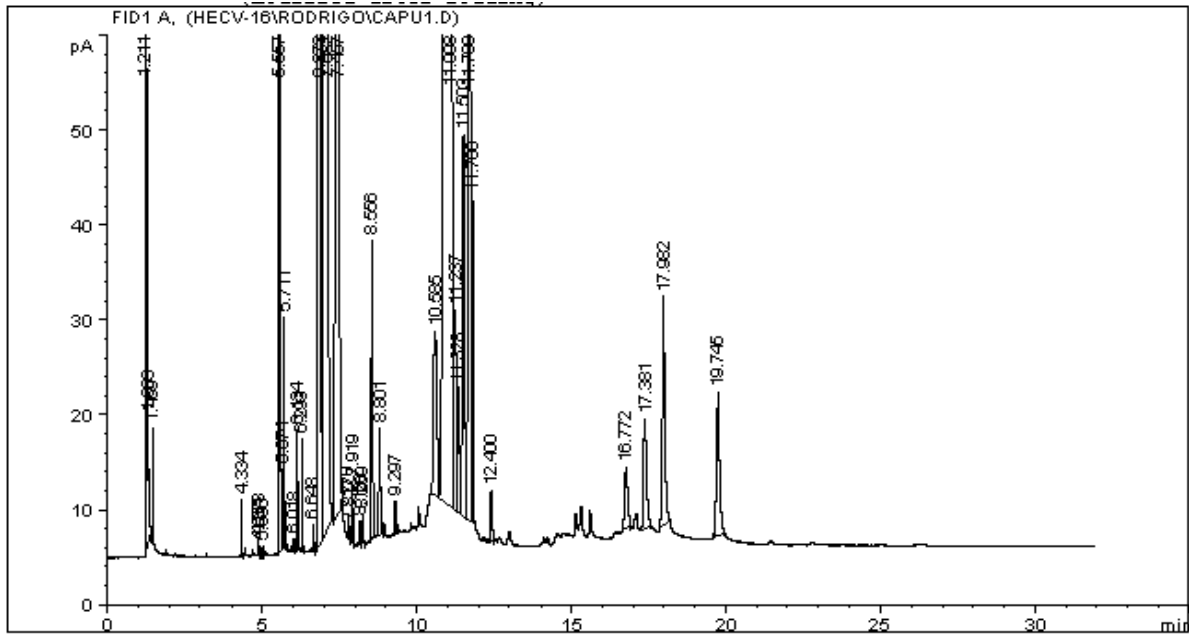
- Hurtado, N. H., & Pérez, M. (2014). Identificación, estabilidad y actividad antioxidante de las antocianinas aisladas de la cáscara del fruto de Capulín (*Prunus serotina* spp capuli (Cav) Mc. Vaug Cav). *Informacion Tecnologica*, 25(4), 131–140. <http://doi.org/10.4067/S0718-07642014000400015>
- Jemmali, Z., Chartier, A., Dufresne, C., & Elfakir, C. (2016). Optimization of the derivatization protocol of pentacyclic triterpenes prior to their gas chromatography-mass spectrometry analysis in plant extracts. *Talanta*, 147, 35–43. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.09.026>
- Jiménez-Aguilar, D. M., López-Martínez, J. M., Hernández-Brenes, C., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Welti-Chanes, J. (2015). Dietary fiber, phytochemical composition and antioxidant activity of Mexican commercial varieties of cactus pear. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 66–73. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.017>
- Kadri, N., Khettal, B., Aid, Y., Kherfellah, S., Sobhi, W., & Barragan-Montero, V. (2015). Some physicochemical characteristics of pinus (*Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinea* L., *Pinus pinaster* and *Pinus canariensis*) seeds from North Algeria, their lipid profiles and volatile contents. *Food Chemistry*, 188, 184–192. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.138>
- Kong, K. W., Khoo, H. E., Prasad, N. K., Chew, L. Y., & Amin, I. (2013). Total phenolics and antioxidant activities of *Pouteria campechiana* fruit parts. *Sains Malaysiana*, 42(2), 123–127.
- Kushwaha, R., & Karanjekar, S. (2011). Standardization of ashwagandharishta formulation by TLC method. *International Journal of ChemTech Research*, 3(3), 1033–1036. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>
- Solís- Fuentes J.A. Ayala-Tirado R.C. Fernández Suárez A.D. Durán-de-Bazúa M.C. Mamey sapote seed oil (*Pouteria sapota*). Potential, composition, fractionation and thermal behavior. (2015), *Grasas y aceites* 66 (March), 1 a 10.
- Mcvaugh, C. (1951). *Prunus serotina*. *Ecoscience*, 83, 227–229. <http://doi.org/10.2980/16-4-3285>
- Alia-Tejacal I. Colinas-León M.T. Martínez Damián M.T. Soto-Hernandez M.R. Factores fisiológicos, bioquímicos y de calidad en frutos de zapote mamey durante postcosecha, D. (2002). Universidad Autónoma de Chapingo, 8(2), 263-271.
- Morales, P., Ramírez-Moreno, E., Sanchez-Mata, M. de C., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2012). Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguët and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International*, 46(1), 279–285. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.031>
- Nwofia, G. E., Ojmelukwe, P., & Eji, C. (2012). Chemical composition of leaves , fruit pulp and seeds in some *Carica papaya* (L) morphotypes. *Int. J. Med. Arom. Plants*, 2(1), 200–206.
- Ordaz-Galindo, A., Wesche-Ebeling, P., Wrolstad, R. E., Rodriguez-Saona, L., & Argaiz-Jamet, A. (1999). Purification and identification of Capulin (*Prunus serotina* Ehrh) anthocyanins. *Food Chemistry*, 65(2), 201–206. [http://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00196-4](http://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00196-4)

- Osorio-Esquivel, O., Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez, V. B., Dorantes-Álvarez, L., & Giusti, M. M. (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*, 44(7), 2160–2168. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.011>
- Pallardy, S. G. (2008). Lipids, terpenoids, and related substances. *Physiology of Woody Plants*, 217–232. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-088765-1.50009-9>
- Pavan, V., Sancho, R. A. S., & Pastore, G. M. (2014). The effect of in vitro digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*). *LWT - Food Science and Technology*, 59, 1247–1251. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.040>
- Rodriguez, D. (2001). *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. *Life Sciences*.
- Saadi, S., Saari, N., Anwar, F., Abdul Hamid, A., & Ghazali, H. M. (2015). Recent advances in food biopeptides: Production, biological functionalities and therapeutic applications. *Biotechnology Advances*, 33(1), 80–116. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.12.003>
- Saini, R. K., Nile, S. H., & Park, S. W. (2015). *Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities*. *Food Research International* (Vol. 76). Elsevier B.V. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>
- Samaranayaka, A. G. P., & Li-Chan, E. C. Y. (2011). Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. *Journal of Functional Foods*, 3(4), 229–254. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2011.05.006>
- Serrano, M. E. D., López, M. L., & Espuñes, T. D. R. S. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 37(4), 58–68.
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J Sep Sci*, 30(18), 3268–3295. <http://doi.org/10.1002/jssc.200700261>
- Steffen, L. M. (2006). Eat your fruit and vegetables. *Lancet*, 367(9507), 278–9. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68046-X](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68046-X)
- Torres-Rodríguez, A., Salinas-Moreno, Y., Valle-Guadarrama, S., & Alia-Tejacal, I. (2011). Soluble phenols and antioxidant activity in mamey sapote (*Pouteria sapota*) fruits in postharvest. *Food Research International*, 44(7), 1956–1961. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.045>
- Van Duyn, M. a, & Pivonka, E. (2000). Overview of the health benefits of fruit and vegetable consumption for the dietetics professional: selected literature. *Journal of the American Dietetic Association*. [http://doi.org/10.1016/S0002-8223\(00\)00420-X](http://doi.org/10.1016/S0002-8223(00)00420-X)
- Wani, A. A., Kaur, D., Ahmed, I., & Sogi, D. S. (2008). Extraction optimization of watermelon seed protein using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 41(8), 1514–1520. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.10.001>
- Yahia, E. M., Gutiérrez-Orozco, F., & Arvizu-de Leon, C. (2011). Phytochemical and antioxidant characterization of mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) fruit. *Food Research International*, 44(7), 2175–2181.

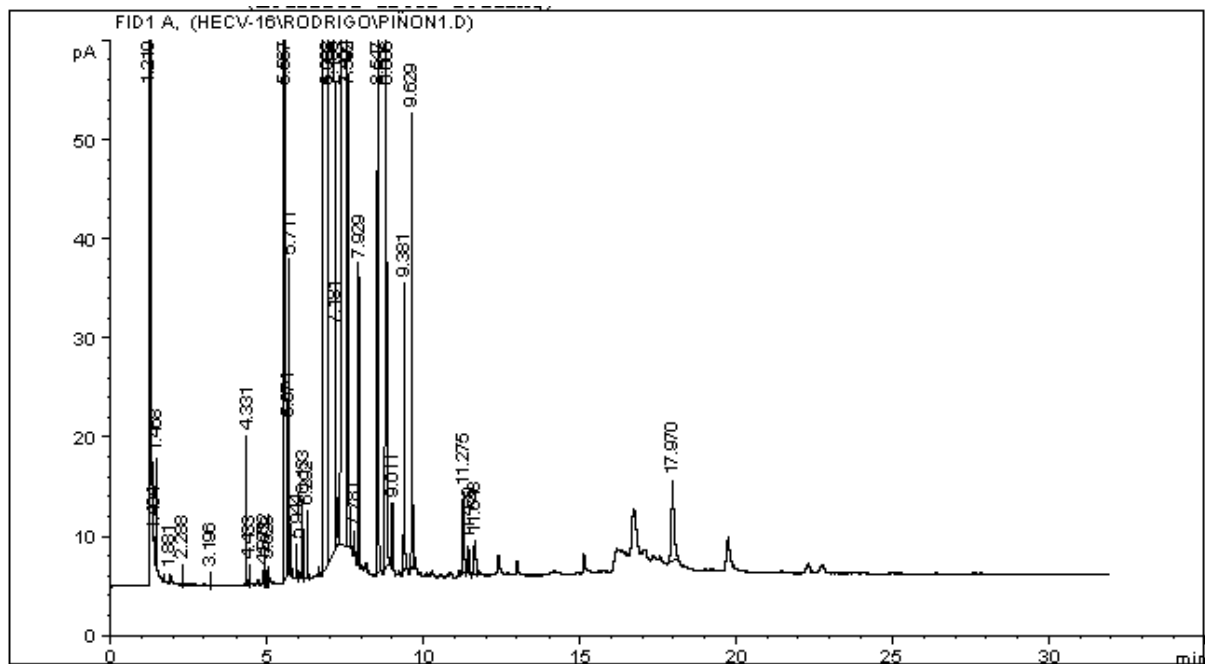
Anexo 1

A.1-Cromatogramas de los metil ester de los ácidos grasos de las semillas de frutas.

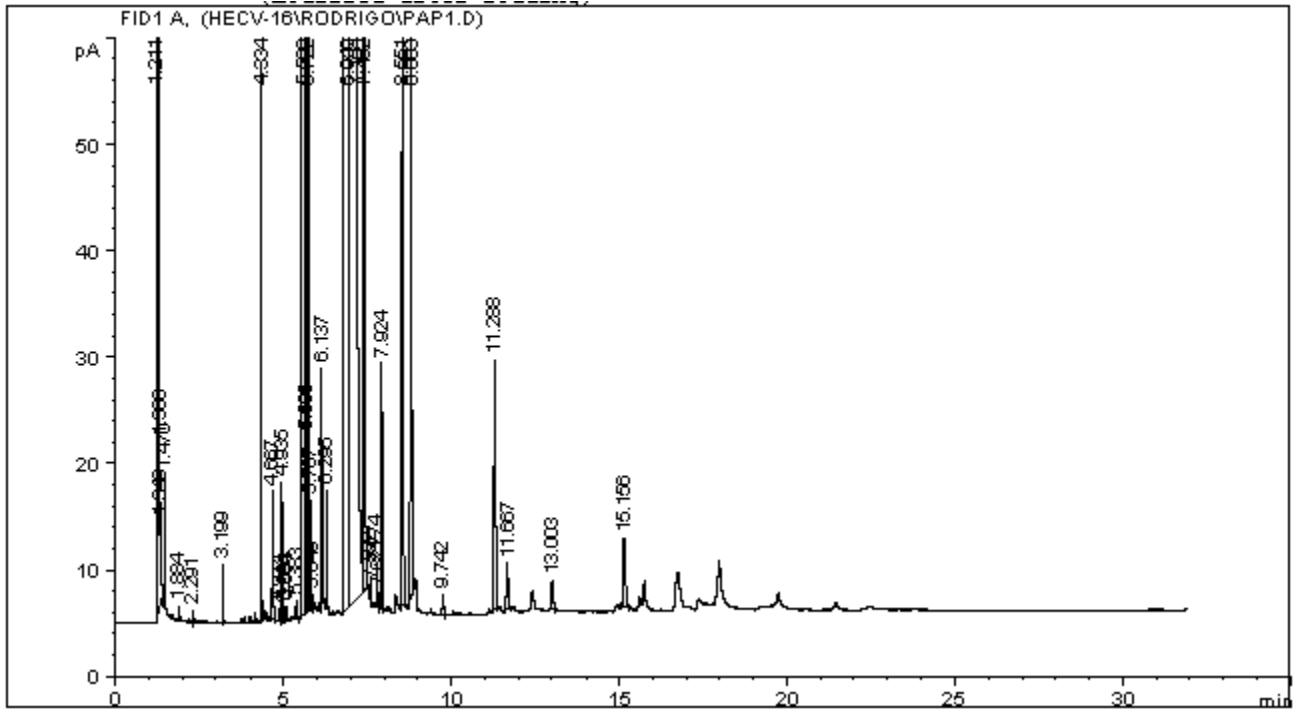
A.1.1-Capulín



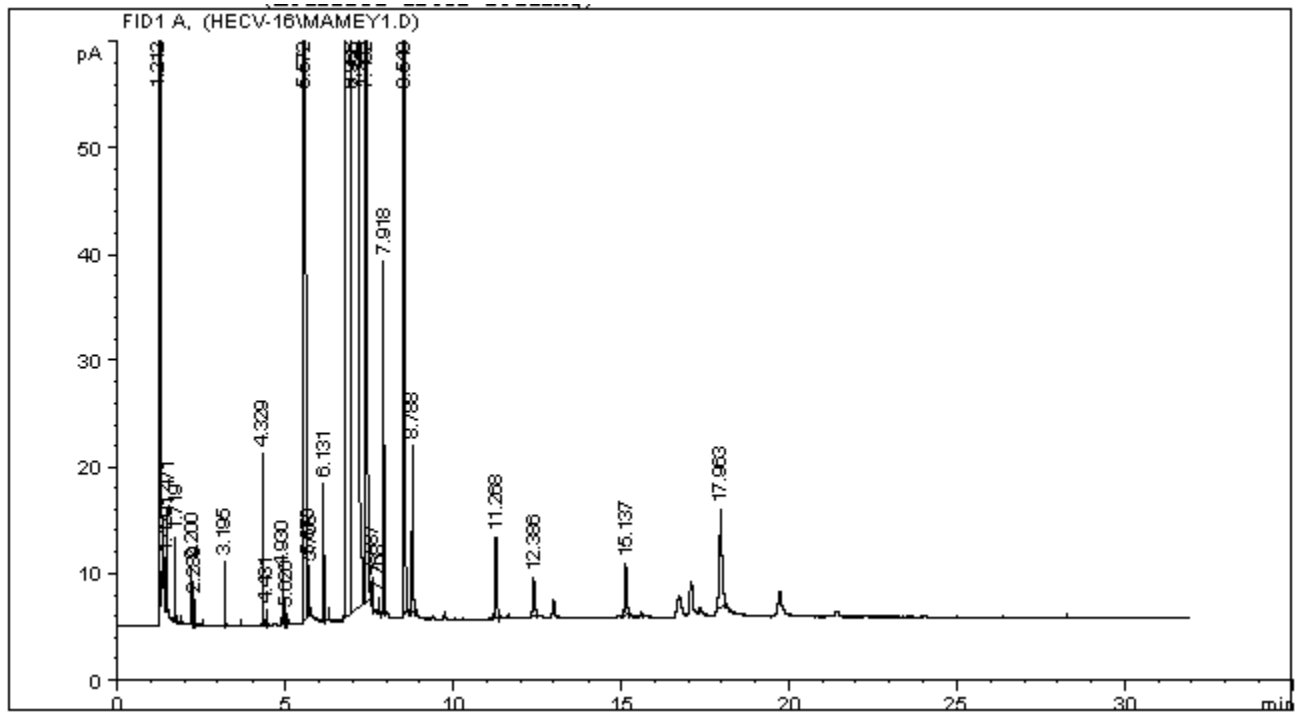
A.1.2-Piñon



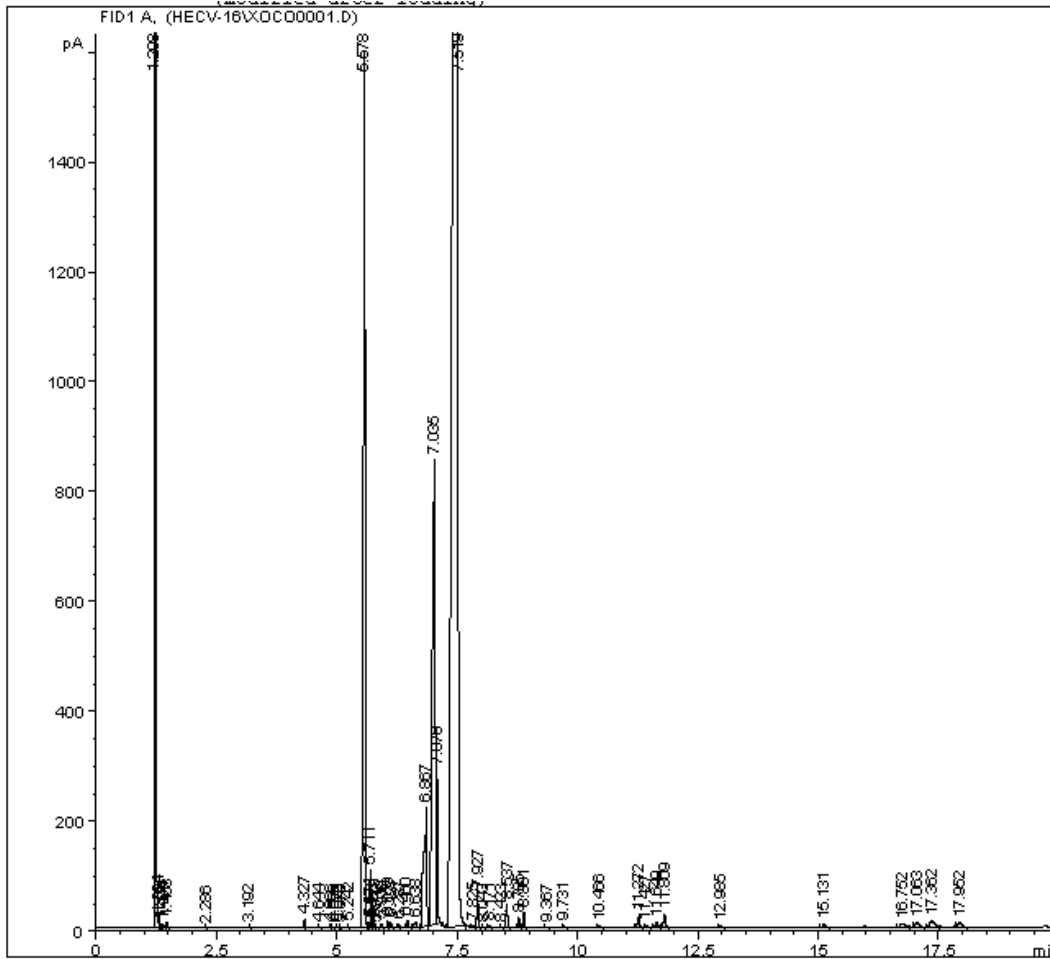
A.1.3-Papaya



A.1.4-Mamey



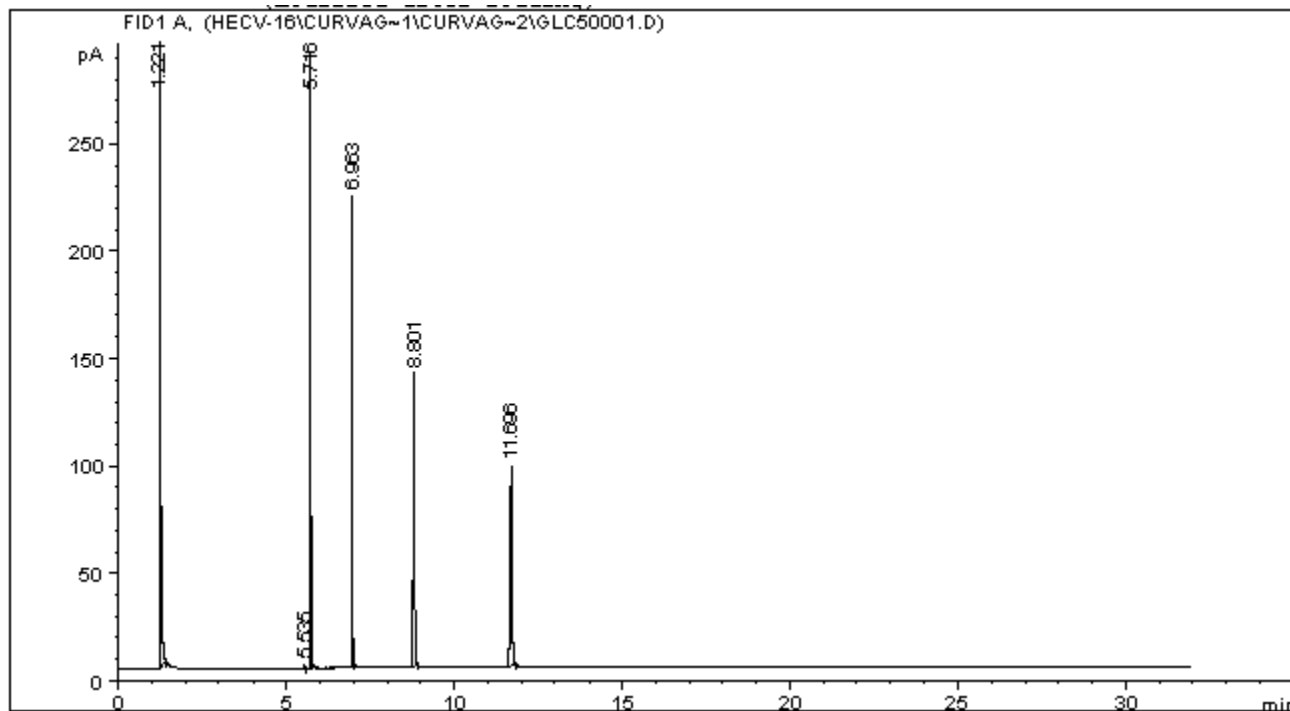
A.1.5-Xoconostle



A.1.6- Tiempos de retención de ácidos grasos

Ácido graso	C: 16:0	C: 16:1	C: 18:0	C: 18:1	C: 18:2	C: 18:3	C: 20:1	C: 22:1
Tiempo de retención (min)	5.543	5.711	6.798	6.958	7.339	7.913	8.795	11.688
Desviación estandar	0.005	0.003	0.007	0.004	0.008	0.009	0.006	0.001

A.1.7- Cromatograma de estándares GLC-50 (sigma-aldrich)
Ácidos grasos: C: 16:1 C: 18:1 C: 20:1 C: 22:1



A.1.8- Cromatograma de estándares GLC-10 (sigma-aldrich)
Ácidos grasos: C: 16:0 C: 18:0 C: 18:1 C: 18:2 C: 18:3

