



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN FRUTAS
SILVESTRES COMESTIBLES DE VERACRUZ: CHAGALAPOLI
(*Ardisia compressa*) Y SU IMPORTANCIA COMO FUENTE DE
ANTIOXIDANTES.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA:

HERNÁNDEZ GUTIÉRREZ MARIANA



Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

2017



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 ASIGANDO:

PRESIDENTE: M. en C. LUCÍA CORNEJO BARRERA
VOCAL: Dr. JOSÉ GUILLERMO DE JESÚS AGUILAR OSORIO
SECRETARIO: Dr. ARTURO NAVARRO OCAÑA
1er. SUPLENTE: M. en C. TANIA GOMEZ SIERRA
2° SUPLENTE: M. en C. CARLOS EDUARDO SERRANO M.

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:
L-321 DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA.
CONJUNTO E.

FACULTAD DE QUÍMICA.
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ASESOR DEL TEMA:

Dr. ARTURO NAVARRO OCAÑA

SUSTENTANTE:

MARIANA HERNÁNDEZ GUTIÉRREZ

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ofrecerme la capacidad de aprender a aprender, por llenar el camino de conocimiento y permitirme crecer en muchos ámbitos de mi persona; como profesional, estudiante y como ser humano.

A la Facultad de Química, UNAM, por brindarme una educación de excelente calidad y mostrarme el valor del estudio, la dedicación y el esfuerzo para lograr mis ideales.

Al Dr. Arturo Navarro Ocaña por concederme la oportunidad de llevar a cabo éste proyecto, por escucharme y apoyarme en todo momento. Por compartir sus conocimientos, sus libros y sus vivencias.

A la M. en C. Lucía Cornejo Barrera y al Dr. José Guillermo de Jesús Aguilar Osorio, por el tiempo dedicado en la revisión del proyecto y por las observaciones y comentarios acertados.

A todos los profesores que moldearon mi formación académica y que enriquecieron mis conocimientos y habilidades.

Al financiamiento brindado por el PAPIIT-UNAM IN220015.

*Soy de las que piensa que la ciencia tiene una gran belleza.
Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es
también un niño colocado ante fenómenos naturales que le
impresionan como un cuento de hadas.*

-Marie Curie-

CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	
2.1 Frutas silvestres comestibles en México.....	3
2.2 Frutas silvestres comestibles de Veracruz.....	4
2.3 Frutas como alimento funcional y fuente de antioxidantes.....	6
2.4 Compuestos bioactivos.....	9
2.4.1 Alcaloides.....	10
2.4.2 Compuestos fenólicos.....	11
2.4.2.1 Ácidos fenólicos.....	12
2.4.2.2 Flavonoides.....	13
2.4.2.2.1 <i>Flavonas y flavonoles</i>	
2.4.2.2.2 <i>Flavanonas y flavanos</i>	
2.4.2.2.3 <i>Antocianinas</i>	
2.4.2.2.4 <i>Cumarinas</i>	
2.4.2.2.5 <i>Taninos</i>	
2.4.2.3 Quinonas.....	22
2.4.2.4 Terpenoides.....	22
2.4.2.4.1 <i>Triterpenos</i>	
2.4.2.4.2 <i>Carotenoides</i>	
2.4.2.4.3 <i>Saponósidos</i>	
2.4.2.4.4 <i>Ácidos grasos</i>	
2.5 Frutas de estudio.....	34
3. HIPÓTESIS	39
4. JUSTIFICACIÓN	39
5. OBJETIVOS	40
5.1 General	
5.2 Particulares.	
6 DESARROLLO EXPERIMENTAL	41
6.1 Reactivos y equipo	
6.2 Plan de estudio	
6.3 Diagrama general de trabajo.....	43
6.4 Etapas I: Selección y preparación de las muestras.....	45
6.5 Etapas II: Métodos de análisis: cuantificación de totales.....	46

6.5.1	<i>Cuantificación de fenoles totales</i>	
6.5.2	<i>Cuantificación de flavonoides totales</i>	
6.5.3	<i>Cuantificación de flavonoles totales</i>	
6.5.4	<i>Cuantificación de antocianinas totales</i>	
6.5.5	<i>Cuantificación de carotenoides totales</i>	
6.6	Etapa III <i>Ardisia compressa</i>	49
6.6.1	<i>Selección del disolvente según su capacidad extractiva</i>	
6.6.2	<i>Extracción de antocianinas asistida por enzimas</i>	
6.6.3	<i>Identificación parcial de Antocianinas por HPLC</i>	
6.7	Etapa IV <i>Ardisia compressa</i>	52
6.7.1	<i>Identificación cualitativa por CCF de compuestos bioactivos</i>	53
6.7.2	<i>Ardisia compressa: Cuantificación de compuestos bioactivos por HPLC</i>	54
6.7.2.1	<i>Ácidos fenólicos</i>	
6.7.2.2	<i>Flavonoides</i>	
6.8	Etapa V <i>Cuantificación de ácidos grasos en semilla de Ardisia compressa por CG</i>	56
6.9	Etapa VI <i>Determinación de la actividad antioxidante en mesocarpio, mermelada y licor artesanal de Ardisia compressa</i>	57
7	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
7.1	<i>Selección de las muestras</i>	
7.2	<i>Cuantificación de compuestos bioactivos</i>	59
7.2.1	<i>Fenoles totales</i>	59
7.2.2	<i>Flavonoides totales</i>	61
7.2.3	<i>Antocianinas totales</i>	63
7.2.4	<i>Flavonoles totales</i>	65
7.2.5	<i>Carotenos totales</i>	66
8.	Ardisia compressa	
8.1	<i>Selección del disolvente por su capacidad extractiva</i>	68
8.2	<i>Extracción de antocianinas asistida por enzimas</i>	69
8.3	<i>Identificación parcial de antocianinas en Ardisia compressa por HPLC</i>	71
8.4	<i>Identificación cualitativa por CCF de compuestos bioactivos en Ardisia compressa</i>	73
8.4.1	<i>Ácidos fenólicos</i>	
8.4.2	<i>Flavonoides</i>	

8.4.3	<i>Terpenos</i>	
8.4.4	<i>Ardisina</i>	
8.5	Cuantificación de compuestos bioactivos en <i>Ardisia compressa</i> por HPLC.....	78
8.5.1	<i>Ácidos fenólicos</i>	
8.5.2	<i>Flavonoides</i>	
8.6	Cuantificación de ácidos grasos en semilla de <i>Ardisia compressa</i> por CG.....	80
8.7	Determinación de la actividad antioxidante en mesocarpio, mermelada y licor artesanal de chagalapoli.....	81
8.7.1	<i>Cuantificación de polifenoles totales en mermelada y licor artesanal de chagalapoli</i>	82
8	CONCLUSIONES	84
9	BIBLIOGRAFÍA	85
10	ANEXO	94

1. INTRODUCCIÓN

Las frutas y vegetales son universalmente promovidas como saludables, no sólo por su concentración de vitaminas, principalmente A y C; minerales, electrolitos y fuente de fibra dietética; si no recientemente por ciertos compuestos bioactivos que han sido asociados con reducir el riesgo de padecer enfermedades crónicas, como enfermedad cardiovascular, diabetes, cáncer y Alzheimer (Hu, *et al*, 2002)(Slavin & Lloyd, 2012).

Esto ha orientado las investigaciones a la caracterización de diferentes tipos de frutas y la identificación-cuantificación de compuestos bioactivos específicos ya que además de su importancia biológica, han despertado el interés de la industria alimenticia por representar una considerable fuente de antioxidantes.

Por su situación geográfica, México presenta una gran diversidad de condiciones ecológicas dando como resultado una riqueza de suelos, diversidad florística y de comunidades vegetales. Estudios realizados en distintas regiones del país han documentado más de 1,500 especies de plantas comestibles silvestres que llegan a constituir entre 8 y 17% de la dieta anual de las familias campesinas (Lascurain, *et al.*, 2010).

En el estado de Veracruz, se reportan 140 variedades de frutas silvestres comestibles comúnmente llamadas “de campo”, “de monte” o “cimarronas” (Lascurain *et al.*, 2010), las cuales simbolizan valiosos complementos de alimentación y pueden ser una fuente relevante de ingresos económicos, especialmente en comunidades rurales.

Lamentablemente se ha perdido el hábito de consumo de ciertas especies y por tanto el conocimiento tradicional que de ellas se tenía, en este sentido, la presente investigación se basó en identificar compuestos de alto valor biológico en diez frutas silvestres comestibles de Veracruz y su posible impacto como fuente de antioxidantes.

La frutas seleccionadas en este estudio fueron cunde amor (*Momordica charantia*), zapote amarillo (*Pouteria campechiana*), cucumú (*Poutería* sp.), nanche rojo y amarillo (*Byrsonima crassifolia*) zapote santo domingo (*Mammea americana*), guaya (*Melicoccus oliviformis*), papaya de monte (*Vasconcellea cauliflora*), zapote cabello (*Licania platypus*) y chagalapoli (*Ardisia compressa*).

Se elaboró un plan de trabajo con la finalidad de determinar la concentración total de fenoles, antocianinas, flavonoides, flavonoles y carotenos en las diez frutas antes mencionadas.

Dado que *Ardisia compressa* mostró valores considerables dentro del grupo, se decidió profundizar en el estudio de dicha especie analizando su perfil de ácidos grasos, antocianinas, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos, ácidos clorogénicos, terpenos y evaluación de la actividad antioxidante.

Adicionalmente se elaboró una mermelada y licor de chagalapoli, a los cuales se les determinó la concentración total de fenoles, antocianinas, flavonoides, flavonoles y carotenos así como actividad antioxidante.

2. ANTECEDENTES

2.1 Frutas silvestres comestibles en México

Es ampliamente conocida la diversidad de suelos que proveen a México de una extensa variedad de especies frutales silvestres. De acuerdo con la Ley General de Vida Silvestre (LGVS), la “vida silvestre” son los organismos que subsisten sujetos a los procesos de evolución natural y que se desarrollan libremente en su hábitat (Cámara de diputados, 2007).

Los árboles y arbustos frutales silvestres son la vegetación natural en amplias zonas de los trópicos, en particular de las regiones húmedas, su importancia debe en parte a su gran tamaño y carácter perenne. Estas especies no sólo crean el hábitat de diversas especies animales sino también cumplen con estabilizar el ecosistema en que se encuentran; protegen el suelo de rayos UV, lluvias y fuertes vientos, especialmente durante las temporadas cuando no hay cultivos anuales, las raíces exploran las capas profundas del subsuelo aprovechando al máximo el agua y nutrientes limitados por las raíces de los cultivos de campo (Ed Verheij. 2006).

La diversidad de frutos comestibles, especialmente de regiones tropicales, es una de las aportaciones de México al mundo. Sin embargo, el estudio de especies silvestres ha tenido escaso desarrollo desde el punto de vista de producción-recolección, consumo y comercio.

Lascurain *et al.*, (2010) concibe, “Las preguntas que surgen de inmediato son: ¿qué hemos hecho con esa enorme riqueza, tanto para el consumo interno como para productos de exportación? y ¿qué hemos hecho con nuestra diversidad nativa y unidades de producción? La única explicación posible es la ausencia de interés, o bien las políticas equivocadas que no han permitido explorar esta enorme diversidad y peculiaridad de especies silvestres y reconocer en ellas un producto con gran potencial para el mercado nacional e internacional”.

2.2 Frutas silvestres comestibles en Veracruz

Veracruz ocupa el tercer lugar en diversidad biológica después de Oaxaca y Chiapas, pero no sólo es referida a la diversidad de especies de frutos silvestres comestibles y sus variedades, sino también de aquella que ha sido manejada, seleccionada y cultivada por ser de utilidad para el hombre.

A partir de la Conquista, la riqueza natural del Nuevo Mundo fue objeto de extraordinarias narraciones de frailes, historiadores, naturalistas y viajeros.

En la obra llamada *Historia natural y moral de las Indias*, escrita en 1590, el jesuita José de Acosta habla de las especies frutales diciendo: “*La razón es ser las Indias de temple cálido y húmedo... así la tierra produce plantas silvestres y naturales...No es posible relatar todas las frutas y árboles de Indias, pues de muchas no tengo memoria, y de muchas más tampoco tengo noticia, y aun de las que me ocurren parece cosa de cansancio discurrir por todas. Pues se hallan otros géneros de frutales y frutas más groseras...*” (Acostas, 2003).

En algunas zonas el impacto entre las dos culturas enriqueció la forma de producir, tal es el caso de la región totonaca, en donde los cultivos tradicionales no perdieron su importancia, implantándose paralelamente frutales europeos, así como tecnología e implementos agrícolas nuevos. Para esta zona los productos que se sembraban y cultivaban eran la vainilla, maíz, frijol, chiltepín, caña de azúcar y algodón (Lascurain *et al.*, 2010). Chenaut (1995), escribe sobre aquellas plantas que crecían sin necesidad de cultivo, como guanábana (*Annona* sp.), aguacate (*Persea americana*), camote (*Ipomoea batatas*), chirimoya (*Annona cherimola.*), calabaza (*Cucurbita pepo*), coyol real (*Attalea butyracea*), capulín silvestre (probablemente de los géneros *Eugenia* o *Ardisia*), entre otros.

Las especies comestibles identificadas en Veracruz tienen una larga y compleja historia de manejo y consumo, además de sus frutos, se utilizan hojas, raíces, cortezas y flores, sobre todo en la medicina tradicional; su madera se emplea también como leña y para la elaboración de diversos utensilios, en la construcción de casas y cercas vivas; además muchas de ellas son un atractivo elemento de ornato en jardines, parques y calles (Lascurain *et al.*, 2010).

Dependiendo de la región, el manejo, uso y formas de consumo de las frutas silvestres es muy variable, de algunas se tiene un amplio conocimiento, en cambio de otras no se han realizado estudios, se ha perdido el hábito de consumirlas y por tanto su valor tradicional.

Las mujeres productoras de la localidad Moral y Mosquitero, ubicadas en el municipio de Alvarado, son ejemplos importantes de una tendencia que debería ser apoyada y difundida. Muestran interés y esfuerzo en la preparación del copite (*Cordia dodecandra*) y la papayita (*Vasconcellea cauliflora*) en forma de almíbar, llegando directamente a venderlas en los mercados de Veracruz y Alvarado.

Los frutales nativos deben valorarse como futuro productivo del país, dado que constituyen una alternativa para las comunidades rurales de México, quienes comúnmente complementan su alimentación con decenas de plantas recolectadas en los bosques y la vegetación que circunda su territorio. Siguen siendo alimentos fundamentales para el autoconsumo, que simbolizan una rica variedad nutrimental tal como históricamente lo hicieron en la época prehispánica.

2.3. Frutas como alimento funcional y fuente de antioxidantes

Desde hace años, existe una clara evidencia de que las poblaciones que viven en los países mediterráneos (Grecia, España, Italia, Francia) tienen un modelo distinto de mortalidad y morbilidad especialmente en relación con la enfermedad cardiovascular (ECV), algunos tipos de cáncer y otras enfermedades degenerativas, disfrutando también de una mayor expectativa de vida. Esto, que no pueden explicarse únicamente por factores genéticos, parece depender de factores ambientales entre los que la dieta puede jugar un papel muy importante (Mulero, *et al.*, 2010).

La dieta mediterránea es una forma de alimentación basada en un elevado consumo de cereales, frutas, verduras, hortalizas y legumbres, incluyendo pescado y aceite de oliva como única fuente de grasas y bajo consumo de carnes y grasas saturadas, todo ello en un entorno de hábitos saludables: actividad física y ocio al aire libre. Es un buen ejemplo de dieta variada, nutritiva, apetecible y saludable, que además ayuda a prevenir enfermedades crónicas relacionadas con la alimentación.

Recientes investigaciones muestran que frutas y verduras, además de su importante aporte nutricional y mineral, son las principales fuentes dietéticas de antioxidantes, contienen sustancias bioactivas que alteran el microambiente del colon, regulan el metabolismo hormonal, bloquean la formación de nitrosaminas, modifican la tasa de proliferación/diferenciación celular, los mecanismos de metilación/replicación del ADN y estimulan la muerte programada de células cancerosas (apoptosis) (Slavin & Lloyd, 2012),(Zald, 2003).

Los compuestos funcionales de las frutas y hortalizas se pueden clasificar en varias categorías: Fibra dietaria, antioxidantes, compuestos órgano sulfurados y ácidos grasos poli-insaturados (Tabla 1.)(Zald, 2003).

Los antioxidantes son un grupo muy amplio de compuestos de variada estructura cuya función generalmente está relacionada con su capacidad de interactuar con radicales libres y especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, agotar el oxígeno singulete y posiblemente actuar como quelantes de metales, evitando así la oxidación de otras moléculas (Shahidi, 2000).

Tabla 1. Algunos componentes y propiedades funcionales de las frutas y hortalizas. (Zald, 2003)

COMPONENTE FUNCIONAL	FUENTE	PROPIEDADES FUNCIONALES
Fibra dietaria	Todas las frutas y hortalizas	Reducen riesgo de padecer cáncer de colon y problemas de regulación intestinal.
Antioxidantes		
Vitamina C	Todas las frutas y hortalizas	
Vitamina E	Aceites de origen vegetal	
Carotenoides		Reducen el riesgo de cáncer causado por agregación de plaquetas. Previene pérdida de la vista
β-caroteno(provitamina A)	Frutas y hortalizas amarillas y anaranjadas	
Lycopeno	Jitomate, sandia	
Fitosteroles	Aceites de origen vegetal	
Compuestos Organosulfurados	Hortalizas del género <i>Allium</i> : ajo, cebolla	Ayudan a disminuir los niveles de colesterol en el organismo, destruyen carcinogénicos.
Dialil disulfuros		
Glucosinolatos	Hortalizas del género <i>Cruciferae</i> : brócoli, col, coliflor, coles de Bruselas y nabos.	
Ácidos grasos poli-insaturados	Aceites de origen vegetal, nueces, aguacate y aceitunas.	Protegen afecciones cardiovasculares.
Ácido oleico		

Un radical libre es cualquier especie que contiene electrones no apareados en su orbital atómico por lo que es altamente reactivo (Shahidi, 2000). Existen muchos tipos de radicales y especies reactivas no radicales en un sistema vivo, sin embargo, las especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) son las especies reactivas primarias en el cuerpo humano (Balsano & Alisi, 2009).

El estrés oxidativo ha sido implicado en la etiología de muchas enfermedades crónico-degenerativas (Balsano & Alisi, 2009), un exceso de ERO Y ERN puede dañar los lípidos celulares, proteínas o ADN alterando su función normal. Además del interés para los profesionales de la salud, la industria alimentaria ha utilizado antioxidantes, principalmente de naturaleza fenólica, para evitar el deterioro de la calidad de los productos, reducir el desperdicio y evitar pérdidas nutricionales, así mismo muchos de estos compuestos pueden actuar como saborizantes, colorantes, conservantes y reforzadores de los sistemas antioxidantes endógenos (Conde, *et al*, 2013).

Además, los antioxidantes, también pueden utilizarse para contribuir a la seguridad, la calidad y las características organolépticas de los alimentos, y no menos importante, para garantizar la satisfacción de los consumidores (Alia Martins *et al.*, 2016).

Durante las últimas décadas, el uso de los recursos antioxidantes naturales y extractos de plantas han recibido un mayor interés debido a las preocupaciones sobre los posible efectos nocivos para la salud generados por el uso de antioxidantes sintéticos (Nahm, Juliani, & Simon, 2012).

Tabla 2. Antioxidantes más importantes encontrados en las plantas (Dasgupta & Klein, 2014).

ANTIOXIDANTE	COMPUESTO
VITAMINAS	Vitamina C, β -caroteno, Vitamina E
COMPUESTOS FENÓLICOS	
Flavonoles	Quercetina, kaempferol, myrcetina,
Flavan-3-oles	Catequina, epicatequina, epigallocatequina
Flavones	Luteolina, epigenina
Antocianinas	Cianidina, delphinidina, malvidina, peonidina
Estíbenos	Resveratrol
Ácidos fenólicos/ésteres	Derivados del ácido hidroxibenzoico e hidroxicinámico.

2.4. Compuestos bioactivos

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples.

Las plantas, organismos autótrofos, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa (Ávalos & Elena, 2009) con la finalidad de aumentar su capacidad general para sobrevivir y superar desafíos locales (Fig. 3).

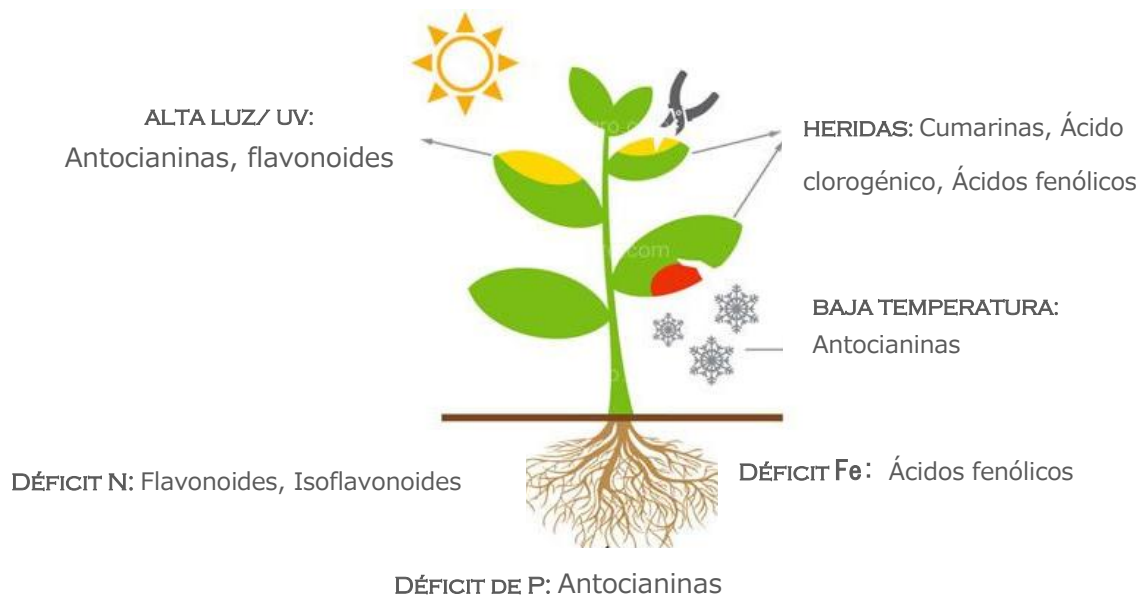


Fig. 3 *Compuestos bioactivos y su relación con desafíos locales.*

Recuperado de:

http://www.infoagro.com/documentos/los_compuestos_fenolicos_como_antioxidantes_naturales_superar_situaciones_estres_abiotico.asp Última revisión: 23/02/17

Algunos de los metabolitos secundarios tienen efecto sobre los sistemas biológicos por lo que se consideran bioactivos (Quideau, *et al.*, 2011), sin embargo, pueden ser bioactivos, pero no jugar un papel esencial en los procesos fisiológicos del organismo (Martinez, *et al.*, 2008), pueden no ser importante para la célula, pero sí para el organismo como un todo, por ello, a menudo se producen en una fase posterior al crecimiento (Azmir *et al.*, 2013).

Según Kurmukov (2013), estos compuestos se clasifican en cuatro categorías; alcaloides (18%), terpenoides (27%) compuestos fenólicos (45%) y otros compuestos tales como taninos, lignanos, fitoesteroles, curcuminas y glucósidos (10%). Se sintetizan en pequeñas cantidades, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies (Ávalos & Elena, 2009).

2.4.1 Alcaloides

Los alcaloides son sustancias básicas que contienen nitrógeno en un anillo heterocíclico, son derivados de aminoácidos y presentan distribución taxonómica limitada concentrándose en plantas superiores como sales de un ácido orgánico, casi todos tienen un sabor amargo (Martinez *et al.*, 2008). Por razones históricas y también por sus complejidades estructurales, la nomenclatura de alcaloides no ha sido sistematizada. Los nombres de los miembros individuales son, en general, derivados del nombre de la planta en la que se producen o de su actividad fisiológica característica (Kurmukov, 2013).

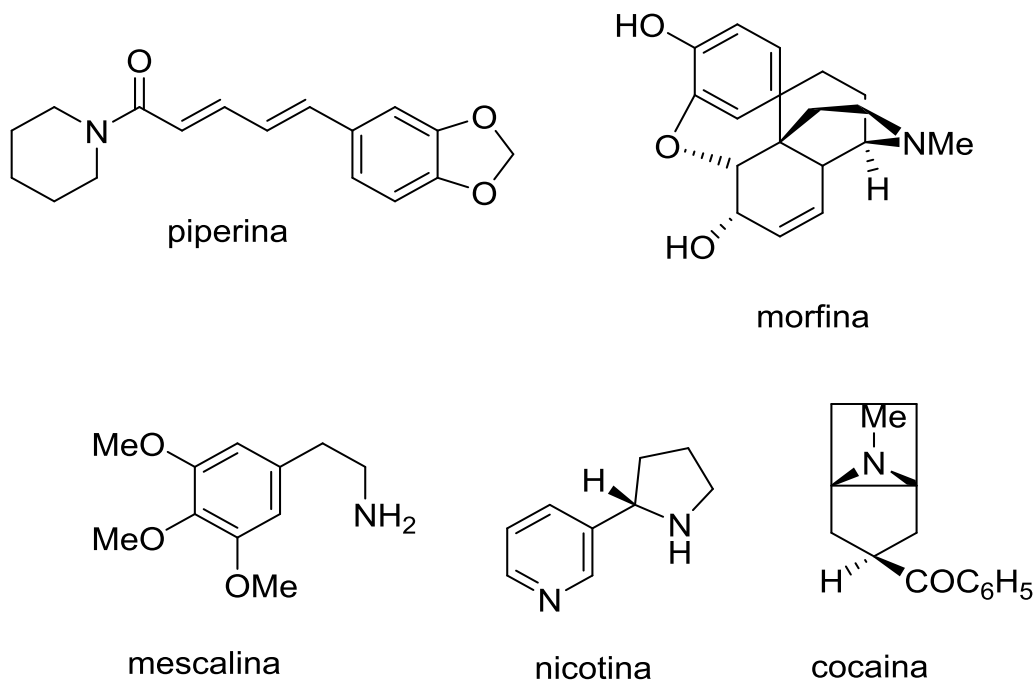


Fig. 4. Estructura de algunos alcaloides.

2.4.2 Compuestos fenólicos

La vía del ácido shikímico vincula el metabolismo de hidratos de carbono a la biosíntesis de productos naturales aromáticos a través de los aminoácidos aromáticos. Esta vía, que se encuentra sólo en plantas y microorganismos, proporciona una ruta importante para productos naturales fenólicos en plantas (Natanya Civjan, 2012).

La mayoría de los compuestos fenólicos vegetales se derivan directamente del ácido shikímico (ácidos benzoico simples), vía shikímico (fenilpropanoides), o una combinación de vías (fenilpropanoides-acetato) shikímico y acetato.

Los productos de cada una de estas vías se someten a elaboraciones estructurales adicionales que dan lugar a una amplia gama de polifenoles vegetales, tales como derivados simples de ácido benzoico y ácido cinámico (Fig. 5), lignanos y lignina, fenilpropenos, cumarinas, estilbenos, flavonoides, antocianidinas, e isoflavonoides.

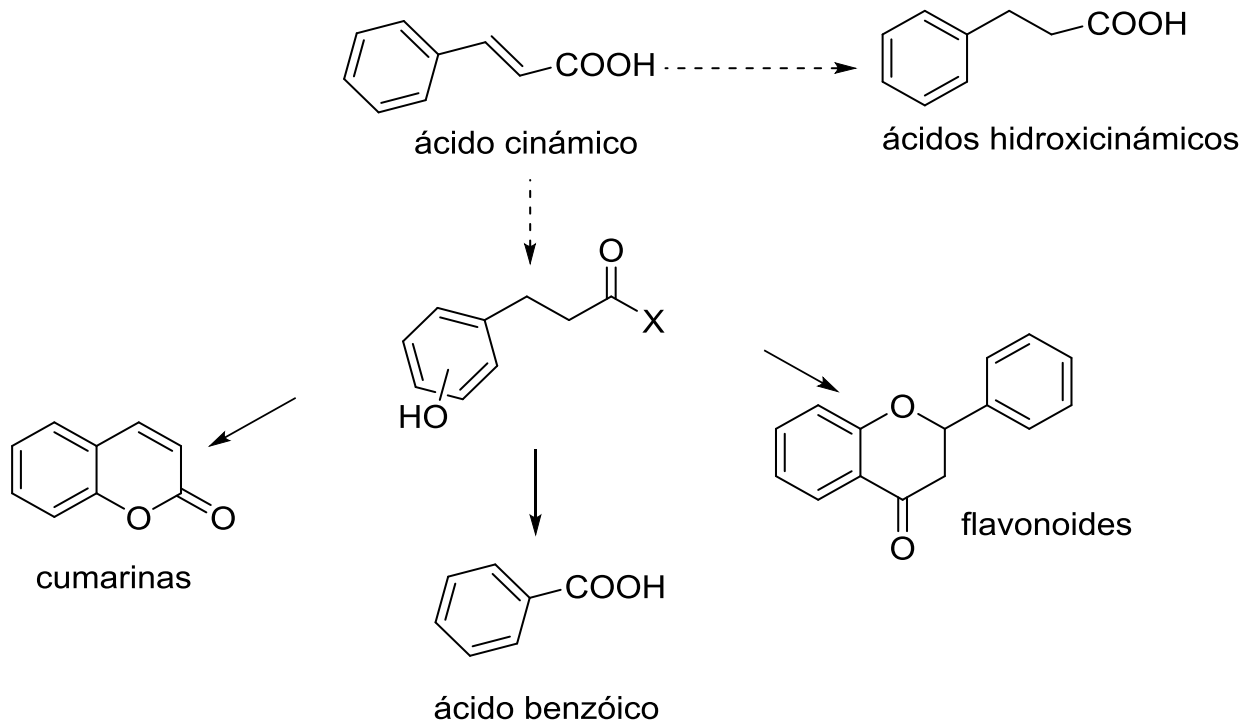


Fig. 5. Derivados de ácido cinámico.

2.4.2.1. Ácidos fenólicos:

Consisten en dos subgrupos, los ácidos hidroxibenzoicos (Fig. 6) y los ácidos hidroxicinámicos (Fig. 7). Los ácidos hidroxibenzoicos incluyen al ácido gálico, para-hidroxibenzoico, vainillinico y siríngico, los cuales, comúnmente, tiene la estructura (C6-C1). Por otro lado, los ácidos hidroxicinámicos son compuestos aromáticos con una cadena (C6-C3) de tres átomos de carbono, siendo los más comunes, el ácido cafeíco, ferúlico, para-cumárico, sinápico y clorogénico.

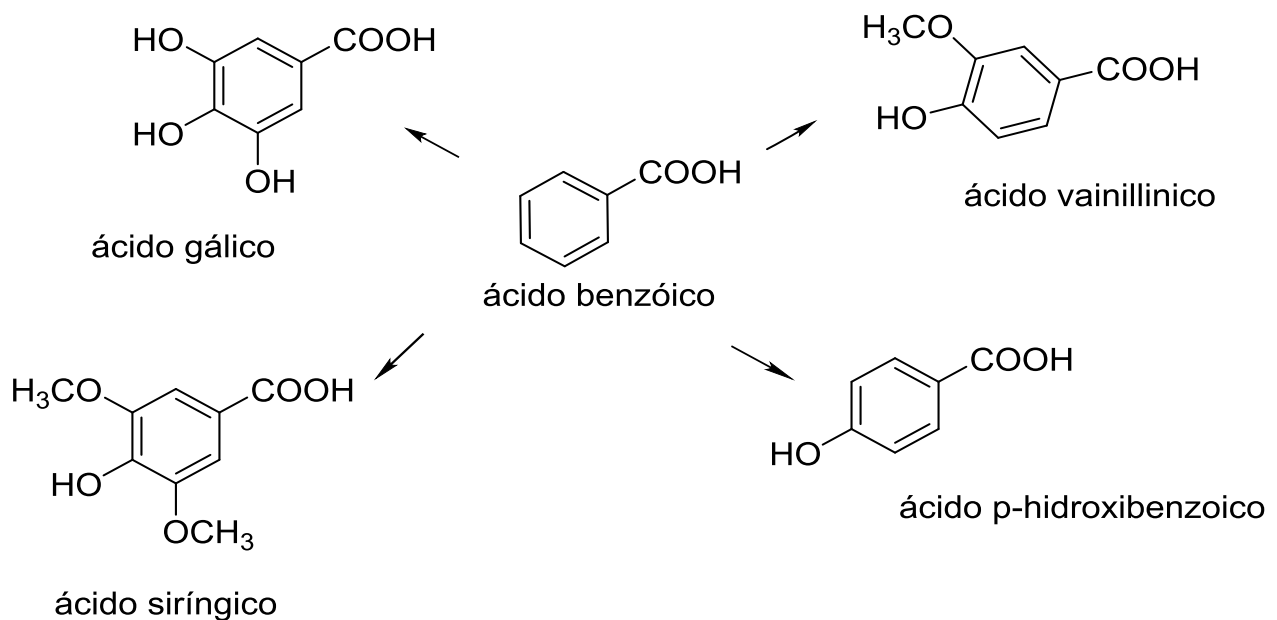


Fig. 6. Estructura de ácidos hidroxibenzoicos.

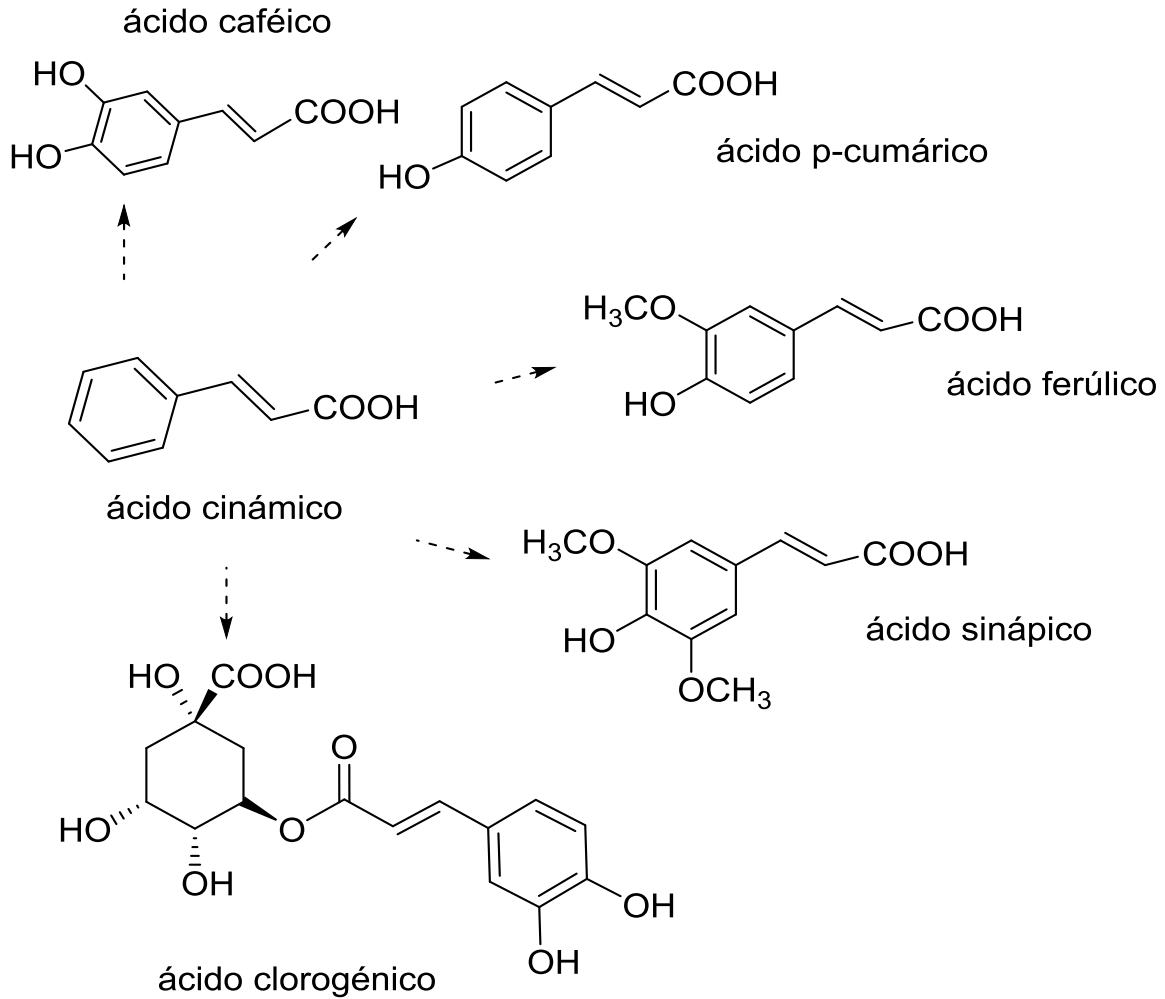


Fig. 7. Estructura de ácidos hidroxicinámicos.

2.4.2.2. Flavonoides

La síntesis de flavonoides tiene lugar en plantas a partir de unidades de acetato y aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y la tirosina.

Están compuestos de dos anillos fenilos (A y B), ligados mediante un anillo pirano (C), lo cual deja un esqueleto de difenilpiranos: C₆-C₃-C₆ (Fig. 8), común en la mayoría de los flavonoides.

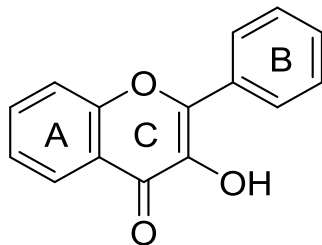


Fig. 8. Estructura de flavonoide

En la naturaleza se suele presentar con al menos tres hidroxilos fenólicos y se encuentran generalmente combinados con azúcares en forma de glicósidos, aunque también se presentan con relativa frecuencia como agliconas libres (Cartaya & Reynaldo, 2001). Debido a las variaciones del pirano, se pueden clasificar en antocianidinas, flavanos, flavonas y flavonoles (Tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de los flavonoides. (Escamilla Jiménez, et al., 2009).

NOMBRE	DESCRIPCIÓN	EJEMPLO
Antocianidinas	Tienen un grupo –OH unido en posición 3, además de poseer un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.	Antocianidina
Flavanos	Con un grupo –OH en posición 3 del anillo C.	Catequina
Flavonas	Poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3.	Diosmetina
Flavonoles	Grupo carbonilo en posición 4 y un grupo –OH en posición 3 del anillo C.	Quercetina

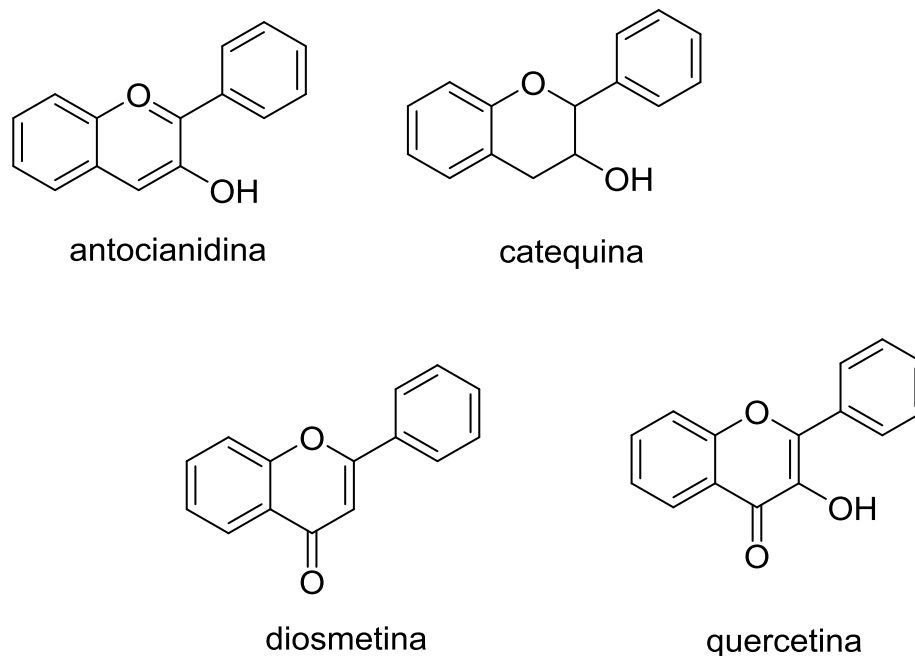
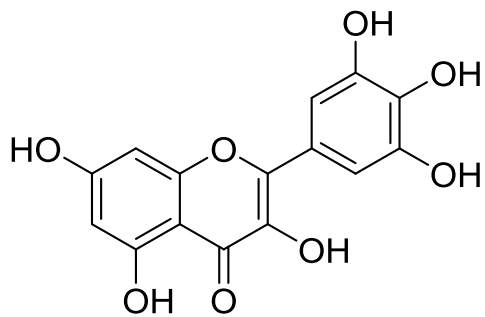


Fig. 9. Estructura de flavonoides

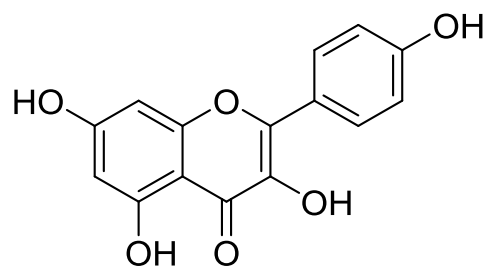
2.4.2.2.1 Flavonas y flavonoles

Las flavonas no se encuentran frecuentemente en frutas, pero si en cereales y en muchas plantas herbáceas. Participan en cierta medida en las características sensoriales de los vegetales, pueden contribuir a la coloración de plantas y algunas flavonas no glicosiladas y altamente metoxiladas son responsables del sabor amargo de algunos cítricos.

Los flavonoles se encuentran repartidos abundantemente en todos los alimentos de origen vegetal, las pieles de las frutas son particularmente ricas en estos compuestos. Los más conocidos son quercetina, kaempferol, y miricetina (Fig. 10). Al igual que las flavonas, proporcionan un ligero color amarillo a los tejidos vegetales.



miricetina

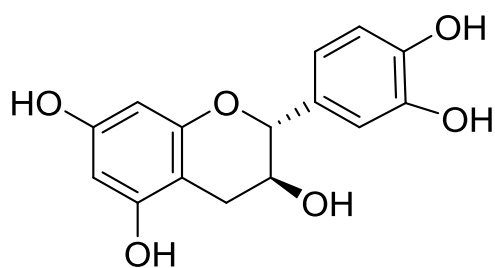


kaempferol

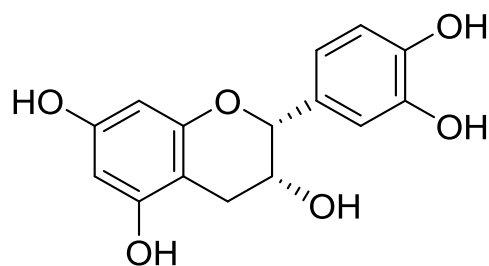
Fig. 10. Estructura de flavonoles.

2.4.2.2 Flavanonas y flavanos

Estos compuestos existen en muy pequeñas cantidades comparados con los otros flavonoides. Dentro de los más estudiados se encuentra la catequina (Fig. 11). Son incoloros o ligeramente amarillos. Por su baja concentración y su característica incolora, han tenido escaso interés. En cambio sus glicósidos son bien conocidos, como son la hesperidina y naringina de la corteza de los frutos cítricos.



catequina



epicatequina

Fig. 11. Estructura química de catequina y epicatequina.

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres, además de la inhibición de las oxidasas: lipooxidasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa y la xantina oxidasa; evitan la formación de ERO y de hidroperóxidos orgánicos (Barrón-Yáñez, *et al.*, 2011).

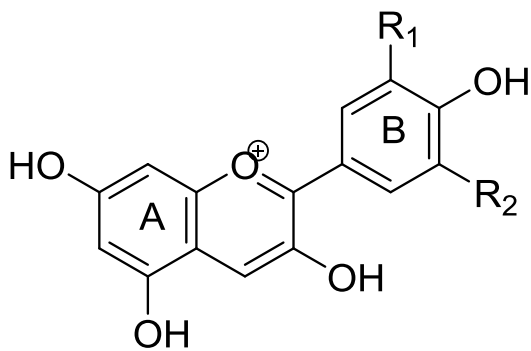
Los flavonoides, como constituyentes de los alimentos, también son importantes al contribuir a determinadas propiedades, como son el color (pigmentos antocianos), sabor (amargo de determinadas flavanonas y dulce de determinadas dihidrochalconas) y la astringencia (de los taninos catequínicos), contribuyen a la estabilidad de los alimentos por sus propiedades inhibitorias de enzimas responsables del ablandamiento de algunos tejidos, y poseen especial atención por su actividad antioxidante (Cartaya & Reynaldo, 2001).

2.4.2.2.3 Antocianinas

Químicamente las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico (Ortíz *et al.*, 2011). Dentro de los sacáridos glicosilantes se encuentran la glucosa, galactosa, xilosa, ramnosa, arabinosa, rutinosa, soforosa, sambubiosa y gentobiosa.

La estructura química básica de estas agliconas es el ión flavilio, también llamado 2-fenil-benzopirilio que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión (Fig. 12) (Garz, 2008).

De todas las antocianidinas que actualmente se conocen (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina, delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina; la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas (Ortíz *et al.*, 2011).



Aglicona	Sustitución	
	R ₁	R ₂
Pelargonidina	H	H
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Peonidina	OCH ₃	H
Petunidina	OCH ₃	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Fig. 12. Estructura de antocianidina.

Otra posible variación en la estructura, es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos pueden ser alifáticos, tales como: malónico, acético, málico, succínico u oxálico; o aromáticos: p-cumárico, cafeíco, ferúlico, sinápico, gálico, o p-hidroxibenzóico.

Se ha observado que la presencia de estos grupos acilo le confiere a la molécula estabilidad ante condiciones extremas de pH y temperatura (Ortíz *et al.*, 2011).

Las antocianinas son más estables en un medio ácido que en medio neutro o alcalino. En medio ácido la forma predominante es la de ión oxonio o catión flavilio (AH⁺) de color rojo intenso. A valores de pH más altos ocurre un ataque nucleofílico por parte del agua en la posición 2, dando lugar a un equilibrio entre la pseudobase carbinol o hemicetal (B) y la forma chalcona (C), o de cadena abierta (Garz, 2008) (Fig. 13).

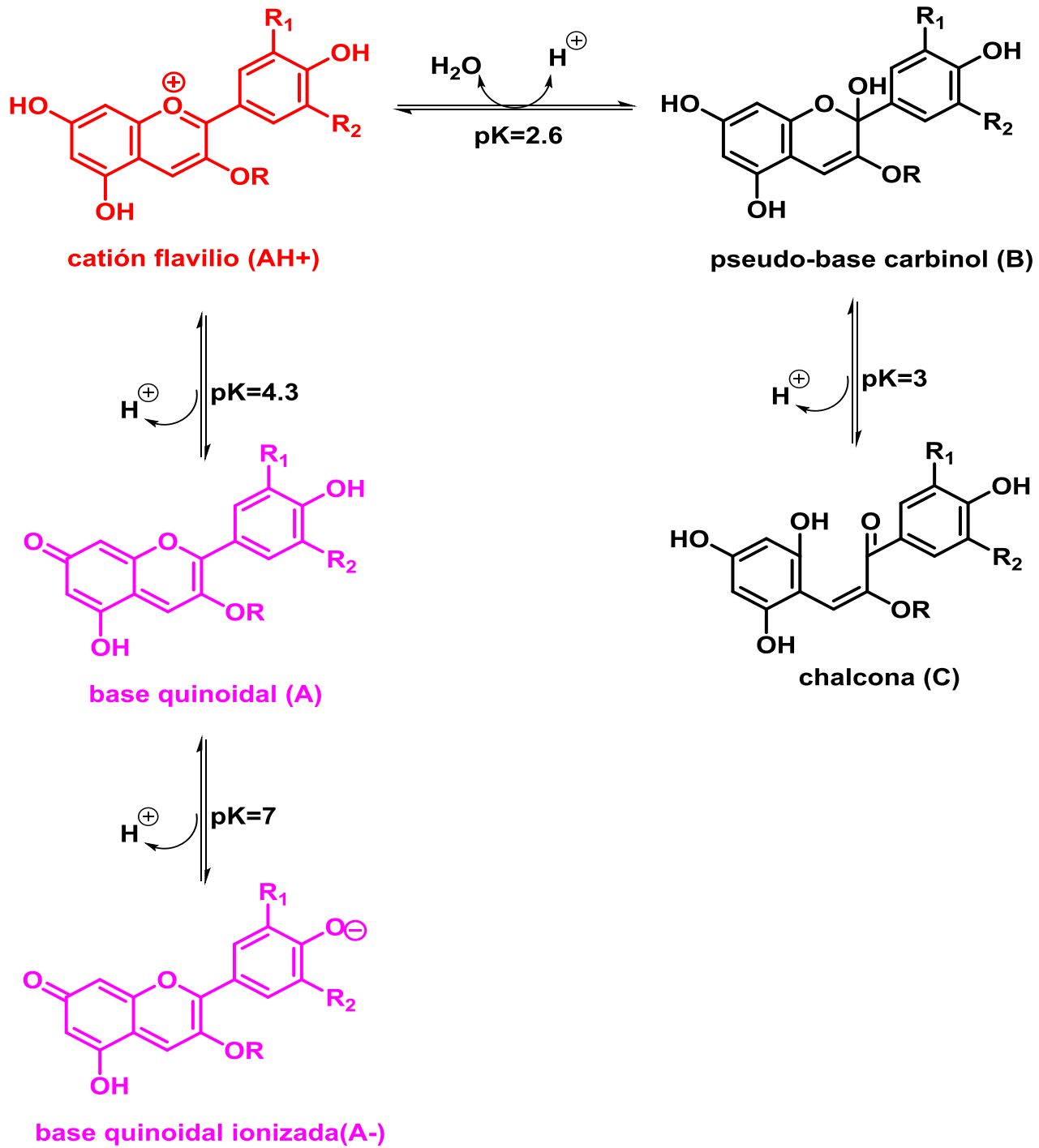


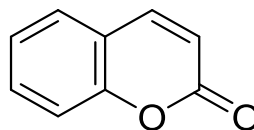
Fig. 13. Estructura de antocianina a diferente pH

Tanto el hemiacetal como la chalcona, son formas incoloras y bastante inestables. A valores de pH superiores a siete se presentan las formas quinoidales (A, A⁻) de color púrpura que se degradan rápidamente por oxidación con el aire (Garz, 2008).

Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante. Estudios de antocianinas provenientes del vino han demostrado que estas son efectivas en inhibir la formación de especies reactivas de oxígeno y la oxidación de lipoproteínas (Ortíz *et al.*, 2011).

2.4.2.2.4. Cumarinas

Son lactonas derivadas de la γ -benzopirona, formadas a partir de ácido cinámico, se encuentran en plantas medicinales y tienen una estructura química de 2H-1-benzopiran-2-ona (Fig.14). Sobre esta estructura se disponen sustituyentes de distinta naturaleza química lo que da lugar a distintos tipos de cumarinas (Cañete, 2005).



cumarina

Fig. 14. Estructura química de la cumarina.

Como grupo, su interés farmacológico no es muy grande sin embargo tienen efectos importantes sobre el sistema vascular tanto arterial como venoso (Cañete, 2005) además actúan como agentes antimicrobianos y como inhibidores de germinación (Ávalos & Elena, 2009).

Se concentran en altos niveles en algunos aceites esenciales, como el de corteza de canela, cassia y aceite de lavanda. También se encuentran en frutas como arándano, mora silvestre y té verde. Aunque se distribuyen por todas las partes de la planta, estos compuestos se producen en niveles más altos en las frutas, seguidas de las raíces, tallos y hojas (Jain & Joshi, 2012).

2.4.2.2.5. Taninos

Son compuestos que tienen tres o más subunidades fenólicas, hidrosolubles no nitrogenados, de origen vegetal, de peso molecular entre 500 y 3000, que además de dar las reacciones clásicas de los fenoles, precipitan sales de alcaloides y metales pesados (Cañete, 2005).

Los taninos o polifenoles poliméricos tienen mayor actividad antioxidante que los fenoles monoméricos simples (Paladino, 2008). Según sus características estructurales se puede clasificar a los taninos en cuatro grupos principales: Galotaninos, elagitaninos, taninos complejos y taninos condensados (Kurmukov, 2013).

Estos compuestos se encuentran principalmente en las raíces, la corteza, y de vez en cuando en las hojas de la planta, tienen propiedades antibacterianas, astringentes y antisépticas. (Cañete, 2005).

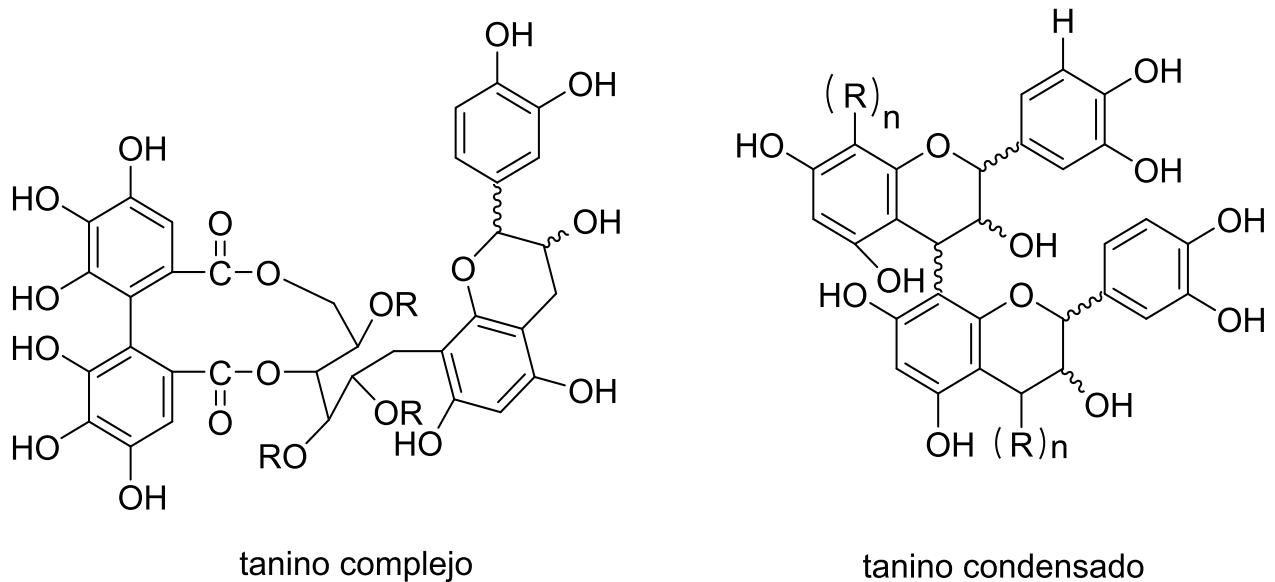


Fig. 15. Estructura de tanino complejo y condensado.

2.4.2.3. Quinonas

Las quinonas son dicetonas aromáticas procedentes de la oxidación de fenoles, muy abundantes en la naturaleza, se encuentran tanto en vegetales superiores como en hongos y bacterias. Dependiendo del grado de complejidad de su estructura química pueden clasificarse en benzoquinonas, naftoquinonas o antraquinonas si son estructuras monocíclicas, bicíclicas o tricíclicas.

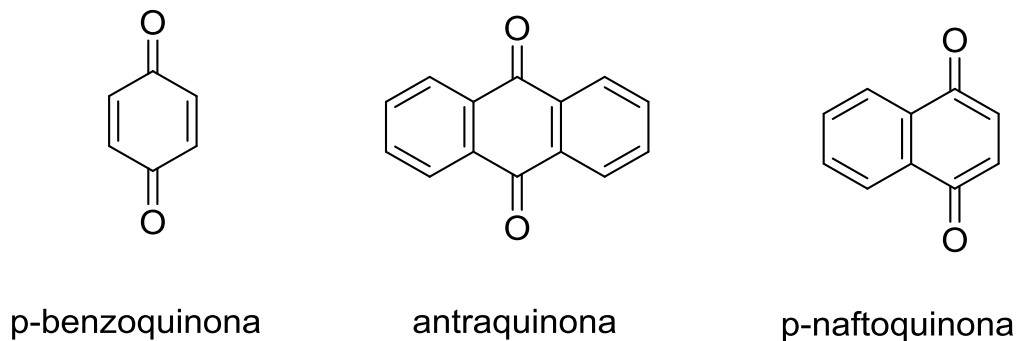


Fig.16. Estructura química de quinonas.

Los derivados de quinonas son constituyentes comunes de moléculas biológicamente relevantes. Algunos ejemplos son las vitaminas K y E. En la naturaleza, las quinonas actúan como sustancias colorantes y, como redox (compuestos de transporte de electrones).

2.4.2.4. Terpenoides

Los terpenoides o isoprenoides, se derivan de la fusión de cinco carbonos llamada isopreno (C5) (Fig. 17). Para su síntesis existen dos vías, la ruta del mevalonato que se lleva al cabo en el citoplasma y la ruta MEP, la cual es independiente de la del mevalonato y se realiza en los plástidos (Sepúlveda-Jiménez, 2003).

Se clasifican de acuerdo al número de unidades de isopreno que los forman, hemiterpenoides (C5), monoterpenoides (C10), sesquiterpenoides (C15), diterpenoides (C20), o politerpenoides (C5x n). Además, la condensación de C15 - C20 dan lugar a triterpenoides (C30) y (C40) tetraterpenoides, respectivamente (Natanya Civjan, 2012).

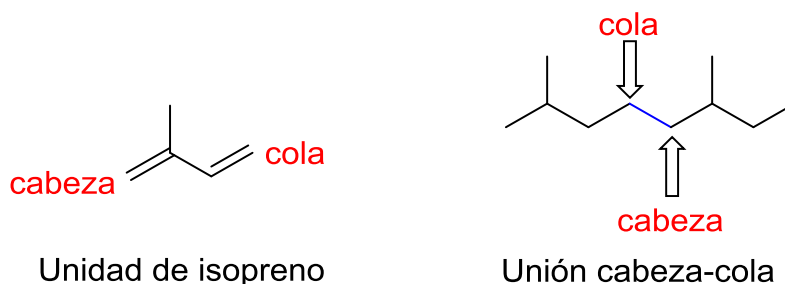


Fig. 17. Estructura de isopreno.

Los terpenoides son comercialmente interesantes debido a su uso como fragancia en alimentación y cosmética, además de su importancia medicinal por sus propiedades anticarcinogénicas, antiulcerosas, antimalariales y antimicrobianas, entre otras (Ávalos & Elena, 2009).

Aquellos que se encuentran en los aceites esenciales son generalmente monoterpenos como el limoneno y el mentol, constituyentes de los aceites de limón y menta, respectivamente. Entre los diterpenos se encuentra el fitol, terpeno de cadena abierta que forma parte de las clorofilas (Ávalos & Elena, 2009).

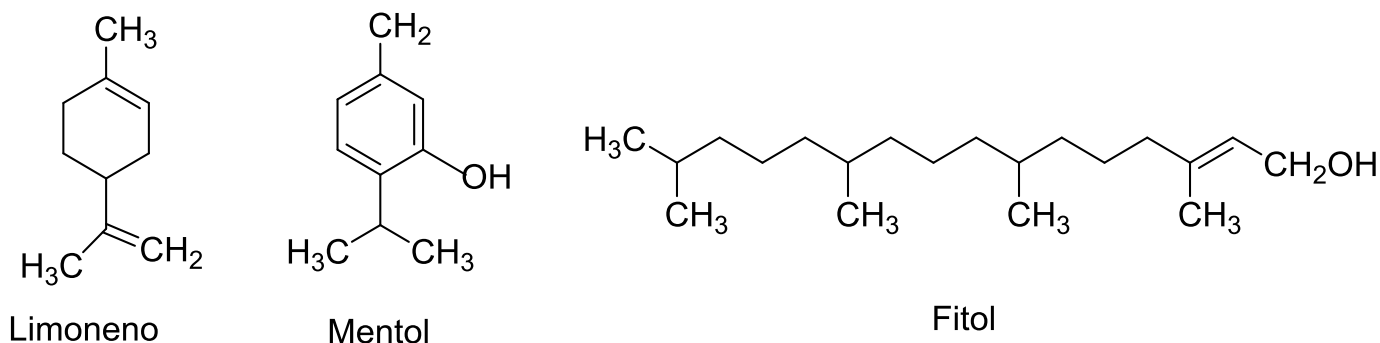


Fig.18. Estructura de terpenos.

2.4.2.4.1. Triterpenos

Michaudel, (2013) reporta más de 20.000 triterpenos aislados, la diversidad química de los triterpenoides vegetales es el resultado de la capacidad del precursor C₃₀, el escualeno, para experimentar varios modos de ciclación y reacciones posteriores de "decoración". Los más abundantes son triterpenos tetracíclicos y pentacíclicos y pueden encontrarse en su forma libre (sapogeninas), o unidos a glucósidos (saponinas).

Entre los triterpenos se encuentran esteroides y esterol, los que contienen un grupo alcohol se denominan esterol. Los más abundantes en plantas son el estigmasterol y el sitosterol, que sólo difiere del estigmasterol en la ausencia del doble enlace entre C₂₂ y C₂₃ (Ávalos & Elena, 2009).

Como ejemplo, los triterpenos de origen natural α - y β -amirina (Fig. 20) han sido aislados a partir de diversas fuentes, sobre todo resinas de las plantas. Las fuentes más importantes de β -amirina incluyen el polen de abeja (3 g / kg), la corteza de "Cuachalalate" (2,4 g / kg) y hojas-corteza de *Byrsonima crassa* (1,3 g / kg) (Vázquez *et al.*, 2011).

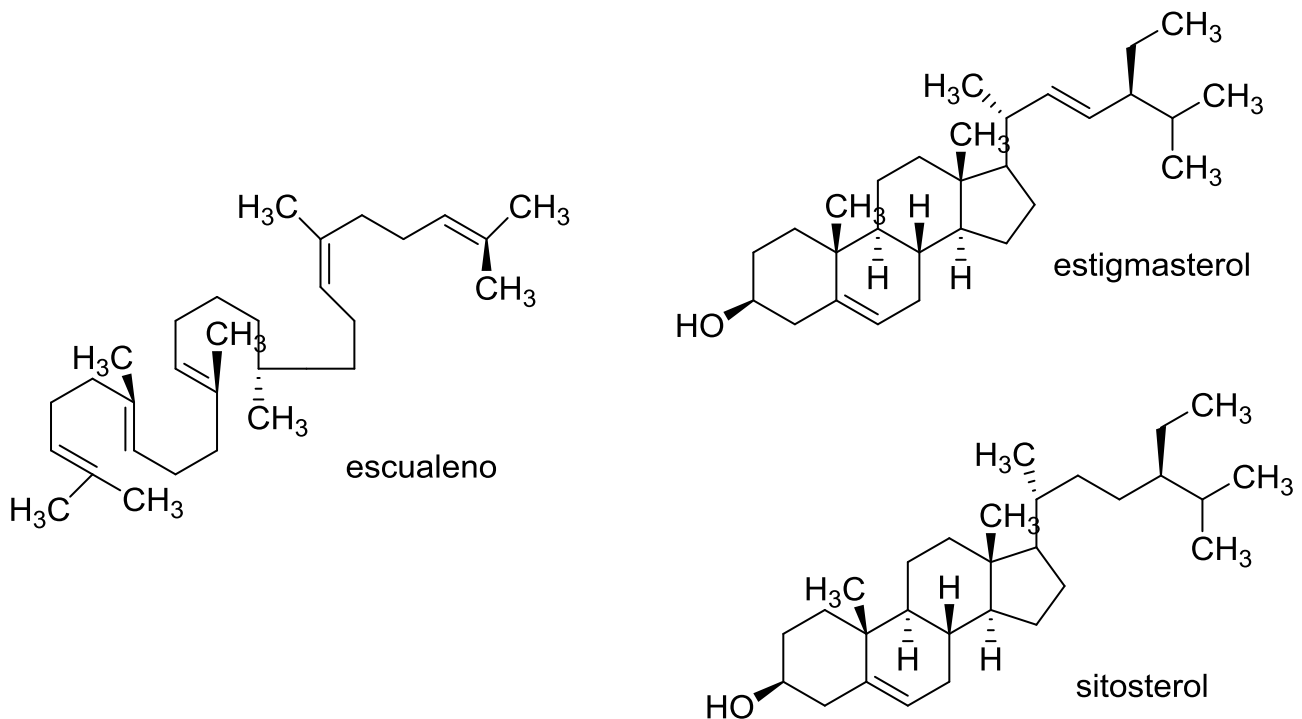


Fig. 19. Molécula de escualeno y sus derivados triterpenos cíclicos.

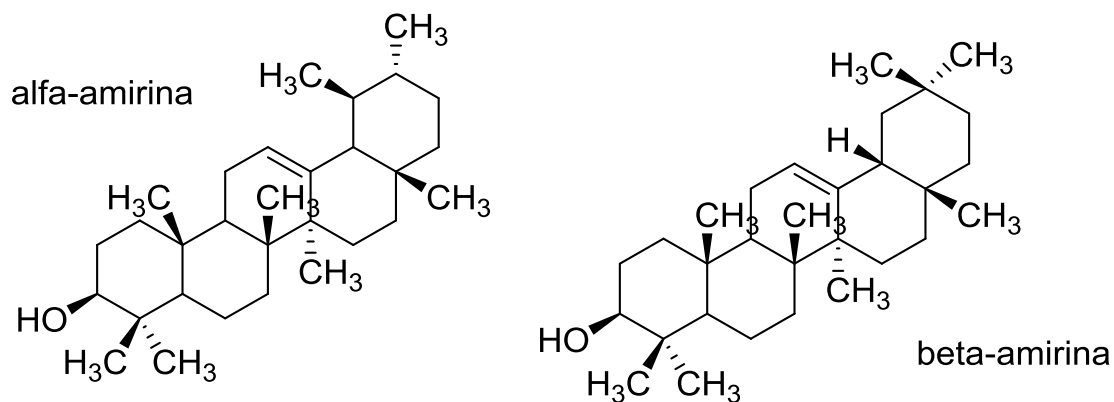


Fig. 20. Estructura química de la α y β -amirina

Se ha demostrado que la α y β -amirina, muestran diversas actividades farmacológicas in vitro e in vivo contra diversas condiciones relacionadas con la salud, algunas tales como la inflamación, microbiano, hongos, infecciones virales y células cancerosas (Vázquez *et al.*, 2011).

2.4.2.4.2. Carotenoides

Los carotenoides son tetraterpenos constituidos por múltiples unidades de isopreno con un ciclohexano sustituido e insaturado en cada uno de los extremos. Son moléculas lipofílicas, con nula solubilidad en agua.

La propiedad de absorber luz se deriva de la presencia de 7 o más enlaces dobles conjugados con posibilidad de absorber luz visible, con colores que van del amarillo al rojo (Tobergte & Curtis 2013).

Después de las clorofilas, los carotenoides son los más ampliamente distribuidos en la naturaleza. Se encuentran en todo el reino vegetal, tanto en tejidos fotosintéticos como no fotosintéticos; siendo responsables del color amarillo, naranja y rojo de la mayoría de frutos (Mínguez Mosquera, *et al.*, 2005).

En la Figura 21 se presenta la estructura de algunos carotenoides habituales y de importancia biológica.

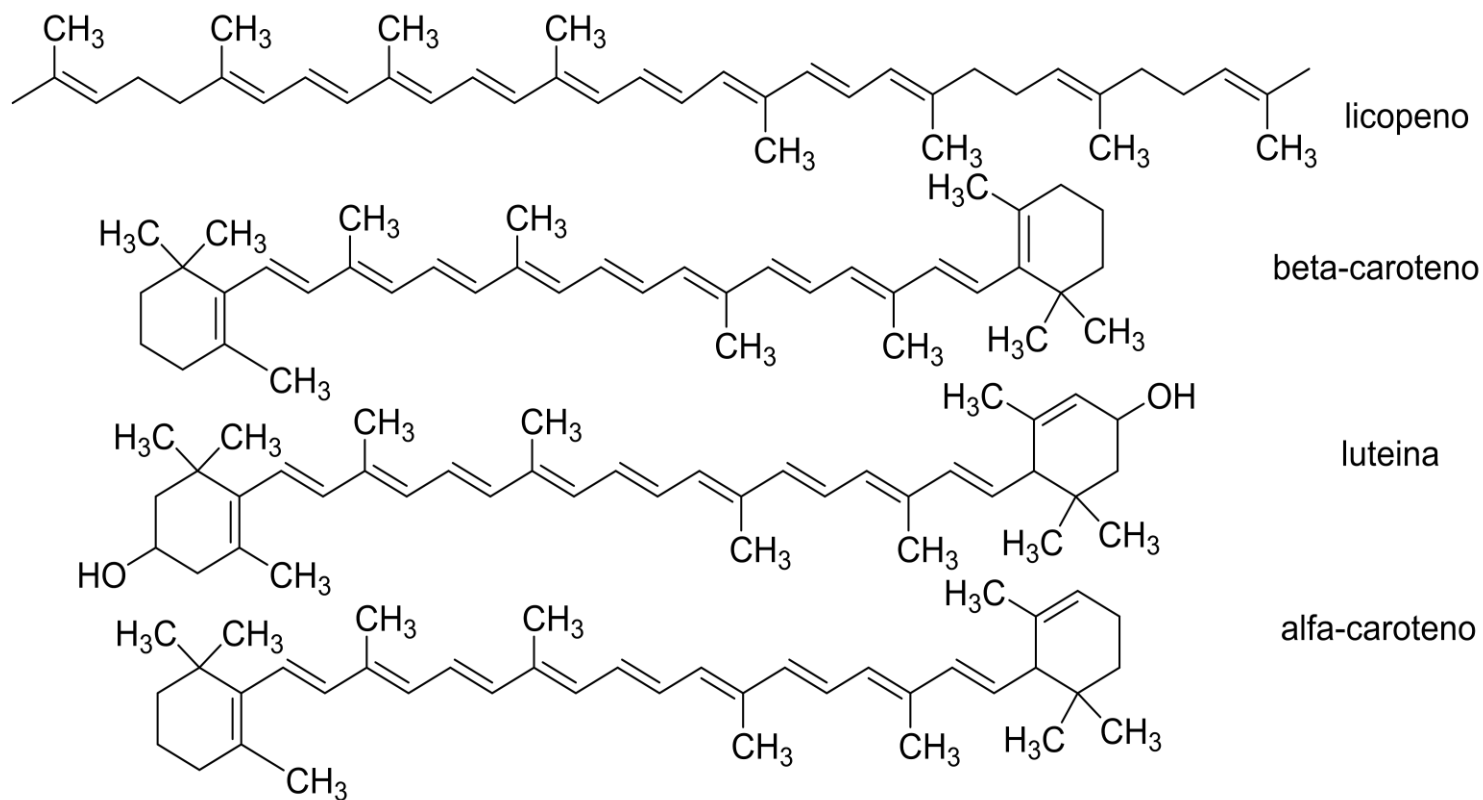


Fig.21. Estructura química de carotenoides.

La mejor fuente de α -caroteno es la zanahoria y la calabaza, mientras que β -caroteno está más diversificado en frutas y vegetales como la zanahoria, el pimiento rojo, la naranja, la patata, el brócoli y vegetales verdes (Tobergte & Curtis 2013).

La implicación de los carotenoides en la inhibición o reducción del estrés oxidativo, participando como antioxidantes sería el principal mecanismo de acción de estos compuestos y la caracterización de ellos como anticancerígenos e inmunoactivadores (Mínguez Mosquera *et al.*, 2005).

2.4.2.4.3. Saponósidos

Los saponósidos, también conocidos como saponinas, son heterósidos que constan de una parte glucídica (con uno o más azúcares) y de una genina (parte no glucídica) denominada sapogenina, que puede ser de naturaleza esteroide, alcaloide o triterpénica, por tanto de carácter poco polar (Tránsito, 2001).

Deriva su nombre a la capacidad de formar espumas estables, como el jabón en soluciones acuosas. La espuma se forma debido a que los saponósidos disminuyen la tensión superficial del agua, es decir, son tensoactivos naturales (Francis, *et al.*, 2002).

Los saponósidos esteroídicos están menos distribuidas en la naturaleza que las saponinas triterpénicas, y se dan preferentemente en las familias de monocotiledóneas, como por ejemplo en *Liliaceae* y *Dioscoreaceae* (Tránsito, 2001).

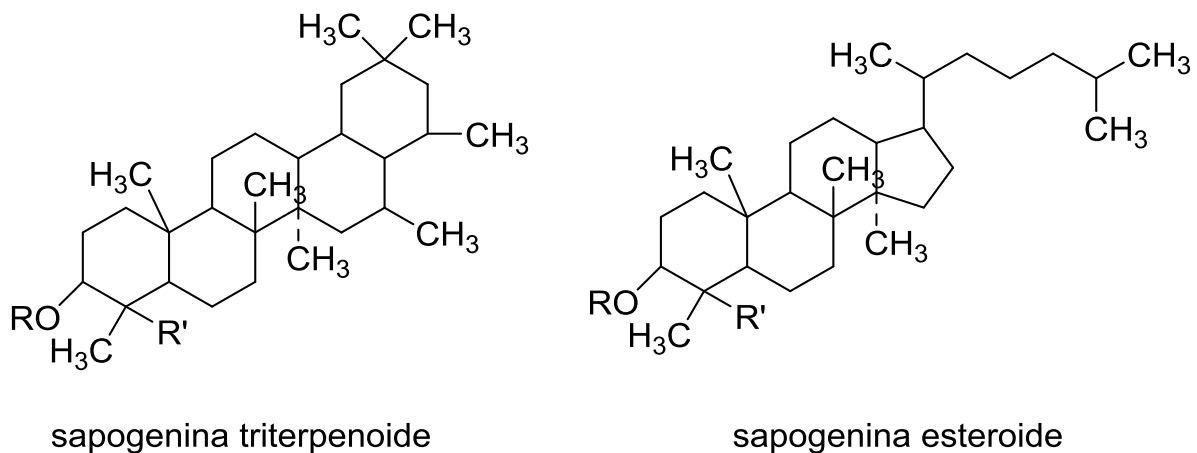


Fig.22. Estructura básica de sapogeninas triterpenoide y esteroide.

Las saponinas pueden ser consideradas parte de los sistemas de defensa de las plantas, se sabe que muchas saponinas son antimicrobianas, inhiben el moho y protegen a las plantas de los ataques de insectos (Francis *et al.*, 2002).

También se ha observado que estos compuestos estructuralmente diversos matan protozoos y moluscos, son antioxidantes, perjudican la digestión de proteínas y la absorción de vitaminas y minerales en el intestino, causan hipoglucemia y actúan como anti fúngicos y antivirales (Kurmukov, 2013).

2.4.2.4.4. Ácidos grasos

Los ácidos grasos son derivados hidrocarbonados de cadenas que pueden variar entre 4 y 36 átomos de carbono. Por su naturaleza lipídica, son insolubles en agua y miscibles en compuestos apolares. Se clasifican en saturados e insaturados según el número de dobles enlaces presentes en la molécula.

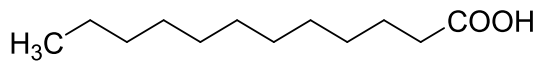
En la figura 23 se muestra la estructura de algunos ácidos grasos, los saturados varían de 4 a 26 átomos de carbono y su punto de fusión aumenta con el peso molecular o largo de la cadena, son más estables a la oxidación; en comparación con los insaturados que tienen una gran reactividad química debido a los dobles enlaces que dan lugar a transformaciones oxidativas y de isomerización.

Dentro de este último grupo, se encuentran los ácidos grasos linoleico y linolénico o también llamados ácidos grasos indispensables (Fig. 24) ya que no pueden ser sintetizados por el cuerpo humano y deben obtenerse de la dieta.

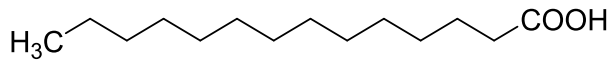
Los seres humanos y otros mamíferos pueden sintetizar ácidos grasos saturados y algunos monoinsaturados pero carecen de enzimas encargadas de insertar un doble enlace cis en la posición n-6 o n-3 de un ácido graso (Vincent & Robert, 1988).

Se ha documentado que estos ácidos grasos juegan un rol importante en las capas dérmicas y epidérmicas de la piel (Vincent & Robert, 1988).

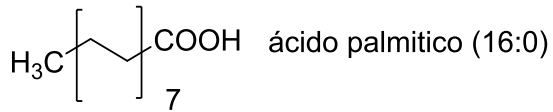
Ácidos grasos saturados



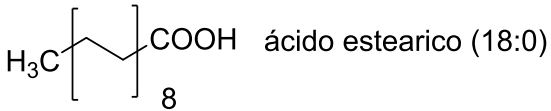
ácido laurico (12:0)



ácido mirístico (14:0)

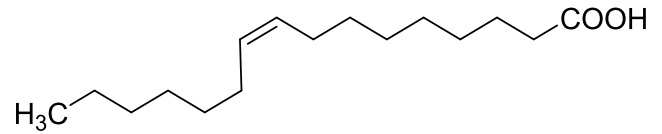


ácido palmítico (16:0)

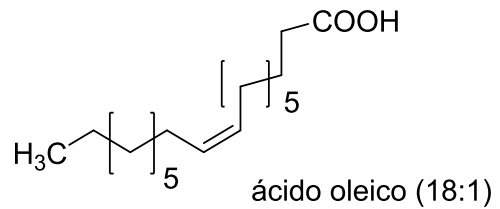


ácido estearico (18:0)

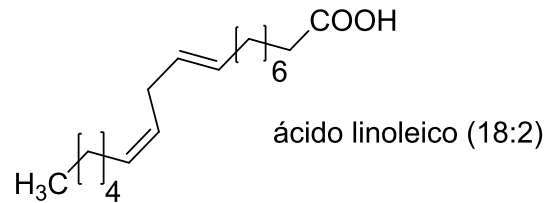
Ácidos grasos insaturados



ácido palmíticoico (16:1)



ácido oleico (18:1)



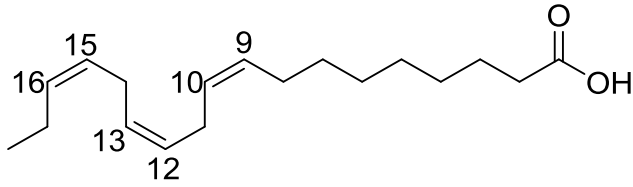
ácido linoleico (18:2)

Fig. 23. Estructura de ácidos grasos saturados e insaturados.

Existen dos clases de PUFAs; ácidos grasos omega-6 (n-6) y omega-3 (n-3) (Fig. 24). El ácido linoleico (LA) es el compuesto de origen de los n-6 mientras que el α -linolénico (ALA) es el compuesto original de los n-3.

(Stuchlík & Zák, 2002) menciona que ácido linoleico, linolénico y sus derivados de cadena larga son componentes importantes de las membranas de animales y células vegetales.

Ácidos grasos indispensables



ácido linolénico - ALA (18:3)



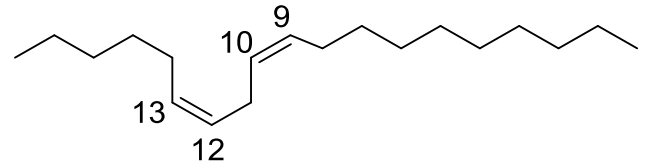
omega-3

ácido eicosapentanoico - EPA (20:5)

ácido eicosatetranoico - ETA (20:4)

ácido docosahexanoico - DHA (22:6)

ácido eicosapentanoico - DPA (22:5)



ácido linoleico - LA (18:2)



omega-6

ácido araquidónico - ARA (20:4)

Fig. 24. Clasificación de ácidos grasos indispensables.

2.5 Frutas de estudio.

CUNDE AMOR (*Momordica charantia*)

Familia	Cucurbitaceae
Género	<i>Momordica</i>
Especie	<i>Momordica charantia</i> L.

Es una planta perenne trepadora que crece generalmente hasta 6 m (Kubola & Siriamornpun, 2008).

Fruto: Anaranjado brillante, alrededor de 4 cm de largo, carnoso, abriendo explosivamente en la madurez en 3 valvas que sostienen las semillas en una pulpa rojo brillante; semillas negras, algo aplanadas, de 8 a 10 mm de largo, 4 a 6 mm de ancho.



Momordica charantia, Fig. 25 (Lascurain *et al.* 2010)

Se consume la pulpa de las semillas como fruta fresca, las hojas, en infusión, se emplean en medicina tradicional contra el paludismo y en oriente, esta especie es cultivada por sus frutos comestibles en estado inmaduro que son más grandes que los de forma silvestre (Kubola & Siriamornpun, 2008).

Tabla 4. Fitoquímicos reportados en el género *Momordica*.

Compuesto	Especie	Sección	Cuantificación	Referencia
Fenoles totales	<i>Momordica charantia</i>	Epicarpio	224 ± 0.86 mg GAE/g MS	(Kubola & Siriamornpun, 2008)
	<i>Momordica charantia</i>	Epicarpio	53 ± 0.0 mg GAE/g MS	
	<i>Momordica cochinchinensis</i>	Epicarpio	10.7 ± 0.0 mg GAE/g MS	(Conde, <i>et al.</i> , 2013)
	<i>Momordica cochinchinensis</i>	Mesocarpio	23.5 ± 0.0 mg GAE/g MS	
Flavonoides totales	<i>Momordica charantia</i>	Epicarpio	0.666 ± 0.0 mg quercetina/ g MS	(Nobre, Raffin, & Moura, 2005)
Carotenos totales	<i>Momordica charantia</i>	Epicarpio	22.3 ± 2.3 µg/g MS	(Rodríguez <i>et al.</i> , 1976)
Ácido gálico, cafeíco, p-cumárico, ferúlico y benzoico.	<i>Momordica charantia</i>	Epicarpio		(Kubola & Siriamornpun, 2008)
Licopeno	<i>Momordica charantia</i>	Mesocarpio	261 µg/g MS	(Nagarani, <i>et al.</i> , 2014)
	<i>Momordica charantia</i>	Epicarpio	96.3 µg/g MS	(Rodríguez, <i>et al.</i> , 1975)
Triterpenos Esteroles Cumarinas	<i>Momordica</i> sp.	Epicarpio		(Nagarani <i>et al.</i> , 2014)

ZAPOTE AMARILLO (*Pouteria campechiana*)

Familia	Sapotaceae
Género	<i>Pouteria</i>
Especie	<i>Pouteria campechiana</i>

Árbol perennifolio de hasta 30 m de altura (Lascurain *et al.*, 2010).

Fruto: Baya de 7 cm de largo por 3 a 5 cm de ancho, piriforme o algo globoso, amarillo en el exterior e interior, inmaduro produce un exudado blanco pegajoso; de 2 a 3 semillas, de 4 cm de largo por 2 cm de ancho, ovoides, oscuras, brillantes.

El fruto maduro se consume fresco. Con la madera se hacen tablas y vigas para construcción y con el jugo lechoso del árbol se elabora algo parecido al chicle.



Pouteria campechiana Fig. 26

Recuperado de:
<http://www.daleysfruit.com.au/buy/canistel-aurea-tree.htm>



Pouteria sp. Fig. 27

Tabla 5. Fitoquímicos reportados en el género *Pouteria*.

Compuesto	Especie	Sección	Cuantificación	Referencia
Fenoles totales	<i>Pouteria</i> sp.	Mesocarpio	0.646 ± 0.0 mg AT / g MS	(Ettiene & Sandoval, 2012)
	<i>Pouteria</i>		23.04 ± 0.0 mg GAE/g MS	(Kong, <i>et al.</i> , 2013)
	<i>Pouteria campechiana</i>		1.87 ± 0.0 mg GAE/g MS	
	<i>Pouteria sapota</i>		2.56 ± 0.10 mg GAE/g MS	(Torres-Rodríguez, <i>et al.</i> , 2011)
			3.211 ± 0.05 mg GAE/ g	(Malta, <i>et al.</i> , 2013)
Flavonoides totales	<i>Pouteria guardneriana</i>			
	<i>Pouteria campechiana</i>	Mesocarpio	64.14 ± 0.0 mg rutina/ g MS	(Kong <i>et al.</i> , 2013)
	<i>Pouteria campechiana</i>		0.906 ± 0.0 mg rutina/ g MS	(Barreto, <i>et al.</i> , 2009)
Carotenos totales	<i>Pouteria guardneriana</i>		3.15 ± 0.03 mg catequina/ g MS	(Malta <i>et al.</i> , 2013)
	<i>Pouteria campechiana</i>	Mesocarpio	19.0– 23.5 µg/g MS	(Lanerolle, <i>et al.</i> , 2008)
	<i>Pouteria sapota</i>		28.9 – 69.6 µg/g MF	(Moore-Steam., 2002)
	<i>Pouteria campechiana</i>		21 µg/g MS	
Triterpenos	<i>Pouteria gardnerii</i>			(Vázquez <i>et al.</i> , 2011)
Ácido gálico	<i>Pouteria</i> sp.			(Ma, <i>et al.</i> , 2004)
Catequina				
Epicatequina				
Miricetina				

NANCHE (*Byrsonima crassifolia*)

Familia	Malphiaceae
Género	<i>Byrsonima</i>
Especie	<i>Byrsonima crassifolia</i>

Árbol hasta de 10 m de altura y diámetro de 30 a 40 cm; copa irregular y frecuentemente ramificado desde el suelo (Lascurain *et al.*, 2010).

Fruto: Drupa globosa, amarilla a ligeramente anaranjada, de 1.2 a 2 cm de diámetro, con abundante pulpa agridulce que rodea al endocarpio y contiene de 1 a 3 semillas blancas rodeadas por una testa delgada.

Cultivado en solares. El fruto maduro se consume fresco, en almíbar, en helados, en licores y aguas frescas. En medicina tradicional se utiliza la infusión de la corteza por vía oral para curar la diarrea, disentería, dolor de estómago y empacho.



Byrsonima crassifolia (amarillo). **Fig. 28**

Recuperado de:
<http://huixtlaweb.com/fotos/details.php>



Byrsonima crassifolia (rojo). **Fig. 29**

Recuperado de:
<http://huixtlaweb.com/fotos/details.php>

Tabla 6. Fitoquímicos reportados en el género *Byrsonima*.

Compuesto	Especie	Sección	Cuantificación	Referencia
Fenoles totales	<i>Byrsonima crassifolia</i> Amarillo	Mesocarpio	3.84± 0.07 mg GAE/g MS 2.40 ± 0.16 mg GAE/g MF	(Barreto <i>et al.</i> , 2009) (Moo-Huchin <i>et al.</i> , 2014)
	<i>Byrsonima sp.</i>	Hojas	2.60± 0.13 mg GAE/g MF 752 ± 10.60 mg GAE/g MS	(Pereira <i>et al.</i> 2015)
	<i>Byrsonima ligustrifolia</i>	Mesocarpio	123.32 ± 2.49 mg GAE/g MS	(Martins <i>et al.</i> 2015)
Flavonoides totales	<i>Byrsonima crassifolia</i>	Mesocarpio	3.19± 0.03 mg quercetina /g MS	(Barreto <i>et al.</i> , 2009)
	<i>Byrsonima crassifolia</i>	Mesocarpio	0.012 mg quercetina /g MS	(Herrera-Ruiz <i>et al.</i> , 2011)
	<i>Byrsonima crassifolia</i> Amarillo Rojo	Mesocarpio	1.27± 0.12 mg quercetina /g MF 1.31 ± 0.07 mg quercetina /g MF	(Moo-Huchin <i>et al.</i> , 2014)
Antocianinas totales	<i>Byrsonima ligustrifolia</i>	Mesocarpio	0.2 ± 0.05 mg AT/100 g MS	(Martins <i>et al.</i> , 2015)
	<i>Byrsonima crassifolia</i> amarillo	Mesocarpio	0.37 ± 0.02 mg AT/100 g MS	(Moo-Huchin <i>et al.</i> , 2014)
	<i>Byrsonima crassifolia</i> Rojo	Mesocarpio	0.91 ± 0.01 mg AT/100 g MS	
Carotenos totales	<i>Byrsonima crassifolia</i>	Mesocarpio	17.3 ± 1.2 µg/g MS 12 ± 0.0 µg/g MS	(Pereira, <i>et al.</i> , 2015) (Barreto <i>et al.</i> , 2009) (Moo-Huchin <i>et al.</i> , 2014)
	<i>Byrsonima crassifolia</i> Amarillo		145.4 ± 4.20 µg/g MF	
	<i>Byrsonima crassifolia</i> Rojo		142.2 ± 2.90 µg/g MF	

Triterpenos	<i>Byrsonima crassifolia</i>	Corteza Hojas	(Vázquez <i>et al.</i> , 2011) (Bejar, <i>et al.</i> , 1995)
Taninos	<i>Byrsonima</i> sp.	Mesocarpio	(Pereira, <i>et al.</i> , 2015)
Quercetina Catequina Guayjaverina Triterpenos Esteroles	<i>Byrsonima crassifolia</i>	Hojas	(Bejar, <i>et al.</i> , 1995)

ZAPOTE SANTO DOMINGO (*Mammea americana*)

Familia	Calophyllaceae
Género	<i>Mammea</i>
Especie	<i>Mammea americana</i>

Árbol

perennifolio que alcanza de 18 a 25 m de altura con ramas ascendentes que forman un follaje denso (Francis, 1989).

Fruto: Drupa de forma ovoide o elipsoidal con un tallo gordo y corto, mide de 10 a 20 cm de diámetro y pesa entre 600 y 700 gramos. Es un fruto pesado y duro hasta que llega a la completa madurez donde se vuelve ligeramente blando. La piel es de color café claro o café-grisáceo, amarga, de superficie áspera, con pequeñas áreas verrugosas o costrosas esparcidas.

Debajo tiene una membrana seca, amarga, astringente, de color blancuzco adherida a la pulpa. La pulpa es carnosa, de sabor y olor agradables, tiene un color amarillo claro o anaranjado, contiene de 1 a 4 semillas de color café o marrón, ásperas, de forma ovoide o elipsoidal, que miden aproximadamente 6 cm de longitud.

Se consume el fruto maduro entero y en la elaboración de licor.



Mammea americana fruto **Fig. 30**

Recuperado de:
http://www.vendio.com/stores/polynesian_produce_stand/item/yard-garden-outdoor-living-fru/-mammey-apple-mammea-americana, 2016.

Tabla 7. Fitoquímicos reportados en *Mammea americana*.

Compuesto	Especie	Sección	Cuantificación	Referencia
Fenoles totales	<i>Mammea americana</i>	Mesocarpio	3.5 ± 0.0 mg GAE/g MS	(J. K. Francis, 1989)
			1.77± 0.0 mg GAE/g MS	(Ordóñez-Santos, <i>et al.</i> 2014)
			0.25 ± 0.02 mg GAE/g MS	(Braga, <i>et al.</i> , 2010)
Flavonoides totales	<i>Mammea americana</i>	Mesocarpio	0.553 mg catecol/g MS	(Villacorta & Vásquez, 2013)
			0.02 ± 0.0 mg quercetina/g MS	(Braga <i>et al.</i> , 2010)
Carotenos totales	<i>Mammea americana</i>	Mesocarpio	14 µg/g MS	(Ordóñez-Santos <i>et al.</i> , 2014)
Cumarinas	<i>Mammea americana</i>			(Yang, <i>et al.</i> , 2006)
Tocoferoles	<i>Mammea americana</i>			(Ordóñez-Santos <i>et al.</i> , 2014)
Benzofenonas				

GUAYA (*Melicoccus oliviformis*)

Familia	Sapindaceae
Género	<i>Melicoccus</i>
Especie	<i>Melicoccus oliviformis</i>

Árbol perennifolio de hasta 20 m de altura y 50 cm de diámetro (Lascurain *et al.*, 2010).

Frutos: Bayas globosas de 1.5 a 2.5 cm de largo, de color verde amarillento a parduzco; semilla ovoide de 1 cm de largo rodeada por una pulpa carnososa color anaranjado brillante de sabor dulce.

El fruto maduro se consume fresco, en bebidas refrescantes y mermeladas. Se cultiva como ornamental y para sombra.



Melicoccus oliviformis fruto **Fig. 31**
Recuperado de: (Lascurain *et al.*, 2010)

Tabla 7. Fitoquímicos reportados para en género *Melicoccus*.

Compuesto	Especie	Sección	Cuantificación	Referencia
Fenoles totales	<i>Melicoccus oliviformis</i>	Mesocarpio	2.95 ± 0.17 mg GAE/g MF	(Moo-Huchin <i>et al.</i> , 2014)
Flavonoides totales	<i>Melicoccus oliviformis</i>	Mesocarpio	2.75 ± 0.08 mg quercetina/g MF	(Moo-Huchin <i>et al.</i> , 2014)
Carotenos totales	<i>Melicoccus bijugatus</i>		0.02-0.44 µg/g MS	(Bystrom, 2012)

PAPAYA DE MONTE (*Vasconcellea cauliflora*)

Familia	Caricaceae
Género	<i>Vasconcellea</i>
Especie	<i>Vasconcellea cauliflora</i>

Árbol perennifolio y subperennifolio, generalmente hasta de 4 m de altura (Lascurain *et al.*, 2010).

Fruto: Baya amarilla, más o menos elipsoide, lisa o con cinco surcos que convergen en el ápice, 4 a 6 cm de largo por aprox. de 3 a 4.5 cm de ancho.

El fruto se prepara en conserva, principalmente en el sur de Veracruz.



Vasconcellea cauliflora Fig. 32
Recuperado de: (Lascurain *et al.*, 2010)

Tabla 8. Fitoquímicos reportados en especies de la familia *Caricaceae*.

Compuesto	Especie	Sección	Cuantificación	Referencia
Fenoles totales	<i>Vasconcellea pubescens</i>	Mesocarpio	0.26 ± 0.0 mg GAE/g MS	(Uribe <i>et al.</i> , 2015)
	<i>Carica papaya</i>	Mesocarpio	0.795 ± 0.00 mg GAE/g MS	(Pavan, Sancho, & Pastore, 2014)
			0.159 ± 0.00 mg GAE/g MS 2.3 – 5.0 µg/g MS	(Villacorta & Vásquez, 2013) (Gayosso, <i>et al.</i> , 2011)
Licopeno	<i>Carica papaya</i>	Mesocarpio		(Gayosso-García Sancho <i>et al.</i> , 2011)
B-caroteno	<i>Carica papaya</i>		237 µg/g MS	(Saini, Nile, & Park, 2015)
Rutina	<i>Vasconcellea pubescens</i>			(Uribe <i>et al.</i> , 2015)
Ácido p-cumárico				
Ácido caféico, ácido cumárico, ácido ferúlico.	<i>Carica papaya</i>	Epicarpio		(Gayosso-García Sancho <i>et al.</i> , 2011)

ZAPOTE CABELLO (*Licania platypus*)

Familia	Chrysobalanaceae
Género	<i>Licania</i>
Especie	<i>Licania platypus</i>

Árbol perennifolio de hasta 30 m de altura y 1 m de diámetro, tronco derecho, corteza escamosa pardo-amarillenta (Lascurain *et al.*, 2010).

Fruto: Drupa irregular de 12 a 14 cm de largo, de olor y sabor dulce, con la pulpa color naranja de sabor dulce y fibrosa y una semilla globosa de 10 cm de largo por 6 cm de ancho.

El fruto se consume fresco y la madera es empleada en construcción.



Carla Chízmar, *Licania platypus* Fig. 33

Recuperado de:
<http://herbario.up.ac.pa/Herbario/herb/vasculares/view/species/1251>



Licania platypus Fig. 34

Recuperado de:
<http://herbario.up.ac.pa/Herbario/herb/vasculares/view/species/1251>

Tabla 9. Fitoquímicos reportados en el género *Licania*.

Compuesto	Especie	Referencia
Diterpenos Triterpenos Cucurbitacina	<i>Licania intrapetiolaris</i>	(Oberlies <i>et al.</i> , 2001)
Quercetina Rutina Kaempferol Triterpenos	<i>Licania</i> sp.	(Alessandra <i>et al.</i> , 2003)

CHAGALAPOLI (*Ardisia compressa*)

Familia	Myrsinaceae
Género	<i>Ardisia</i>
Especie	<i>Ardisia compressa</i>

Arbustos o árboles perennifolios hasta de 7 m o más de alto. Inflorescencia rojiza o púrpura en la base, generalmente con muchas flores blancas (Lascurain *et al.*, 2010).

Frutos: maduros algo globosos, de 6 a 8 mm de diámetro, de color púrpura. Se puede encontrar en solares y fincas de café.

El fruto se consume fresco en agua, atoles y licores.



Ardisia compressa Fig. 35
Imagen generada por el autor



Ardisia compressa Fig. 36
Recuperado de: (Lascurain *et al.*, 2010)

Tabla 10. Fitoquímicos reportados en el género *Ardisia*.

Compuesto	Especie	Sección	Cuantificación	Referencia
Fenoles totales	<i>Ardisia</i>	Mesocarpio	79.83 ± 0.00 mg GAE/g MS	(González, <i>et al.</i> , 2002)
	<i>Ardisia compressa</i>		16.79 ± 1.22 mg GAE/g MS	(Newell, <i>et al.</i> , 2010)
	<i>Ardisia compressa</i>		10.51 ± 1.50 mg GAE/g MS	(Joaquín-Cruz <i>et al.</i> , 2015)
	<i>Ardisia</i> sp.		180.17 ± 12.55 mg GAE/g MS	(Indilí-Cruz, 2011)
Flavonoides totales	<i>Ardisia</i> sp.	Mesocarpio	102.02 ± 5.71 mg catequina / g	(Indilí-Cruz, 2011)
Antocianinas totales	<i>Ardisia compressa</i>	Mesocarpio	796 ± 23 mg /100 g MS	(Joaquín-Cruz <i>et al.</i> , 2015)
Flavonoles totales	<i>Ardisia compressa</i>	Mesocarpio	8.23 ± 23 mg quercetina /g	(Joaquín-Cruz <i>et al.</i> , 2015)
Carotenos totales	<i>Ardisia</i> sp.	Mesocarpio	13.3 µg/g MS	(Newell <i>et al.</i> , 2010)
Quinona - Ardisin	<i>Ardisia compressa</i>	Hojas		(Kobayashi & De Mejía, 2005)
Isocumarina- Bergenina	<i>Ardisia</i> sp.	Raíz		
Triterpenos	<i>Ardisia kivuensis</i>	Hojas		(Ndontsa <i>et al.</i> , 2012)
	<i>Ardisia elliptica</i>	Hojas		(Raga, <i>et al.</i> , 2013)
Ácido gálico	<i>Ardisia compressa</i>	Hojas		(Newell <i>et al.</i> , 2010)
Ácido clorogénico				
Flavonas				
Glicósidos de quercetina				
Derivados de kaempferol				

3. HIPÓTESIS

Es reconocida en la literatura la importancia de las frutas por su contenido de compuestos biologicamente activos, en este contexto los frutos silvestres de estudio mostrarán, además por su ambiente de crecimiento, valores destacados.

4. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años el interés por las sustancias de origen natural se ha visto fortalecido debido a variados estudios que avalan su potencial como antioxidantes, las frutas y vegetales ofrecen una abundante y diversa gama de compuestos bioactivos que enriquecen una dieta saludable y previenen enfermedades asociadas al estrés oxidativo.

Los frutos silvestres cumplen un vital rol en los ambientes en que se desarrollan, no solo al proteger el suelo de adversidades climáticas sino de ofrecer suplementos dietéticos o como una alternativa para hacer frente a la escasez de alimentos; dado que estas especies forman parte de la alimentación de ciertos sectores de la población (principalmente en las zonas rurales); es importante el estudio de su composición química para la difusión al consumo y total aprovechamiento de las mismas.

La guía de frutos silvestres comestibles en Veracruz del Instituto de Ecología A.C presentada por Lascurain *et al.*, (2010) simbolizó un importante antecedente para la realización de esta tesis; brinda un valioso aporte al conocimiento de las especies silvestres de México y una amplia información botánica que permitió clasificar con seguridad a las especies estudiadas en la presente investigación.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Identificar compuestos de alto valor biológico en frutos silvestres comestibles (*Momordica charantia*, *Pouteria campechiana*, *Pouteria* sp., *Byrsonima crassifolia*, *Mammea americana*, *Melicoccus oliviformis*, *Vasconcellea cauliflora*, *Licania platypus* y *Ardisia compressa*) para reconocerlas como posible fuente de antioxidantes.

5.2 Particulares

Cuantificar fenoles, antocianinas, flavonoides, flavonoles y carotenos totales en mesocarpio y epicarpio de *Momordica charantia*, mesocarpio y endocarpio de *Ardisia compressa* y mesocarpio de *Pouteria campechiana*, *Pouteria* sp., *Byrsonima crassifolia* roja y amarilla, *Mammea americana*, *Melicoccus oliviformis*, *Vasconcellea cauliflora* y *Licania platypus*.

Estudio de *Ardisia compressa*:

I. Antocianinas

- Elegir el mejor disolvente de extracción
- Aplicar tres enzimas comerciales al 1% previo a la extracción con disolventes y comparar resultados.
- Identificar parcialmente por HPLC.

II. Identificar y cuantificar ácidos fenólicos y flavonoides.

III. Identificar de manera cualitativa por CCF la presencia de α -amirina y ardisina.

IV. Cuantificar ácidos grasos en semilla

V. Evaluar la actividad antioxidante en el extracto metanólico, mermelada y licor artesanal.

6. DESARROLLO EXPERIMENTAL

6.1 Reactivos

Placas de sílice Alugram G/w254, 20 x 20. *Disolventes:* Etanol, metanol, acetona, acetato de etilo, cloroformo, hexano y agua destilada. *Estándar CCF:* α -amirina, rutina, quercetina, kaempferol, catequina y ácidos: caféico, sinápico, clorogénico, cumárico, ferúlico, vainillinico y gálico. *Revelador CCF:* DPPH, cloruro férrico 1%. *Reactivos:* Folin-Ciocalteu, HCl, CH_3COOH $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$, AlCl_3 10%, NaNO_2 5%, NaOH, BF_3 , DPPH. *Reacción enzimática:* enzimas comerciales (Celucast®, Macerex® y Zymapect®), buffer acetatos pH 4.5 y pH 5.0.

Equipos

Congelador -80°C Revco Harris, liofilizadora Labconco 7522900, molino para café Grind-Krups G*4100, Sonicador Cole-Parmer 8892, Espectrofotómetro GBC-Cintral, Balanza analítica OHAUS AP 1105, Agitadora Thermo scientific Max Q 4000, Cromatógrafo de gases Agilent technologies 6890N, inyector Agilent technologies 7683, Rotavapor Buchi R-215, Cromatografo de líquidos de alta resolución HPLC: Autoinyector Water 2707, bomba Waters 1525, detector UV Waters 2478, desgasificador, Columna Hypersil GOLD 250 x 4.5 mm, 5 μm . Thermo Scientific.

6.2 Plan de estudio

El proceso experimental se dividió en las etapas siguientes:

Etapas I

Se recolectaron en Julio del 2015 nueve diferentes especies de frutos silvestres en el estado de Veracruz, y una especie más proporcionada por el Laboratorio 321, Facultad de Química, UNAM con procedencia en el estado de Yucatán. Los frutos fueron lavados y separados según la sección de estudio, se congelaron a -80°C para su posterior liofilización y molienda.

Etapa II

Se realizó la cuenta total de compuestos bioactivos en las correspondientes secciones de las frutas silvestres y se seleccionó a *Ardisia compressa* para su posterior caracterización debido al destacado contenido de compuestos fenólicos mostrados dentro del grupo de estudio.

Etapa III

Debido a que la mayor parte de flavonoides en *Ardisia compressa* corresponden a las antocianinas, se estudió la extracción de las mismas con MeOH, EtOH y ActOna al 100, 80, 60, 40, 20 y 0% en agua destilada y 1% de CH₃COOH; con la finalidad de encontrar el disolvente y concentración más adecuado para su extracción.

En esta etapa también se observó la influencia de la aplicación de tres enzimas comerciales al 1% (Celuclast®, Macerex® y Zymapect®) previo a la extracción por par de disolventes.

Por último en esta etapa, se estudió el perfil cualitativo de antocininas en *Ardisia compressa* mediante HPLC de acuerdo con Joaquín-Cruz *et al.* 2015.

Etapa IV

Se identificó cualitativamente por CCF la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos y ardisina en *Ardisia compressa*. Esta etapa también comprende la cuantificación mediante HPLC de ácidos fenólicos y flavonoides.

Etapa V

Etapa que contempla la cuantificación de ácidos grasos por CG según el método 2-66 de la AOCS en la semilla de *Ardisia compressa*.

Etapa VI

Finalmente se elaboró una mermelada y un licor artesanal de chagalapoli, a los cuales se les cuantificó compuestos totales y al igual que en el mesocarpio del fruto, se evaluó la actividad antioxidante utilizando el método del DPPH.

6.3 Diagrama general de trabajo:

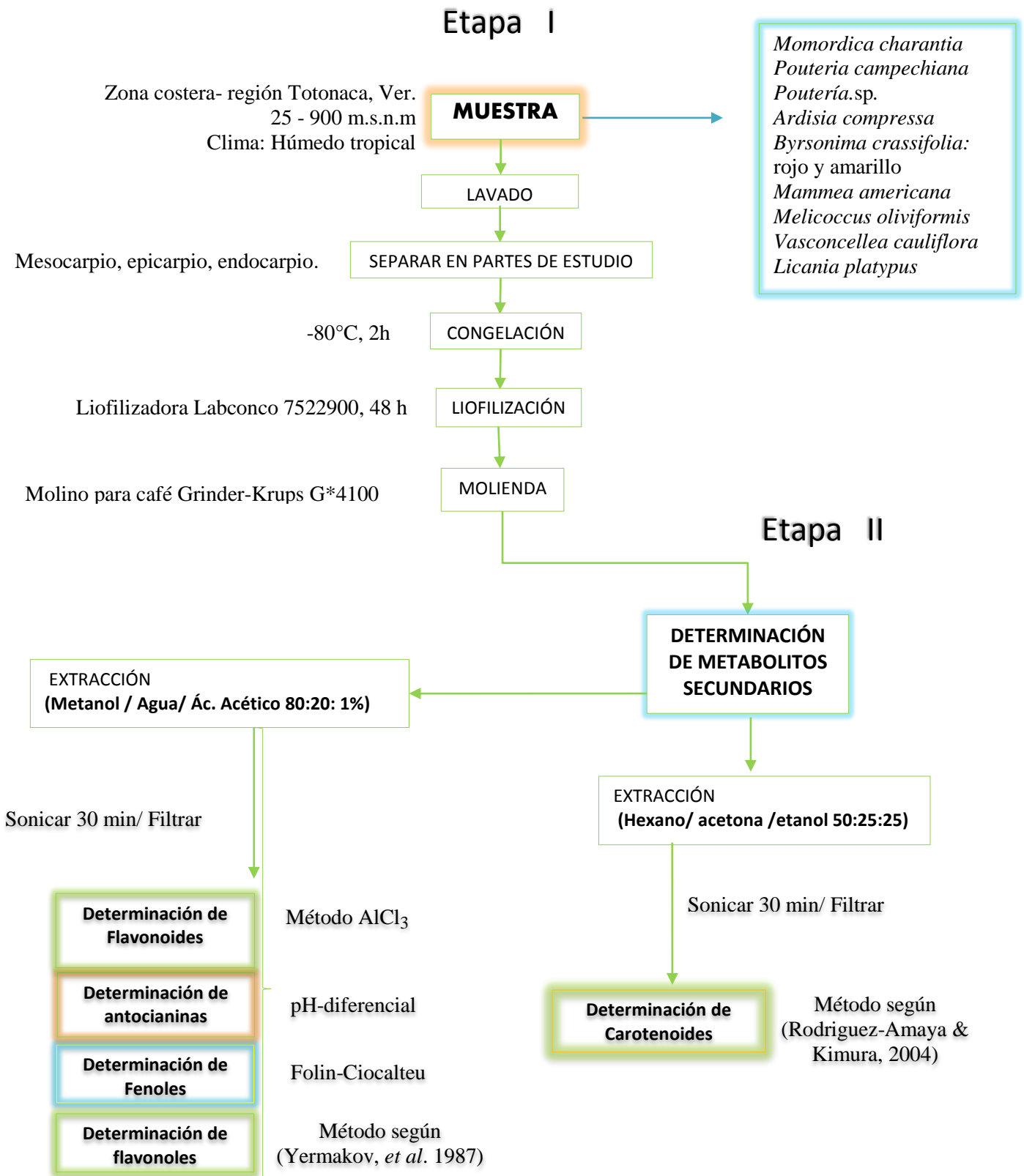


Fig. 37. Diagrama general de trabajo. Etapa I-II

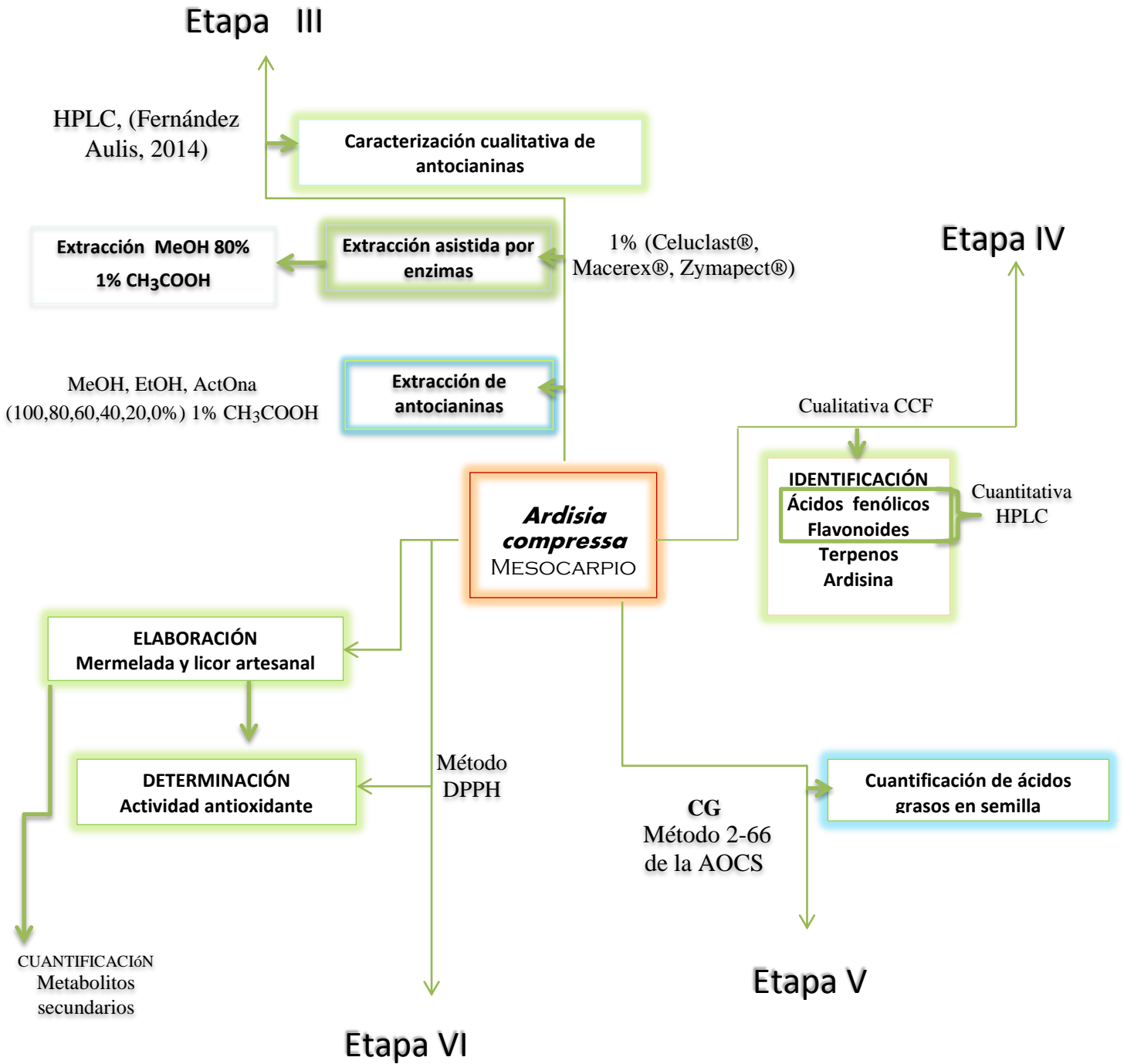


Fig. 38. Diagrama general de trabajo. Etapa III-VI

6.4 ETAPA I. Selección y preparación de las muestras

Se recolectaron en Julio del 2015 nueve diferentes especies de frutos tropicales (en madurez fisiológica) en la costa de la región totonaca en el estado de Veracruz, Méx. y una especie más proporcionada por el Laboratorio 321, Conjunto E de la Facultad de Química, UNAM con procedencia en el estado de Yucatán (Tabla 11). Los frutos fueron lavados y separados según la sección de estudio.

Para el secado, las muestras fueron refrigeradas a -80°C por 2 h y se liofilizaron por 48 h; transcurrido el tiempo, se pulverizaron empleando un molino para café Grinder-Krups G*4100 y almacenaron en bolsas herméticas de aluminio en refrigeración.



Zona de procedencia de las frutas de estudio. **Fig. 39**
Recuperado de: <http://www.paratodo.mexico.com>

Tabla 11. Lugar de origen de las muestras y partes de estudio.

ESPECIE FRUTAL	LUGAR DE ORIGEN JULIO 2015	SECCIÓN DE ESTUDIO
<i>Momordica charantia</i>	Vega de Alatorre, Ver.	Epicarpio y mesocarpio
<i>Pouteria campechiana</i>	Yucatán	Mesocarpio
<i>Pouteria</i> sp.	Vega de Alatorre, Ver.	Mesocarpio
<i>Byrsonima crassifolia</i> rojo y amarillo	Vega de Alatorre, Ver.	Mesocarpio
<i>Mammea americana</i>	Vega de Alatorre, Ver.	Mesocarpio
<i>Melicoccus oliviformis</i>	El diamante, Ver.	Mesocarpio
<i>Vasconcellea cauliflora</i>	Nautla, Ver.	Mesocarpio
<i>Licania platypus</i>	Emilio Carranza, Ver.	Mesocarpio
<i>Ardisia compressa</i>	Vega de Alatorre, Ver.	Mesocarpio y endocarpio

6.5 ETAPA II. Métodos de análisis: Cuantificación de totales

Para la cuantificación de fenoles, flavonoides, antocianinas y flavonoles, se pesó por triplicado 1.0 ± 0.05 g de muestra seca y se adicionaron 20 mL (Metanol / Agua/ Ác. Acético 80:20: 1%), se sonicó a T 30°C durante 30 min y filtró.

6.5.1 Cuantificación de Fenoles totales

La cantidad de fenoles totales se determinó con el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Folin & Ciocalteu, 1927). Se colocó en frasco ámbar 100 μ L del filtrado metanólico de la muestra, 2 mL de Na_2CO_3 2% y 100 μ L del reactivo de Folin / H_2O destilada 1:1. Se dejó reaccionar durante 30 min y posteriormente se realizó la lectura a 750 nm.

Para conocer la concentración de Fenoles en las muestras, se realizó un curva patrón empleando como estándar ácido tánico (0.1mg/ mL) en un rango de concentración de 0.1 a 0.8 mg/mL, interpolando los datos.

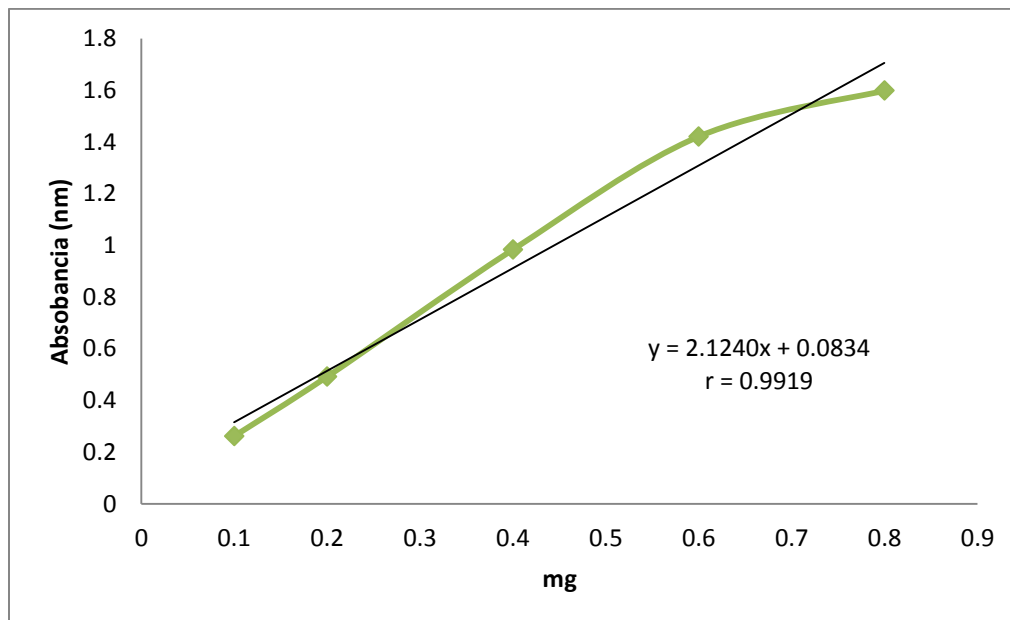


Gráfico 1. Curva patrón de ácido tánico.

6.5.2 Cuantificación de Flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides se realizó con algunas modificaciones al ensayo colorimétrico del cloruro de aluminio descrito por (Villacorta & Vásquez, 2013). Se tomó en un tubo de ensaye 100 μL de extracto metanólico de la muestra, 2300 μL H_2O destilada y 300 μL de NaNO_2 5%, se dejó reaccionar 5 min y se añadieron 300 μL de AlCl_3 10% en EtOH, 2 mL de NaOH 1M y 5 mL H_2O destilada posteriormente se leyó a 415 nm.

Las absorbancias se interpolaron con base a una curva patrón de catequina (1 mg/mL), con rango de concentración de 0.020 a 0.1 mg/mL.; para así determinar la concentración correspondiente.

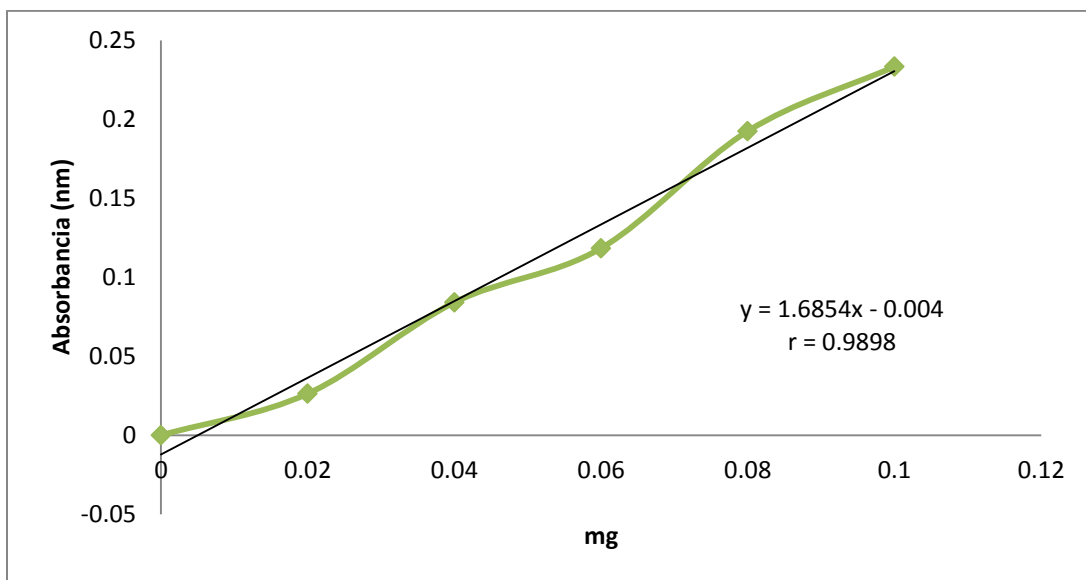


Gráfico 2. Curva patrón de Catequina

6.5.3 Cuantificación de Flavonoles totales

El contenido de flavonoides se determinó mediante el ensayo de (Yermakov, *et al.* 1987). Se colocó en un tubo de ensaye 1.5 mL de extracto metanólico de la muestra, 4 mL de AlCl_3 20% y 6 mL de acetato de sodio 50 g/L, se dejó reaccionar durante 2.5 h a 20°C y se realizó la lectura a 440 nm.

Para conocer la concentración de las muestras, se realizó un curva patrón empleando como estándar rutina (0.5 mg/ mL) en un rango de concentración de 0.0166-0.5 mg/mL, interpolando los datos.

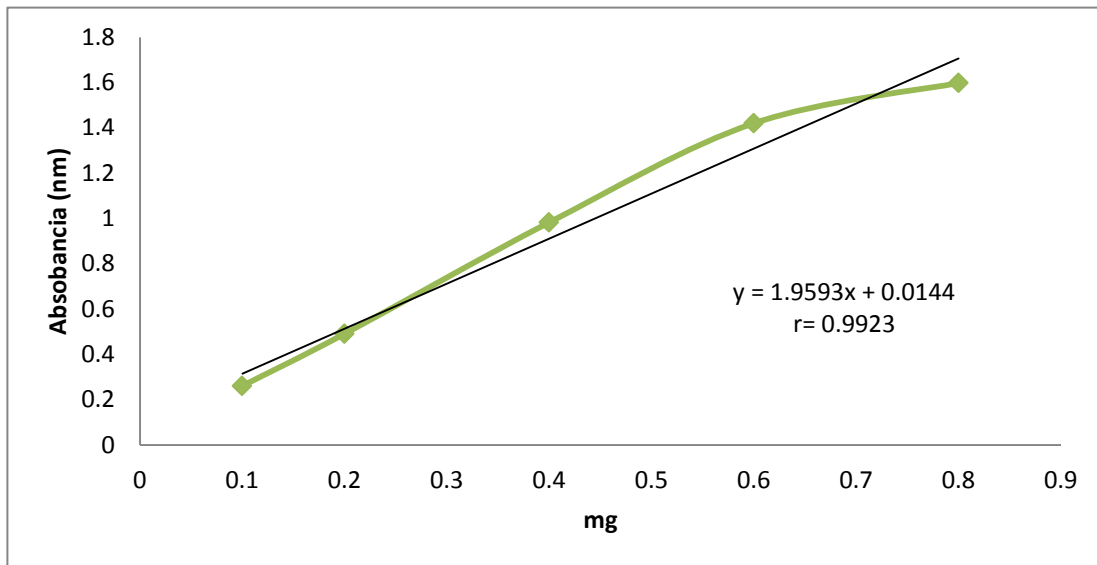


Gráfico 3. Curva patrón de rutina

6.5.4 Cuantificación de Antocianinas totales

La determinación de antocianinas totales se llevó a cabo de acuerdo a la metodología de pH diferencial descrita por (Emilio García, 2010). La medición se realizó por triplicado tomando en un tubo de ensaye, 200 μ L de extracto metanólico de la muestra más 1800 μ L de buffer de acetatos 0.4M a pH 4.5 y en otro tubo se tomaron 200 μ L de extracto metanólico con 1800 μ L de buffer de cloruros 0.025 M a pH 1.

Para cada disolución, se midió la absorbancia a 510 nm y a 700 nm en un espectrofotómetro GBC Cintral, utilizando como disolución blanco agua destilada.

El contenido de antocianinas totales se expresa como mg/g ms de cianidina 3-glucósido.

La absorbancia final se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$A = (A_{\lambda_{\max}} - A_{700})_{\text{pH}=1.0} - (A_{\lambda_{\max}} - A_{700})_{\text{pH}=4.5}$$

Ecuación I. Fórmula para antocianinas totales

La concentración de antocianinas totales se obtuvo de la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianinas totales (mg/L)} = A'(PM)(FD)(1000)/\epsilon(l)$$

En donde: Para cianidina 3-glucósido (PM=449.2 y $\epsilon= 26900$).

Ecuación II. Fórmula para antocianinas totales

6.5.5 Cuantificación de Carotenoides totales

La determinación de carotenoides totales se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Rodríguez-Amaya (Rodríguez-Amaya & Kimura, 2004). La medición se realizó pesando por triplicado 0.8 ± 0.05 g de muestra seca agregando 10 mL de disolución (hexano/ acetona /etanol 50:25:25), se mantuvo en agitación durante 30 min, posteriormente se concentró el extracto en rotavapor a 28°C , se lavó el matraz bola con hexano transfiriendo la fracción superior a un matraz volumétrico de 10.0 mL y aforando con hexano. Por último se leyó la alícuota de aforo a 450 nm en un espectrofotómetro GBC Cintral en celdas de cuarzo, utilizando como disolución blanco hexano.

El contenido de carotenoides totales se expresa como μg beta-caroteno /g de muestra seca, con base a la siguiente expresión:

$$\text{Carotenoides totales } (\mu\text{g/ g ms}) = A (Y \text{ mL})(PM)(10^6)/\epsilon(l)(100)(g m)$$

En donde: Y= Vol. de aforo y Para β -caroteno ($\epsilon= 2592$)

Ecuación III. Fórmula para carotenoides totales

6.6 ETAPA III. *Ardisia compressa*

6.6.1 Selección del disolvente según su capacidad extractiva

Las antocianinas son moléculas polares y por lo tanto son más solubles en solventes polares que en solventes no polares, además los métodos convencionales de extracción de antocianos implican el uso de ácidos en los disolventes para mantener la estabilidad de la molécula (Emilio García, 2010).

De acuerdo con Rodríguez Pérez, *et al.*, (2010) y Ortiz *et al.*, (2011) el metanol es el mejor disolvente para la extracción de antocianinas; sin embargo por su grado de toxicidad no está permitido en alimentos; por esta razón además de MeOH se probó la extracción de las antocianinas en *Ardisia compressa* con EtOH y Acetona.

Las disoluciones y concentraciones de estudio fueron MeOH/ agua; EtOH/ agua y ActOna / agua al 100, 80, 60, 40, 20 y 0%.

Se pesó por triplicado 1.0 ± 0.05 g de mesocarpio seco de *Ardisia* y se adicionaron 20 mL de la respectiva disolución, añadiendo 1% de CH₃COOH glacial, se sonicó un tiempo total de 60 min a T 30°C y filtró. Se realizó la cuantificación de antocianinas según el método de pH diferencial (punto 6.3.2.4).

Los datos obtenidos fueron analizados por medio del análisis de varianza de una vía (ANOVA por sus siglas en inglés) y las diferencias entre medias se determinaron con la prueba de Duncan, un valor de $P < 0.05$ se consideró como significativo (SigmaStat 3,5).

6.6.2 Extracción de antocianinas asistida por enzimas

Diferentes enzimas (solas o en combinación) han sido empleadas para mejorar y acelerar la extracción de pigmentos de diversos materiales vegetales. Algunos investigadores pudieron separar exitosamente los polifenoles de las agujas de pigmentos vegetales cuando utilizaron enzimas mixtas de celulasa, hemicelulasa, pectinasa y proteasa para la extracción (Asthon Maritza, 2015) (Lotfi, *et al.*, 2015).

Para la extracción asistida por enzimas se pesó por triplicado 0.5 ± 0.05 g de muestra seca (mesocarpio de *Ardisia compressa*) en matraz Erlenmeyer y se adicionó el 1% v/p de enzima comercial concentrada y 15 mL de buffer de acetatos a pH correspondiente (Tabla 12). Para el tratamiento con Macerex® también se estudió el 2% v/p.

La reacción enzimática se llevó a cabo durante 6 h a 200 rpm en una agitadora Thermo Scientific Max Q 4000, a la temperatura correspondiente para cada enzima.

Posteriormente se extrajo a las antocianinas con MeOH: agua: (80:20) a un pH de 2 a 3 (CH₃COOH), causando así la inactivación enzimática; se filtró la disolución y cuantificaron las antocianinas por el método de pH diferencial (punto 7.5.4). El diagrama de la anterior metodología se muestra en la figura 40.

Tabla 12. Condiciones - enzimas comerciales.

ENZIMA COMERCIAL	ENZIMA	CONDICIONES 200 rpm
Zymapect®	pectinasa	pH 4.5 – 35°C
Macerex®	pectinasa, celulasa	pH 5.0 – 44°C
Celucast® 1.5L	Celulasa	pH 5.0 – 44°C

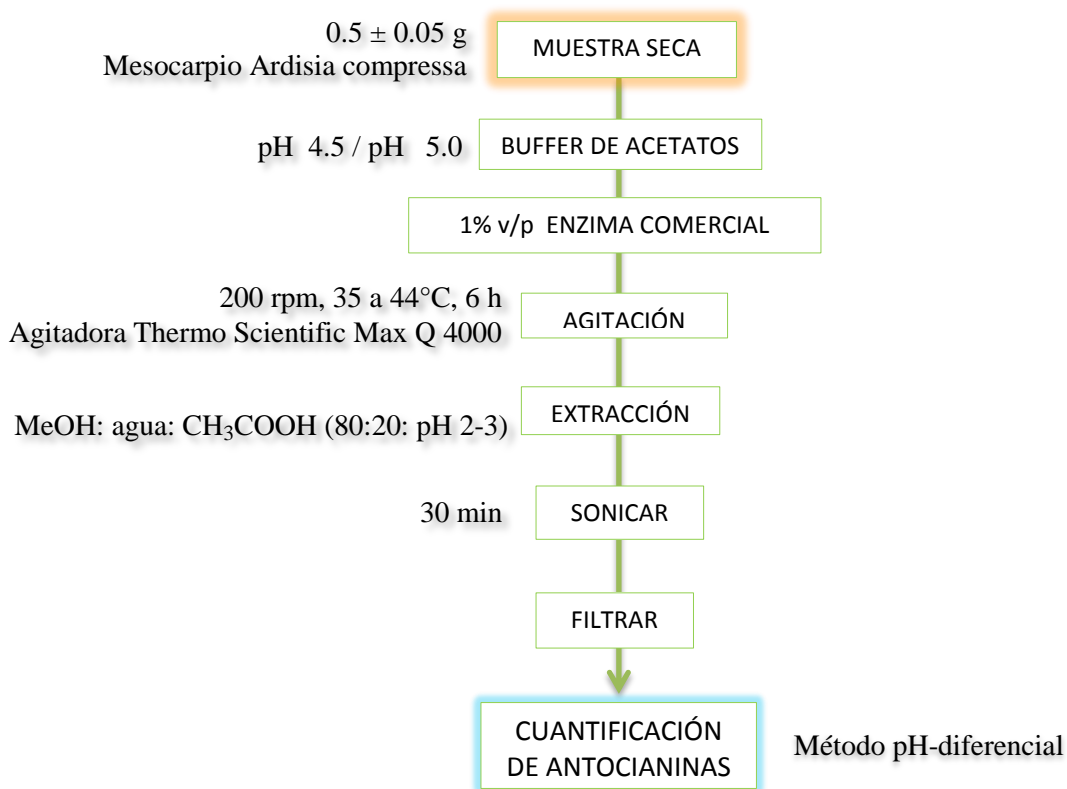


Fig. 40 Diagrama general de extracción de antocianinas asistida por enzimas.

6.6.3 Identificación parcial de antocianinas por HPLC

Para obtener el extracto metanólico de *Ardisia compressa* se pesó 1.0 ± 0.05 g de muestra seca y se adicionaron 20 mL (Metanol / Agua/ Ác. Acético 80:20: 1%), se sonicó durante 30 min, filtró y se almacenó a -25°C para posteriores usos. La alícuota de extracto se vertió en filtro Millipore $0.45 \mu\text{m}$ previo a la lectura por HPLC.

La identificación de antocianinas se realizó siguiendo el método de elución por gradiente reportado por (Fernández Aulis, 2014).

Tabla 13. Sistema del HPLC para antocininas.

SISTEMA	CONDICIONES		
COLUMNA	Hypersil GOLD (250x4.5 mm; $5\mu\text{m}$)		
FASE MÓVIL	A: H ₂ O/ ACN/ Ác. fórmico (87:3:10) B:ACN		
FLUJO	1.0 mL /min		
INYECCIÓN	20 μL		
GRADIENTE	Tiempo (min)	%A	%B
	0 a 45	97	3
	45 a 46	75	25
	46 a 47	70	30
	47 a 56	97	3

6.7 ETAPA IV: *Ardisia compressa*

6.7.1 Identificación cualitativa por CCF de compuestos bioactivos

Para la identificación de *flavonoides* en CCF se utilizó el extracto metanólico de *Ardisia compressa*, el cual se llevó a sequedad en rotavapor y se resuspendió en 1mL de MeOH para su aplicación en placa cromatográfica. *Cómo estándar de flavonoides se empleó catequina, kaempferol, quercetina, rutina y epicatequina.*

Para la extracción de *ácidos fenólicos* se pesó 1.0 ± 0.05 g de muestra seca, se adicionaron 20 mL de NaOH 2M se sonicó durante 30 minutos y filtró. Se llevó el filtrado a $\text{pH}=3.5 \pm 0.2$ con HCl conc. Y se realizaron dos extracciones con acetato de etilo, concentrando la fase orgánica a sequedad en rotavapor. Para la aplicación se resuspendió en 0.5 mL de MeOH. *Los estándares correspondientes a ácidos fenólicos fueron ácido vainillínico, clorogénico, cumárico, ferúlico, caféico, sinápico y gálico.*

La extracción de *terpenos* se llevó a cabo pesando 1.0 ± 0.05 g de muestra seca y adicionando 10 mL de diclorometano, se sonicó por 30 minutos y filtró. Se llevó a sequedad en rotavapor y resuspendió en 1.0 mL n-hexano para su aplicación. *El estándar empleado fue α -amirina.*

Para la extracción de *ardisina* se pesó 1.0 ± 0.05 g de muestra seca y adicióno 10 mL de cloroformo, se llevó a sequedad en rotavapor y re suspendió en 1.0 mL de metanol para su aplicación en cromatofolio.

Cromatografía en capa fina

Se utilizaron placas cromatográficas de gel de sílice 60F254 (Merck), donde se aplicaron alícuotas de las muestras con 0.5 cm de distancia entre cada muestra.

Una vez seca la aplicación, se colocó la placa en la cámara cromatográfica saturada con la fase móvil (Tabla.14), se corrieron las muestras y cuando estas alcanzaron el frente de la placa, se retiró y se dejó secar, posteriormente las placas fueron reveladas.

Tabla 14. Sistema de elución y revelador para CCF

COMPUESTO BIOACTIVO	SISTEMA DE ELUCIÓN	REVELADOR
ÁCIDOS FENÓLICOS	n-Hexano / acetato de etilo/ CH ₃ COOH (1:1:1%)	Cloruro férrico al 1% en butanol
FLAVONOIDES	Cloroformo/ acetato de etilo/ CH ₃ COOH (7:3:0.5%)	Cloruro férrico al 1% en butanol
TERPENOS	n-Hexano/ acetato de etilo (9:1)	Cloruro férrico al 1% en butanol
ARDISINA	n-hexano/ acetato de etilo (8:2)	DPPH

6.7.2 Cuantificación de compuestos bioactivos en *Ardisia compressa* por HPLC.

6.7.2.1 CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS

La cuantificación de ácidos fenólicos se llevó a cabo imitando el método de elución por gradiente reportado por (Morales Toledo, 2016) y realizando curva patrón de los estándares comerciales (*ácido vainillinico, clorogénico, cumárico, ferúlico, caféico, sinápico* y *gálico*).

Para obtener la muestra se realizó el mismo procedimiento del punto 7.6.3 y se resuspendiendo en MeOH grado HPLC.

Tabla 15. Condiciones de HPLC para elución de ácidos fenólicos

SISTEMA	CONDICIONES			
COLUMNA	Hypersil GOLD (250x4.6 mm; 5µm)			
FASE MÓVIL	A: Ácido acético 1% B: Metanol			
FLUJO (mL/min)	1.2			
INYECCIÓN (µL)	20			
LONGITUD DE ONDA (nm)	325			
TIEMPO DE CORRIDA (min)	20			
GRADIENTE	Tiempo (min)	Flujo	%A	%B
		0.90	75	25
	7	0.90	60	40
	8	0.90	70	30
	9	0.90	85	15
	11	1.00	90	10
	12	1.00	85	15
	12.50	1.00	70	30
	13	1.00	75	25
	13.50	1.00	75	25
	14	1.00	70	30
	15	1.00	75	25

6.7.2.2 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

La cuantificación de flavonoides por HPLC se obtuvo con un método de elución por gradiente (Tabla 16) y a partir de la curva patrón de estándares comerciales (*catequina*, *quercetina*, *rutina* y *epicatequina*).

Tabla 16. Condiciones de HPLC para elución de flavonoides

SISTEMA	CONDICIONES		
COLUMNA	ODS Hypersil (250x4.6 mm; 5µm)		
FASE MÓVIL	A: Ácido fosfórico 1% B: Acetonitrilo		
FLUJO (ml/min)	1.0		
INYECCIÓN (µL)	20		
LONGITUD DE ONDA (nm)	254 y 280		
TIEMPO DE CORRIDA (min)	30		
GRADIENTE	Tiempo (min)	%A	%B
		95	5
	2	85	15
	5	80	20
	9	80	20
	11	80	20
	14	75	25
	17	70	30
	20	70	30
	22	50	50
	24	50	50
	26	95	5
	30	95	5

7.8 ETAPA V: Cuantificación de ácidos grasos en semilla de *Ardisia compressa* por Cromatografía de Gases (CG).

Los ácidos grasos del extracto etéreo de semillas se estudiaron según el método 2-66 de la AOCS. Se pesó por triplicado en matraz bola 0.3 ± 0.03 g de extracto etéreo de la muestra y se añadieron 6 mL de NaOH 0.5M en MeOH, calentando a reflujo durante 30 min; después de lo cual se agregaron 7 mL de BF₃ 14% en MeOH, calentando por 3 min más.

Cuando la temperatura de la disolución anterior disminuyó, se colocó en embudo de separación junto con 15 mL de solución saturada de NaCl, se agitó con fuerza y recuperó la fase orgánica en viales, posteriormente se agregó un volumen de 4 mL de n-hexano grado HPLC y se leyó en cromatógrafo de gases.

Para la obtención del extracto etéreo se pesó 5.0 ± 0.05 g de semilla seca molida y se adicionó n-hexano en relación 1:1 (p/v), se sonicó por 30 min y filtró; después se concentró a sequedad en rotavapor y almacenó en viales ámbar a -25°C.

SISTEMA	CONDICIONES
COLUMNA	HP-INNOWAX (30 m x0.25 mm, 0.25µm)
INYECCIÓN (µL)	1
INYECTOR	Temperatura: 220 °C Presión: 10.70 psi Flujo total 23.3 mL/min
DETECTOR FID	Temperatura: 275 °C Flujo H2: 40 mL/min Flujo N2: 20 mL/min Flujo aire: 450 mL/min
PROGRAMA DE TEMPERATURA	Rampa 1: 150 °C por 1 minuto Rampa 2: 15 °C/min hasta 225 °C por 5 minutos Rampa 3: 5 °C/min hasta 230 °C por 20 minutos

Tabla 17. Sistema del cromatógrafo de gases para ácidos grasos

7.9 ETAPA VI

Determinación de la actividad antioxidante en mesocarpio, mermelada y licor artesanal de chagalapoli.

Se elaboró una mermelada y un vino artesanal de chagalapoli tal como se muestra en la Fig. 38. a los cuales, junto con el mesocarpio, se les determinó la actividad antioxidante con algunas modificaciones al método del DPPH reportado por Muñoz Juárez & Gutiérrez, (2004).

Se tomaron 200 μL de cada uno de los extracto de las muestras a 5 concentraciones diferentes (Tabla 18.) y se adicionó a cada uno 2000 μL de la solución metanólica de DPPH 150 $\mu\text{mol/L}$. Todas las reacciones fueron llevadas a cabo por triplicado exactamente por 30 minutos a temperatura ambiente en celdas protegidas de la luz, después de lo cual, se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrómetro GBC Cintral, ajustado con agua destilada.

Para preparar los extractos, se pesaron $5.0 \pm 0.05\text{g}$ de muestra y se extrajo a sonicación con 4 volúmenes de 15 mL de MeOH 80%. Los extractos metanólicos se juntaron y evaporaron a sequedad en el rotavapor, finalmente se pesaron y guardaron en viales ámbar debidamente etiquetados a -25°C .

Tabla 18. Concentración de los extractos para actividad antioxidante de chagalapoli

BLANCO	200μL MeOH + 2000μL DPPH 150 $\mu\text{mol/L}$.		
	MERMELADA ARTESANAL mg/mL	MESOCARPIO mg/mL	LICOR ARTESANAL mg/mL
Concentración 1	0.63	0.63	0.5
Concentración 2	1.2	1.12	0.63
Concentración 3	2.4	1.76	1.2
Concentración 4	3.12	2.4	1.76
Concentración 5	4.12	3.12	2.4

Se calculó el valor de IC_{50} para cada muestra, que corresponde a la concentración necesaria del extracto causante del 50% de la inhibición de la absorbancia. Un valor bajo del IC_{50} significa una mayor actividad antioxidante(Lim, Lim, & Tee, 2007).

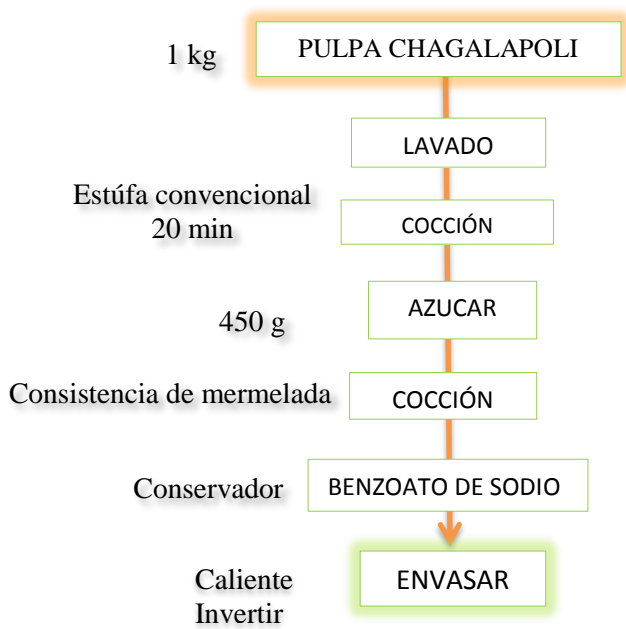
El porcentaje de inhibición corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración, de acuerdo a la siguiente ecuación. (Muñoz Juárez & Gutiérrez, 2004).

$$\%Inhibición = \%I = (A - A_B) / A$$

En donde: A_B =Absorbancia del blanco A = Absorbancia de la muestra

Ecuación IV. Fórmula para calcular el %Inhibición.

ELABORACIÓN DE MERMELADA



ELABORACIÓN DE LICOR

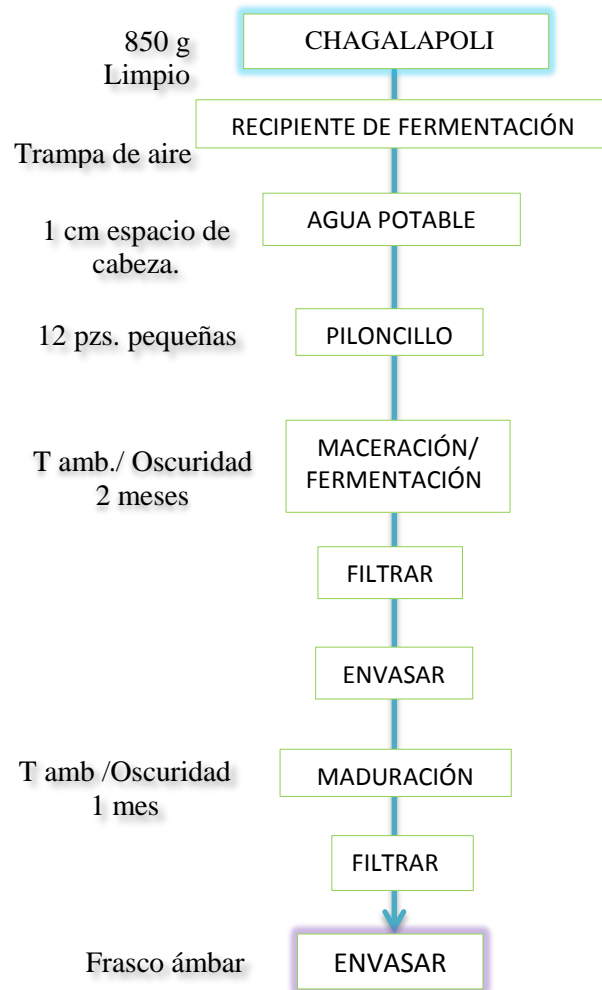


Fig. 41 Proceso de elaboración de la mermelada y licor artesanal de chagalapoli

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Selección de las muestras

La región costera dónde fueron recolectadas las frutas de estudio en el presente trabajo, corresponde a un ecosistema de bosque tropical perennifolio que se localiza desde el nivel del mar hasta los 1200 m de altitud, con una temperatura media anual de al menos 22°C sin época de sequía (Ibarra-manríquez, 2016). El clima cálido y humedad de la zona brinda una concentración importante de especies frutales de hoja perenne (Prado, 2000).

7.2 Cuantificación de compuestos bioactivos totales.

7.2.1 FENOLES TOTALES

El método espectrofotométrico para la determinación de fenoles totales desarrollado por Folin y Ciocalteau (Folin & Ciocalteau, 1927), se fundamenta en su carácter reductor y es el más empleado. Se utiliza como reactivo una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23})(Zhou & Yu, 2006) .

Los resultados son expresados como la media \pm desviación estándar con $n=3$ y en mg/ g de muestra seca (MS).

En los resultados (tabla 19) se observa al mesocarpio de *Ardisia compressa* como la muestra con mayor contenido de fenoles totales, Indilí-Cruz (2011) reporta un contenido de fenoles en extractos metanólicos de *Ardisia* sp. Igual a 180.17 ± 12.55 mg/ g MS, muy semejante al determinado en el presente trabajo. Es atribuido a que pertenece al grupo de frutas pequeñas conocidas también como berries, en particular éstas contienen una amplia gama de flavonoides y ácidos fenólicos que muestran actividad antioxidante (Paladino, 2008).

Tabla 19. Contenido de Fenoles totales en frutos silvestres

Nombre	Fenoles totales ($\frac{\text{mg ácido tánico}}{\text{g MS}}$)
<i>Ardisia compressa</i>	
Mesocarpio	171.37 ± 5.02
Endocarpio	29.84 ± 0.11
<i>Byrsonima crassifolia</i> amarillo	51.01 ± 1.86
<i>Byrsonima crassifolia</i> rojo	24.10 ± 1.20
<i>Licania platypus</i>	49.60 ± 2.97
<i>Pouteria sp.</i>	13.61 ± 0.68
<i>Melicoccus oliviformis</i>	12.23 ± 1.38
<i>Momordica charantia</i>	
Mesocarpio	7.61 ± 1.13
Epicarpio	7.00 ± 0.92
<i>Vasconcellea cauliflora</i>	7.99 ± 0.97
<i>Pouteria campechiana</i>	5.60 ± 0.51
<i>Mammea americana</i>	5.73 ± 0.55

***MS: muestra seca**

embargo el contenido fenólico de algunos frutos tropicales como la jaca, el plátano, la piña o la fruta estrella (34.1, 18.95, 51.1 y 51.9 mg/g respectivamente)(Barreto *et al.*, 2009) pueden dar una pauta para considerarla con una riqueza importante en polifenoles.

El resultado obtenido para *Pouteria sp.* es muy próximo al valor reportado por Barreto *et al.*, (2009) y representa un 58% más de contenido fenólico que *P. campechiana*, lo que puede atribuirse al lugar y fecha de procedencia de las muestras.

Para *Melicoccus oliviformis*, la siguiente con mayor contenido fenólico, Moo-Huchin *et al.*, (2014) reporta un valor menor, sin embargo no es comparable al reportado en el presente por estar expresados en base fresca.

Byrsonima crassifolia variedad amarilla es el segundo fruto en importancia de contenido fenólico, Pereira, *et al.*, (2015) y Martins, *et al.* (2015) reportan valores superiores a los cuantificados en el presente; cabe señalar que son diferentes especies.

La variedad roja obtuvo un 52% menos en contenido fenólico que la variedad amarilla lo que puede atribuirse a que el contenido de compuestos fenólicos puede disminuir o no cambiar significativamente durante el proceso de maduración (Martins *et al.*, 2015).

Licania platypus es la tercer fruta de importancia fenólica, no se encontraron estudios preliminares sobre la cuantificación de compuestos bioactivos en esta especie, sin

Momordica charantia muestra una concentración semejante a la reportada por Conde *et al.*, (2013) pero mucho más baja a la obtenida por Kubola & Siriamornpun (2008), esto debido a que el último autor estudió la especie cultivada en oriente que es de mayor tamaño y la composición - concentración de metabolitos secundarios en frutas se ve influenciada por factores como el estado de maduración y condiciones climáticas- nutrimentales del lugar de crecimiento (Mahapatra & Panda, 2012).

Al igual que *Ardisia compressa*, *Momordica charantia* también mostró más contenido fenólico en el mesocarpio que en endocarpio y epicarpio respectivamente; igual al resultado reportado por Sotero Solis,*et al.*, (2009) donde los extractos de frutas con mayor contenido fenólico provienen del mesocarpio seguidos del epicarpio.

Con un valor próximo a *Momordica c.* se encuentra *Vasconcellea cauliflora* o papaya de monte, no hay reportes sobre la cuantificación de fenoles en esta especie, sin embargo muestra un resultado superior a *Carica papaya* (Pavan *et al.*, 2014) que es la especie papaya de cosecha.

Además de ser diferentes especies y cosechadas en diferentes lugares, se podría explicar la idea de (Verheij, 2006) donde menciona que en temporadas cuando no hay cultivos anuales, las raíces de las especies silvestres exploran las capas profundas del subsuelo aprovechando al máximo el agua y nutrientes limitados por las raíces de los cultivos de campo.

Por último y con el segundo valor más bajo, *Mammea americana* obtuvo un resultado muy próximo al reportado por (Ordóñez-Santos *et al.*, 2014).

7.2.2 FLAVONOIDES TOTALES

El fundamento de esta metodología está basado en la reacción de los iones aluminio con los flavonoides en medio alcalino y en presencia de nitrito de sodio, formándose un complejo de color rosa salmón (Cruz Gallegos, 2012). El valor correspondiente a cada fruto de estudio se muestra en la tabla siguiente.

Tabla 20. Contenido de Flavonoides totales en frutos silvestres.

Nombre	Flavonoides ($\frac{\text{mg catequina}}{\text{g MS}}$)
<i>Ardisia compressa</i>	
Mesocarpio	107.85 ± 8.84
Endocarpio	16.67 ± 3.12
<i>Byrsonima crassifolia</i> amarillo	18.19 ± 0.76
<i>Byrsonima crassifolia</i> rojo	14.53 ± 0.64
<i>Licania platypus</i>	7.90 ± 1.20
<i>Pouteria</i> sp.	6.63 ± 0.52
<i>Momordica charantia</i> L	
Mesocarpio	5.03 ± 1.51
Epicarpio	3.49 ± 0.87
<i>Melicoccus oliviformis</i>	5.57 ± 0.90
<i>Mammea americana</i>	4.37 ± 0.70
<i>Vasconcellea cauliflora</i>	3.03 ± 0.69
<i>Pouteria campechiana</i>	2.78 ± 0.23

*MS: muestra seca

Observando los resultados, el mesocarpio de *Ardisia compressa*, es la muestra que posee mayor cantidad de flavonoides dentro del grupo con 107.85 ± 8.84 mg/ g, muy próximo al registrado en la literatura para el género *Ardisia* (Indilí-Cruz, 2011). Cabe recalcar que para esta fruta, tanto en mesocarpio como en endocarpio el contenido de flavonoides representa más del 50%.

Respecto a su contenido fenólico *Mammea Americana* es la fruta con más flavonoides y *Licania platypus* la de más bajo contenido, representando únicamente el 15% de FT.

La especie *Byrsonima crassifolia* es la de segunda de importancia en contenido de flavonoides dentro del grupo, mostrando valores mayores en la variedad amarilla que la roja, esto debido al proceso de maduración. Ambos resultados superan el obtenido por Barreto *et al.*,(2009); sin embargo cabría preguntarse qué variedad analizó el autor, y época del año en que se colectó la muestra, así como considerar técnicas de análisis.

Con el siguiente valor de importancia está *Licania platypus*, de la cual no se tienen reportes previos sobre su contenido, sin embargo al compararlo con frutas tropicales como papaya, plátano, palma nuez estrella y fruta estrella con 1.264, 0.628, 4.33 y 0.526 mg/g respectivamente, se considera como una buena fuente de flavonoides.

Por otra parte, el resultado obtenido para *Pouteria campechiana*, coincide con el reportado por Barreto *et al.*, (2009) y la especie desconocida obtuvo 57% más contenido de flavonoides totales, diferencias que pueden atribuirse a la diferencia de especies y lugar de cosecha.

Momordica charantia mostró valores bajos dentro del grupo de estudio en contenido total de flavonoides, concentrados mayoritariamente en el mesocarpio, el valor experimental resulta más alto al reportado en la literatura debido a que estudio por Nobre, *et al.*, (2005) se centró en las hojas de la planta y como se sabe, el órgano vegetal influye de manera significativa en el contenido de polifenoles.

Melicoccus oliviformis y *Mammea americana* se encuentra dentro de las frutas con menos flavonoides dentro del grupo, ambas frutas muestran resultados muy próximos a los reportados por (Moo-Huchin *et al.*, 2014) y (Villacorta & Vásquez, 2013), respectivamente. Y al comparar su contenido con el de frutas tropicales como papaya o palma de nuez estrella, consideradas ricas en flavonoides, supera los valores de ambas.

La segunda fruta con la más baja concentración en el estudio fue *Vasconcellea cauliflora* o papaya de monte, a pesar de ello, al comparar el valor con el teórico obtenido para *Carica papaya*, especie de la misma familia, el valor es mayor pero no lejano. La producción de fitoquímicos es restringida a un determinado género de plantas o incluso a algunas especies (Ávalos & Elena, 2009).

Como complemento importante a recalcar es que en 8 de las 10 frutas estudiadas, los flavonoides representan más del 50% del contenido total de fenoles, apoyando que de todos los compuestos fenólicos (fenilpropanoides, estilbenoides, derivados del ácido benzoico y flavonoides), estos últimos son los más abundantes (Martínez-Navarrete, *et al.*, 2008).

7.2.3 ANTOCIANINAS TOTALES

El pH diferencial es un método basado en la reacción de transformación reversible que experimenta la antocianina con los cambios de pH manifestado por un llamativo cambio en la absorbancia. La forma oxonium predomina a pH 1 y el hemicetal a pH 4.5. Es un método que permite una rápida y exacta medida de las antocianinas totales, incluso en presencia de pigmentos degradados polimerizados y otros compuestos interferentes (Brito, *et al.*, (2014).

Tabla 21. Contenido de Antocianinas totales en frutos silvestres .

Nombre	Antocianinas totales ($\frac{\text{mg cianidina-3-glucosido}}{100 \text{ g MS}}$)
<i>Ardisia compressa</i>	
Mesocarpio	5722.00 ± 175.33
Endocarpio	1022.69 ± 67.41
<i>Byrsonima crassifolia</i> rojo	2.10 ± 0.18
<i>Pouteria</i> sp.	3.95 ± 0.67
<i>Mammea americana</i>	2.69 ± 0.60

***MS: muestra seca**

La tabla 21 muestra los resultado expresados como la media ± desviación estándar con n=3 en mg/100 g de muestra seca para antocianinas totales; solo en aquellas frutas en que su valor fue apreciable, nuevamente *Ardisia compressa* muestra en mesocarpio una concentración significativa que supera el reportado por (Joaquín-Cruz *et al.*, 2015); cabe destacar que el origen del fruto y los métodos de extracción / cuantificación varían entre los estudios.

Para el mesocarpio y endocarpio de *Ardisia compressa* las antocianinas constituyen más del 50% de los flavonoides, siendo mayor su porcentaje en mesocarpio, corroborando que las antocianinas son un grupo dominante de flavonoides en berries (Nile & Park, 2014).

Byrsonima crassifolia variedad roja supera el valor reportado por (Martins *et al.*, 2015) para una fruta de su mismo género. En este sentido no solo se puede hacer mención a la diferencia entre especies sino al estado de maduración, ya que en el nanche amarillo no se detectó la presencia de antocianinas, debido a que estas aumentan durante la maduración sucesiva mientras otros compuestos fenólicos pueden disminuir o no cambiar significativamente (Martins *et al.*, 2015).

Debido a que los últimos tres frutos silvestres presentados de la tabla, poseen valores mucho más bajos en comparación con aquellos considerados ricos en antocianinas (Horbowicz, *et al.*, 2008), el único de relevancia respecto a su contenido de antocianinas en el presente estudio es *Ardisia compressa*, fruta que mostró un resultado comparable con el arándano (2298 a 7465 mg AT/ 100 g ms), la granada(6100 a 8600 mg AT/ 100 g ms), el girasol púrpura (5700 mg AT/ 100 g ms) y el Tamarillo (7818 mg AT/ 100 g ms) (Wallace-Giusti, 2014).

7.2.4 FLAVONOLES TOTALES

El método se basa en la formación del complejo aluminio-flavonol empleando una solución de AlCl_3 y la adición de un ácido o acetato ; es selectivo sólo para flavonoles y flavonas luteolina (Pękal & Pyrzyńska, 2014). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 22 expresados como la media \pm desviación estándar con $n=3$ en mg/g de muestra seca (MS).

Tabla 22. Contenido de Flavonoles totales en frutos silvestres

Nombre	Flavonoles totales ($\frac{\text{mg rutina}}{\text{g MS}}$)
<i>Momordica charantia</i> L	
Mesocarpio	2.74 \pm 0.50
Epicarpio	1.85 \pm 0.47
<i>Pouteria campechiana</i>	1.67 \pm 0.22
<i>Pouteria</i> sp.	2.17 \pm 0.05
<i>Ardisia compressa</i>	
Mesocarpio	28.45 \pm 1.09
Endocarpio	7.99 \pm 0.67
<i>Byrsonima crassifolia</i> amarillo	3.22 \pm 0.08
<i>Byrsonima crassifolia</i> rojo	1.33 \pm 0.05
<i>Melicoccus oliviformis</i>	1.64 \pm 0.93
<i>Vasconcellea cauliflora</i>	1.26 \pm 0.52
<i>Licania platypus</i>	5.8 \pm 1.09

*MS: muestra seca

anteriores análisis, el mesocarpio de *Ardisia compressa* posee la mayor cantidad con 28.45 \pm 1.09 mg/g lo que representa el 26% de los flavonoides. El anterior valor es más alto que el reportado por (Joaquín-Cruz *et al.*, 2015), lo que se atribuye a la diferencia en origen de las muestras y métodos de análisis.

Byrsonima crassifolia variedad roja mostró el menor contenido dentro del grupo pero sólo un poco por debajo del valor de la cebolla y es muy próximo al reportado por (Moo-Huchin *et al.*, 2014) para dicha variedad.

Los flavonoles tales como rutina y quercetina son los flavonoides más comunes presentes en muchos vegetales y ampliamente distribuidos en todos los pigmentos amarillos de las plantas; a pesar de que este es normalmente debido a los carotenoides, (Cartaya & Reynaldo, 2001). Para este perfil se comparan los resultados con la concentración de las hojas de cebolla, considerada como la mejor fuente de quercetina (1.49 mg/g) (Häkkinen, *et al.* , 1999), se observa que los frutos silvestres de la presente investigación poseen valores importantes en su contenido de flavonoles.

La presencia de flavonoles en las frutas silvestres de estudio fue más común que las antocianinas pero se encontró en menores cantidades, al igual que en los

Respecto a su contenido de flavonoides *Momordica charantia* (epicarpio y mesocarpio), *Licania platypus* y el género *Pouteria* muestran el mejor contenido de flavonoles, con el 78%, 73% y 60% respectivamente.

7.2.5 CAROTENOS TOTALES

La metodología se basa en la lectura de la absorbancia a 450 nm, valor máximo para el β -caroteno que es generalmente, en la mayoría de las frutas y verduras, dominante en comparación con su isómero geométrico α -caroteno (Saini, *et al.*, 2015). Al ser compuestos con una alta proporción de dobles enlaces conjugados, hace factible su determinación utilizando un detector UV/Vis (Yeverino, 1997).

Los resultados se expresan en la tabla 23 como la media \pm desviación estándar con n igual a 3 y en $\mu\text{g/g}$ de muestra.

Tabla 23. Contenido de Carotenos totales en frutos silvestres

Nombre	Carotenos totales ($\frac{\mu\text{g beta-caroteno}}{\text{g MS}}$)
<i>Momordica charantia</i>	
Mesocarpio	33.74 \pm 1.66
Epicarpio	131.24 \pm 2.13
<i>Pouteria campechiana</i>	71.86 \pm 2.70
<i>Pouteria sp.</i>	30.88 \pm 0.28
<i>Ardisia compressa</i>	
Mesocarpio	2.26 \pm 0.43
Endocarpio	2.65 \pm 0.33
<i>Byrsonima crassifolia</i> roja	4.54 \pm 0.24
<i>Byrsonima crassifolia</i> amarilla	8.03 \pm 0.13
<i>Mammea americana</i>	12.07 \pm 0.11
<i>Melicoccus oliviformis</i>	18.67 \pm 0.77
<i>Vasconcellea cauliflora</i>	7.13 \pm 0.47
<i>Licania platypus</i>	10.78 \pm 0.85

***MS: muestra seca**

La tabla 23 muestra el mayor contenido de carotenos en el epicarpio de *Momordica charantia*, valor que resulta próximo y comparable al reportado por (Rodriguez *et al.*, 1975) atribuido a su contenido en licopeno. Para mesocarpio, también el valor es semejante al reportado (Rodriguez *et al.*, 1976).

Ambas frutas del género *Pouteria* resultan como las segundas de importancia en su contenido de carotenos totales dentro del grupo de análisis, *Pouteria campechiana* posee 57% más carotenos que *Pouteria sp.* Y los dos resultados coinciden con lo reportado por (Moore-Steams., 2002).

Actualmente las fuentes vegetales más importantes de carotenos son la zanahoria con un contenido total y de β -caroteno igual a 1419.11 ± 278.31 y 1008.74 ± 200.28 $\mu\text{g/g MS}$, respectivamente (Angi & Kimani, 2009) y las diversas variedades del pimiento morrón cuyo

contenido oscila entre 4200 a 13600 μg CT/g de MS y entre 300 a 1600 μg β -caroteno/g MS (Arimboor, *et al.*, 2015).

Sí se comparan los resultados obtenidos en el presente trabajo con lo anteriormente expuesto, las frutas estudiadas no representan una buena fuente de carotenos; sin embargo estos compuestos sirven como precursores de la vitamina A, importante componente de la retina en el ojo humano y de la que se sugiere (FAO & OMS), por día ingerir 750 μg en adultos, así que el consumo de menos de 100g de las frutas de mayor contenido en CT del presente estudio, cubren la ingesta diaria recomendada.

Mientras que para *Mammea americana*, *Melicoccus oliviformis* y *Licania platypus* bastarían menos de 300 g para cubrir el aporte requerido.

El contenido de β -caroteno en los frutos de estudio es comparable con otros frutos tropicales como el plátano, la nectarina, la fruta estrella y la palma de nuez estrella con valores de 2.0, 6.23, 43.00 y 8.12 $\mu\text{g}/\text{g}$ en MS respectivamente (Barreto *et al.*, 2009).

Resulta importante destacar que la variedad roja de *Byrsonima crassifolia* muestra menor contenido que la amarilla, debido a que el proceso de maduración desenmascara otros pigmentos existentes, como los carotenoides (β -caroteno, licopeno) y posteriormente implica la síntesis de nuevos pigmentos, como las antocianinas, esto provoca un cambio en el color del fruto, que deja de ser verde o amarillo (Mínguez Mosquera *et al.*, 2005).

8. *Ardisia compressa*.

8.1 Selección del disolvente por su capacidad extractiva

Elegir el disolvente adecuado es uno de los factores más importantes en la obtención de extractos con alto contenido de compuestos bioactivos.

El metanol acidificado al 80% obtuvo el mayor rendimiento a los 60 minutos para la extracción de antocianinas en mesocarpio de *Ardisia compressa*, no obstante, la prueba de rangos de Wilcoxon no arroja diferencia significativa para la extracción con 30 minutos (Tabla A1. Anexo), por lo que por rendimiento experimental, se eligió como tiempo de extracción este último en las determinaciones de la presente investigación. Diversos autores reportan al metanol como el mejor disolvente para la extracción de antocianinas (González-Montelongo, *et al.*, 2010) (Martins *et al.*, 2015).

La concentración con mejor rendimiento en la extracción con acetona acidificada fue 60% en sonicación por 30 minutos; sin embargo la gráfica (A3. Anexo) muestra una tendencia a disminuir la concentración a mayores tiempos de sonicación, esto puede deberse a la alta volatilidad del disolvente.

La extracción con etanol ácido se observó más efectiva al 80% por 30 minutos y no tuvo diferencia significativa, según el análisis de varianza (Anexo).

El disolvente agua al 100%, fue el tratamiento de más bajo rendimiento de extracción y respecto al análisis de varianza con un 95% de confianza, presenta diferencia significativa con los tratamientos de metanol; la prueba de Duncan arroja diferencia significativamente únicamente a los 15 minutos (Anexo).

Abozed, *et al.*, (2014) y González-Montelongo *et al.*, (2010) consideran al sistema 100% agua como el más ineficiente para la extracción de compuestos fenólicos y antocianinas, respectivamente.

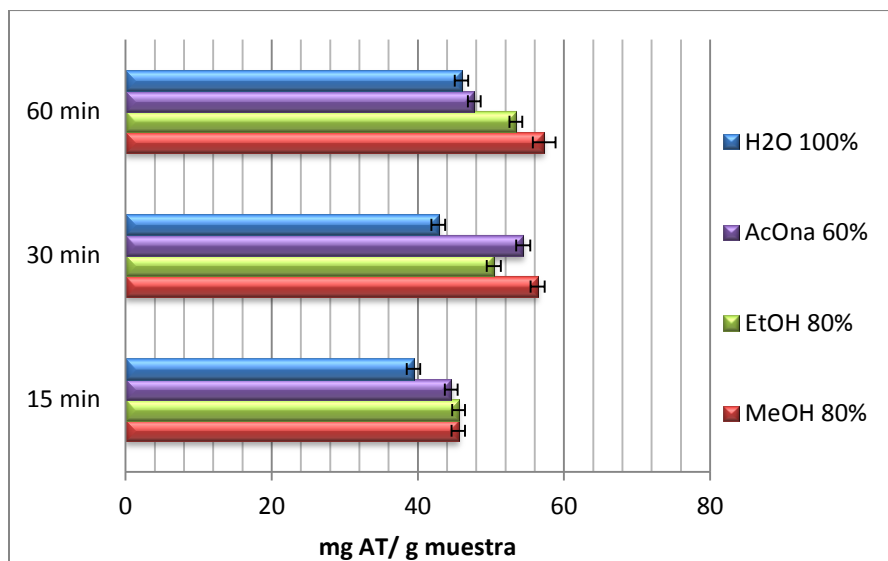


Gráfico VI. Antocianinas totales (mg/g MS) con las mejores concentraciones de los diferentes disolventes de estudio e intervalos de tiempo en sonicación.

González-Montelongo, *et al.*, (2010) expone que las formas agliconas altamente hidroxiladas de los compuestos fenólicos son solubles en solventes tales como etanol, metanol y agua. Los solventes como acetato de etilo, acetona y cloroformo se utilizan para las menos polares y altamente metoxiladas (muy común en la piel de las frutas).

En este sentido, al presentar más afinidad de extracción con metanol y respecto a la caracterización tentativa de las antocianinas en *Ardisia compressa* reportado Joaquín-Cruz *et al.*, (2015), este fruto posee un porcentaje importante de antocianinas de carácter polar alto o altamente hidroxiladas.

8.2 Extracción de antocianinas asistida por enzimas

Se han empleado diferentes enzimas (solas o en combinación) para potenciar y acelerar la extracción de pigmentos en diversos materiales vegetales; esto a que algunos investigadores hipotetizan que el material de la pared celular todavía no está completamente roto o que las antocianinas se enredan en el mismo, quedando atrapadas e impidiendo su aislamiento (Asthon Maritza, 2015).

El gráfico VII, muestra el contenido de antocianinas en *Ardisia compressa* en los sistemas enzimáticos de estudio frente a un control llevado a cabo a las mismas condiciones sin adición de enzima con un valor igual a 56.37 ± 1.48 mg/g de muestra. Sin duda, la adición del 1% de Macerex® previo a la extracción, mostró el mejor rendimiento con 84.04 ± 1.72 mg/g que representa un 47% más. Escalante-minakata *et al.*, (2013) reconoce a Macerex® frente a otras enzimas comerciales por el efecto positivo en la extracción de jugo de banano mostrando rendimientos hasta del 60%, sin embargo esto depende de la matriz y los compuestos a extraer.

Por otro lado Zymapect® y Celuclast® al 1%, permitieron un rendimiento del 24% y 19% con 70.48 ± 1.92 y 67.66 ± 0.98 mg/g respectivamente, la razón por la que los resultados son menores en estos tratamientos se debe a que Macerex® es un complejo enzimático de pectinasa, celulasa y hemicelulasa; estudios realizados muestran que la pectinasa y la celulasa tienen actividades sinérgicas sobre la degradación de la pared celular y pueden hacer y descomponer los materiales intracelulares de la planta y hacer que los pigmentos interiores sean más accesibles para la extracción mostrando mejores rendimientos que las enzimas separadas (Lotfi *et al.*, 2015).

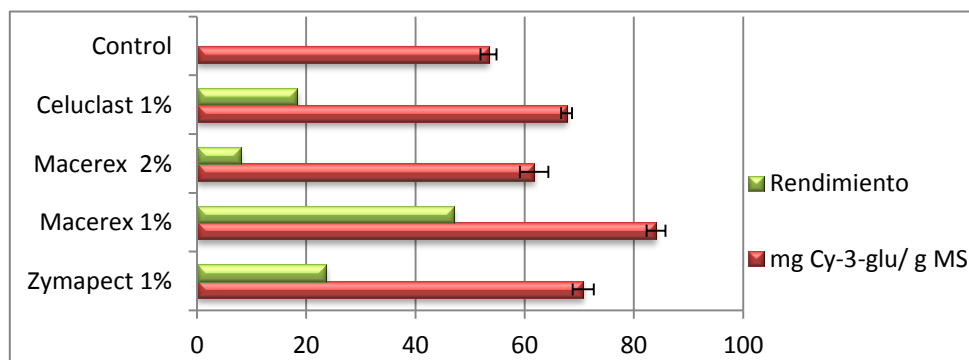


Gráfico VII. Antocianinas totales (mg/g MS) y rendimiento en los sistemas enzimáticos estudiados.

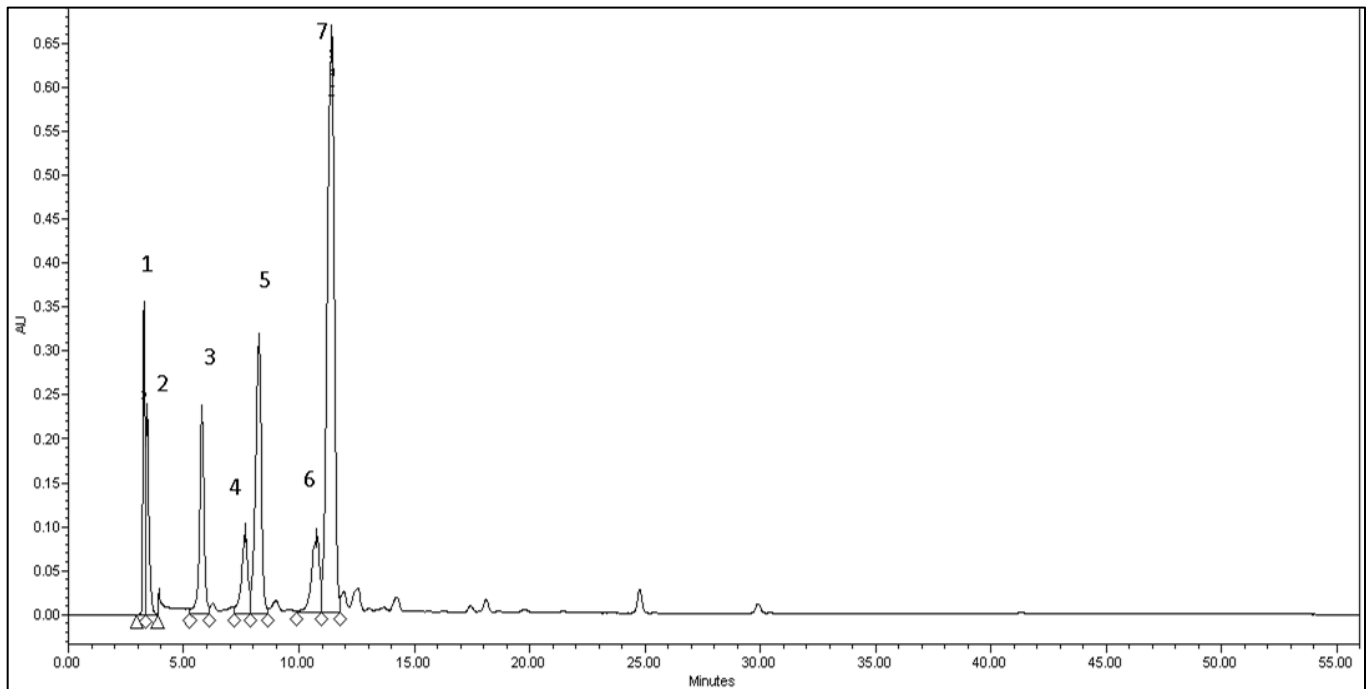
Al mostrar Macerex® el mejor rendimiento al 1% se evaluó la adición de enzima al 2% para observar el comportamiento de la actividad de la misma; esta segunda concentración mostró un rendimiento únicamente del 8% (61.73 ± 2.43) frente al control, debido a que altas concentraciones de enzima pueden destruir las células de pigmento debido a la liberación de proteínas en los materiales vegetales (Lotfi *et al.*, 2015).

8.3 Identificación parcial de antocianinas en *Ardisia compressa* por HPLC

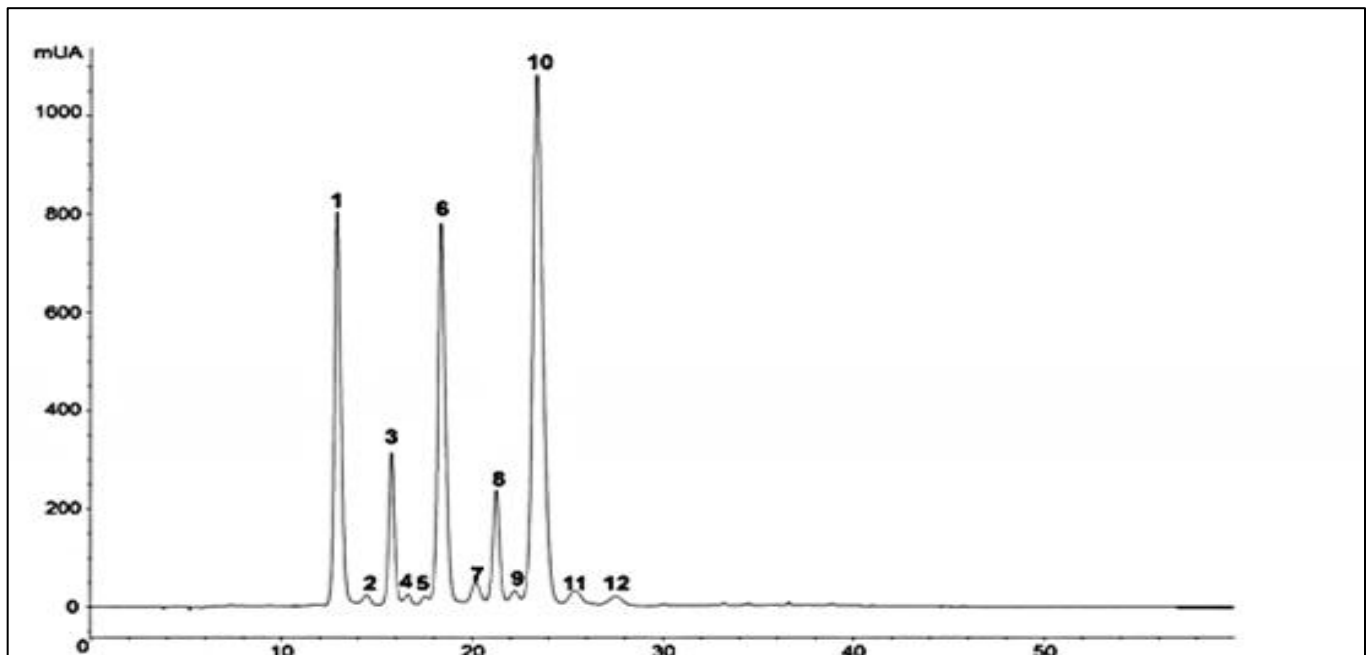
El Cromatograma obtenido por HPLC registró principalmente 7 señales, al comparar dicho perfil con el registrado por Joaquín-Cruz *et al.*, (2015); se encontró gran similitud y se identificaron las antocianinas presentadas en la tabla 24, cabe recalcar que la proporción de antocianinas en los perfiles comatográficos teórico y experimental son de igual manera muy próximos, por lo que en dicha tabla se muestra el porcentaje teórico correspondiente a cada antocianina, siendo las más abundantes Malvidina 3-O-galactosido, Delfinidina 3-O-galactosido y Petunidina 3-O-galactosido.

Tabla 24. Identidad y concentración tentativa de antocianinas en mesocarpio de *Ardisia compressa*. (Joaquín-Cruz *et al.*, 2015)

PICO	IDENTIDAD TENTATIVA	CONCENTRACIÓN (mg/g MS)
1	Delfinidina 3-O-galactosido	48.38 ± 2.43
2	Malvidina di-O-hexosido	-----
3	Cianidina 3-O-galactosido	11.40 ± 0.33
4	Desconocido	-----
5	Petunidina 3-O- galactosido	33.05 ± 1.37
6	Peonidina 3-O-galactosido	7.18 ± 0.18
7	Malvidina 3-O-galactosido	61.69 ± 1.20



Cromatograma I. Perfil de antocianinas en extracto de mesocarpio de Ardisia compressa.



Cromatograma II. Perfil de la fruta de Ardisia compressa obtenida por HPLC. (Joaquín-Cruz et al., 2015)

8.4 Identificación cualitativa por CCF de compuestos bioactivos en *Ardisia compressa*

8.4.1 ÁCIDOS FENÓLICOS

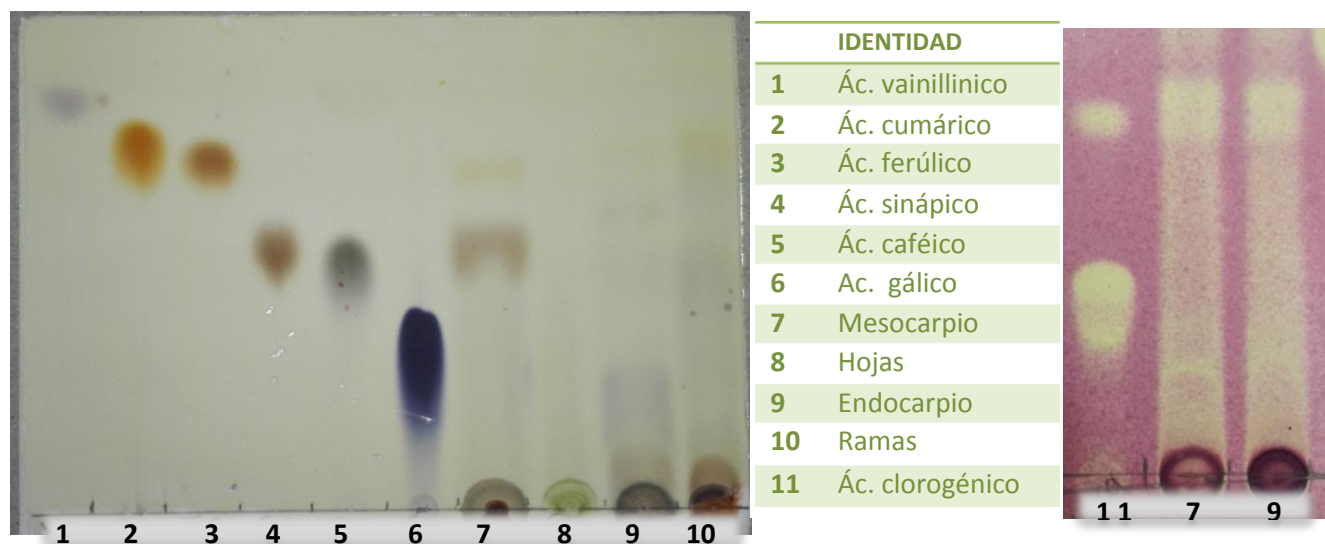


Figura 42. CCF de ácidos fenólicos en extractos de diferentes partes de *Ardisia compressa*.

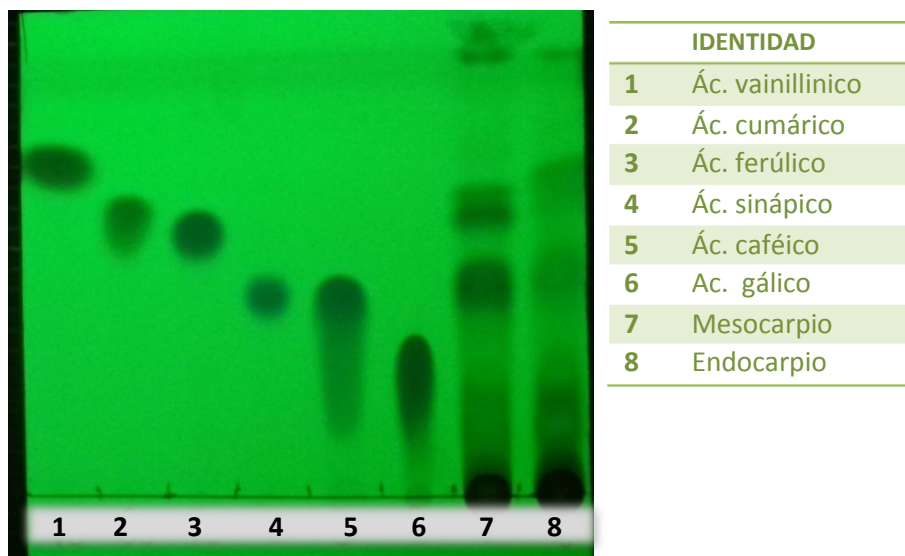


Figura 43. CCF de ácidos fenólicos bajo luz UV

La figura 42 muestra el cromatofolio correspondiente a la identificación cualitativa de ácidos fenólicos en diferentes partes de *Ardisia compressa*, además de corroborar su presencia, también da pauta a saber su relación en concentración debido a la intensidad de las bandas.

En el mesocarpio de *Ardisia compressa* se aprecian bandas que por color y distancia, pueden corresponder a los ácido sinápico y cumárico, sin embargo, los ácidos cafeíco y sinápico presentan un R_F muy similar, por lo que podrían ser bandas sobrepuestas. Por otra parte, en la figura 43, se observan con mejor claridad las bandas correspondientes a los ácidos cumárico y ferúlico presentes también en el endocarpio pero a concentraciones más bajas.

En las hojas de *Ardisia compressa* se aprecia una ligera banda que podría corresponder al ácido gálico, sin embargo, no presenta el mismo color que el estándar, probablemente se deba a la baja concentración en que se encuentra. A diferencia de las hojas, el endocarpio de *Ardisia* supone concentrar más ácido gálico pero también se aprecian bandas que pueden corresponder a la presencia de ácido cumárico, ferúlico, sinápico y/o cafeíco. Por otra parte las ramas suponen el predominio de ácido cumárico, ferúlico y cafeíco.

En el cromatofolio de la derecha (Fig. 42), la primer banda del estándar 11 corresponde a ácido clorogénico y la segunda al ácido cafeíco, por lo que en mesocarpio y endocarpio se corrobora la presencia de ácido cafeíco pero no se registran bandas para ácido clorogénico, probablemente esté ausente o a muy bajas concentraciones; como ocurre con el ácido vainillínico que muestra una banda de baja intensidad en mesocarpio a la par del estándar (Fig. 43).

Newell, *et al.*, (2010) reporta la presencia de ácido gálico y ácido clorogénico en extractos de *Ardisia compressa*.

8.4.2 FLAVONOIDES



Figura 44. CCF de flavonoides en extracto de diversas partes de *Ardisia compressa*.

Las bandas correspondientes a los estándares de quercetina y kaempferol se aprecian mejor con un sistema de elución acetato de etilo/ metanol /agua (20:2.7:2.0) en la cromatoplaaca de la derecha, revelada con luz UV (figura 44). Podría suponerse que se encuentran a mayor concentración en las hojas ya que se son bandas más intensas y parecen encontrarse en cantidades similares dentro de la misma matriz.

En el cromatofolio de la izquierda, la pigmentación del fruto no permite la clara identificación de la banda correspondiente a rutina, sin embargo, en mesocarpio se presenta una banda de mayor intensidad que supone su presencia. Por otra parte las bandas que pueden corresponder a catequina y epicatequina son más evidentes.

Newell, *et al.*, (2010) reporta la presencia de rutina y derivados de kaempferol en extractos de *Ardisia compressa* y considera que los derivados de ardisina y quercetina parecen ser los compuestos más importantes en los tés de seis especies del género *Ardisia* que pueden ser responsables del efecto anticancerígeno.

8.4.3 TERPENOS

Vázquez *et al.*, (2011) reconoce a la α - y β -amirina como compuestos bioactivos comúnmente encontrados en las plantas que han mostrado actividades antimicrobianas y anti –inflamatorias. Por otro lado, Raga,*et al.*, (2013) identificó la presencia de α - y β -amirina en *Ardisia elliptica*, por ello se realizó una cromatografía en capa fina para identificar la presencia de α - y β -amirina en *Ardisia compressa*. Los resultados los muestra la Fig. 45.



Figura 45. CCF de terpenos en extracto de mesocarpio y endocarpio *Ardisia compressa*.

Esta revelación se basa en la reacción de Liebermann Burchard, en donde la aparición de bandas de color rosado o púrpura indica que la prueba es positiva para saponinas triterpenoides y bandas con color azul o verde para compuestos esteroides (Francis *et al.*, 2002).

En este sentido y observando la banda del estándar de α -amirina, se aprecia claramente la presencia de la misma en el mesocarpio de *Ardisia c.*, mientras que en la imagen de la izquierda también está presente una banda correspondiente a un esteroide que no fue identificado en esta investigación; sin embargo Roy, *et al.*, (2017) refiere en sus estudios el contenido de saponinas, antraquinonas, terpenos, flavonoides, esteroides y fitoesteroides en *Ardisia blatteri*, especie del mismo género que *Ardisia compressa*.

Foubert, *et al.*, (2008) realizó un estudio de saponinas triterpénicas y encontró que este tipo de saponina se han encontrado en miembros de las familias de plantas Myrsinaceae. Los géneros más importantes fueron *Ardisia*, *Maesa* y *Myrsine*.

G. Francis *et al.*, (2002) encontró que las saponinas esteroides y triterpenoides con una sola cadena de azúcar (monodesmosidos) tenían una fuerte actividad hemolítica.

8.4.4 ARDISINA

Ardisina es un polifenol encontrado en el extracto de hojas secas de *Ardisia compressa* con fuertes actividades inhibitoras de topoisomerasa I y II (González de Mejía, *et al.*, 2002). Las quinonas encontradas en *Ardisia* se caracterizan por la larga cadena lateral saturada o no saturada y la presencia de grupos hidroxilo o metoxi, que definen importantes actividades biológicas (Kobayashi & De Mejía, 2005).

Entre los numerosos tipos existentes de té de hierbas, la cantidad de ardisina en *Ardisia compressa* lo hace único debido a su potencial como material preventivo y terapéutico, (González de Mejía *et al.*, 2002).

Se realizó una cromatografía en capa fina para identificar la presencia de ardisina en diversas partes de *Ardisia compressa*, obteniendo los siguientes resultados.

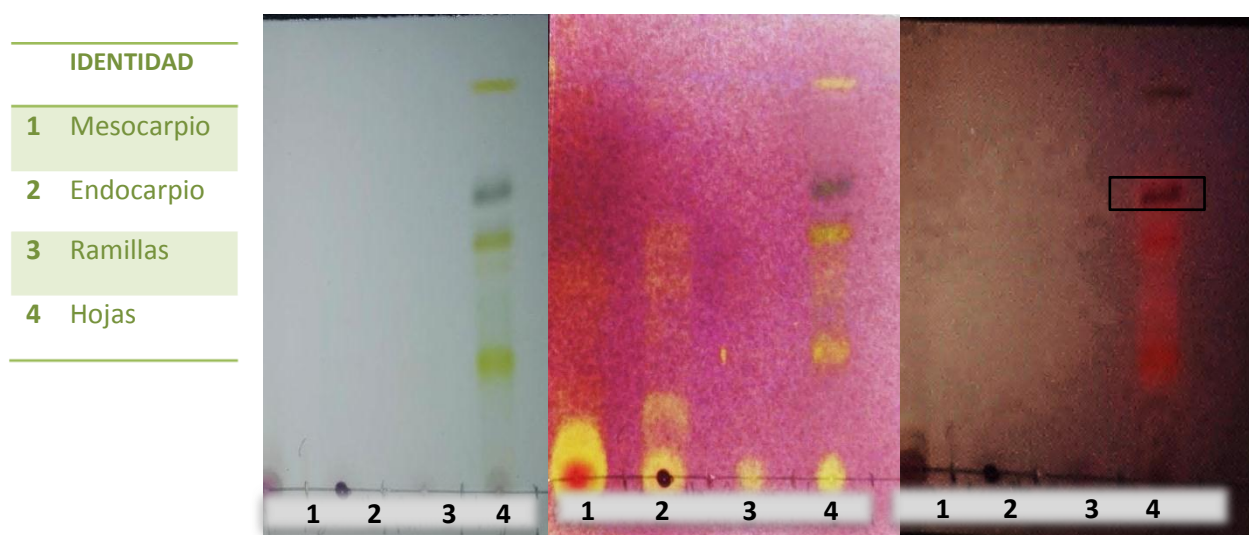


Figura 46. Cromatofolio de ardisina en extracto de diversas partes de *Ardisia compressa*. Sin revelar (Izq.). Revelado con DPPH. (Centro) Revelado con UV/Vis (Der.)

El cromatofolio confirma la presencia de este compuesto, aparentemente, solo en las hojas de la planta. Los estudios sobre la caracterización molecular de esta quinona aún son escasos en *Ardisia compressa* por lo que no se tuvo un valor de referencia.

González de Mejía *et al.*, (2002) elucidó la molécula de ardisina encontrada en *Ardisia japonica*, siendo esta la 2-metoxi-6-tridecil-1,4-benzoquinona, por otra parte Kotakemori & Okada, (1966) reportan un valor de R_F para las 1,4 benzoquinonas igual a 0.83. Analizando la última cromatoplaqueta de la figura 46, la banda enmarcada correspondería a la ardisina y las bandas inferiores, corroborando el cromatofolio de la figura 45, a fitoesteroles como β -sitoesterol, campesterol o stigmasterol presentes en las membranas vegetales (Uddin *et al.*, 2015); estos presentan valores de R_F teóricos entre 0.31 y 0.65 (Jurček *et al.*, 2011); mientras que los valores experimentales son R_F 0.36 y 0.63.

Fukuyama y sus colegas investigaron la síntesis de ardisiaquinona y derivados, de la madera de *Ardisia sieboldii* y se encontró que eran inhibidores de la 5-lipoxigenasa (Uddin *et al.*, 2015), mientras que Nile & Park, (2014) reporta la presencia de fitoesteroles en *Ardisia japonica*, tales como sitosterol y estigmasterol.

8.5 Cuantificación de compuestos bioactivos en *Ardisia compressa* por HPLC

En la identificación por cromatografía en capa fina (CCF) de ácidos fenólicos y flavonoides se observó la presencia de la mayoría de los ácidos fenólicos y flavonoides estándar, pero no se logró corroborar su identidad debido a bandas sobrepuestas o de tonalidad muy tenue. Por ello se decidió realizar la cuantificación de los mismos en las diferentes partes de *Ardisia compressa* por cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC empleando curva patrón de los estándares correspondientes, obteniendo los siguientes resultados.

8.5.1 ÁCIDOS FENÓLICOS

Tabla 25. Concentración de ácidos fenólicos en diversas partes de de *Ardisia compressa* cuantificado por HPLC

mg/g MS	HOJAS	MESOCARPIO	RAMAS	SEMILLA
ÁC. P-CUMÁRICO	2.10	3.05	2.09	0.94
ÁC. FERÚLICO	1.26	2.37	1.28	0.82
ÁC. CAFEÍCO	3.33	5.28	2.90	4.20
ÁC. SINÁPICO	0.80	0.48	0.46	0.12
ÁC. GÁLICO	3.58	11.28	5.88	1.93
ÁC. VAINILLINICO	0.02	0.01	0.34	0.18
ÁC. CLOROGÉNICO	0.14	0.14	0.42	0.15

Los resultados muestran al ácido gálico como el más abundante en hojas, mesocarpio y ramas, seguido del ácido caféico, cumárico y ferúlico. En semilla predomina el ácido caféico, seguido del ácido gálico.

Por otra parte, las concentraciones más bajas de manera descendente en semilla están el ácido cumárico, ferúlico, vainillinico, clorogénico y sinápico. Mientras que para hojas y mesocarpio los ácidos con concentraciones más bajas ordenados de manera descendente son sinápico, clorogénico y vainillinico. En las ramas el ácido sinápico predomina frente al ácido clorogénico y por último el ácido vainillinico.

El ácido gálico es un potente antioxidante que se encuentra en las bayas, el té negro y vino tinto, inhibe la proliferación celular y la muerte de células cancerígenas de próstata, tiene una actividad antioxidante importante que es tres veces la de la vitamina C o E, lo que indica que sus tres grupos hidroxilo pueden funcionar independientemente como aceptores de electrones (Nile & Park, 2014).

8.5.2 FLAVONOIDES

Tabla 26. Concentración de flavonoides en diversas partes de de *Ardisia compressa* cuantificado por HPLC

mg/g MS	HOJAS	MESOCARPIO	RAMAS	ENDOCARPIO	(Joaquín-Cruz <i>et al.</i> , 2015) Mesocarpio
RUTINA	0.43	0.86	0.31	0.41	1.53
CATEQUINA	2.45	1.91	2.26	1.23	0.12
EPICATEQUINA	1.29	1.06	0.36	0.33	0.49
QUERCETINA	1.37	5.76	0.33	2.25	2.85

Observando los resultados (Tabla 26), la concentración más elevada corresponde a la quercetina en mesocarpio, seguida de la catequina en hojas, y con un valor muy aproximado catequina y quercetina en ramas y semilla respectivamente, estos últimos flavonoides predominan sobre rutina y epicatequina, en mesocarpio, hojas y endocarpio.

Los resultados obtenidos por Joaquín-Cruz *et al.*, (2015) son referentes al mesocarpio del fruto y son algo bajos en comparación a los determinados experimentalmente en el presente trabajo. Resulta importante mencionar que el lugar de origen de los frutos, el estado de madurez y las técnicas de cuantificación influyen en el contenido de los compuestos fenólicos.

De igual manera, se corrobora que la quercetina figura entre los flavonoides más abundantes en las frutas y vegetales (Miean & Mohamed, 2001), es un potente antioxidante que tiene importantes propiedades biológicas, farmacológicas y medicinales, inhibe la agregación plaquetaria humana in vitro (Nile & Park, 2014);

8.6 CUANTIFICACION DE ÁCIDOS GRASOS EN SEMILLA DE *Ardisia compressa* POR CG

Tabla 27. Concentración de ácidos grasos en semilla de *Ardisia compressa* cuantificado por CG.

	Ácido graso	g AG/100g MS semilla
C16:0	Palmítico	0.11 ± 0.01
C16:1	Palmitoleico	0.80 ± 0.14
C18:0	Esteárico	1.36 ± 0.07
C18:1	Oleico	0.06 ± 0.01
C:22:1	Erúcico	0.03 ± 0.00

El análisis constó de la identificación de ocho diferentes ácidos grasos, en la tabla se muestran solo lo que se identificaron en la semilla de *Ardisia compressa* mientras que los ácidos linoleico (18:2), linolénico (18:3) y araquidónico (20:1) no se detectaron.

El más abundante es el ácido esteárico, seguido del palmitoleico. Aguilar, (2016) reporta valores de 0.87 % y 0.2% respectivamente, en contenido de estos ácidos grasos en diferentes frutas. Comparando estos resultados *Ardisia compressa* se destaca por la presencia de estos ácidos; sin embargo, no hay presencia relevante de los ácidos grasos esenciales.

8.7 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN MESOCARPIO, MERMELADA Y LICOR ARTESANAL DE CHAGALAPOLI

Tabla 28. Valor de IC_{50} para mesocarpio, mermelada y licor de chagalapoli por el metodo del DPPH.

Chagalapoli	IC_{50} mg/mL DPPH 150 μ M
MESOCARPIO	0.45 ± 0.14
MERMELADA	0.85 ± 0.09
LICOR	0.88 ± 0.07

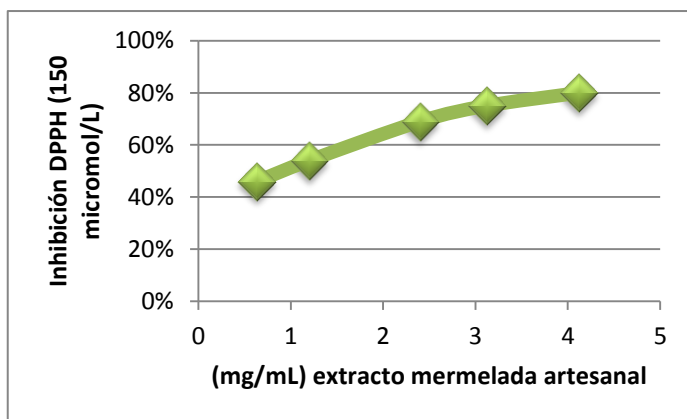
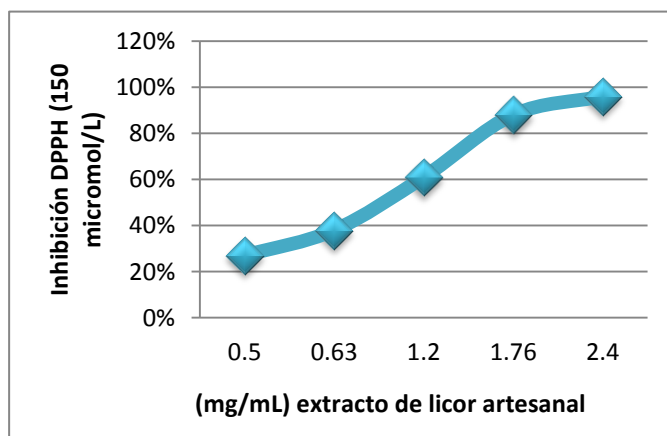
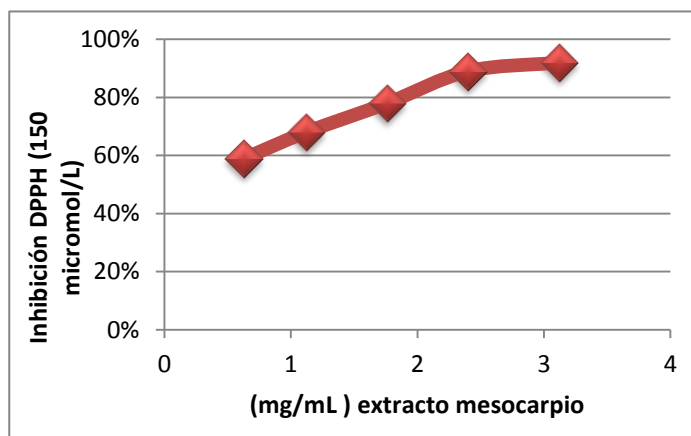


Figura 44. Graficas del comportamiento de la actividad antioxidante de los extractos de mesocarpio, mermelada y licor de chagalapoli.

La tabla 28 muestra que el mayor poder antioxidante se encuentra en el mesocarpio al presentar un IC₅₀ más bajo, esto quiere decir, y como se observa en el gráfico correspondiente de la figura 44, que se necesita un concentración de 0.45 mg/mL de extracto para inhibir el 50% de la solución de DPPH 150 µM.

La metodología para determinar la actividad antioxidante en frutas es muy variante según el autor; sin embargo el valor IC₅₀ permite comparar la actividad antioxidante de la matriz de estudio; Kuskoski, *et al.*, (2005) reporta valores de IC₅₀ DPPH [100 µM] para frutos tropicales que oscilan entre 0.9 ± 0.2 (Maracuyá) a 9.2 ± 0.01 (Fresa); por lo que se concluye que las tres muestras de Chagalapoli poseen un alto poder antioxidante.

Observando los gráficos, la transformación del fruto en mermelada y vino reduce su capacidad antioxidante; mientras que en mermelada y mesocarpio presentan un comportamiento más lineal; en vino ésta parece tener incrementos más pronunciados conforme aumenta la concentración.

8.7.1 CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS TOTALES EN MERMELADA Y VINO ARTESANAL DE CHAGALAPOLI.

Por último se determinó la concentración de compuestos totales en los productos artesanales en base seca para mermelada y base húmeda en vino. La tabla 29 muestra los resultados obtenidos y la tabla 30, algunos valores encontrados en la literatura como información comparativa.

Tabla 29. Concentración de compuestos bioactivos en mermelada, licor y mesocarpio de chagalapoli.

TOTALES	FENOLES	FLAVONOIDES	ANTOCIANINAS	FLAVONOLES	β-CAROTENO (µg/g MS)
Mermelada mg/g MS	42.21 ± 3.12	35.65 ± 2.33	26.47 ± 2.03	4.66 ± 1.12	0.56 ± 0.19
Licor mg/L	1764.45 ± 13.76	690.9 ± 12.33	326.9 ± 7.09	96.26 ± 2.08	N.D

Tabla 30. Valores reportados de la concentración de fenoles y antocianinas en mermelada y vino tinto.

TOTALES	FENOLES	REFERENCIA	ANTOCIANINAS	REFERENCIA
Mermelada guayaba	1.47 mg/g	(Marquina, <i>et al.</i> 2008)		
Mermelada de zarzamora	14. 2 mg/g		5. 34 mg/g	(Rodríguez Pérez <i>et al.</i> , 2010)
Vino tinto	1803. 3 mg/L	(Avalos, <i>et al.</i> , 2003)	412. 64 mg/L 117. 05 mg/ L	(Mateus, <i>et al.</i> , 2001)

La tabla 29 muestra valores más bajos en mermelada respecto al contenido de compuestos bioactivos evaluados en el fruto liofilizado, esto puede deberse al contenido de agua y azúcar en la mermelada y también pudo haber pérdida de los fitoquímicos durante el proceso de calentamiento.

A pesar de lo anterior mencionado, en la tabla 30 se muestran los resultados obtenidos por Rodríguez Pérez *et al.*, (2010) correspondientes a una mermelada de zarzamora y comparando los productos, puede notarse una importante concentración de polifenoles en la mermelada de chagalapoli.

En cuanto al vino tinto, no podría realizarse una comparación exacta por la concentración de alcohol y agua presente en el producto; sin embargo, respecto a los valores reportados en la literatura presenta una concentración de fenoles totales importante. Se ha comprobado que los vinos tintos tienen mayor concentración en polifenoles debido a la maceración (Paladino, 2008).

Cabe recalcar que aunque se ha encontrado una relación directa entre la cantidad de fenoles y la actividad antioxidante; no todos los polifenoles poseen la misma capacidad antioxidante; Paladino, (2008) encontró en su investigación una correlación positiva entre el potencial antioxidante total del vino y el ácido gálico y catequina.

9. CONCLUSIONES

- El mesocarpio de *Ardisia compressa* obtuvo los valores más altos en contenido de fenoles y flavonoides totales.
- En relación a su contenido de compuestos fenólicos totales, las dos especies del género *Pouteria* y *Mammea americana* muestran el mejor contenido de flavonoides con un 60 y 61%, respectivamente.
- *Ardisia compressa* obtuvo en mesocarpio y endocarpio el contenido de antocianinas totales más elevado dentro del grupo de estudio, las cuales representan más del 50% en su contenido de flavonoides.
- *Ardisia compressa* obtuvo la mayor cantidad de flavonoles totales.
- Con relación a los flavonoides totales, *Licania platypus*, *Momordica charantia* (epicarpio) y *Pouteria campechiana* poseen los contenidos más elevados de flavonoles totales; representando estos el 73%, 78% y 60%, respectivamente.
- *Momordica charantia*, *Pouteria campechiana* y *Pouteria* sp. mostraron el mejor contenido en carotenoides totales.

Ardisia compressa

- El metanol al 80% durante 60 minutos obtuvo el mejor resultado de extracción.
- El agua 100% durante 15 minutos obtuvo el rendimiento más bajo de extracción.
- Macerex® 1%, el mejor tratamiento enzimático de estudio, mejoró el rendimiento de extracción un 47%.
- Celuclast® 1% mostró el menor rendimiento de extracción.
- Se logró identificar, con base a la literatura y tiempos de retención, a la Malvidina 3-O-galactosido, Delfinidina 3-O-galactosido y Petunidina 3-O-galactosido como las antocianinas mayoritarias en el fruto de *Ardisia compressa*.
- Se identificó por CCF la presencia de los ácidos ferúlico, cumárico, sinápico, caféico, vainillínico y gálico por CCF.
- El ácido gálico es el predominante en hojas, mesocarpio y ramillas de *Ardisia compressa*, la semilla es buena fuente de ácido caféico.
- Se identificó la presencia de todos los flavonoides estándar por CCF.
- La quercetina es el flavonoides más abundante en mesocarpio y endocarpio, mientras que catequina lo es en hojas y ramillas.
- Se encontró la presencia de α -amirina y esteroides no identificados, en mesocarpio por CCF.
- Se identificó a la Ardisina únicamente en las hojas de *Ardisia compressa* por CCF.
- Los ácidos esteárico y palmitoleico son los más abundantes en la semilla.
- El extracto de mesocarpio muestra la mejor actividad antioxidante frente a la mermelada y con el valor más bajo de IC₅₀ el licor artesanal.
- La transformación del fruto a mermelada causa la pérdida del 74% de FT y el 50% de las antocianinas, mientras que en licor, por la maceración, su contenido aumenta.

BIBLIOGRAFÍA

- Abozed, S. S., El-kalyoubi, M., Abdelrashid, A., & Salama, M. F. (2014). Total phenolic contents and antioxidant activities of various solvent extracts from whole wheat and bran. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(1), 63–67. <http://doi.org/10.1016/j.aos.2014.06.009>
- Acostas, J. de. (2003). Historia natural y moral de las Indias Historia natural y moral de las Indias, 598. Recuperado de <http://www.biblioteca.org.ar/libros/71367.pdf>
- Aguilar, R. F. (2016). *Estudio de algunos fitoquímicos de capulín, xoconostle, papaya, piñón y mamey frutas originarias de México*. Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México, Cd. de México.
- Alia Martins, N., Odio, C., Roriz, L., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro- industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 1–15. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.009>
- Angi, M. W., & Kimani, A. (2009). Beta-carotene retention in oven and sun dried carrots by mw angi antony kimani. Tesis. Universidad de Nairobi, Kenia.
- Arimboor, R., Natarajan, R. B., Menon, K. R., Chandrasekhar, L. P., & Moorkoth, V. (2015). Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(3), 1258–1271. <http://doi.org/10.1007/s13197-014-1260-7>
- Asthon Maritza. (2015). Effect of Enzyme-Assisted Extraction of Anthocyanins From Purple Sweet Potato on Total Soluble Solids and. *Food Science and Technology*, (May).
- Ávalos, A., & Elena, G. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca Biología Serie Fisiología Vegetal*, 2(3), 119–145. Retrieved from <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/798/814>
- Avalos, K., Scropo, C., & Avanza, J. (2003). Actividad Antioxidante Y Contenido En Fenoles Totales En Vinos De Origen Nacional. *Facena*, 19(1), 11–19.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Balsano, C. ., & Alisi, A. . (2009). Antioxidant effects of natural bioactive compounds. *Current Pharmaceutical Design*, 15(26), 3063–3073. <http://doi.org/10.2174/138161209789058084>
- Barreto, G. P. M., Benassi, M. T., & Mercadante, A. Z. (2009). Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activity. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(10), 1856–1861. <http://doi.org/10.1590/S0103-50532009001000013>
- Barrón-Yáñez, R. M., del Rosario García-Mateos, M., Soto-Hernández, M. R., Colinas-León, T., & Kite, G. (2011). Flavonoids and antioxidant activity of *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34(3), 151–157. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84859192526&partnerID=40&md5=c78791682fbdf909e287ed96c185019c>

- Bejar, E., Amarquaye, A., Che, C., Malone, M. H., & Fong, H. H. S. (1995). Constituents of *Byrsonima crassifolia* and their Spasmogenic Activity. *Pharmaceutical Biology*, 33(1), 25–32. <http://doi.org/10.3109/13880209509088143>
- Braga, A. C. C., Silva, A. E., Pelais, A. C. A., Bichara, C. M. G., & Pompeu, D. R. (2010). Atividade antioxidante e quantificação de compostos bioativos dos frutos de abricó (*Mammea americana*). *Alimentos E Nutrição Araraquara*, 21, 31–36.
- Brito, A., Areche, C., Sepúlveda, B., Kennelly, E. J., & Simirgiotis, M. J. (2014). Anthocyanin characterization, total phenolic quantification and antioxidant features of some chilean edible berry extracts. *Molecules*, 19(8), 10936–10955. <http://doi.org/10.3390/molecules190810936>
- Bystrom, L. M. (2012). The potential health effects of *Melicoccus bijugatus* Jacq. fruits: Phytochemical, chemotaxonomic and ethnobotanical investigations. *Fitoterapia*, 83(2), 266–271. <http://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.11.018>
- Cámara de diputados. Congreso, H., & Unión, D. (2007). Ley General De Vida Silvestre, 1–45.
- Cañete Bermúdez Arraiza. (2005). Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales. *Proteome*, 14, 56–65.
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5–14.
- Conde, E., Moure, A., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2013). 18 - Extraction of natural antioxidants from plant foods. *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*, 506–594. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1533/9780857090751.2.506>
- Cruz Gallegos, J. (2012). Relación Flavonoides Totales-Actividad Antidiabética (in Vitro Por Difusión De Glucosa) En Extractos De Colubrina Elíptica. Tesis. Universidad Tecnológica de la Mixteca, Oaxaca, México. pp 1–56.
- 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>
- Emilio García, R. M. (2010). Biocolorantes de maíz criollo del estado de tlaxcala. Perfil de antocianinas. Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México, Cd. de México.
- Escalante, P., Ibarra, V., Puente, J. H., Moisés, A., Ornelas, J. D. J., Pérez, J. D., Tecmán, E. (2013). Optimización de la extracción enzimática de jugo de banana a partir de los cultivares enano gigante FHIA-17 y FHIA-23. *Universidad y Ciencia*, 29(1), 1–9.
- Escamilla Jiménez, C. I., Cuevas Martínez, E. Y., & Guevara Fonseca, J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México*, 52(2), 73–75.
- Ettiene, G., & Sandoval, L. (2012). Propagación y fertilización del cultivo de guanábano. Características químicas de los frutos. *Facultad de Agronomía (LUZ)*, 29-38
- Fernández Aulis, M. F. (2014). Identificación y cuantificación de antocianinas aciladas de plantas endémicas de México (maíces y salvias). Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México, Cd. de México.

- Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). Tyrosine and Tryptophane in Proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 73(2), 627–648.
- Foubert, K., Theunis, M., Apers, S., Vlietinck, A. J., & Pieters, L. (2008). Chemistry, Distribution and Biological Activities of 13,28-Epoxy-Oleanane Saponins from the Plant Families Myrsinaceae and Primulaceae. *Current Organic Chemistry*, 12, 629–642. <http://doi.org/10.2174/138527208784577376>
- Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, 88(6), 587–605. <http://doi.org/doi:10.1079/BJN2002725>
- Francis, J. K. (1989). *Mammea americana* L. Clusiaceae. *Genetica*. Departamento de Agricultura, LA, Estados Unidos.
- Garz, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Botánica de Colombia*, 13(3), 27–36.
- 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>
- González-Montelongo, R., Gloria Lobo, M., & González, M. (2010). Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chemistry*, 119(3), 1030–1039. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.012>
- González de Mejía, E., Ramírez-Mares, M. V., & Nair, M. G. (2002). Topoisomerase I and II enzyme inhibitory aqueous extract of *Ardisia compressa* and ardisin protect against benomyl oxidation of hepatocytes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(26), 7714–7719. <http://doi.org/10.1021/jf0258757>
- Häkkinen, S. H., Kärenlampi, S. O., Heinonen, I. M., Mykkänen, H. M., & Törrönen, A. R. (1999). Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(6), 2274–2279. <http://doi.org/10.1021/jf9811065>
- Herrera-Ruiz, M., Zamilpa, A., González-Cortazar, M., Reyes-Chilpa, R., León, E., García, M. P., ... Huerta-Reyes, M. (2011). Antidepressant effect and pharmacological evaluation of standardized extract of flavonoids from *Byrsonima crassifolia*. *Phytomedicine*, 18(14), 1255–1261. <http://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.06.018>
- Horbowicz, M., Kosson, R., Grzesiuk, A., & Dębski, H. (2008). Anthocyanins of Fruits and Vegetables - Their Occurrence, Analysis and Role in Human Nutrition. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 68(1), 5–22. <http://doi.org/10.2478/v10032-008-0001-8>
- Hu, Y. I. A. N. G. C., Un, J. I. E. S., Ianzhong, X. W. U., & lu, R. U. I. H. A. I. L. (2002). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits, *Journal Agriculture and Food Chemisrty*. 50 (1), 6910–6916. <http://doi.org/10.1021/jf0207530>
- Ibarra-manríquez, G. (2016). Diversidad de frutos de los árboles del Bosque Tropical Perennifolio de México. *Acta Botanica Mexicana*, 90: 51-104

- Jain, P. K., & Joshi, H. (2012). Coumarin: Chemical and pharmacological profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(6), 236–240. <http://doi.org/10.7324/JAPS.2012.2643>
- Joaquín-Cruz, E., Dueñas, M., García-Cruz, L., Salinas-Moreno, Y., Santos-Buelga, C., & García-Salinas, C. (2015). Anthocyanin and phenolic characterization, chemical composition and antioxidant activity of chagalapoli (*Ardisia compressa* K.) fruit: A tropical source of natural pigments. *Food Research International*, 70(October), 151–157. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.033>
- Jurček, O., Ikonen, S., Buřičová, L., Wimmerová, M., Wimmer, Z., Drašar, P., ... Kolehmainen, E. T. (2011). Succinobucol's new coat - Conjugation with steroids to alter its drug effect and bioavailability. *Molecules*, 16(11), 9404–9420. <http://doi.org/10.3390/molecules16119404>
- Kobayashi, H., & De Mejía, E. (2005). The genus *Ardisia*: A novel source of health-promoting compounds and phytopharmaceuticals. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(3), 347–354. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.037>
- 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.
- Kotakemori, M., & Okada, K. (1966). Thin-layer Chromatography of Some Substituted Naphthoquinones. *Agricultural and Biological Chemistry*, 30(9), 935–936. <http://doi.org/10.1080/00021369.1966.10858705>
- Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2008). Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chemistry*, 110(4), 881–890. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.076>
- Kurmukov, A. G. (2013). Phytochemistry of medicinal plants. *Medicinal Plants of Central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan*, 1(6), 13–14. http://doi.org/10.1007/978-1-4614-3912-7_4
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726–732. <http://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>
- Lanerolle, M. S. De, Priyadarshani, A. M. B., Sumithraarachchi, D. B., & Jansz, E. R. (2008). The carotenoids of *Pouteria campechiana* (sinhala: ratalawulu) *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 36(1), 95–98.
- Lascurain, M., Avendaño, S., Aníbal, A., Mirna, D., & Covarrubias, M. (2010). *frutos silvestres comestibles en Veracruz comestibles en Veracruz*. Instituto de Ecología, A.C. INECOL. México.
- Lim, Y. Y., Lim, T. T., & Tee, J. J. (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry*, 103(3), 1003–1008. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.038>
- Lotfi, L., Kalbasi-Ashtari, A., Hamedi, M., & Ghorbani, F. (2015). Effects of enzymatic extraction on anthocyanins yield of saffron tepals (*Crocus sativus*) along with its color properties and structural stability. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(2), 210–218. <http://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.10.011>

- Ma, J., Yang, H., Basile, M. J., & Kennelly, E. J. (2004). Analysis of polyphenolic antioxidants from the fruits of three Pouteria species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(19), 5873–5878. <http://doi.org/10.1021/jf049950k>
- Mahapatra, A. K., & Panda, P. C. (2012). Wild edible fruit diversity and its significance in the livelihood of indigenous tribals: Evidence from eastern India. *Food Security*, 4(2), 219–234. <http://doi.org/10.1007/s12571-012-0186-z>
- Malta, L. G., Tessaro, E. P., Eberlin, M., Pastore, G. M., & Liu, R. H. (2013). Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. *Food Research International*, 53(1), 417–425. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.024>
- Marquina, V., Araujo, L., Ruíz, J., Rodríguez-Malaver, A., & Vit, P. (2008). Composición química y capacidad antioxidante en fruta, pulpa y mermelada de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58(1), 98–102.
- Martinez, A., Valencia, G. A., Jimenez, N., Mesa, M., & Galeano, E. (2008). Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacología y Fitoquímica. *Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica. Departamento de Farmacia.*, 1–96.
- Martínez-Navarrete, N., Camacho Vidal, M. del M., & Martínez Lahuerta, J. J. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética*, 2(2), 64–68. [http://doi.org/10.1016/S1138-0322\(08\)75623-2](http://doi.org/10.1016/S1138-0322(08)75623-2)
- Martins, T., Es, G. A., Rosemary, D. E. F., & Ribani, H. (2015). Anthocyanins and phenolic compounds in five ripening stages of *Byrsonima ligustrifolia* after extraction optimization, 54(4), 365–378.
- Mateus, N., Proença, S., Ribeiro, P., Machado, J. M., & De Freitas, V. (2001). GRAPE AND WINE POLYPHENOLIC COMPOSITION OF RED *Vitis vinifera* VARIETIES CONCERNING VINEYARD ALTITUDE COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA DE UVAS Y VINO DE VARIEDADES TINTAS DE *Vitis vinifera* EN FUNCIÓN DE LA ALTITUD DEL VIÑEDO COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA DE UVAS E VIÑO. *Ciencia Y Tecnología Alimentaria*, 3(2), 102–110. <http://doi.org/10.1080/11358120109487653>
- Michaudel, Q. (2013). Pentacyclic Triterpenes Pentacyclic Triterpenes, 1–12.
- Miean, K. H., & Mohamed, S. (2001). Flavonoid Content of Edible Tropical Plants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 3106–3112.
- Mínguez Mosquera, M. I., Pérez Gálvez, A., & Hornero-Méndez, D. (2005). Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales: mucho más que simples “colorantes” naturales. *Agrocsic*, 2–7. Retrieved from <http://digital.csic.es/handle/10261/5754>
- Moo-Huchin, V. M., Estrada-Mota, I., Estrada-León, R., Cuevas-Glory, L., Ortiz-Vázquez, E., De Lourdes Vargas Y Vargas, M., ... Sauri-Duch, E. (2014). Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 152, 508–515. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.013>
- Morales Toledo, L. (2016). *Caracterización y análisis de compuestos bioactivos en quelites de la familia Amaranthaceae*. Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México, Cd. de México.

- Mulero, J., Pardo, F., & Zafrilla, P. (2010). Antioxidant activity and phenolic compounds in conventional and organic red grapes (var. Monastrell) Actividad antioxidante y compuestos fenólicos en uva tinta (var. Monastrell) obtenida por cultivo tradicional y ecológico. *CyTA - Journal of Food*, 8(3), 185–191. <http://doi.org/10.1080/19476330903335301>
- Muñoz Juárez, M. A., & Gutiérrez, D. M. (2004). Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana Glauca*. *Songklanakarín Journal of Science and Technology*, 26(2), 1–4.
- Nagarani, G., Abirami, A., & Siddhuraju, P. (2014). Food prospects and nutraceutical attributes of *Momordica* species: A potential tropical bioresources – A review. *Food Science and Human Wellness*, 3(3–4), 117–126. <http://doi.org/10.1016/j.fshw.2014.07.001>
- Nahm, H., Juliani, H., & Simon, J. (2012). Effects of selected synthetic and natural antioxidants on the oxidative stability of shea butter (*Vitellaria paradoxa* subsp. *paradoxa*). *Journal of Medicinally ...*, 1(2), 5–10. Retrieved from <http://scholarworks.umass.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1003&context=jmap>
- Natanya Civjan. (2012). *Natural Products in Chemical Biology*. (1a ed.), New Jersey, WILEY. <http://doi.org/10.1002/9781118391815>
- Ndontsa, B. L., Tchinda, A., Teponno, R. B., Mpetga, J. S., Frederich, M., & Tane, P. (2012). Ardisikivuoside, a new triterpenoid saponin from *Ardisia kivuensis* (Myrsinaceae). *Nat Prod Commun*, 7(4), 515–516. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22574456>
- Newell, A. M. B., Yousef, G. G., Lila, M. A., Ramrez-Mares, M. V., & Gonzalez de Mejia, E. (2010). Comparative in vitro bioactivities of tea extracts from six species of *Ardisia* and their effect on growth inhibition of HepG2 cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 130(3), 536–544. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2010.05.051>
- Nile, S. H., & Park, S. W. (2014). Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30(2), 134–144. <http://doi.org/10.1016/j.nut.2013.04.007>
- Nobre, C. P., Raffin, F. N., & Moura, T. F. (2005). Standardization of extracts from *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) by total flavonoids content determination. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 24(4), 562–566.
- Oberlies, N. H., Burgess, J. P., Navarro, H. A., Pinos, R. E., Soejarto, D. D., Farnsworth, N. R., ... Wall, M. E. (2001). Bioactive Constituents of the Roots of *Licania intrapetiolaris*. *Journal of Natural Products*, 64(4), 497–501. <http://doi.org/10.1021/np0005006>
- Ordóñez-Santos, L. E., Martínez-Álvarez, G. M., & Vázquez-Riascos, A. M. (2014). Effect of processing on the physicochemical and sensory properties of mammee apple (*Mammea americana* L.) fruit. *Agrociencia*, 48(4), 377–385.
- Ortíz, M. A., Reza, C., Gerardo, R., Madinaveitia, C., Ciencias, F. De, Universidad, Q., ... Artículo, A. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Biotecnia*, 13, 16–22. Retrieved from <http://www.biotecnia.uson.mx/revistas/articulos/16-BIO-11-DPA-06.pdf>
- Paladino, S. C. (2008). Actividad Antioxidante de los Compuesto Fenólicos Contenidos en las Semillas de la Vid (*Vitis vinifera* L.). Tesis. Universidad Nacional de Cuyo, Argentina. 1–93.

- Pavan, V., Sancho, R. A. S., & Pastore, G. M. (2014). The effect of invitro digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*). *LWT - Food Science and Technology*, *59*(2P2), 1247–1251. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.040>
- Pękal, A., & Pyrzyńska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*, *7*(9), 1776–1782. <http://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>
- Pereira, V. V., Borel, C. R., & Silva, R. R. (2015). Phytochemical screening, total phenolic content and antioxidant activity of *Byrsonima* species. *Natural Product Research*, 1–5. <http://doi.org/10.1080/14786419.2014.1002407>
- Prado, E. E. (2000). Los frutales en el centro de Veracruz y la colección respectiva en el CRUO-UACH. Centro Regional Universitario Oriente, Huatusco, Veracruz.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., & Pouysgu, L. (2011). Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie - International Edition*, *50*(3), 586–621. <http://doi.org/10.1002/anie.201000044>
- Raga, D. D., Herrera, A. A., & Ragasa, C. Y. (2013). Angio-suppressive triterpenoids from *Ardisia cf. elliptica* (subgenus *Tinus*) on duck (*Anas platyrhynchos*.) chorioallantoic membrane. *Chinese Journal of Natural Medicines*, *11*(2), 128–138. [http://doi.org/10.1016/S1875-5364\(13\)60039-4](http://doi.org/10.1016/S1875-5364(13)60039-4)
- Rodríguez, D. B., Lee, T. C., & Chichester, C. O. (1975). Comparative Study of the Carotenoid Composition of the Seeds of Ripening *Momordica charantia* and Tomatoes. *Plant Physiology*, *56*(1579), 626–629. <http://doi.org/10.1104/pp.56.5.626>
- Rodríguez, D. B., Raymundo, L. C., Lee, T. C., Simpson, K. L., Chichester, C. O., & Rodríguez-Amaya, D. B., Raymundo, L. C., Lee, T., Simpson, K. L., & Hichester, C. O. (1976). Carotenoid pigment changes in ripening *Momordica charantia* fruits. *Annals of Botany*, *40*(1569), 615–624.
- Rodríguez-Amaya, D. ., & Kimura, M. (2004). HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis. *HarvestPlus Technical Monographs*, 59.
- Rodríguez Pérez, M. A., Henández Rojas, L. A., Madrigal Ambriz, L. V., García Galindo, J., & Velasco Villalpando, S. (2010). Evaluación de antocianinas de la zarzamora (*Rubus eubatus*) en fruta y en conserva. *Xii Congreso Nacional De Ciencia Y Tecnología De Alimentos*, 1371–1379. <http://doi.org/FH1371>
- Roy, R., Roy, A., & Pramanik, A. (2017). Typification of *Ardisia blatteri* (Primulaceae), *Phytotaxa* 295 (May), 92–94.
- 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>
- Sepúlveda-jiménez, G. (2003). Sepúlveda Jiménez , Gabriela; Porta Ducoing, Helena; Rocha Sosa, Mario. *Rev Mex Fitopatol*, *21*(3), 355–363. Retrieved from <http://redalyc.uaemex.mx>
- Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Molecular Nutrition & Food Research*, *44*(3), 158–163. [http://doi.org/10.1002/1521-3803\(20000501\)44:3<158::AID-FOOD158>3.0.CO;2-L](http://doi.org/10.1002/1521-3803(20000501)44:3<158::AID-FOOD158>3.0.CO;2-L)

- Slavin, J., & Lloyd, B. (2012). Health Benefits of Fruits and Vegetables. *Advances in Nutrition*, 3(4), 506–516. <http://doi.org/10.3945/an.112.002154.506>
- Sotero Solis, V., Silva Doza, L., García de Sotero, D., & Imán Correa, S. (2009). ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM PULP , PEEL AND KERUEL OF CAMU CAMU (Myrciaria dubia H . B . K). *Rev Soc Quím Perú*, 75(3), 293–299.
- Stuchlík, M., & Zák, S. (2002). Vegetable lipids as components of functional foods. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia*, 146(2), 3–10. <http://doi.org/10.5507/bp.2002.001>
- Tobergte, D. R., & Curtis, S. (2013). Carotenoides. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- 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>
- Tránsito, L. L. (2001). Saponósidos. *Fitoterapia*. 20(6): 125-129
- Uddin, M. S., Sarker, M. Z. I., Ferdosh, S., Akanda, M. J. H., Easmin, M. S., Bt Shamsudin, S. H., & Yunus, K. Bin. (2015). Phytosterols and their extraction from various plant matrices using supercritical carbon dioxide: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(7), 1385–1394. <http://doi.org/10.1002/jsfa.6833>
- Uribe, E., Delgadillo, A., Giovagnoli-Vicuña, C., Quispe-Fuentes, I., Zura-Bravo, L., Uribe, E., ... Zura-Bravo, L. (2015). Extraction Techniques for Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity Determination of Chilean Papaya (*Vasconcellea pubescens*) Fruit. *Journal of Chemistry*, 2015, 1–8. <http://doi.org/10.1155/2015/347532>
- Vázquez, L. H., Palazon, J., Navarro-ocaña, A., Metropolitana, A., Xochimilco, U., & Biológicos, D. S. (2011). The Pentacyclic Triterpenes ?, ?-amyryns: A Review of Sources and Biological Activities. *Phytochemicals – A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*, 426, 478–502. <http://doi.org/10.5772/27253>
- Verheij, E. (2006). *Fruit growing in the tropics*. (1a ed) Wageningen, AGROMISA.
- Villacorta, L. M., & Vásquez, C. P. (2013). Irradiación UV-C en frutas tropicales mínimamente procesadas UV-C Irradiation in tropical fruits minimally processed. *Scientia Agropecuaria*, 4, 147–161.
- Vincent;, Z., & Robert, C. (1988). *METABOLISM AND FUNCTION OF SKIN The skin represents the frontier of the mammalian body which shields it from a variety of insults such as the heat of the day , the chills of the night , from noxious substances , from insect bites and from invasion by micr* (Vol. 27).
- Yang, H., Jiang, B., Reynertson, K. A., Basile, M. J., & Kennelly, E. J. (2006). Comparative analyses of bioactive mammaea coumarins from seven parts of *Mammea americana* by HPLC-PDA with LC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12), 4114–4120. <http://doi.org/10.1021/jf0532462>
- Yeverino, M. (1997). Determinación cuantitativa de carotenoides en hojas de cinco especies del genero *Leucaena*. *Cdigital.Dgb.Uanl.Mx*, 3–8. Retrieved from <http://cdigital.dgb.uanl.mx/te/1080116289.PDF>

Zald, C. P. (2003). Las Frutas y Hortalizas como Alimentos Funcionales. *Contactos*, 47: 12-19

Zhou, K., & Yu, L. (2006). Total phenolic contents and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in Colorado. *LWT - Food Science and Technology*, 39(10), 1155–1162.
<http://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.015>

ANEXO

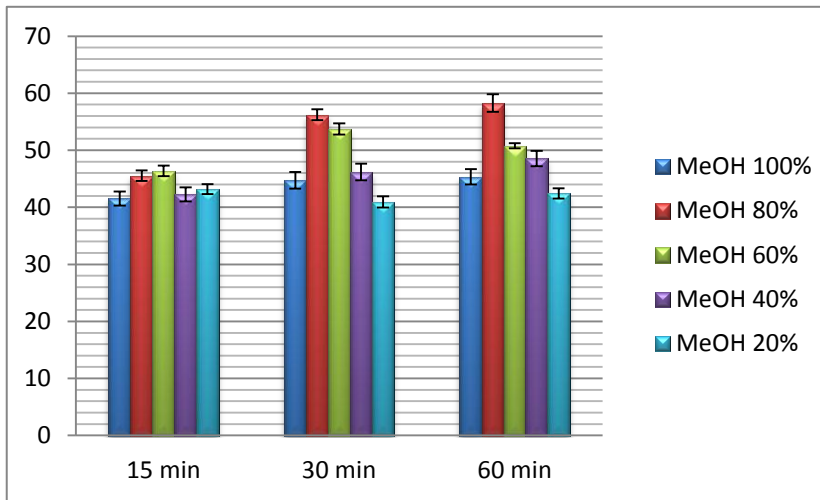


Gráfico A1. Antocianinas totales (mg/g MS) a diferentes concentraciones de metanol e intervalos de tiempo.

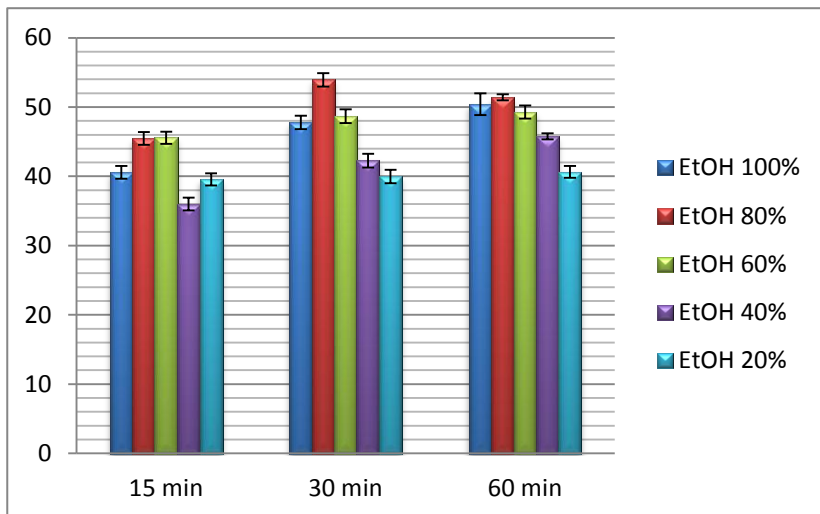


Gráfico A2. Antocianinas totales (mg/g MS) a diferentes concentraciones de etanol e intervalos de tiempo.

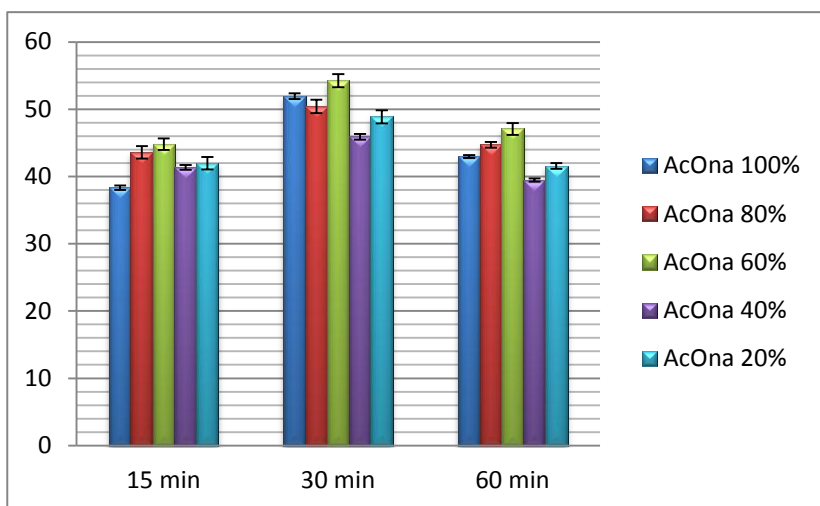


Gráfico A3. Antocianinas totales (mg/g MS) a diferentes concentraciones de acetona e intervalos de tiempo.

ANÁLISIS DE VARIANZA

One Way Repeated Measures Analysis of Variance

martes, marzo 14, 2017, 03:49:01 p. m.

Data source: Data 1 in Notebook 1

Normality Test: Passed (P = 0.052)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.573)

Treatment Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MeOH	15	0	47.073	5.408	1.396
EtOH	15	0	45.155	5.152	1.330
AcOna	15	0	45.144	4.619	1.193
H2O	15	0	42.725	2.783	0.719

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Subjects	14	721.356	51.525		
Between Treatments	3	142.773	47.591	4.281	0.010
Residual	42	466.870	11.116		
Total	59	1330.998			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0.010). To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.711

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Duncan's Method):

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
MeOH vs. H2O	4.349	4	5.052	--	Yes
MeOH vs. AcOna	1.929	3	2.241	--	No
MeOH vs. EtOH	1.918	2	2.228	--	Do Not Test
EtOH vs. H2O	2.431	3	2.824	--	No
EtOH vs. AcOna	0.0114	2	0.0133	--	Do Not Test

Análisis de varianza entre tratamientos con 95% de confianza.

Data source: Data 1 in Notebook 1

Normality Test: Passed (P = 0.358)

Equal Variance Test: Passed (P = 1.000)

Treatment Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MeOH-15 min	5	0	43.787	2.087	0.933
H2O-15 min	5	0	39.397	0.000	0.000

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Subjects	4	8.709	2.177		
Between Treatments	1	48.180	48.180	22.129	0.009
Residual	4	8.709	2.177		
Total	9	65.598			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0.009). To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.927

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Duncan's Method):

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
MeOH-15 min vs. H2O-15 min	4.390	2	6.653	--	Yes

Note: The P values for Dunnett's and Duncan's tests are currently unavailable except for reporting that the P's are greater or less than the critical values of .05 and .01.

Test de Duncan: Tratamientos Metanol/ Agua.

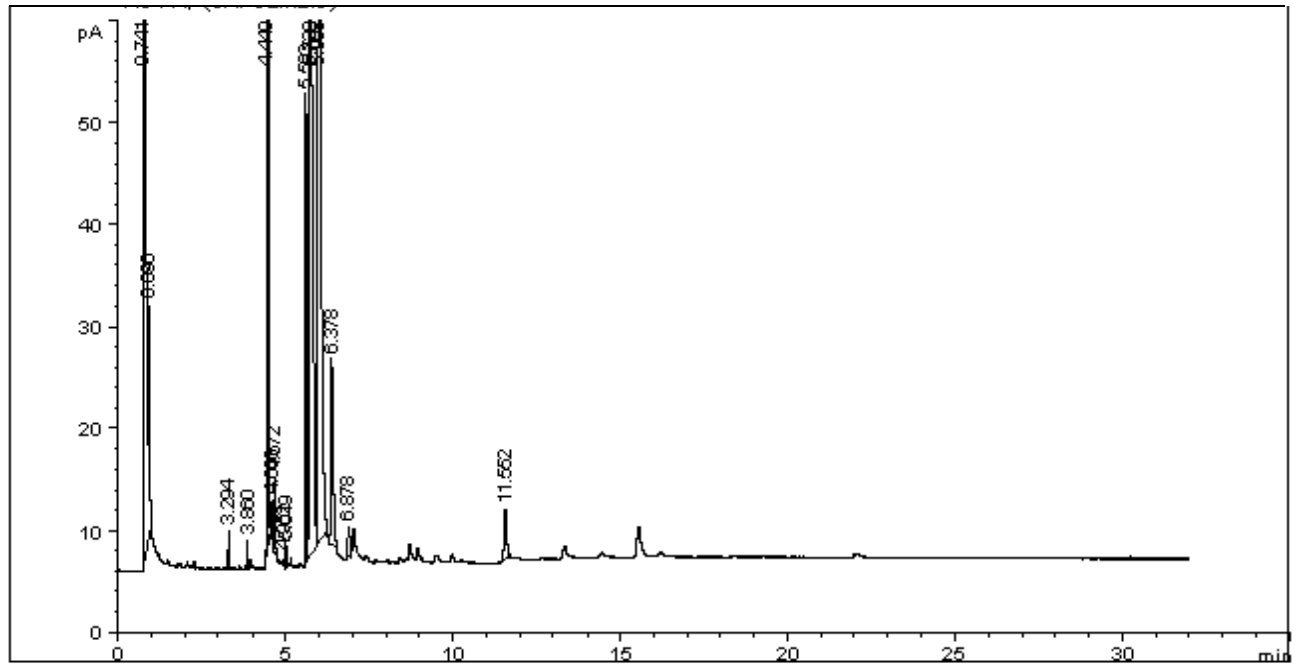


Figura A1. Cromatograma del perfil de metil esterres en semilla de chagalapoli.



Figura A2. *Ardisia compressa*. Chagalapoli. Mesocarpio, endocarpio y hojas