



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE
TILIAPO/TEMPESQUISTLE, FRUTA ORIGINARIA DE MEXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

MARIA CRISTINA QUEZADA VACA



CIUDAD UNIVERSITARIA

CDMX

2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: YOLANDA CABALLERO ARROYO

VOCAL: MARCOS FRANCISCO BAEZ FERNANDEZ

SECRETARIO: ARTURO NAVARRO OCAÑA

1er SUPLENTE: HILDA ELIZABETH CALDERON VILLAGOMEZ

2do SUPLENTE: JUAN MANUEL DIAZ ALVAREZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO 321, DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGIA
CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA UNAM

ASESOR DEL TEMA: Dr. ARTURO NAVARRO OCAÑA

SUSTENTANTE: MARIA CRISTINA QUEZADA VACA

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	6
DEDICATORIAS.....	8
JUSTIFICACIÓN	10
INTRODUCCIÓN.....	11
CAPITULO 1. MARCÓ TEÓRICO	13
1.1 Origen, descripción botánica del fruto y ubicación.....	13
1.2 Compuestos bioactivos	19
1.3 Fenoles.....	22
1.4 Flavonoides	25
1.5 Antocianinas	29
1.6 Terpenos	35
1.7 Carotenos.....	39
1.8 Clorofila	43
1.9 Ácidos grasos	45
OBJETIVO GENERAL.....	50
OBJETIVOS PARTICULARES.....	50
CAPITULO 2. METODOLOGIAS	51
2.1 EQUIPOS Y REACTIVOS	51
2.2 DIAGRAMA GENERAL.....	53

.....	53
2.3 ETAPA 1. Preparación de muestras	54
2.4 METODOLOGÍAS.....	55
2.4.1 Extracción y cuantificación de compuestos bioactivos del fruto Tiliapo.....	55
2.4.2 Determinación de fenoles totales en el fruto Tiliapo.....	56
2.4.3 Determinación de flavonoides totales en el fruto Tiliapo.....	57
2.4.4 Determinación de antocianinas totales en el fruto Tiliapo.....	58
2.4.5 Extracción y cuantificación de carotenos totales en el fruto Tiliapo	60
2.4.6 Extracción de compuestos terpénicos del fruto Tiliapo.....	61
2.5. Extracción y cuantificación de fenoles y flavonoides totales del fruto Tempesquistle	62
2.5.1 Extracción y cuantificación de carotenos totales.....	62
2.5.2 Extracción y cuantificación de clorofila total	63
2.6 ETAPA 3. Identificación de compuestos bioactivos	64
2.6.1 Extracto de antocianinas de la cascará del fruto Tiliapo	64
2.6.2 Purificación de la antocianina de la cascara del fruto Tiliapo	65
2.6.3 Identificación de la antocianina por CCF y RMN de la cascara del fruto Tiliapo	66
2.7 Identificación de compuestos terpenicos en el Tiliapo	67
2.8 ETAPA 4. PERFIL DE ACIDOS GRASOS	69
2.8.1 Extracción del aceite de la semilla de Tiliapo y Tempesquistle	69
2.8.2 Saponificación y esterificación del aceite de las semillas	70

2.8.3 Identificación de los principales ácidos grasos.....	71
CAPITULO 3. RESULTADOS Y ANALISIS	72
3.1 Preparación de muestra Tiliapo	72
3.2 Cuantificación de compuestos bioactivos totales	74
3.3 Determinación de fenoles totales en el fruto Tiliapo y Tempesquistle	76
3.4 Determinación de flavonoides totales en el fruto Tiliapo y Tempesquistle	77
3.5 Determinación de antocianinas totales en el fruto Tiliapo.....	78
3.6 Determinación de carotenos totales para Tiliapo y Tempesquistle	80
3.7 Determinación de clorofila total para Tempesquistle	81
3.8 Identificación de compuestos bioactivos	83
3.8.1 Identificación de la antocianina del Tiliapo por CCF.....	83
3.8.2 Identificación y purificación de la antocianina en la cascara del fruto Tiliapo	84
3.8.3 Identificación de la antocianina del fruto Tiliapo por RMN	88
3.9 Identificación de compuestos terpenicos.....	92
3.10 Identificación de los principales ácidos grasos encontrados en la semilla del fruto Tiliapo y Tempesquistle. Cromatografía de Gases.....	97
CONCLUSIONES.....	105
PERSPECTIVAS	106
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	106
Índice de figura	114
Índice de tablas.....	116

AGRADECIMIENTOS

Agradezco con profundo respeto y cariño a la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de la presente tesis. No de becario: 23339

Al apoyo económico de CONACYT 2012-CB180128 y al apoyo económico del proyecto PAPIIT-IN220015

DEDICATORIAS

JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo de tesis consiste en estudiar, caracterizar y cuantificar los compuestos fitoquímicos considerados bioactivos presentes en el fruto Tiliapo/ Tempesquistle.

El Tiliapo /Tempesquistle es un fruto endémico de México del cual la única utilidad que se tienen mencionada en la literatura es el empleo de su goma, látex y madera.

Se ha revisado la literatura y no se ha encontrado información acerca de su composición química o de algún o algunos compuestos bioactivos que posea, por lo cual se tomó la decisión de investigar y estudiar a este fruto tanto en su etapa de inmadurez como en su etapa de madurez.

La decisión de enfocar este proyecto principalmente en los compuestos bioactivos se debe a que en la actualidad estos fitoquímicos han tenido gran auge y sus diversos estudios han demostrado que poseen cualidades en la cuales se ha registrado que pueden beneficiar, prevenir y ayudar al organismo para tener una mejor salud.

INTRODUCCIÓN

Consideramos que el fruto Tiliapo es un posible recurso rico en compuestos antioxidantes, como las antocianinas estas principalmente en su cascara, se sabe que el consumo de antioxidantes es importante para el organismo ya que ayudan a prevenir o retardar el proceso de envejecimiento celular.

Además, revisando en la literatura al pertenecer a la familia de las *Sapoteacea* se podría tomar la posibilidad de que sea un fruto con compuestos terpenicos.

De acuerdo con datos presentados por la OMS en el año 2002, la ingesta insuficiente de frutas y verduras es uno de los factores principales de riesgo que contribuyen a la mortalidad.¹

El consumo actual estimado de frutas y verduras es muy variable en el mundo, oscilando entre los 100 g al día en países menos desarrollados y un consumo de 450 g al día en países occidentales. El informe reciente expedido por la OMS y FAO acerca de la dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas ha recomendado que la población debe consumir un mínimo de 400 gramos al día de frutas y verduras con el fin de prevenir enfermedades crónico degenerativas como cardiopatías, cáncer diabetes y obesidad.²

Los frutos y vegetales contienen fitoquímicos, los cuales son componentes que le proporcionan al alimento una cualidad importante ya que al consumirlos van a proporcionar un beneficio para la salud del organismo, no solo van a cumplir con

su función nutricional, sino que también ayudaran a una mejoría o prevención en algunas enfermedades crónico degenerativas

Dentro de los compuestos bioactivos que han demostrado tener beneficios sobre la salud humana destacan las vitaminas C, E, K, y las del grupo B, ácido fólico; minerales como hierro, zinc, calcio, selenio, y principalmente los metabolitos secundarios de las plantas entre ellos mencionamos a los compuestos fenólicos, antocianina, terpenos, carotenos, fitoesteroles y glucosinolatos.³

La diversidad de frutos y vegetales es muy variada dependiendo del clima, región de cultivo y cosecha. México se sabe que es uno de los países de Latinoamérica más ricos en cuanto a su diversidad de plantas y frutos comestibles, por lo tanto representa una gran área de posibles fuentes de extracción de compuestos bioactivos de alimentos tradicionales.

El presente trabajo de tesis muestra una pequeña introducción a algunos de los compuestos bioactivos encontrados en la fruta endémica de la región de Tehuacán - Puebla en México. De este fruto se sabe muy poco en relación a su composición química, normalmente es tomado en cuenta en la industria por su látex lechoso, goma y por su madera, este fruto pertenece a la familia de las *Sapoteaceas*, del género *Sideroxylon*, de la especie *Palmeri*, es nombrado como Tiliapo (fruto maduro) y /Tempesquistle (fruto inmaduro).

CAPITULO 1. MARCÓ TEÓRICO

1.1 Origen, descripción botánica del fruto y ubicación.

La familia *Sapoteacea*, es una familia pantropical que crece y se desarrolla en bosques fluviales y tierras bajas. (Asterideas, 2010). Está constituida por 57 géneros y 1100 especies (Stevens, 2001).

Son estructuras vegetales que pueden ser árboles o arbustos, raramente subarbustados, algunas veces posiblemente espinosos. Generalmente presentan un látex lechoso en el tronco, ramas y fruto. (Mark.F.Neuman, 2008)

Las *Sapoteaceas* son de gran importancia económica a nivel mundial ya que varias especies de algunos géneros son cultivados por sus frutos comestibles y a su vez por su goma natural y látex. Las especies que más se cultivan son las pertenecientes al género *Argania*, *Bumelia*, *Chrysophyllum*, *Lucuma*, *Manilkara*, *Mastichodendron*, *Mimusops*, *Pouteria* y *Sideroxylon*. (Peninnington, 1991)

Este trabajo se enfocará en el género *Sideroxylon* el cual es un árbol o arbusto, en donde sus bayas son lisas y sus semillas son globosas, se desarrolla en regiones cálidas y se sabe que existen aproximadamente entre

70 especies, 23 en México y 5 en el Valle de Tehuacán -Cuicatlan. (Asterideas, 2010) **Figura 1 y 2.**

Su área de mayor aprovechamiento industrial comprende el Valle de Tehuacán-Puebla y la Mixteca Poblana –Oaxaqueña. Es cultivado en huertos familiares y en aéreas húmedas. (Chavez-Servia, 2004)

El fruto de estudio de este proyecto de tesis pertenece al género *Sideroxylon* especie *Palmeri*, este fruto crece en un árbol similar a la subfamilia *Morácea*, mide entre 10 a 15 m de altura, tiene una floración blanca y aromática en densos racimos, sus hojas son brillosas, aplanadas curvas y globosas, su fruto es ovalado o globoso de 1.5 a 2.5 cm de color verde intenso cuando aún no está maduro, una vez maduro es de color negro. Se distribuye entre Chiapas, Tamaulipas, Veracruz, San Luis Potosí, Querétaro y Puebla (Chavez-Servia, 2004)



Figura.1. Árbol de *Sideroxylon palmeri*



Figura.2. Hojas del árbol de Sideroxylon

Localmente es llamado la “Aceituna Nacional” y se calcula que tiene una producción de 80kg/ árbol en temporada de cosecha. (Chavez-Servia, 2004)

El fruto inmaduro es de color verde y es conocido como Tempesquistle; es consumido en diferentes platillos y ensaladas, pero antes debe ser sometido a un proceso de cocción debido a que contiene un látex lechoso blanquecino al cual se le atribuyen propiedades toxicas; el fruto una vez maduro es conocido como Tiliapo o Tilapo es de color negro y de sabor dulce, el cual ya no posee toxinas y es consumido directamente como fruto común. (Chavez-Servia, 2004)

Figuras 3 y 4.



Figura.3. Fruto maduro Tiliapo.



Figura.4. Fruto inmaduro Tempesquistle.

La temporada de producción y cosecha del fruto Tiliapo en el Valle de Tehuacán va de enero a mayo y en la mixteca Poblana –Oaxaqueña de noviembre a julio, es comercializado por costal en mercados locales o como jaleas y ates. Otro aporte industrial que tienen el árbol es su madera la cual se utiliza para hacer muebles rústicos destinado para leña. A las hojas algunos locatarios le han atribuido propiedades vermífugas. (Chavez-Servia, 2004)

En la **Figura 5**. Se muestra el área territorial en el cual se muestran las zonas de cultivo de la especie *Sideroxylon Palmeri*.

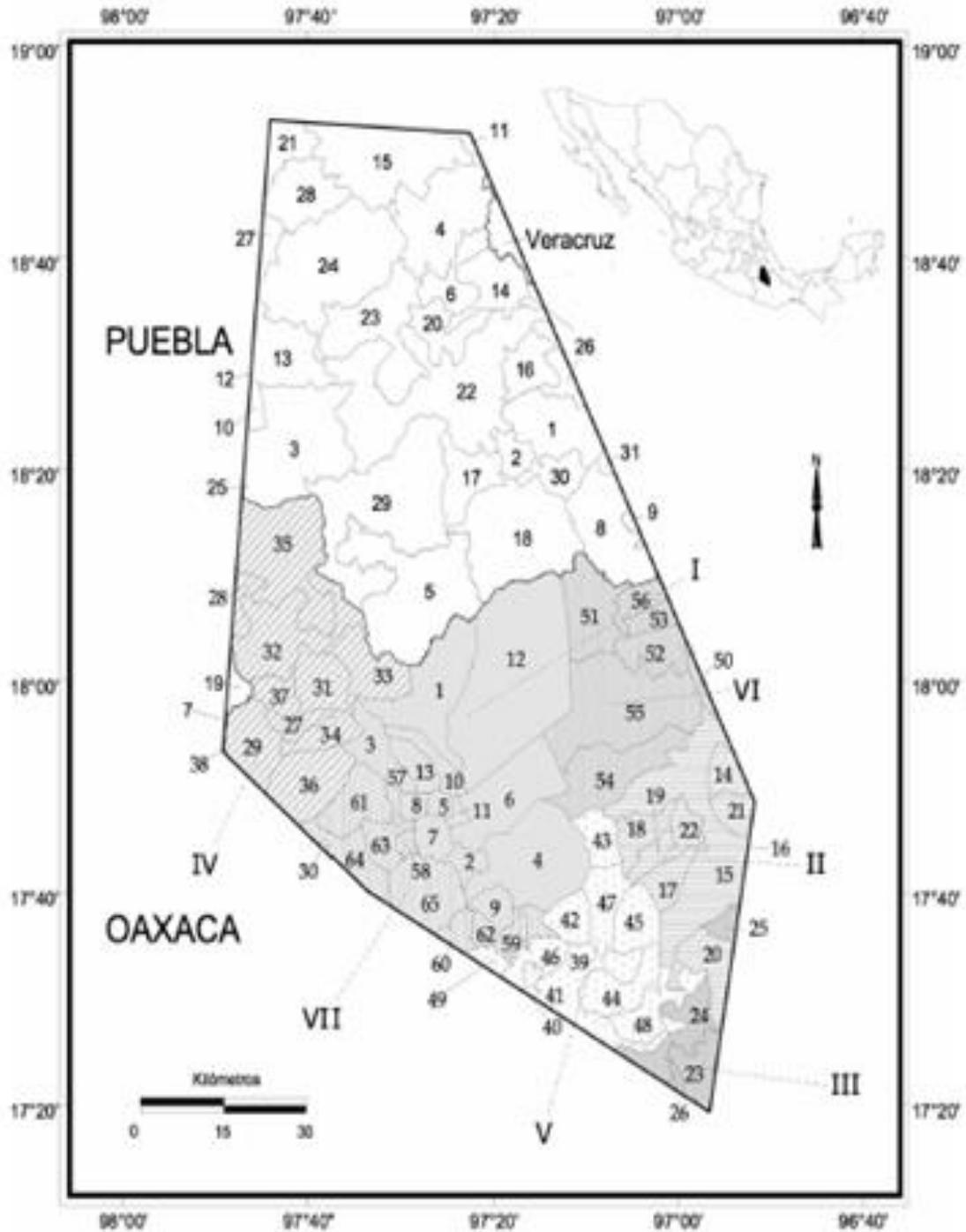


Figura 5. Área territorial de la región en la cual se cultiva el fruto *Sideroxylon Palmeri*. (Mark.F.Neuman, 2008). El numero 12 corresponde al área de

1.2 Compuestos bioactivos

En la naturaleza existe una gran variedad de vegetales y frutos que son altamente apreciados, ya que poseen un potencial terapéutico atribuido a un grupo de fitoquímicos llamados compuestos bioactivos. Las industrias farmacéuticas consideran a las plantas, como los principales agentes benefactores, se ha demostrado que estos compuestos pueden actuar como agentes antimicrobianos en infecciones fúngicas y bacterianas; en enfermedades crónico degenerativas como la diabetes y el cáncer. Por lo tanto, los alimentos que poseen este tipo de compuestos son nombrados alimentos funcionales. (Serrano, 2006)

Estos compuestos bioactivos han sido extraídos y distribuidos comercialmente por laboratorios en forma de pastillas, capsulas o tónicos nombrados como nutraséuticos.

Por la coloración que presenta la cascara del fruto Tiliapo es posible que exista en ella una alta cantidad de antocianinas, lo cual en caso de que se comprobara, este fruto sea un posible recuso de extracción de estos fitoquímicos. Aun no se sabe qué tipo de fitoquímicos pueda presentar este fruto en su etapa madura e inmadura, pero se considera que posiblemente se encuentren compuestos antioxidantes y terpenicos, lo cual sería muy importante para la industria farmacéutica.

No se ha encontrado en la literatura información sobre el contenido de compuestos fitoquímicos que posea el fruto, sabemos que puede contener

infinidad de compuestos bioactivos, así que optamos por delimitar el proyecto y enfocarnos en la extracción y cuantificación de compuestos polifenólicos, terpenicos como carotenos, clorofila y ácidos grasos esenciales presentes en la semilla del fruto maduro e inmaduro.

El principal grupo que analizamos en el fruto Tiliapo y en el fruto Tempesquistle corresponde a los compuestos polifenólicos, los cuales se sabe son un grupo heterogéneo de moléculas con alta actividad antioxidante. Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, en raíces, tallos, hojas, frutos o semillas. Son los encargados de proporcionar color y consistencia al alimento. Poseen actividad antioxidante la cual se ha relacionado con su capacidad para prevenir enfermedades cardiacas, arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares y neoplasias. (Serrano, 2006)

Dentro de este amplio grupo de los polifenoles nos encontramos con dos grupos, los flavonoles y los no flavonoles dentro de estos últimos se encuentran el resveratrol y el estilbeno.

Los flavonoides o flavonoles, son un grupo amplio dentro de los polifenoles en el cual se engloban compuestos como: flavonas quercetina, catequinas y epicatequina, flavonoles, flavanonas, antocianinas. Los flavonoides son de gran importancia ya que tienen la propiedad de quelar metales de transición, además se encuentran presentes en el crecimiento celular. Algunos estudios han demostrado que los flavonoides previenen la agregación plaquetaria e inducen la relajación muscular. (Nijveltd R.J., 2001) .Un subgrupo de los compuestos

flavonolicos son las isoflavonas, cumestanos, lignanos y flavonoides, todo este grupo es llamado fitoestrogenos estos compuestos han presentado importantes actividades estrogénicas aplicadas en terapias de remplazo hormonal para mujeres en menopausia y climaterio, además de efectos benéficos contra cáncer en próstata, obesidad y diabetes. (Bhathena S.J., 2002).

Las antocianinas, son compuestos coloridos que consideramos se encuentran principalmente en la cascara del fruto Tiliapo. Son compuestos responsables de la pigmentación roja, rosa, morada o violeta de muchas plantas y frutos, a las cuales también se les atribuyen propiedades antioxidantes. Son compuestos muy sensibles a la luz, oxígeno, temperatura, pH y a los metales.

También son de interés los compuestos liposolubles, la familia de las *Sapoteaceas* es un grupo de frutas que se ha reportado en la literatura que poseen compuestos terpenicos, esteroles y carotenos. Se ha descrito que el fitoesterol es el esteroles característico de la familia *Sapoteacea* (Gunasekera, 1977).

Además, físicamente y morfológicamente el fruto Tiliapo es similar al Argán en el cual se ha encontrado por autores que contiene alcoholes terpenicos en una gran cantidad como: butirospermol, tirucalol y β - amirina, en menos cantidad se ha encontrado lupeol, 24-metileno-cicloartenol, cicloeucalenol. Por lo tanto, consideramos que el fruto Tiliapo puede contener algún tipo de terpeno. Los compuestos terpenicos son insolubles en agua, son compuestos aromáticos y volátiles presentes en los aceites esenciales de las plantas y vegetales su base es el isopreno. (Stuchlík M., 2002)

Una parte fundamental en las plantas, vegetales y frutos son sus ácidos grasos que poseen ya sea en su estructura física o en su semilla, los ácidos grasos son muy importantes para nuestro organismo ya que algunos de los ácidos grasos no pueden ser sintetizados por el organismo humano como los ácidos grasos con w-3 y w-6 los cuales son considerados ácidos grasos esenciales, por lo tanto, es importante adquirirlos por medio de la dieta.

1.3 Fenoles

Los compuestos fenólicos son metabólicos secundarios de las plantas, que son segregados como un mecanismo de defensa contra ataques fúngicos, bacterianos o depredadores naturales, son parte fundamental para la pigmentación de la planta.

La estructura de un polifenol está constituida principalmente de tres anillos base A, C y B. Como se muestran en la **Figura 6**.

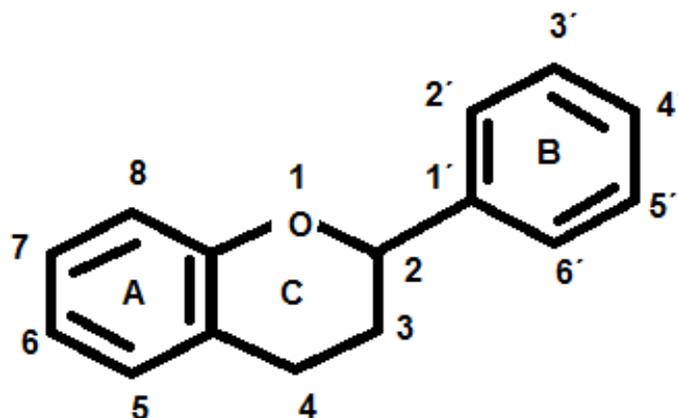


Figura. 6. Estructura básica de un compuesto polifenólico.

Los fenoles son compuestos que influyen en la calidad y estabilidad del alimento ya que actúan como colorantes, antioxidantes y proporcionan sabor al alimento. (Creus, 2004)

Se clasifican en dos grandes grupos: la primera clasificación son los compuestos no flavonoides entre ellos hay dos subgrupos: los fenoles no carboxílicos y los Ácidos fenoles que son derivados del ácido benzoico y los derivados del ácido cinámico.

La segunda clasificación y parte en la cual nos vamos a enfocar corresponde a los compuestos flavonoides, formado por tres subgrupos: antocianos; las flavononas, flavonoles, flavanonoles, flaonas y el último grupo corresponde a los flavanoles, taninos condensados y lignanos.

En la **Figura 7** se muestra gráficamente la clasificación de los compuestos fenólicos. (Creus, 2004)

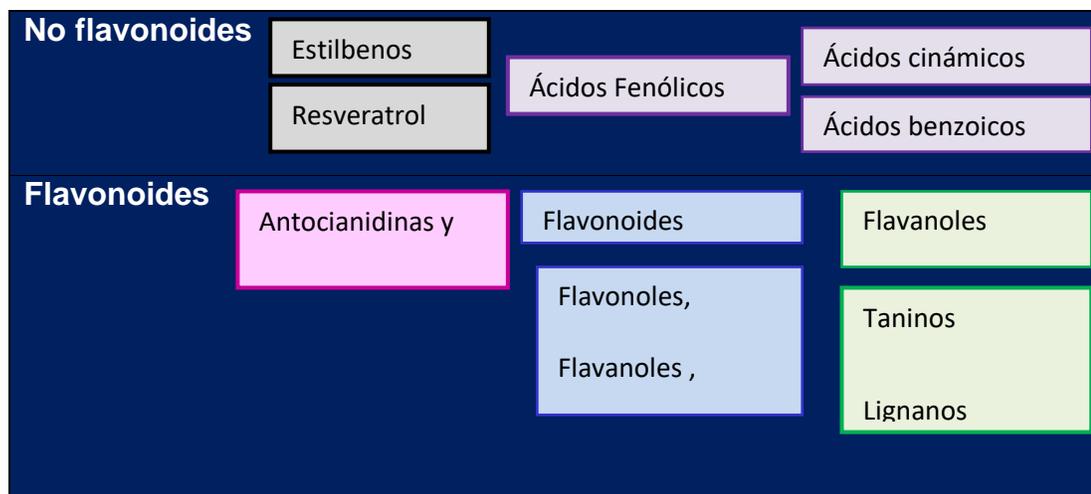


Figura.7. Clasificación de los compuestos polifenólicos. (Creus, 2004)

En la **Tabla 1**, se muestran algunas propiedades de los fenoles.

COLOR
Como las antocianidinas , responsables de los tonos rojos, azules y violáceos de muchas frutas , hortalizas y derivados: fresas, ciruelas, uvas, berenjena col morada, rábano, vino, etc.
SABOR AMARGO
Como las flavonas de los cítricos (naringina del pomelo, neohesperidina de la naranja) o de la oleuropeína de las aceitunas.
ASTRINGENCIA
Como las proantocianidinas (taninos condensados) y los taninos hidrolizables, como los del vino.
AROMA
Fenoles simples como el eugenol en el clavo.

Tabla 1. Propiedades de los fenoles.

Actualmente estudios han demostrado que estos compuestos fenólicos poseen una gran capacidad antioxidante, varios autores han reportado que previenen el cáncer, enfermedades cardiovasculares o incluso enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer. Por otro parte se han encontrado estudios en donde se demuestra que las isoflavonas y lignanos tienen propiedades antimicrobianas. (Creus, 2004) La concentración de polifenoles en cualquier alimento es muy variable, esto debido a que influyen muchos factores, grado de madurez o variedad del alimento.

1.4 Flavonoides

Los flavonoides son considerados compuestos fenólicos, son pigmentos naturales que están presentes en los vegetales, considerados metabolitos secundarios segregados por las plantas para protegerlas del daño producido por agentes oxidantes, rayos ultravioletas o ataques microbianos entre otros.

Los flavonoides son de bajo peso molecular y poseen una estructura formada por un fenil pirano (C6-C3-C6), además de tener una estructura que se compone por dos anillos de fenilos (A y B) los cuales se encuentran ligados a un tercer anillo C de pirano.

A los flavonoles y flavonas es común que se les unan azúcares preferentemente en la posición C3 y con menor frecuencia en el C7 del anillo A, por lo tanto, son compuestos que se encuentran como O-glicósidos, siendo la glucosa el residuo de azúcar más frecuente. La parte que no posee el azúcar en la molécula es

nombrada aglicona. En la **Figura 8**, se muestran las estructuras de algunos flavonoles. Y en la **Figura 9** se muestran algunos de los flavonoides más estudiados.

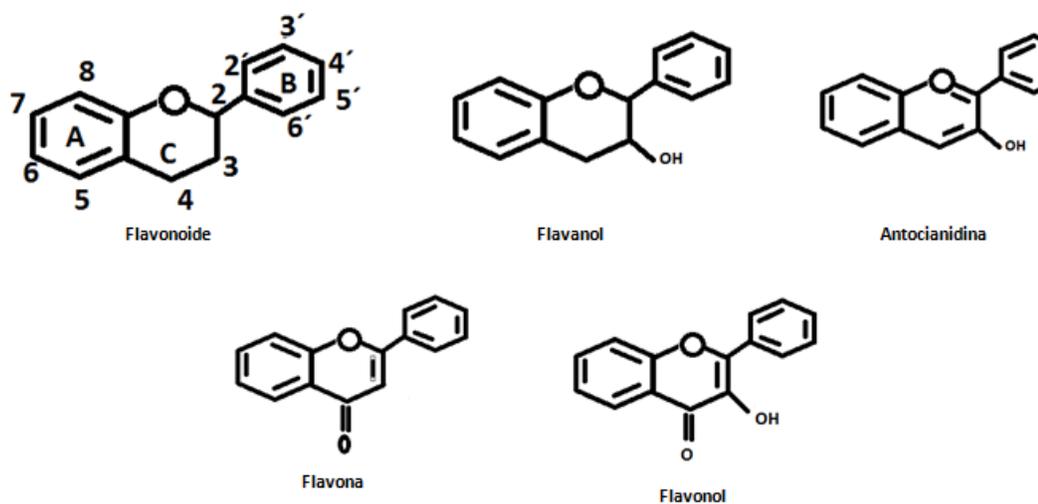


Figura.8. Estructura de algunos flavonoides.

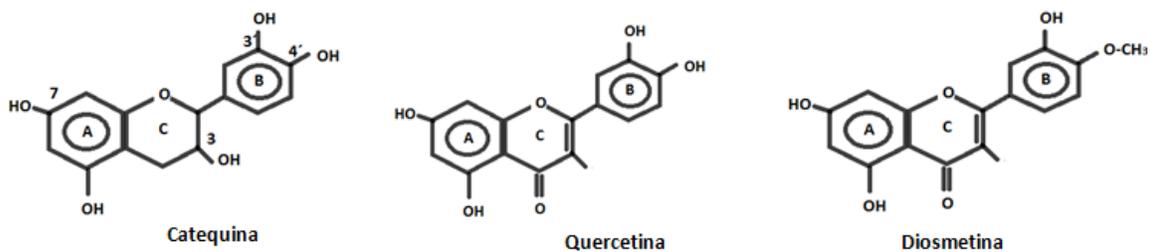


Figura 9. Estructuras de algunos flavonoides. Catequina, quercetina y Diosmetina.

Son compuestos que poseen una gran actividad antioxidante.

Los flavonoides presentan tres características estructurales para su función según la literatura estas son:

1. Presencia en el anillo B de la estructura catecol u O-dihidroxi.
2. La presencia de un doble enlace en la posición 2 y 3.
3. La presencia de grupos hidroxilos en la posición 3 y 5.

Tomando en cuenta estas tres características estructurales se encontró en un artículo que la quercetina es el flavonoide que presenta dos de estas características, mientras que la catequina solo presenta la segunda característica y la diosmetina presenta solo la primera. (S.Martinez-Flóres) **Figura 9.**

Los flavonoides son compuestos fenólicos que son altamente reactivos a la luz, son muy importantes porque están presentes en el crecimiento y desarrollo celular, además son compuestos que le otorgan características especiales a los alimentos con lo cual es posible distinguir en la diferenciación de las plantas y vegetales confiriéndoles color, lo cual es una ayuda en el proceso de polinización. En algunos estudios se ha demostrado que tienen un papel anti fúngico y bactericida. (Forkmann, 1993)

En la actualidad se han identificado más de 5000 flavonoides entre los que destacan (**Tabla.2.**).

En la **Tabla 2.** Se muestran algunos de los flavonoides reportados en la literatura . (S.Martinez-Flóres)

Citroflavonoides	Quercetina, Hesperidina, Rutina, Naranjina, Limoneno	Amarillo verdoso	Cebolla, manzana brócoli, cereza, uvas, repollo Hollejos de naranjas y limones Naranja, limón Limón , lima
Isoflavonoides	Genisteina Daidzeina		Soja, tofu, temphe, leche , proteína vegetal texturizada harina , miso productos de soja
Proantocianinas		Rojo	Semillas de uva, vino tinto, extracto de pino marino
Antocianidinas		Rojo Rojo- azulado	Cerezas
Ácido Elágico	Ácido Elágico		Uva , verduras
Catequina	Catequina		Te verde, te negro
Kaemferol	Kaemferol		Puerros, brócoli, rábano, endibias y remolacha roja

Tabla 2. Flavonoides reportados en la literatura

Se han reportado estudios donde se aprecia la amplia actividad biológica que tienen estos compuestos, en ellos se demuestra que se unen a polímeros biológicos como enzimas y que pueden ser transportadores de hormonas y de ADN, también se sabe que quelan iones metálicos transitorios como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , y tienen una función como catalizadores en el transporte de electrones

además de ayudar a depurar radicales libres presentes en el organismo. (Saskia Abe, 1998)

1.5 Antocianinas

Las antocianinas son compuestos fenolicos flavonoides, que son los responsables de la pigmentación roja, morada, azul, rosa o naranja del reino vegetal, son compuestos hidrosolubles, que son muy sensibles a la luz, oxígenos, pH, metales y temperatura.

Están constituidas por una molécula de antocianidina llamada aglicona la cual está unida una molécula de azúcar, por medio de un enlace β -glucósido. La estructura básica de las antocianinas consta de un anillo aromático A y un heterociclo C, ambos unidos por un enlace carbono-carbono estos anillos se encuentran unidos con un tercer anillo B, esta estructura es conocida como ion flavilio o también llamado 2-fenilbenzopirilio. **Figura 10.**

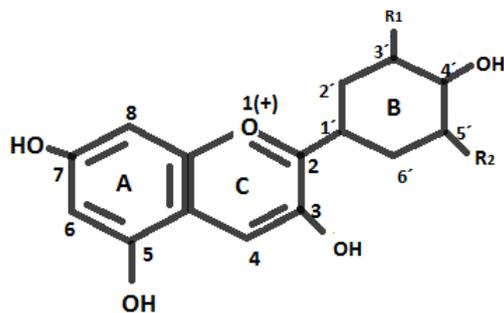


Figura 10 .Estructura básica de una antocianina. (Badui, 2006)

En la actualidad se ha reportado un aproximado de 539 aisladas hasta el año 2006 (M.Andersen & KennethR M, 2006) las antocianinas más comunes y estudiadas son la pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina. **Tabla.3.** muestra los diferentes sustuyentes que puede poseer la estructura base de una antocianina. **(Figura .11.)**

Antocianina	R1	R2	λ Max (nm) espectro visible	Color
Cianidina	OH	H	506	naranja-rojo
Delfinidina	OH	OH	508	azul-rojo
Malvidina	OMe	OMe	510	azul-rojo
Peonidina	OMe	H	506	naranja-rojo
Pelargonidina	H	H	494	naranja
Petunidina	OMe	OH	508	azul-rojo

Tabla 3. Sustituyentes hidroxilos y metoxilos de las antocianinas. (Cuevas Montilla Atezana, 2008) (Ortiz, 2011)

El color particular de cada tipo de antocianina depende de muchos factores intrínsecos entre ellos la sustitución que tengan estas, la orientación de los grupos hidroxilos y metoxilos. La literatura dice que aumentando los hidroxilos en el anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que el aumento de metoxilos provoca la formación del color rojo. (Badui, 2006)

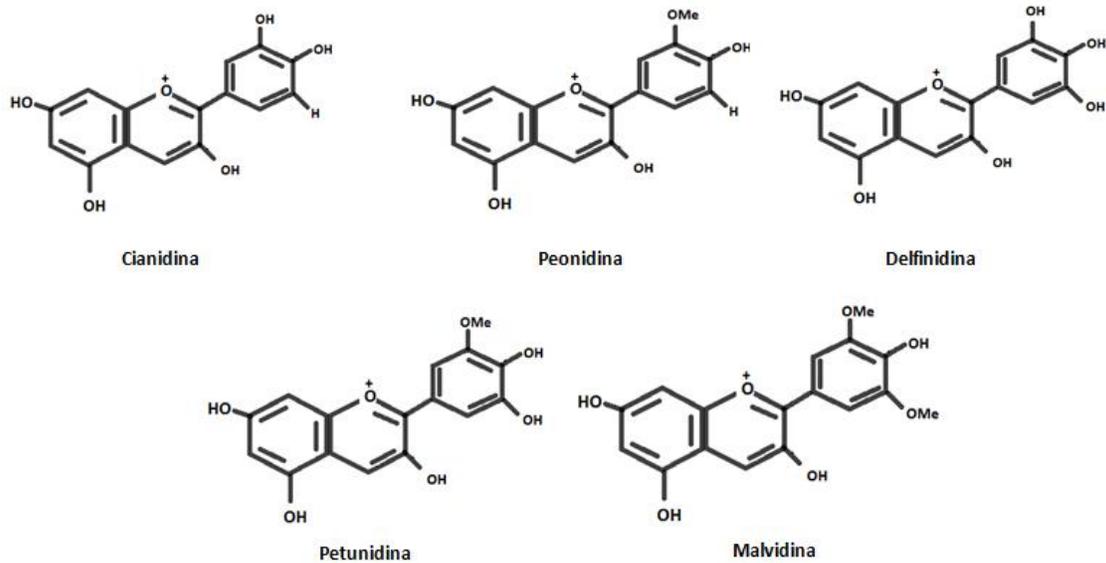


Figura 11. Estructura de las antocianinas; cianidina, peonidina, delphinidina,

Como ya mencionamos son compuestos muy inestables y propensos a la degradación, la estabilidad de las antocianinas depende de la temperatura, pH, oxígeno, luz y metales. (Castañeda-Ovando, 2009)

Tal vez uno de los factores más comunes e importante es el pH el cual ha demostrado que afecta la estructura y la estabilidad de las antocianinas.

Una molécula de antocianina en solución acuosa de pH inferior a 2, es propicia a que el pigmento se encuentre en su forma más estable, es decir, el ion flavilo (AH^+) y la solución se tornara de una coloración rojo intenso.

Cuando el pH disminuye entre un intervalo de 2-4 la especie colorida predominante en la solución es de color azul. Y en valores de pH entre 5-6 se observa la presencia de la base carbinol, las cuales son especies incoloras.

A un pH mayor a 7 comienza la degradación de la antocianina y se observa a simple vista con la presencia de la chalcona la cual se presenta con una coloración amarilla o marrón. **Figura.12.**

Se sabe que el cambio de color de las antocianinas puede ser de cambió reversible siempre y cuando no se llegue a la formación de la chalcona, cuando ya se formó, esta reversión de color ya no se podrá realizar más. (Reins, 2005)

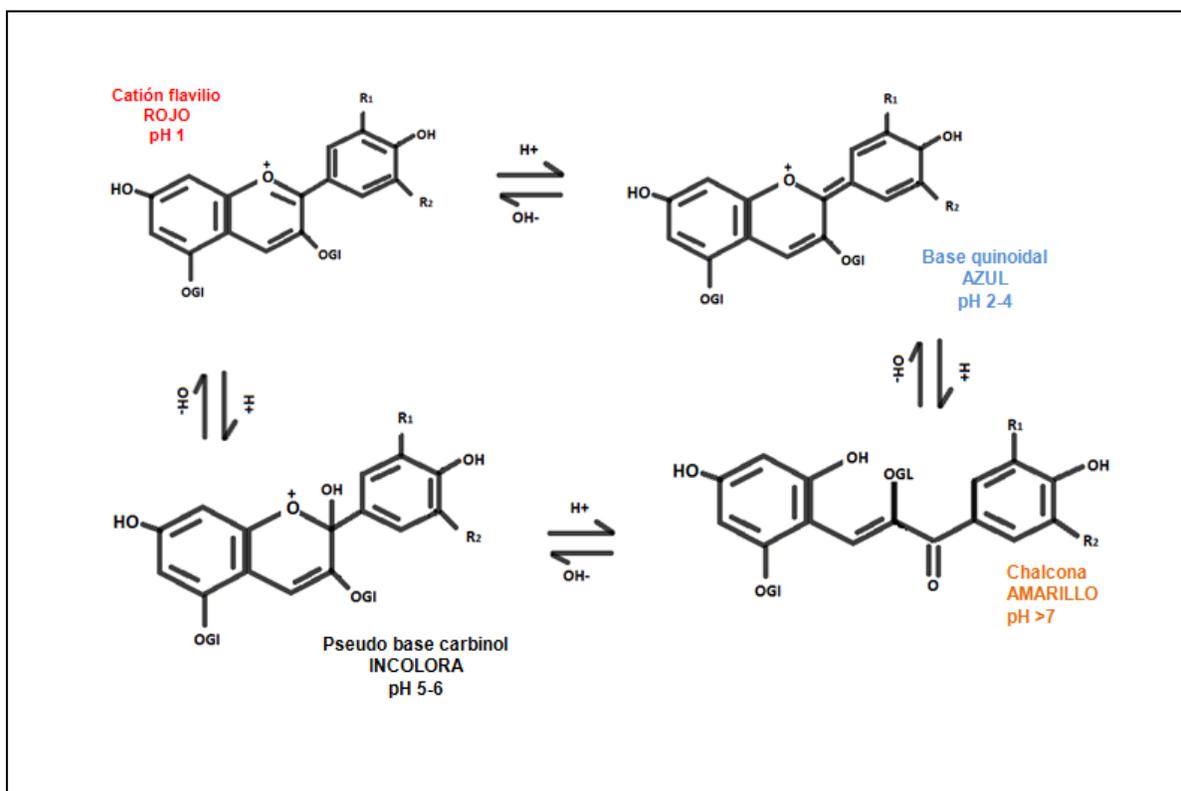


Figura.12. Estructuras de las antocianinas a diferentes pH's. (Rodríguez-Saona y Wrolstad. 2001).

También las antocianinas son afectadas por el tipo de estructura que estas posean pueden tener una estructura acilada o no acilada. Cuando se encuentran aciladas es porque en ellas se encuentran grupos alifáticos y /o aromáticos, generalmente unidos al oxígeno que está presente en el carbono 6 del azúcar.

La literatura muestra que las antocianinas que presentan más estabilidad al almacenamiento son aquellas que se encuentran aciladas con ácidos aromáticos hidroxilados, por otra parte la estabilidad de estos compuestos se debe a que las moléculas se van apilando alternadamente, lo cual reduce la susceptibilidad de un ataque nucleofílico del agua, por lo tanto se evita la formación de una chalcona. (Aulis Q. M., 2014)

La temperatura es otro de los factores importantes en cuanto a la estabilidad de la antocianina. Un aumento de temperatura induce una destrucción lenta de pigmentos esto debido a que provoca una pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y la apertura del anillo, por lo tanto, la producción de la chalcona da inicio. Algunos autores recomiendan trabajar a una temperatura óptima menor a 40°C para no llegar al producto de degradación. (Garzon, 2008)

Otro factor que se sabe degrada las antocianinas es la luz, este es un factor esencial para la biosíntesis de estos pigmentos coloridos, pero también es un factor que acelera su degradación, los fotones incrementan la conversión hacia el ion flavilo, cuando se encuentra ausente esto, la cantidad de producto chalcona es mayor que la cantidad de catión flavilio. (Reins, 2005)

Las antocianinas son pigmentos que están presentes en diferentes órganos de la planta tanto en el fruto, tallo, hojas, flores y raíces, se encuentran principalmente en las vacuolas de las células epidérmicas localizadas en una región específica de la vacuola llamada antocianoplastos. (Ortiz, 2011)

En los vegetales y frutos el contenido de antocianinas puede variar, algunos de los alimentos que poseen una gran cantidad de antocianinas son:

- Manzana roja cáscara 100-2160 mg/kg
- Arándano 4600mg/kg
- Zorzamora 820-1800 mg/kg
- Mora azul 825-5300 mg/kg
- Cereza 3500-4500 mg/kg
- Aronia 5060-10000 mg/kg
- Arándano rojo 460-2000 mg /kg
- Saúco 2000-15600 mg/kg
- Uva (roja) 300-7500 mg /kg
- Uva (azul) 80-3880 mg/kg
- Naranja sanguina 2000 mg/kg
- Ciruela 19-250 mg/kg
- Frambuesa (negra) 763-4277 mg/kg
- Fresa 127-360 mg/kg
- Grosella (negra) 1300-4000 mg/kg
- Grosella (roja) 119-186mg/kg

- Col morada 250 mg/kg
- Berenjena 7500 mg/kg
- Rábano 110-600 mg /kg
- Cebolla (roja) <250 mg/kg

***Datos obtenidos del artículo de (Figuroa, Regules, & Berrios, 2010).

El interés por estos compuestos coloridos se ha incrementado en la actualidad ya que no solo confieren color a un producto que las contiene, sino que también ayudan a la reducción de enfermedades coronarias, diabetes, se ha demostrado que tienen efectos antiinflamatorios.

En la industria alimentaria las antocianinas están tomando más importancia debido a que hay una gran preocupación por la toxicidad de algunos colorantes sintéticos usados en alimentos, cosméticos y fármacos, por lo cual varios países han decidido implementar el uso de estos colorantes naturales en sus productos. (Garzon, 2008).

1.6 Terpenos

Dentro de los compuestos liposolubles importantes para los científicos se encuentran los terpenos que son compuestos que poseen estructuras químicas distintas entre ellos, pero cabe señalar que todos proceden de la polimerización del terpeno más simple el cual es llamado isopreno (2-metil- 1-,3- butaldienol) este

es un hidrocarburo compuesto por 5 Carbonos como se señala en la **Figura.13**.
Son compuestos hidrofóbicos.

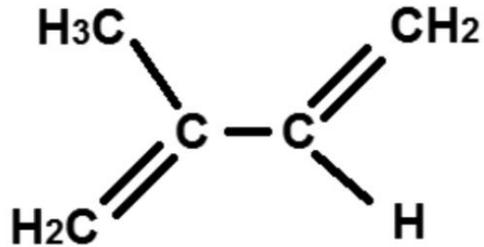


Figura13. Estructura química del isopreno.

La principal clasificación de los terpenos se basa según al número de unidades de isopreno presentes:

- Tres dobles enlaces y acíclico
- Dos dobles enlaces y monocíclicos
- Un doble enlace y bicíclicó

En la **Tabla. 4**. Se muestra la clasificación de los terpenos y algunas de sus funciones y usos, en la **Figura.14** se muestran algunas de las estructuras de los terpenos más estudiados.

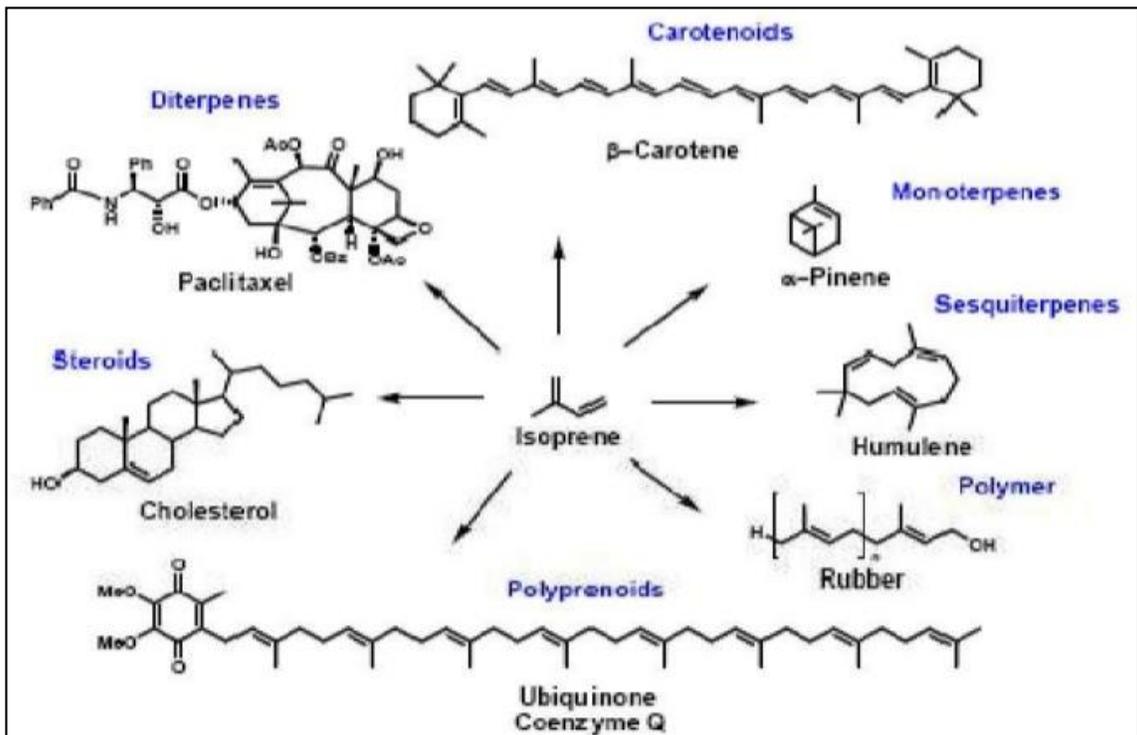


Figura13. Estructuras de terpenos

Tabla.4. Clasificación de los compuestos terpenicos y su funcionalidad.

Nombre	No de isoprenos	No . De carbonos	Función	Ejemplo
Hemiterpenos	1	5	Producto volátil que se desprende de los tejidos fotosintéticamente activos.	Isopreno
Monoterpenos	2	10	Aroma y esencias de plantas y especias	Geraniol, mentol
Sesquiterpenos	3	15	Intermediario en la síntesis de colesterol Presente en aceites esenciales Funcionan como antibióticos en respuesta a invasiones microbianas y con herbívoros oportunistas	Farnesil Ácido Absicico
Diterpenos	4	20	Deriva del geranil pirofosfato Forman pigmentos y vitaminas	Fitol, vitamina A,E y K Giberelinas Retinol
Triterpenos	6	30	Intermediario en la síntesis de colesterol	Escualeno: origina todos los esteroides ya que es un compuesto procesado biosintéticamente para la generación de lanosterol
Tetraterpenos	8	40	Pigmentos vegetales	Carotenos , xantofilas Ácido licopénico
Politerpenos	n	Cadenas largas	Aislantes	Látex , caucho

Tabla 4. <http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/aceites->

Los monoterpenos son compuestos volátiles y aromáticos que le proporcionan características organolépticas (aroma y sabor) a las plantas y vegetales, constituyen la mayor parte del aceite esencial producido por las plantas aromáticas. Se encuentran principalmente en los alimentos de color verde y en productos de la soja y cereales.

Algunas de las propiedades benéficas para el organismo que se han encontrado en la literatura acerca de los terpenos, es que funcionan como antioxidantes, protegen a los lípidos, a la sangre y otros fluidos corporales contra ataques de radicales libres, o de algunas especies de oxígeno reactivo, grupos hidroxilos, peróxidos y radicales superóxidos, los terpenos más estudiados actualmente son los carotenoides y los mononoides. (ChasquibolS & Laura LenguaC, 2003)

1.7 Carotenos

Como ya se mencionó los carotenos son compuestos de gran interés para la salud, son compuestos tetra terpénicos constituidos por unidades múltiples de isopreno con un anillo ciclohexano que está sustituido e insaturado en cada uno de los extremos. (Jáuregui, 2011) . Este grupo de compuestos coloridos se divide en dos tipos; los carotenos que no contienen oxígeno en sus anillos terminales y en las xantófilas que sí contienen oxígeno. En su estructura se aprecian dobles

enlaces conjugados en una cadena alifática ramificada (grupos metilos) formados por ocho restos de isopreno. (Yúfera)

Existen diferentes variantes entre ellos los sustituyentes más comunes que tienen los carotenos son el grupo hidróxido (OH), epoxi, aldehídos (CHO) ceto (C=O), carboxi (CO₂H), carboximetoxi (CO₂Me) y metoxi (Ome). En la **Figura.15** se muestran algunas estructuras de los carotenos más comunes reportados en la literatura.

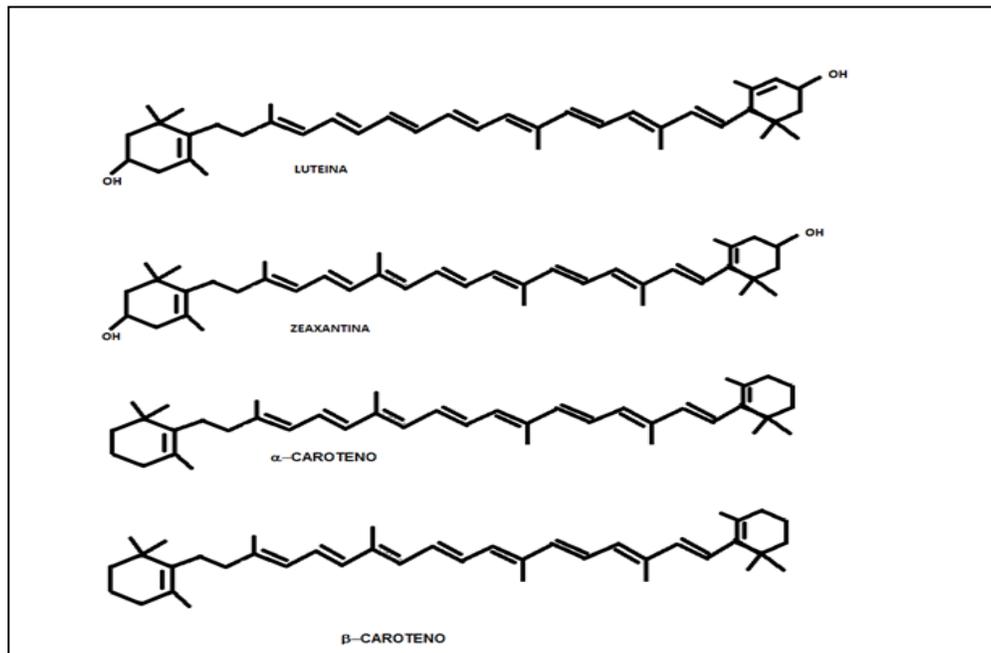


Figura. 15. Estructura de algunos carotenos.

Los carotenos son compuestos que tienen la capacidad para actuar como un precursor o como provitamina A, algunos estudios han reportado que: el β -caroteno (50-54%), β -zeacaroteno (20-40%), γ -caroteno (50-52%), β -criptoxantina (50-60%) y β -apo-carotenal (72%) son los más estudiados y comunes. Mientras que las xantófilas zeaxantinas, luteína, licopeno, antoxantina y violaxantina son carotenos, pero no son precursores de esta vitamina

Estos pigmentos liposolubles están considerados como compuestos funcionales de los alimentos, debido a que sus funciones y propiedades están determinadas por las propiedades físicas y químicas de la molécula, es decir, por la geometría, tamaño, tipo y presencia de grupos funcionales que esta posea, lo cual determina y asegura si el carotinoide es afín a la estructura celular y en dado caso de que sea así tener una correcta orientación la cual permita una eficiente adsorción que pueda dar lugar a una función benéfica en el organismo.

Estudios recientes han demostrado que una ingesta de carotenos en frutas y verduras reduce el riesgo de enfermedades oculares, cáncer y trastornos cardiovasculares. (Byrd-Bredbenner, 2006)

En la **Tabla .5**. Se muestran algunas de las fuentes más comunes que se han estudiado para la obtención de carotenos.

Tabla .5. Fuentes de carotenos.

CAROTENOS MAYORITARIOS	FUENTE
α , β - caroteno	Zanahoria (<i>Daucus carota</i>)
Licopeno	Tomates (<i>Lycopersicum spp</i>)
Luteína /Zeaxantina	Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>) Maíz (<i>Zea mayz</i>) Cempasúchil (<i>Tagetes erecta</i>) Huevo de gallina
Violaxantina β- criptoxantina Luteína/ Zeaxantina	Naranja (<i>Citrus sinensis</i>)
Antoxantina	Salmon (<i>Salmo spp</i>) Crustáceos Micro algas y levaduras
Cantaxantina	Crustáceos

Sabemos que son colorantes polienicos rojos y amarillos cuya molécula posee un grupo cromoforo, el cual es el responsable de la capacidad de los carotenos de absorber luz en la región visible además que le concede la propiedad de tener una alta capacidad de coloración.

Por otra parte, los carotenos son sintetizados por las plantas, algas y bacterias fotosintéticas y debido a su instauración son sensibles al oxígeno, metales, ácidos peróxidos, calor, luz y a las lipoxigenasas.

1.8 Clorofila

Un compuesto de gran interés en la actualidad es la clorofila, está es el pigmento responsable del color verde de las plantas. Su estructura consta de una serie de enlaces conjugados y de cuatro anillos de pirrol unidos por medio de puentes de metilo lo que constituye una porfirina, además de poseer un centro de Mg.

La clorofila se compone de dos tipos: la clorofila a y la clorofila b los cuales son los dos principales pigmentos foto receptores que se encuentran en las plantas superiores.

La clorofila α es el pigmento involucrado en la transformación de la energía lumínica en energía química, y es la molécula que posee un grupo metilo en el C3 del anillo II. Mientras que la clorofila β es la encargada de transferir energía a la clorofila a y así lograr una gama de energía para la fotosíntesis, además de y poseer un grupo formilo en el C3.

La cadena lateral que posee la clorofila es de propiedades hidrofobicas y está compuesta por 4 unidades isoprenoides llamada fitol. El cual es un alcohol esterificado al grupo propio del anillo IV. (Amstrong, 1982) En la **Figura 16** se muestr

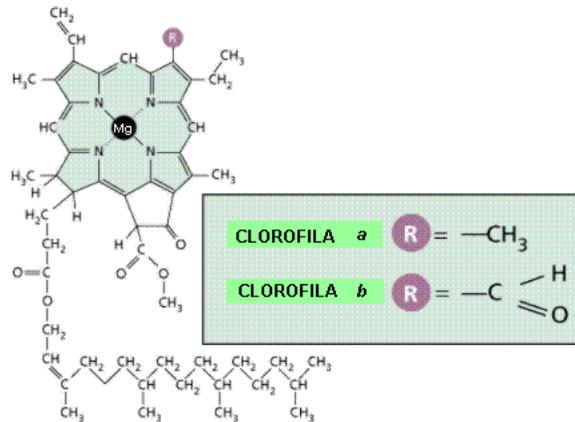


Figura. 16. Estructura de la clorofila a y b

Es una molécula que capta energía en las membranas tilacoides, la cual absorbe la luz violeta, azul y roja. La clorofila es considerada un compuesto tetrapirrol perteneciente al grupo de las faseocianinas y las ficoeritrinas.

La clorofila a y b son moléculas que absorben a una longitud de onda de la luz visible de 400nm a 700nm debido a su sistema de enlaces conjugados.

La **Figura. 17** muestra un espectro de absorción de la clorofila a y b. (Amstrong, 1982)

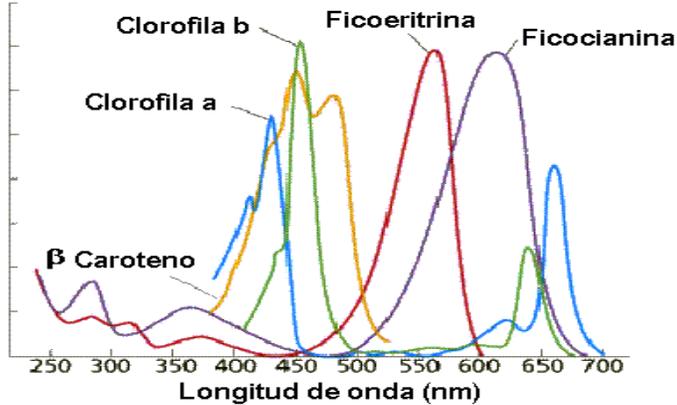


Figura.17. Espectro de absorción de la clorofila a y b.

Algunas de las propiedades funcionales que se han reportado para este compuesto colorido, es que ha demostrado tener capacidad antioxidante, antiinflamatoria , en algunos textos se indica que ayuda en el crecimiento y reparación de tejido , y además es considerada como un estimulador de las células rojas de la sangre las cuales obtienen un mejor suministro de oxígeno.

En conjunto con otras vitaminas como la A, C y E ayuda a neutralizar radicales libres.

1.9 Ácidos grasos

Los ácidos grasos son moléculas lipídicas orgánicas constituidas por carbono, hidrógeno y oxígeno en algunas ocasiones también tienen nitrógeno , fósforo y azufre , son un grupo complejo y heterogéneo , son moléculas solubles en disolventes orgánicos como acetona, hexano, benceno, cloroformo , y son insolubles en agua, cuando entran en contacto con esta, se produce un acúmulo de material llamado micela.

Los lípidos son un componente esencial para los organismos vivos, constituyen una reserva energética, a partir de la acumulación de triglicéridos, además también forman parte de la estructura de las membranas celulares de los organismos.⁵

Los lípidos se clasifican en dos grandes grupos: Lípidos saponificables y lípidos insaponificables.

- Lípidos no saponificables: son los lípidos que no presentan ácidos grasos en su composición por lo cual no dan lugar a reacciones de esterificación. entre ellos están los esteroides, terpenos (isoprenoides) y prostaglandinas.
- Lípidos saponificables: son aquellos que se forman por esterificación de uno o más ácidos grasos, con alguna otra molécula (alcohol, ácido) dando lugar a un enlace éster y provocando la liberación de una molécula de agua. **Figura.18.** Cuando se les agrega una base (sosa) se produce jabón.

Este grupo de lípidos se dividen en dos subgrupos: lípidos simples los cuales se forman solo por carbono, hidrógeno y oxígeno entre ellos están los acil-gliceroides, ceras, o ceras.

Y el segundo grupo que son los lípidos complejos los cuales se componen de carbono, hidrógeno o nitrógeno, fósforo y azufre como los glicerolípidos, fosfolípidos, glucolípidos y esfingolípidos.

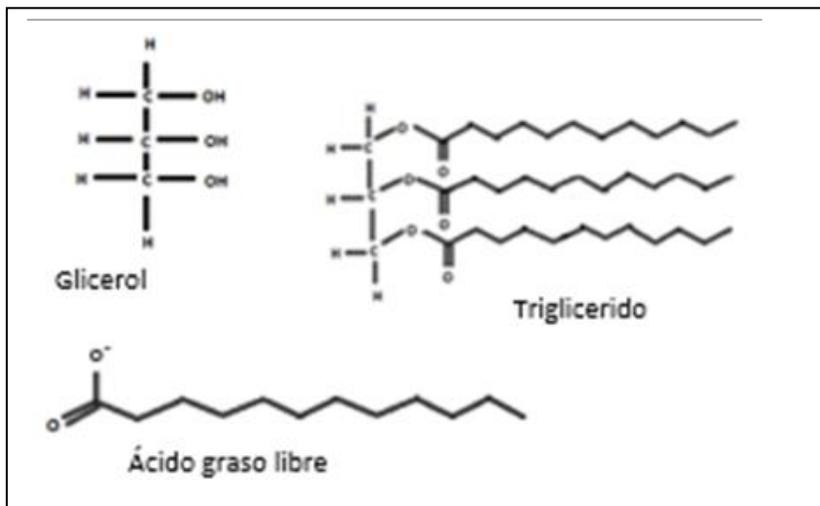


Figura. 18. Estructura del glicerol, de un ácido graso.

Triacilglicerol.

Los ácidos grasos son estructuras de cadena lineal la cual es llamada cadena alifática y por un grupo carboxílico (COOH) que da origen a la cabeza polar de la molécula. La cadena de carbonos se encuentra unida a la molécula de glicerol, son llamados triglicéridos.

Las características principales de cada ácido graso se basan en:

- Longitud de la cadena alifática: en base a esto se dividen en ácidos de cadena corta de (4 a 6 carbonos), de cadena media de (8 a 10 carbonos) y de cadena larga de 12 a 20 carbonos
- Los ácidos grasos solo presentan números de carbonos pares
- Grados de saturación, se refiere a la cantidad de dobles enlaces que se encuentren en la cadena así que algunos pueden ser saturados e insaturados.⁶

Los ácidos grasos se dividen en dos grandes ramas los ácidos grasos saturados y los ácidos grasos no saturados.

Ácidos grasos saturados

Tienen enlaces simples entre los átomos de carbono, están presentes en las grasas de origen natural, en aceite de coco y palma. Presentan una conformación extendida lo cual permite a las moléculas la

Ácidos grasos insaturados

Poseen dobles enlaces en la cadena de carbonos y el número de insaturaciones puede ser de 1 a 6, aquellos que poseen una insaturación son nombrados como mono insaturado, cuando tienen más de dos insaturaciones se llaman poli insaturados.

Algunos de estos ácidos grasos son nombrados esenciales, debido a que son ácidos que no pueden ser

Los ácidos grasos presentan facilidad para oxidarse, principalmente los ácidos grasos insaturados, cuando se oxidan los productos que se forman son aldehídos y compuestos que dan un olor rancio característico.

La **Tabla.6.** Muestra los principales ácidos grasos insaturados y saturados más importantes a nivel nutricional y sus fuentes de obtención.

Nombre común	Nombre sistemático	abreviatura	Fuentes de obtención
Butírico	Butanóico	C4:0	Grasa láctea
Caproico	Hexanóico	C6:0	Grasa láctea
Caprilico	Octanoico	C8:0	Grasa láctea, aceite de coco y palma
Caprico	Decanoico	C10:0	Grasa láctea, aceite de coco y palma
Laurico	Dodecanoico	C12:0	Aceite de coco y palma
Mirístico	Tetradecanoico	C14:0	Grasa láctea, aceite de coco y palma
Palmítico	Hexadecanoico	C16:0	La mayoría de las grasa y aceites
Esteárico	Octadecanoico	C18:0	La mayoría de las grasa y aceites
Araquídico	Eícosanoico	C20:0	Aceite de cacahuate
Behénico	Docosanoico	C22:0	Aceite de cacahuate
Lignocérico	Tetracosanoico	C24:0	Aceite de cacahuate
Ácido linoleico	Ácido-cis-9-cis-12-octadecadienoico	18:2n-6(LA)	La mayoría de los aceites vegetales
Ácido α-linolenico	Ácido –cis-6,cis-9,cis-12, octadecatrienoico	18:3n-6 (GLA)	Aceite de semillas de onagra , borraja y grosella negra
Ácido α-linolenico	Ácido cis-9.cis-12-cis-15-octadecatrienoico	18:3n-3 (SDA)	Aceite de pescado , aceite de soja modificado genéticamente , aceite de semilla de grosella negra y aceite de canamo

Tabla. 6. Principales ácidos grasos encontrados en vegetales y cereales. (FAO,

OBJETIVO GENERAL

- Identificar los principales compuestos bioactivos en el fruto Tiliapo/Tempesquistle.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Realizar la extracción y cuantificación de fenoles totales, flavonoides totales, antocianinas totales, carotenos totales y clorofila total del fruto Tiliapo /Tempesquistle.
- Purificar e identificar la antocianina por CCF y RMN del fruto Tiliapo.
- Identificar compuestos terpenicos por medio del método de CCF, para después realizar una identificación de alguno de ellos.
- Extraer el aceite de la semilla del fruto Tiliapo y Tempesquistle, posteriormente realizar un perfil de ácidos grasos.

CAPITULO 2. METODOLOGIAS

2.1 EQUIPOS Y REACTIVOS

- Rotavapor R-5 Buchí
- Sonicador Cole-Parmer
- Agitador Lab-Line
- Cromatografo de gases Agilent technologies N Network GC System
- Inyector Agilent Technologies series
- Espectrofotómetro GBC-Cintral
- Software Cintral
- Columna de vidrio de dos cm de diámetro

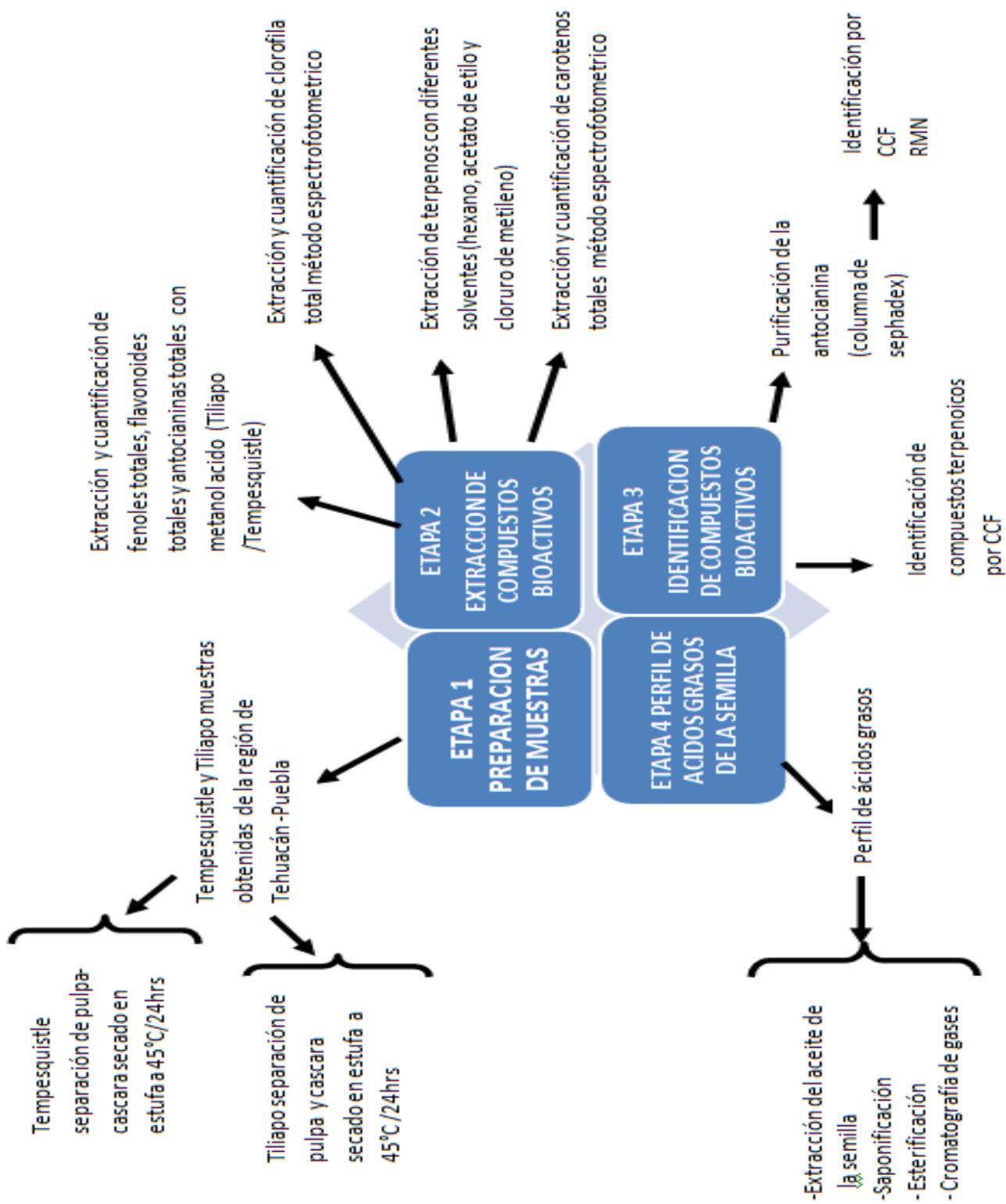
- Ácido acético marca sigma (CH_3COOH)
- Ácido clorhídrico marca Fluka (HCl)
- Hidróxido de sodio 1.0 M grado reactivo (NaOH)
- Agua destilada (H_2O)
- Placas de sílice gel
- Acetato de etilo marca Meyer ($\text{CH}_3\text{COO-CH}_2\text{-CH}_3$)
- Hexano grado industrial marca Meyer ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)
- Acetona grado industrial marca Meyer ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$)
- Sephadex

- Amberlita
- Metanol grado industrial marca Meyer (CH_3OH)
- Sulfato anhidro (Na_2SO_4)
- Sílice (SiO_2)

Reveladores

- DPPH ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$)
- Sulfato sérico ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
- Anisaldehído ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$)
- Cloruro férrico (FeCl_3)

2.2 DIAGRAMA GENERAL



2.3 ETAPA 1. Preparación de muestras

Las muestras de análisis de este proyecto fueron provenientes de la zona de Tehuacán – Puebla **Figura. 19 y Figura. 20**, cada uno de los frutos fue separado de la siguiente manera:

El fruto Tiliapo se le retiró la cáscara y pulpa, las cuales fueron secadas en la estufa a 45°C /24hrs, mientras que la semilla se secó en una estufa a 100°C durante un periodo de 3 meses.

Al fruto Tempesquistle se le retiró la cascara y pulpa las cuales permanecieron juntas ya que ambas formaban una sola estructura, estas fueron secadas en una estufa a 45°C /24hrs, y la semilla fue secada en una estufa a 100°C durante 3 meses.

Posteriormente una vez secas todas las muestras fueron pulverizadas y tamizadas para obtener un taño de partícula homogéneo, fueron almacenadas en bolsas ziploc, por otra parte, la semilla fue molida y almacenada en el congelador en un frasco de color ámbar.



Figura. 19. Fruto Tempesquistle



Figura. 20. Fruto Tiliapo

2.4 METODOLOGÍAS

2.4.1 Extracción y cuantificación de compuestos bioactivos del fruto Tiliapo.

Para la extracción de los compuestos bioactivos polifenólicos como los fenoles, flavonoides y antocianinas se realizó un extracto metanólico (metanol: agua: ácido acético) en proporciones (80:20: 0.5).

Para la extracción de estos compuestos fitoquímicos se pesaron 3.0 g de muestra a los cuales se les añadió 30 ml de la solución metanólica ácida, se sonicó durante 20 minutos a temperatura ambiente, y se filtró la solución con papel filtro.

La extracción de cada uno de los compuestos bioactivos en la cascará y pulpa del fruto Tiliapo, así como en la cascará-pulpa del fruto Tempesquistle se realizó por triplicado y la confianza de los datos obtenidos se analizó usando el método de Coeficiente de variación el cual es un método que nos permitió saber la dispersión relativa de nuestros datos.

Todas las lecturas que se realizaron de compuestos polifenolicos, carotenos y clorofila para cada una de las muestras a analizar fueron realizarnos en el espectrofotómetro GBC-Cintral usando el software Cintral.

Las determinaciones de fenoles totales, flavonoides totales, antocianinas totales y carotenos totales se realizaron de similar manera en cascara y pulpa del fruto Tiliapo.

2.4.2 Determinación de fenoles totales en el fruto Tiliapo

La determinación de fenoles totales se llevó a cabo por el Método de Folin Ciocalteu descrito en el artículo de (. (Najera, 2013) , con algunas variaciones ligeras realizadas acorde a nuestra muestra de estudio. En este método se usa como referencia una curva de ácido gálico, los resultados se expresaron como mg de ácido gálico por gramo de muestra seca.

Para la determinación de fenoles en el extracto de la cascará se tomó una alícuota de 100µl de la solución de extracto (estos 100µl provienen de una dilución de 2ml de extracto madre en 20 ml de agua), posteriormente se le añadieron 2 ml

de carbonato de sodio al 2%, además se le adicionaron 100µl del reactivo de Folin (el reactivo fue diluido con agua en una relación 1:1) y se esperó durante un tiempo de 30 minutos, se tomó lectura en el espectrofotómetro a la longitud de onda de 750 nm.

En cuanto a la determinación de fenoles totales en el extracto de la pulpa la alícuota tomada para el procedimiento experimental proviene de una dilución de 1ml de extracto madre en 20 ml de agua).

2.4.3 Determinación de flavonoides totales en el fruto Tiliapo

La determinación de flavonoides totales se realizó de igual manera en el extracto de la cascará y en el extracto de pulpa del fruto Tiliapo. Esta determinación se realizó usando el método descrito en el artículo de (Najera, 2013) con unas ligeras variaciones acordes a nuestra muestra de estudio, es un método el cual se lleva a cabo por medio de un ensayo con cloruro de aluminio, y que para realizar la cuantificación de el contenido de flavonoides totales se usa como estándar una curva de catequina. Los resultados obtenidos se reportan como mg de quercetina sobre gramo de muestra seca.

A continuación, se tomaron 100 µl de muestra (solución madre) y 900 µl de agua, para así tener 1 ml de muestra que es lo tiene el método establecido como cantidad de muestra, posterior mente se le agregaron 1400 µl de agua, a esto se

le adicionaron 300 μ l de una solución de Nitrito de Sodio al 5% y se dejó reposar durante 5 minutos. Pasado el tiempo establecido se añadieron 300 μ l de una solución de Cloruro de aluminio al 10 %, para después añadir 2 ml de Hidróxido de Sodio al 1.0 M, por último, se agregaron 5 ml de agua para llegar a un volumen final de 10 ml. Se tomó la lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 415nm.

2.4.4 Determinación de antocianinas totales en el fruto Tiliapo

La cuantificación de antocianinas totales se determinó para el extracto de la cascara del fruto tiliapo y para el extracto de la pulpa de este mismo .Se determinó por el método de pH diferencial, en el cual se tomó una alícuota de 200 μ l a la cual se le adicionaron 1800 μ l de buffer de cloruros y 1800 μ l de buffer de acetatos por separado, posteriormente se realizó la lectura a dos longitudes de onda diferentes en el espectrofotómetro ; la primera lectura se realizó a 510nm y la segunda lectura a 700nm.

Para cuantificar la cantidad de antocianinas totales encontradas en la muestra se utilizó la siguiente ecuación:

$$Abs T = \frac{(Abs)(PM)(FD)}{\left(\varepsilon \frac{L}{cm} \cdot mol\right) (I)}$$

Donde:

$$Abs = (Abs \text{ cloruros } 510nm - Abs \text{ cloruros } 700nm) - (Abs \text{ acetatos } 510nm - Abs \text{ acetatos } 710nm)$$

PM= Peso molecular de la cianidina3- glucósido y es de 449.2 g/mol

FD= Factor de dilución

ε =Absortividad molar, para la cianidina 3- glucósido es de 26900

l= longitud del paso de celda en cm

2.4.5 Extracción y cuantificación de carotenos totales en el fruto

Tiliapo

Para realizar la extracción de los carotenos totales de la cascara y pulpa del fruto Tiliapo el proceso experimental se basó en lo descrito por el artículo del autor (I.Alia-Tejacal & R.M.Soto-Hernández, 2005) para lo cual primero se tomó 1g de muestra pulverizada de (cascara o pulpa seca), se sónico durante 20 minutos a temperatura ambiente con 10 ml de acetona fría, posteriormente se filtró la muestra con papel filtro. Posteriormente se realizó un lavado con 20 ml de hexano y otro lavado con 100 ml de agua está repartida en tres partes, para así poder recolectar la fase hexanoica, una vez obtenido esto se aforo cada una de las muestras a 25 ml con acetona y finalmente se tomó lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm.

Para la cuantificación del contenido de carotenos totales en la cascara y pulpa del fruto Tiliapo se utilizó la siguiente ecuación:

$$\mu g \text{ de caroteno} = \frac{(Abs)(A)(F)}{(A \text{ 1 cm}^{1\%})(100)(g \text{ de muestra})}$$

Donde:

Abs=lectura de absorbancia obtenida en el espectrofotómetro a 450nm

A=aforo

F=10⁶

A 1 cm ^{1%}= coeficiente de absortividad del caroteno

2.4.6 Extracción de compuestos terpénicos del fruto Tiliapo

Para la extracción de los compuestos terpénicos nos basamos en lo mencionado en el artículo de los autores (Pérez, Best, & Llanes, 2009) Por lo tanto se realizaron 3 tipos de extractos:

- Extractó de cloruro de metileno
- Se pesaron 93.68 g de muestra pulverizada del fruto Tiliapo seco (cascar y pulpa juntos) adicionándole 250 ml del solvente correspondiente
- Extractó de hexano
Se pesaron 41.73 g de muestra pulverizada del fruto Tiliapo (cáscara y pulpa juntos) y se le agregaron 150 ml del solvente correspondiente.
- Extractó de acetato de etilo
Se pesaron 33.86 g de muestra pulverizada del fruto Tiliapo seco (cáscara y pulpa juntos) y se le añadieron 150 ml del solvente correspondiente.

Los tres extractos se dejaron macerar durante un día y posteriormente fueron filtrados, cada uno fue concentrado en el Rota vapor R-5 Buchí a 45 °C. De los tres extractos se obtuvo una pasta verde de apariencia y consistencia chiclosa de olor dulce y aroma penetrante.

2.5. Extracción y cuantificación de fenoles y flavonoides totales del fruto Tempesquistle

La extracción de fenoles totales se utilizó el Método establecido de Folin Ciocalteu descrito por (Najera, 2013) con algunas variaciones establecidas por la naturaleza de nuestra muestra, en el cual la única diferencia es la alícuota de la cual se parte la cual es perteneciente de una dilución de 0.5 ml de solución madre /5 ml de agua.

Para la extracción de flavonoides totales se basó el método en lo que describe (Najera, 2013) con una serie de variaciones debido a la naturaleza de nuestra muestra, en donde ahora la alícuota tomada es de 300 µl de la solución madre / 700 µl de agua.

2.5.1 Extracción y cuantificación de carotenos totales

La extracción de carotenos totales en el fruto Tempesquistle se realizó de la misma manera que para la muestra de Tiliapo en cascara y pulpa. El método utilizado es el expresado por el autor (I.Alia-Tejacal & R.M.Soto-Hernández, 2005).

2.5.2 Extracción y cuantificación de clorofila total

En la extracción de clorofila total del fruto Tempesquistle se realizó mediante el Método de Mackinney (Mackinney, 2008), en el cual se tomaron 0.5 g de muestra pulverizada de Tempesquistle, se sónico durante 20 minutos con 10 ml de una solución de acetona/ agua (80:20) y posteriormente se filtró la muestra con papel filtro. El sólido restante se continuo el lavado durante 4 veces con la solución preparada en fracciones de 10 ml hasta que el color desapareció, a continuación, se aforo a 50 ml todo el filtrado con acetona. Posteriormente la lectura de clorofila se llevó a cabo mediante el espectrofotómetro, la lectura de llevo a cabo a dos diferentes longitudes de onda; la primera lectura a 662nm y la segunda lectura a 645nm.

Para la cuantificación de clorofila total en la muestra se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$\text{Clorofila a} = 10.81 (\text{abs } 662) - 0.75 (\text{abs } 645)$$

$$\text{Clorofila b} = 19.02 (\text{abs } 645) - 3.98 (\text{abs } 662)$$

$$\text{Clorofila total} = 6.83 (\text{abs } 662) + 18.27 (\text{abs } 645)$$

2.6 ETAPA 3. Identificación de compuestos bioactivos

Para la identificación de la antocianina en la cascará del fruto Tiliapo, el proceso se dividió en 3 etapas:



2.6.1 Extracto de antocianinas de la cascará del fruto Tiliapo

En esta primera etapa que se trata de obtener el extracto de la antocianina primero se tomaron 10 g de muestra pulverizada de Tiliapo (perteneciente a la cascará del Tiliapo), seca a 45 °C /24hrs en estufa, posteriormente se le agregaron 100 ml de una solución metanólica ácida (metanol /agua) (80:20) al 1 % de ácido acético y se sónico por un tiempo de 20 minutos a temperatura ambiente.

Una vez transcurrido el tiempo correspondiente se filtró la muestra con papel filtro y fue concentrada en el Rotavapor R-5 Buchí a 35°C. A continuación, se lavó el matraz con 30 ml de hexano, por triplicado y después se lavó nuevamente con 25 ml de acetato de etilo por triplicado.

Se colectó la fase acuosa y fue saturada con ambrerita, para después agregarle un poco más de agua y así se agitó durante 10 minutos a 155 rpm en el Agitador Lab-

Line, en un matraz recubierto de aluminio. Pasado el tiempo la amberlita se lavó con abundante agua y posteriormente se lavó con 340 ml de metanol ácido, hasta obtener todo el color retenido en ella. Todo el color obtenido con el metanol ácido fue concentrado en el Rotavapor R-5 Buchi a 35°C hasta sequedad total posteriormente se refrigeró y se almacenó en un frasco de color ámbar.

2.6.2 Purificación de la antocianina de la cascara del fruto Tiliapo

La segunda etapa de purificación de la antocianina se basó en la realización de una columna de sephadex. Primero se colocó una columna de vidrio de 2 cm de diámetro, a la cual se le agregaron 14.76 g de sephadex, posteriormente se agregó 0.1g de muestra del extracto de antocianina seco y 0.1 g de sephadex como soporte para introducir la muestra a la columna. La fase móvil utilizada se ordenó de la siguiente manera para obtener una mejor separación de los componentes deseados, en este caso de la antocianina: **(Tabla 8)**.

Tabla 8. Fase móvil de la columna para purificación de la antocianina.

AGUA	METANOL al 0.1% HCl	ml gastados
80	20	200 ml
60	40	200 ml
0	100	240 ml

2.6.3 Identificación de la antocianina por CCF y RMN de la cascara del fruto Tiliapo

La tercera etapa se trató de la identificación de la antocianina que obtuvimos, por medio de CCF y RMN, para la identificación posible de este compuesto colorido se realizó una placa de sílice de la marca Alugram Xtra Sil G UV de 20X20 cm y se colocaron las muestras de cada una de las fracciones obtenidas en la columna de sephadex por medio de capilares. Se obtuvieron 30 fracciones las cuales se agruparon de la siguiente manera.

Tabla.9. Fracciones obtenidas en la columna.

FRACCION DE LA COLUMNA	FRACCION ACUMULADA
1-9	1
10-11	2
12-13	3
14-22	4
23-24	5
25-26	6
27	7
28-30	8

Posteriormente se realizó una cromatoplaqueta de sílice de las nuevas fracciones agrupadas, ambas placas de sílice se eluyeron con BAA (Butanol/ Agua/ Ácido Acético) en una relación de (6:3:1).

Una vez identificada la fracción de nuestro interés, se llevó la muestra a RMN de ^1H , ^{13}C , COSY y HSQC en donde se realizó en un espectrómetro de 600 MHz,

en donde las antocianinas se disolvieron en 30 μl de MeOH con una gota de CF_3COOD para asegurar que este como ion flavilio. (Aulis Q. M., 2014)

2.7 Identificación de compuestos terpenicos en el Tiliapo

Uno de los objetivos particulares de este proyecto era la identificación de compuestos terpenicos, así que se realizó una placa fina de sílice de la marca Alugram Xtra Sil G UV de 20X 20 cm, del extracto de hexano, del extracto de acetato de etilo y del extracto de cloruro de metileno para detectar la presencia de estos compuestos, se usaron como estándares: **(Tabla.10)**.

Tabla 10. Estándares usados en la identificación de compuestos terpenicos.

Co	Copal
B	β -amirina
E	esteroles

Las placas fueron eluidas con una fase móvil de (Hexano/Acetato de etilo) en una relación de (9:1) y reveladas con Anisaldehído.

Se lograron identificar posibles compuestos terpenicos por lo cual posterior mente se realizó una columna para obtener esos dos posibles compuestos.

Para lo cual se tomaron 20.43 g de sílice y se colocaron en una columna de vidrio de 2 cm de diámetro. Se tomaron 330 μg de muestra perteneciente al extracto de cloruro de metileno (ya que este extracto fue el que presento mayor concentración

de los compuestos que consideramos a separar), y la muestra se disolvió en poco cloruro de metileno, se colocó en un matraz bola con una pequeña cantidad de Celita y se concentró en el rota vapor. La muestra fue raspada y colocada en la columna, la fase móvil de la columna fue Hexano: Acetato de etilo (9:1), de la cual se utilizaron 500 ml, para obtener la extracción por separado de los compuestos establecidos de interés.

Se obtuvieron 59 fracciones a las cuales se les corrió una placa de sílice, con lo observado en la placa, las fracciones se agruparon nuevamente obteniendo la siguiente seriación: **(Tabla11)**.

Tabla.11. Muestra las fracciones obtenidas en la separación de los compuestos terpenicos de interés.

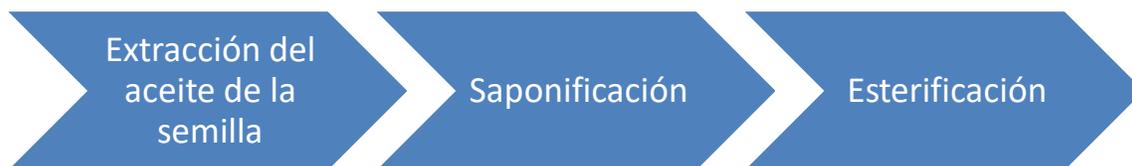
Fracción de la columna	Agrupación nueva
1-3	1
4-5	2
6	3
7-9	4
10	5
11	6
13	7
14-15	8
16-18	9
19-20	10

Fracción de la columna	Agrupación nueva
21	11
22-25	12
26-29	13
30-34	14
35-44	15
45-46	16
47-50	17
53-59	18

Se realizó nuevamente una cromatoplaqa de sílice de las nuevas fracciones con una fase móvil de Hexano acetato de etilo en una relación de (9:1) y se reveló con Anisaldehído.

2.8 ETAPA 4. PERFIL DE ACIDOS GRASOS

La cuarta etapa del proyecto corresponde a la realización del perfil de ácidos grasos en la semilla del fruto Tiliapo y en la semilla del fruto Tempesquistle, para lograr la identificación de los principales ácidos grasos presentes en estos frutos el proceso se dividió en tres etapas:



2.8.1 Extracción del aceite de la semilla de Tiliapo y Tempesquistle

Para la obtención del aceite de la semilla del fruto Tiliapo y del fruto Tempesquistle la semilla fue secada durante 3 meses en una estufa a 100 °C, se pesaron 20.14 g de semilla pulverizada del fruto Tiliapo y 20.35 g de semilla pulverizada del fruto Tempesquistle, a ambas muestras se les añadieron 200 ml de hexano, se sonicarón durante un tiempo de 30 minutos a temperatura

ambiente. Posteriormente se filtró la muestra con papel filtro y se concentró el producto en un Rotavapor R-5 Buchí a 35°C. Se extrajo el aceite con una pipeta paster y se almaceno en el congelador en un vial color ámbar.

2.8.2 Saponificación y esterificación del aceite de las semillas

El proceso de saponificación y esterificación se realizaron de manera consecutiva, la primera parte que corresponde a la saponificación se llevó a cabo tomando en cuenta mucho el peso de la muestra de la cual partimos, así que se realizó la adición de los reactivos proporcionalmente a la cantidad de aceite que se utilizó. Se pesaron aproximadamente entre 0.3 – 0.35 g de aceite, a los cuales se les adicono 6ml de NaOH, se puso a reflujo la muestra durante 30 minutos con temperatura controlada.

Posteriormente se adicionaron 7 ml de Trifloruro de Boro y se dejó en ebullición por un tiempo de 3 minutos, transcurrido el tiempo se dejó enfriar durante unos 5 minutos.

La muestra se colocó en un matraz de separación y se le agrego una cantidad entre 3-5 ml de hexano grado HLPC, y enseguida se adicionaron 15 ml de una solución concentrada de NaCl, se agito vigorosamente durante 15 segundos toda la muestra en el embudo de separación.

Obtenidas las dos fases se extrajo la fase hexanoica con pipeta paster y se midió en una probeta, posteriormente fue colocada en un tubo que contenía sulfato anhidro, nuevamente se tomó la muestra con una pipeta paster para posteriormente tomar lectura de esta en el Cromatógrafo de gases.

2.8.3 Identificación de los principales ácidos grasos

La identificación de los ácidos grasos de cada una de las muestras se logró utilizando el equipo de Cromatógrafo de gases de la marca Agilent technologies N Network GC System.

El método que se utilizó fue el establecido en el equipo con el nombre de FAME I, con un volumen de inyección de 1 μ l. Se realizaron dos curvas la primera es la GLC 10 en la cual se encuentran una mezcla de ácidos grasos cada uno en una proporción del 25 % (C: 16, C:18, C:18:1, C:18:2 , C:18:3) y una segunda curva es la de GLC50 en al cual se encuentran presentes una mezcla de los siguientes ácidos grasos (C:16:1 , C:18:1 , C:20:1 , C:22:1) cada uno en una proporción del 20 %.

Las muestras obtenidas después de la saponificación y la esterificación fueron leídas en el Cromatógrafo de Gases cada una de ellas fue leída por triplicado y su análisis se llevó a cabo mediante comparación de tiempos de retención y análisis de normalización para las áreas.

CAPITULO 3. RESULTADOS Y ANALISIS

3.1 Preparación de muestra Tiliapo

El presente trabajo de tesis se dividió en 4 bloques: la primera etapa se trata de la preparación de la muestra, en este caso del fruto Tiliapo y del fruto Tempesquistle.

A continuación, se muestran los datos obtenidos es este primer bloque en el cual se indican parámetros de % de humedad y acidez titulable.

El fruto Tiliapo fue separado en sus tres partes cascará, pulpa y semilla a cada una de las partes se le determino él % de humedad obteniendo los siguientes datos, **Tabla 12**, los datos expresados corresponden al promedio obtenido de tres mediciones realizadas.

Tabla12. Datos del secado en estufa a 45°C del fruto Tiliapo.

	Peso de fruto fresco (g)	Peso de fruto seco a 45°C /24 hrs en estufa (g)	Peso en g del agua contenida	%H
Cascara	21.39 g	7.16 g	14.23 g	66.52%
Pulpa	45.36 g	15.16 g	30.20 g	66.57 %
Semilla	5.13 g	3.41 g	1.72 g	33.52 %

***El peso promedio de la fruta húmeda completa antes de ser seccionada en sus tres partes es de 77.12g.

Se puede observar que la fracción del fruto que posee mayor contenido de humedad corresponde a la pulpa con 66.57%, después la cascara con un

porcentaje de humedad del 66.52% y en último lugar la semilla con el 33.52 % de humedad.

Los datos fueron comparados con la literatura por ejemplo (Sánchez, Hernandez, Martinez, Herrera, & Jimenez, 2009) expresan en un estudio realizado al fruto Caimito (el cual es similar morfológicamente al fruto Tiliapo), ellos indican que en la pulpa del caimito presenta un 55.4% de humedad en la pulpa, mientras que la cascar posee un 42% de humedad, y que la humedad de la semilla corresponde a un 3% del total del fruto.

Además de la obtención del porcentaje de contenido de humedad del fruto, se realizó también la determinación del porcentaje de acides titulable tanto en el fruto maduro como el fruto en su estado de inmadurez. Se determinó que el ácido correspondiente es el ácido málico, esto debido a que es el ácido más abundante en las ciruelas y el Tiliapo morfológicamente es similar a las ciruelas.

El fruto Tiliapo presentó 5.96% de ácido málico, mientras que el fruto

Tempesquistle posee 13.49% de ácido málico, (Torres, Montes, Pérez, & Andrade, 2013.)

Hace un estudio de diversas frutas tropicales mango, maracuyá y plátano

Comparando nuestros datos con los mencionados por este articulo el fruto Tiliapo posee un porcentaje similar al detectado en el fruto maracuyá. También se

compararon los resultados con los expuestos por

(Loaiza, Santos, Mahecha, & Amariles, 2012) en el fruto Lulo (los datos son reportados en ácido cítrico) y

observamos que nuestros resultados del fruto se encuentran en mayor cantidad tanto en el fruto maduro y en el inmaduro.

La diferencia del contenido de ácido málico determinado en el fruto Tiliapo y Tempesquistle, se puede deber a la salida de los ácidos orgánicos de la vacuola. Lo cual también es relacionado con el cambio de coloración del fruto según (González, A.Herrera, Barrera, & P´erez, 2001) se sabe que los ácidos orgánicos son componentes esenciales en el ciclo respiratorio de los ácidos tricarbóxicos (Kays, 2004) (A Guzmán, 1989) además se ha encontrado en la literatura que la acidez disminuye en la madurez de muchos frutos.

Por lo tanto, el fruto se encuentra con un alto contenido de azúcares, esto debido a que está ocurriendo una degradación oxidativa de los materiales de reserva como compuestos carbónicos (almidón), y en su lugar quedan compuestos sencillos como azúcares y ácidos orgánicos, por ello es que los frutos maduros son más dulces y con un menor contenido de ácido que los inmaduros y con un aroma característico. ⁷

3.2 Cuantificación de compuestos bioactivos totales

El segundo bloque del proyecto se refiere a la cuantificación de los compuestos bioactivos totales encontrados en el fruto Tiliapo y Tempesquistle, los compuestos que consideramos cuantificar son aquellos que han sido los más estudiados en la literatura entre ellos están los compuestos polifenólicos en los cuales nos enfocamos en este trabajo en los fenoles, flavonoides y antocianinas , también

consideramos de gran importancia algunos compuestos liposolubles como los carotenos , ácidos grasos y compuestos coloridos como la clorofila.

En la **Tabla 13.** y en la **Tabla 14.** Se muestran los totales de dichos compuestos encontrados en la cascara y pulpa del fruto.

La **Tabla.13.** Muestra los contenidos totales de los compuestos bioactivos del fruto Tiliapo en cáscara y pulpa.

	Fenoles mg acido gálico (g muestra	Flavonoides mg catequina /g muestra	Antocianinas mg cianidina -3- glucósido /g muestra	Carotenos µg/g
Pulpa	16.00±0.06	4.08±0.62	0.40±0.02	14.88±0.38
Cascara	30.20±0.41	12.15±0.48	2.38±0.05	53.83±0.74

La **Tabla.14.** Muestra los contenidos totales de los compuestos bioactivos del fruto Tempesquistle en pulpa- cascara.

	Fenoles mg acido gálico (g muestra	Flavonoides mg catequina /g muestra	Carotenos µg/g	Clorofila total a y b µg/ml
Cascara - pulpa	30.34±2.42	7.20±0.08	122.10±1.08	a=3.75±0.02 b= 0.77±0.009 Total= 4.53±0.02

3.3 Determinación de fenoles totales en el fruto Tiliapo y Tempesquistle

En el fruto Tiliapo se determinó que el contenido de fenoles totales es de 30.20 mg de ácido gálico /g de muestra ± 0.41 en cáscara; 16.00 mg de ácido gálico /g de muestra ± 0.06 en pulpa, mientras que en el Tempesquistle se cuantificó un total de fenoles de 30.34 mg de ácido gálico /g de muestra ± 2.42 en pulpa y cascara juntas.

Los resultados obtenidos indican que existe una mayor cantidad de fenoles totales en la cascara que en la pulpa en el Tiliapo, sabemos que los fenoles son metabolitos secundarios, segregados por las plantas principalmente como un mecanismo de defensa, comparando los resultados obtenidos con diferentes autores ellos plantean que el contenido mayoritario de fenoles totales se encuentra en la cascara de los frutos. (Pérez-Nájera, 2013), (Arévalo, 2013).

Comparando ambos frutos entre sí tomando en cuenta que el Tempesquistle se cuantificaron 30.34 ± 2.42 mg de ácido gálico /g de muestra en la cascara y 16.00 ± 0.06 mg de ácido gálico /g de muestra en la pulpa; mientras que para el Tiliapo se reportan 30.20 ± 0.41 mg de ácido gálico en pulpa y cascara juntas, se observa que el aumento de fenoles totales aumenta de igual forma a la maduración del fruto, es decir, se encontró mayor cantidad de fenoles en el fruto maduro.

Varios autores como (Zea, 2012) en uno de sus artículos indica que de igual forma la mayor cantidad de compuestos fenólicos se encuentran en el fruto maduro, y explica que esto es debido a que los compuestos mono fenólicos como los ácidos fenólicos y los fenilpropanoides, son intermediarios y derivados de rutas metabólicas de fenilpiranoide y shikimato. De ahí que en la ruta biosintética de fenilpiranoides cuando se encuentra en conversión la L-fenilalanina a ácido trans-cinámico, esta reacción es catalizada por una enzima reguladora de la síntesis de fenoles llamada fenilalaninamonooxigenasa (PAL) (Salisbury F, 1996).

Esta enzima permanece inactiva durante las últimas etapas del crecimiento del fruto e inicios de la maduración favoreciendo la biosíntesis de estos compuestos fenólicos, (Arellano L, 2005) y este comportamiento ha coincidido con estudios realizados en otras frutas tropicales como zapote mamey, zapote negro, banano y mango. (Alia I, 2008) (Arellano L, 2005) (Ibrahim K, 1994) (Abu-Goukh A, 1993)

3.4 Determinación de flavonoides totales en el fruto Tiliapo y Tempesquistle

La cantidad de flavonoides totales cuantificados en la cascara y pulpa del fruto Tiliapo es de 12.15 ± 0.48 mg de catequina /g de muestra y 4.08 ± 0.62 mg de catequina / g de muestra respectivamente, los datos expresan de igual forma la

tendencia observada en fenoles totales, se aprecia mayor cantidad de estos compuestos en la cascara.

Comparando los datos obtenidos con el artículo de (Triana, 2014) en el cual se reportan 11.03 mg de catequina /g muestra en cascara y 1.98 mg de catequina /g de muestra en pulpa del fruto *Manilkara Zapota*, se observa que la mayor cantidad de compuestos flavonolicos se encuentran en la en la cáscara del fruto.

De igual forma al comparar ambos frutos entre si el inmaduro y maduro se obtuvo que hay 7.20 ± 0.08 mg de catequina /g de muestra en pulpa y cascara de Tempesquistle; y 12.15 ± 0.48 mg de catequina /g de muestra y 4.08 ± 0.62 mg de catequina / g de muestra se aprecia mayor cantidad de compuestos flavonolicos en el fruto Tiliapo.

3.5 Determinación de antocianinas totales en el fruto Tiliapo

Los datos obtenidos expresan que el fruto Tiliapo en cáscara y pulpa posee 2.38 ± 0.05 mg de cianidina-3- glucósido /g de muestra y 0.40 ± 0.02 mg de cianidina -3- glucósido /g de muestra respectivamente, es decir, existe mayor contenido de antocianinas en la cáscara que en la pulpa. En la actualidad las antocianinas son compuestos de gran importancia, esto debido a que son considerados compuestos coloridos con capacidad antioxidante.

El total de antocianinas obtenidas en el extracto de la cascara del fruto Tiliapo fue de 238.41mg de cianidina -3-glucosido/100 g de muestra comparando con los

datos reportados en la literatura de otros frutos , (Ibrahim, 2011) nos indica en su investigación que la cascará de jaboticaba tiene entre 118.66, 111.01 y 260.73 mg cianidina-3-glucosido /100g muestra esto en una muestra que fue secada por liofilización; por otra parte también se realizó la cuantificación de antocianinas totales la cascar del fruto Tiliapo fresco fue de 266.79 mg de cianidina -3-glucósido /100 g muestra , en la literatura otro autor como (Silva, 2011)nos indica que en la jaboticaba fresca obtuvo 239.27 mg de cianidina -3-glucosido /100 g muestra, en su cascara. Nuestros datos corroboran similitud en los datos obtenidos con los demostrados en la literatura.

Otro fruto que es de igual morfología al fruto Tiliapo es el acai (Arévalo, 2013) en su proyecto de tesis indica que este fruto posee 64.41 mg de cianidina-3 glucósido /100g de muestra seca, comparando con nuestros datos podemos decir que el fruto tiliapo posee mayor contenido de estos compuestos coloridos / 100 g de muestra en base seca.

Debido a que la ingesta de antocianinas se está incrementando comercialmente hoy en día y la aplicación de las antocianinas en sistemas alimenticios es cada vez más común, comparando con varios autores se podría decir que el fruto Tiliapo es una buena fuente de extracción de estos compuestos, para la industria alimentaria y a un bajo costo.

3.6 Determinación de carotenos totales para Tiliapo y Tempesquistle

Se determinó que el fruto Tiliapo contiene $14.88 \pm 0.38 \mu\text{g}$ de β -caroteno/g muestra en pulpa y $58.83 \pm 0.74 \mu\text{g}$ de β -caroteno /g muestra en cascara; el Tempesquistle en su cascara-pulpa contiene $122.10 \pm 1.08 \mu\text{g}$ de β -caroteno/g muestra, se observa que el mayor contenido de carotenos se encuentra para el fruto Tiliapo en la cascara y no en la pulpa ; comparando ambos frutos la mayor cantidad de carotenos se encuentra en el fruto inmaduro.

Generalmente el contenido de carotenos aumenta con el estado de madurez en frutos cuyo color depende de los carotenoides tales como la papaya, tomate, mango, naranja, chile entre otros y a medida que se sobrepasa la etapa de carotenogénesis, comienza la degradación de estos compuestos. (Ordóñez & Rodríguez, 2013) Sin embargo existen algunos frutos donde el color después de la maduración no es dado por los carotenoides y por lo tanto el contenido de carotenoides disminuye conforme a la maduración de los frutos. (Z.Mercadante, 2007)

Los datos de carotenos totales en el fruto Tiliapo son de $14.88 \pm 0.38 \mu\text{g}$ de β -caroteno/g muestra en pulpa y $58.83 \pm 0.74 \mu\text{g}$ de β -caroteno /g muestra en cascara; y para el fruto Tempesquistle en su cascara-pulpa se cuantificaron $122.10 \pm 1.08 \mu\text{g}$ de β -caroteno/g muestra, comparando estos datos con otros frutos tropicales que han sido estudiados (Mosquera, 2006) nos indica en su

artículo que el plátano posee $21\mu\text{g}$ β -caroteno /100g muestra , la uva $603\mu\text{g}$ β -caroteno /100g muestra ,mango $445\mu\text{g}$ β -caroteno /100g muestra ,melón $1.59\mu\text{g}$ β -caroteno /100g muestra ,naranja $51\mu\text{g}$ β -caroteno /100g muestra ,sandia $295\mu\text{g}$ β -caroteno /100g muestra y la pera $27\mu\text{g}$ β -caroteno /100g muestra.

Se sabe que la mayor cantidad de estos pigmentos liposolubles se encuentran en menor cantidad cuando el fruto aun no alcanza su estado de madurez esto debido a que se sabe que los carotenoides acompañan a la clorofila hasta que el tejido del fruto madura, cuando ocurre la maduración el contenido de carotenoides aumenta debido a que se ha perdido clorofila._(Meléndez-Martínez, 2004) ⁸

3.7 Determinación de clorofila total para Tempesquistle

La cuantificación de clorofila total solo se realizó al fruto inmaduro, esto debido a que la clorofila es un pigmento que se encuentra principal mente en frutos y vegetales de color verde por lo tanto solo se consideró la determinación para el Tempesquistle.

Se determinó que el fruto Tempesquistle posee $3.75\pm 0.02\mu\text{g}$ / ml de clorofila a, $0.77\pm 0.009\mu\text{g}$ / ml de clorofila b y $4.53\pm 0.02\mu\text{g}$ /ml de clorofila total en cascará-pulpa.

Expresando los datos obtenidos con otras unidades decimos que en el fruto Tempesquistle se cuantifico $375.79\mu\text{g/g}$ de muestra de clorofila a, $77.75\mu\text{g/g}$ de

muestra de clorofila tipo b y $453.55\mu\text{g} / \text{g}$ de muestra de clorofila total en el fruto, comparando con alimentos de pigmentos verdes (A., Vanesa, & Inés) este autor expone que el contenido de clorofila total en lechugas en diferentes tiempos de cosecha (invierno, verano e invierno residual) son de $355.8\mu\text{g}/\text{g}$ de muestra, $573.8\mu\text{g}/\text{g}$ de muestra y $229.0\mu\text{g}/\text{g}$ de muestra respectivamente, podemos decir que el fruto Tempesquistle posee $100\mu\text{g}$ menos de clorofila total que la lechuga estudiada por este autor.

También el contenido de clorofila tipo a y b del fruto Tempesquistle fueron comparados con los reportados por (Gallegos & Nieto, 2012) en donde indica que cuantifico el contenido de clorofila tipo a y b en habas a una cierta cantidad de cadmio, tomando los datos que obtuvimos solo como comparativo el fruto Tempesquistle se encuentra por debajo a los valores obtenidos de clorofila total en habas por este autor.

La coloración que presentan algunos frutos es un criterio que se usa comúnmente para determinar la madurez de este. (Glasson, 1998). La transformación más importante de un fruto es la degradación del color verde, la cual se asocia a la síntesis de pigmentos amarillos (carotenoides) y rojos-morados (antocianinas). (Kays, 2004)

3.8 Identificación de compuestos bioactivos

La tercera etapa del proyecto se basa en la identificación de algunos de los compuestos bioactivos que se cuantificaron en la segunda etapa. Los compuestos que se identificaron son: la antocianina perteneciente a la cascara del fruto Tiliapo y la presencia de compuestos terpenicos en el fruto.

3.8.1 Identificación de la antocianina del Tiliapo por CCF

La cromatografía de capa fina es una técnica rápida, económica y sencilla para determinar la presencia de algún compuesto químico. Por lo cual se realizó una cromatoplaqueta de sílice con el extracto de antocianina y se obtuvo lo siguiente:

Figura.21.

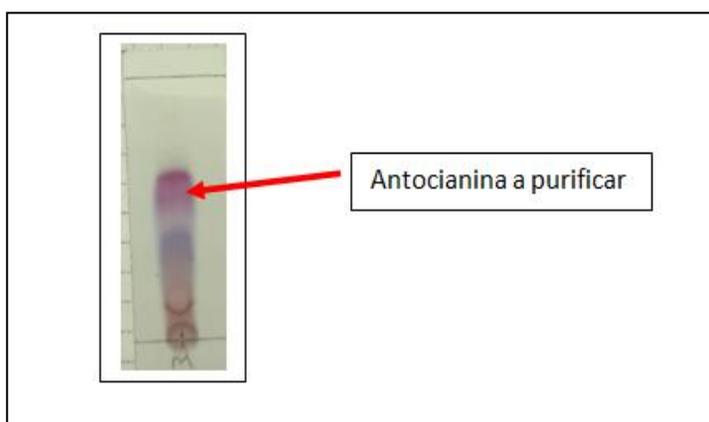


Figura.21. Muestra del extracto de antocianina del Tiliapo en placa de sílice. Eluida con BAA (butanol/agua/ácido acético) (6:3:1)

La placa mostró dos diferentes coloraciones morada en la parte de abajo y en la parte superior una coloración violeta. Se decidió que la antocianina a purificar y caracterizar sería la de coloración violeta, la cual obtuvo un Rf de 0.74.

3.8.2 Identificación y purificación de la antocianina en la cascara del fruto Tiliapo

Posteriormente se realizó la purificación del extracto de la antocianina con Amberlita XAD-7HP y posteriormente con una columna de Sephadex LH-20 de la cual se obtuvieron 30 fracciones, se realizó nuevamente una cromatoplaaca de sílice la cual fue eluida con BAA. (butanol / agua: / ácido acético) en una proporción (6:3:1).

Los números indican el nuevo reagrupamiento de las fracciones dando lugar a solo 8 fracciones nuevas. **Figura.22.**

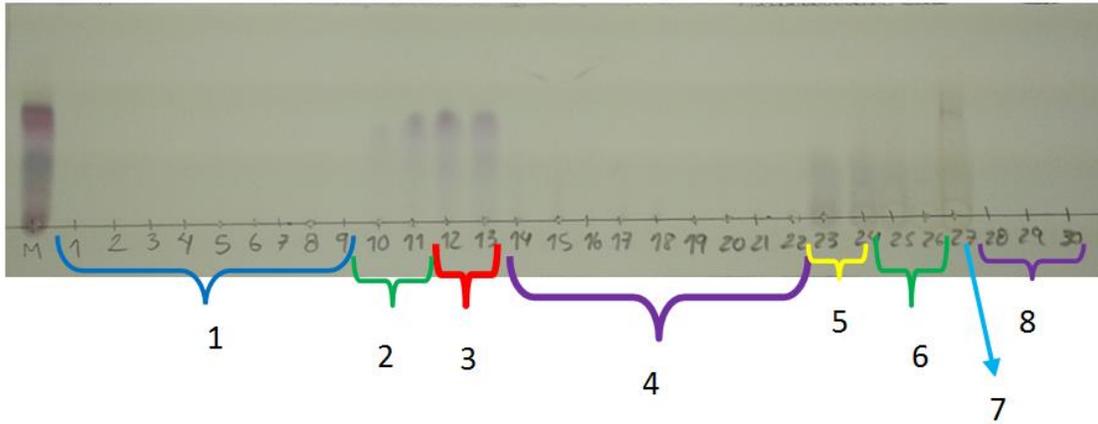


Figura 22. Cromatopla de sílice, fracciones obtenidas de la columna de Sephadex LH-20 y la nueva agrupación en 8 fracciones.

Se muestran todas las fracciones y el agrupamiento que se realizó para obtener menos fracciones, nuestras fracciones de interés corresponden a la fracción 2 y 3. De igual forma fue eluida con BAA.

Se realizó nuevamente una cromatopla de sílice con las nuevas fracciones en la **Figura .23** se muestran las 8 fracciones finales del extracto purificado de la antocianina, y además hacemos relevante que la fracción 3 es la adecuada para realizar la caracterización de la antocianina encontrada en el extracto de la cascara del fruto Tiliapo, fue elegida ya que es la que presenta una mejor coloración y definición de separación.

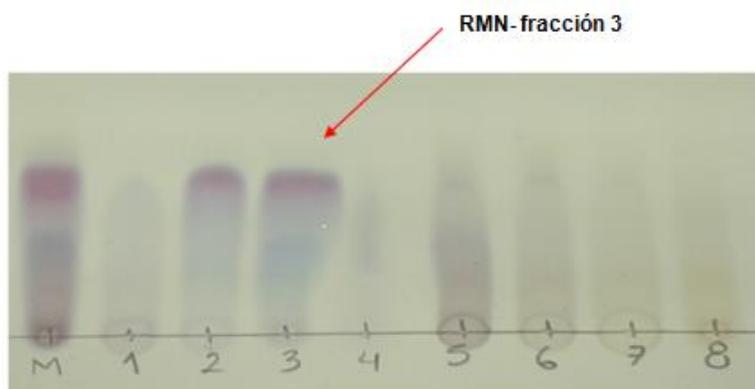


Figura 23. Cromatoplaqueta de las 8 fracciones finales del extracto purificado. La fracción 3 corresponde a la fracción que se analizó por RMN.

La fracción 3 presenta una coloración morada, lo cual nos indica que se puede tratar de la cianidina, malvidina o peonidina, se consideró tomar la fracción como la muestra ideal para llevar a analizar a RMN debido a que es la fracción que presenta mayor pigmentación, por lo tanto, deducimos que es la fracción donde se encuentra mayor contenido de la antocianina.

Esta fracción obtuvo un R_f 0.76, lo cual nos indica que se trata de una antocianina no acilada, consultando en la literatura la Tesis de la M.C María Fernanda (Aulis M. F., 2014) en donde se indica que una antocianina es acilada cuando posee un R_f menor de 0.52 y es no acilada cuando el R_f es mayor a este valor. Nuestro valor de R_f obtenido es mayor a 0.52 por lo tanto corresponde a una antocianina acilada.

También se expresa que cuando una antocianina posee un R_f entre 0.77 y 0.93 corresponde a una antocianina monoglicosilada (Aulis M. F., 2014), comparando

nuestro dato de R_f de 0.76 podemos decir que se trata de una antocianina monoglicosilada pudiéndose tratar de la malvidina, cianidina o peonidina pero aun no sería posible decir con exactitud de que antocianina se esté tratando. Para poder identificar correctamente de qué tipo de antocianina se trata se mandó la muestra de la fracción 3 a RMN.

3.8.3 Identificación de la antocianina del fruto Tiliapo por RMN

Una vez analizada la muestra de la fracción 3 en RMN se obtuvo el siguiente espectro. **Figura.24.**

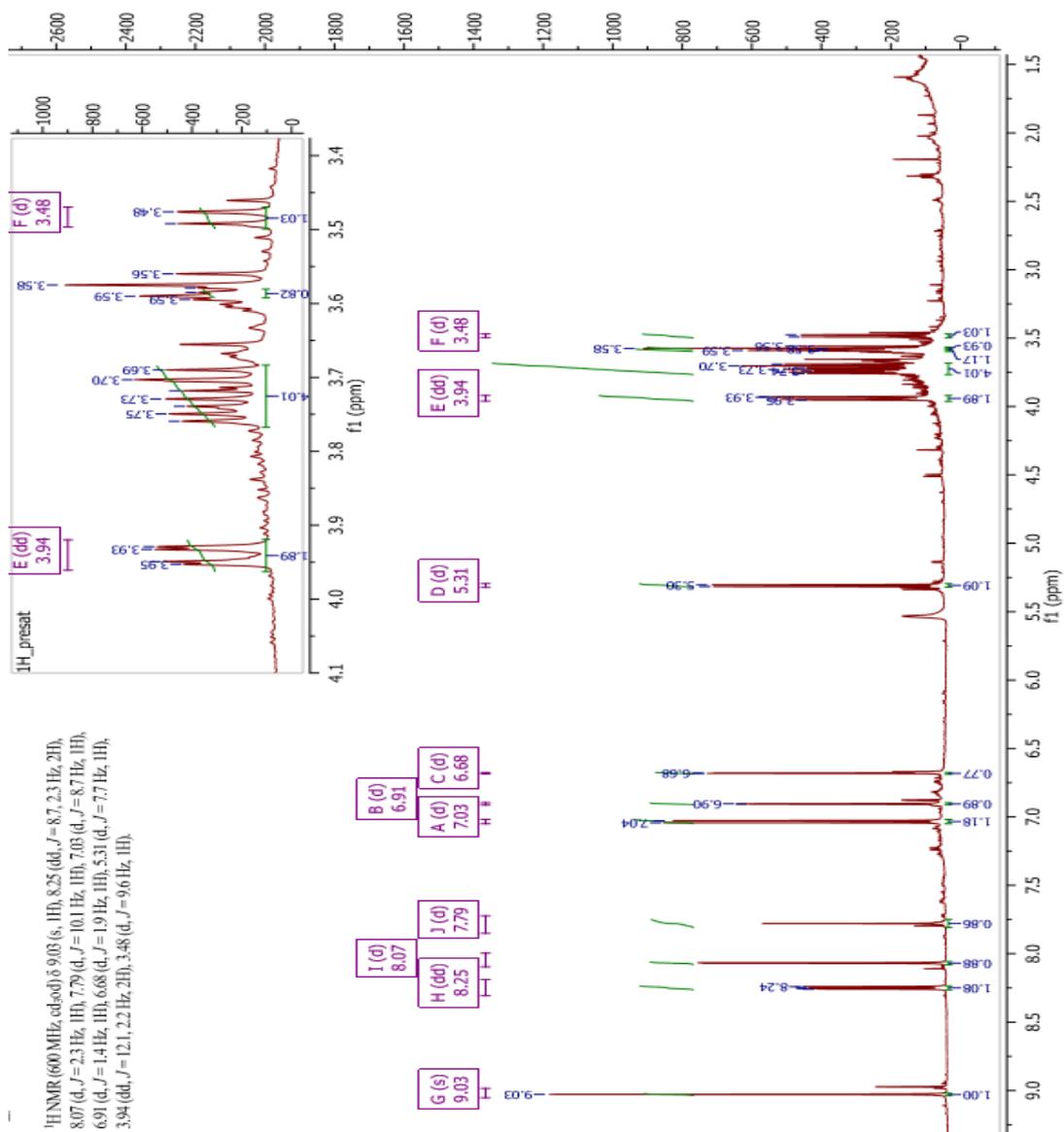


Figura.24. Espectro de RMN ¹H de la antocianina acilada del fruto Tiliapo.

El espectro muestra las 6 señales características de un espectro de antocianinas, según al desplazamiento y a los patrones de acoplamiento se observan las siguientes señales:

	¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) δ (ppm)	¹³ C (150 MHz, CD ₃ OD) δ (ppm)
4	9.03 <i>s</i>	135.45
6	6.68 <i>d</i> (1.9)	101.84
8	6.91 <i>d</i> (1.4)	93.56
2'	8.07 <i>d</i> (2.3)	116.94
5'	7.03 <i>d</i> (8.7)	115.89
6'	8.25 <i>dd</i> (8.7,2.3)	126.68
1''	5.31 <i>d</i> (7.7)	102.16
2''	3.64-3.67 <i>m</i>	69.50
3''	3.58- 3.60 <i>m</i>	77.14
4''	3.56-3.59 <i>m</i>	76.58
5''	3.69-3.72 <i>m</i>	73.20
6''	3.94 <i>dd</i> (12.1,2.2)	60.75

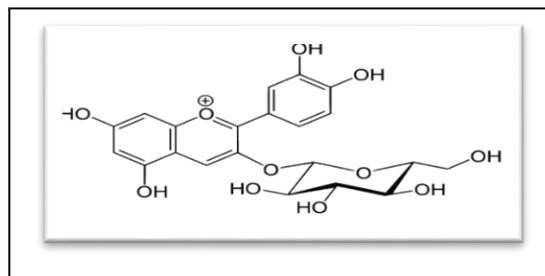


Figura.25. Estructura de la cianidina -
3 -glucósido

Tabla.15. Señales del espectro de RMN correspondientes a la antocianina del fruto Tiliapo.

En el desplazamiento de 9.03 ppm se observa una señal característica de la presencia de un grupo aromático, señal característica de la presencia de una antocianina. En el desplazamiento 5.31 ppm se observa una sola señal lo cual nos indica que se trata de una antocianina monoglicosilada, también es posible observar que en el desplazamiento de 3.5 a 4.0 se logran apreciar muchas señales las cuales se sabe son correspondientes al azúcar que se encuentra

pegada a la antocianina, no sabemos qué tipo de azúcar sea, pero la molécula más común es de glucosa.

Para obtener una mejor visión del espectro obtenido en RMN, este se comparó con un espectro obtenido de una antocianina purificada del fruto Capulín, en donde se describe que la antocianina aislada en el fruto capulín se trata de la Cianidina-3-O- β -glucopiranosido.

El espectro se muestra en la siguiente **Figura.26**. Se utilizó este espectro solo como ejemplo de comparación de las señales más características que presenta esta molécula.

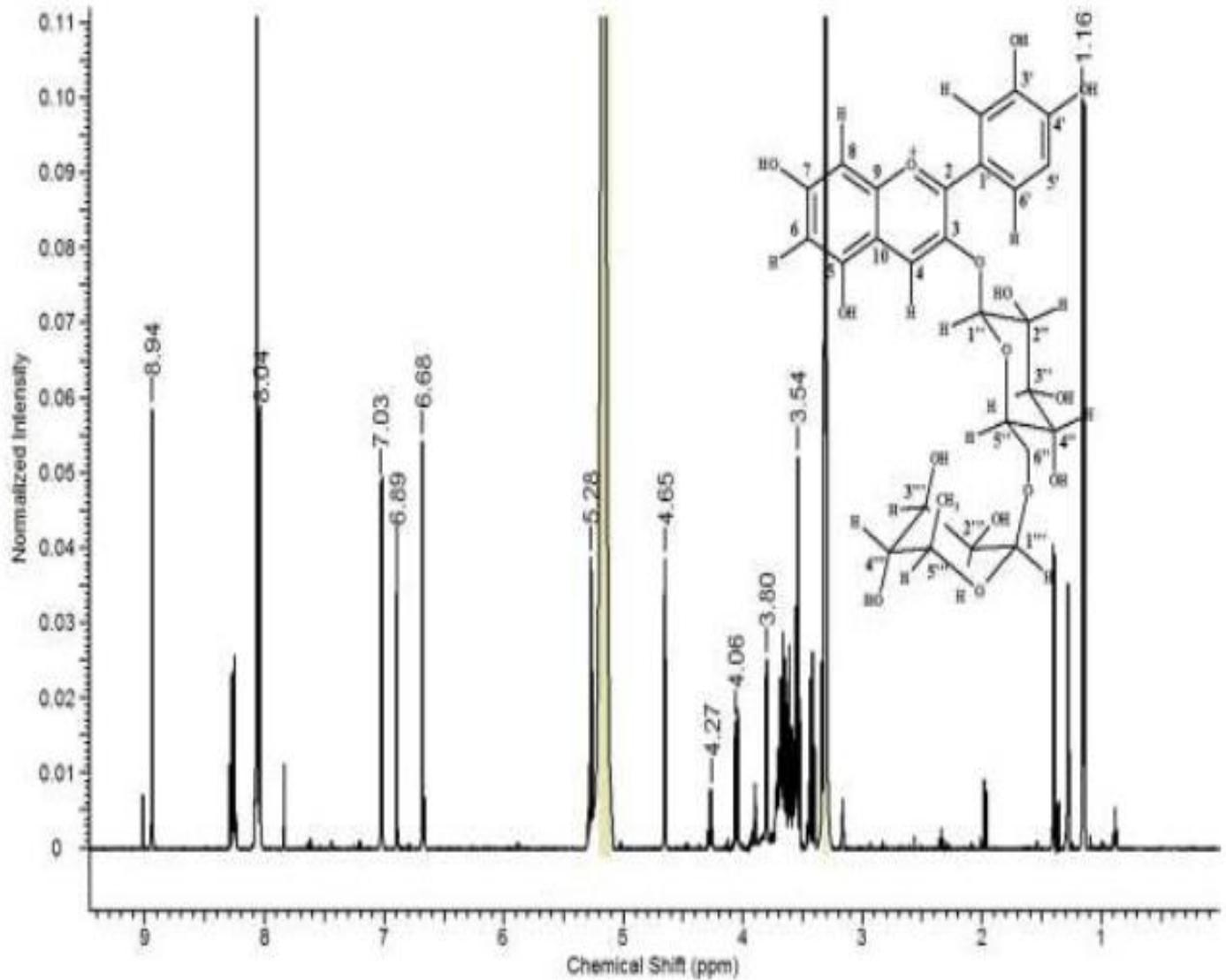
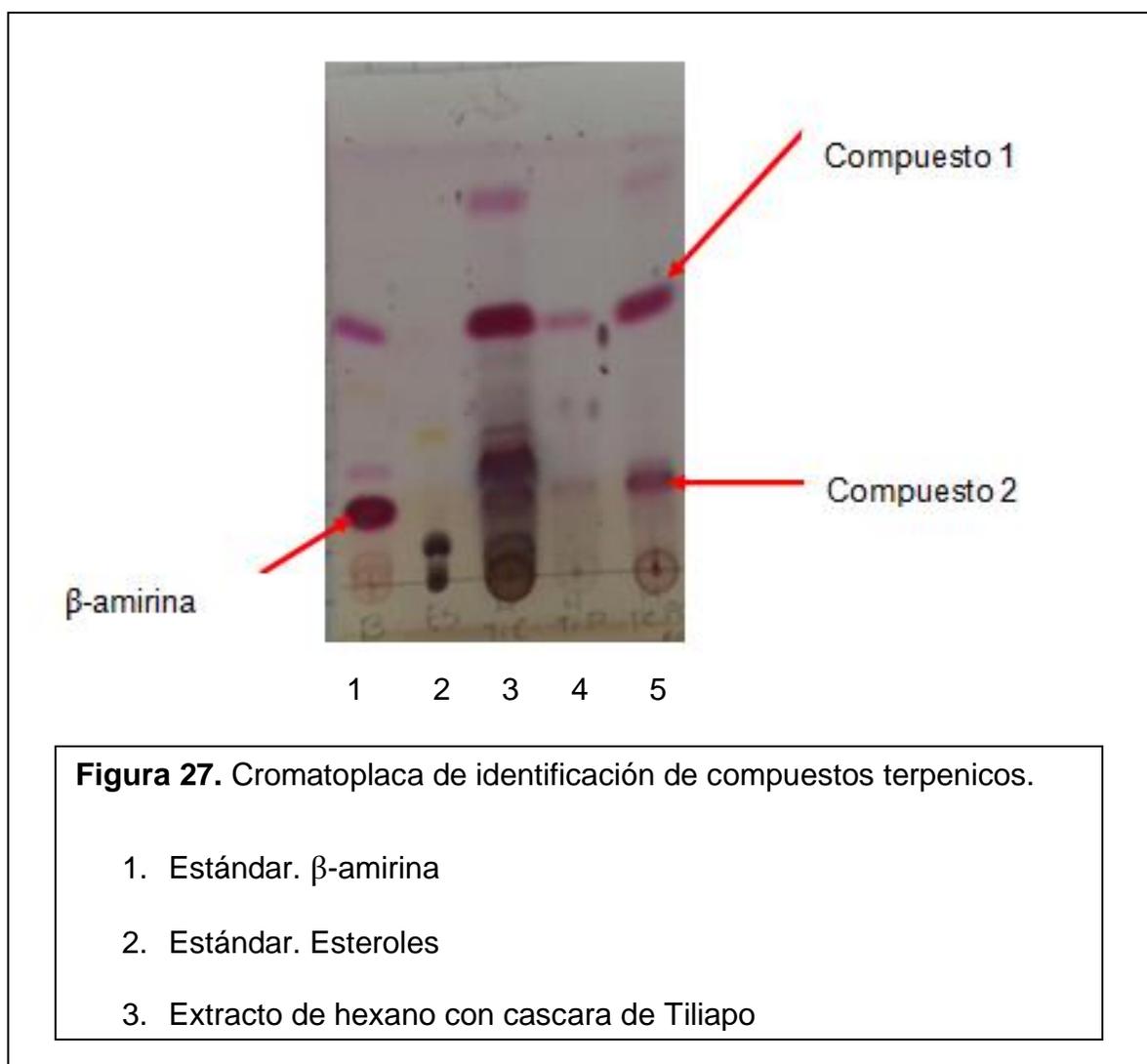
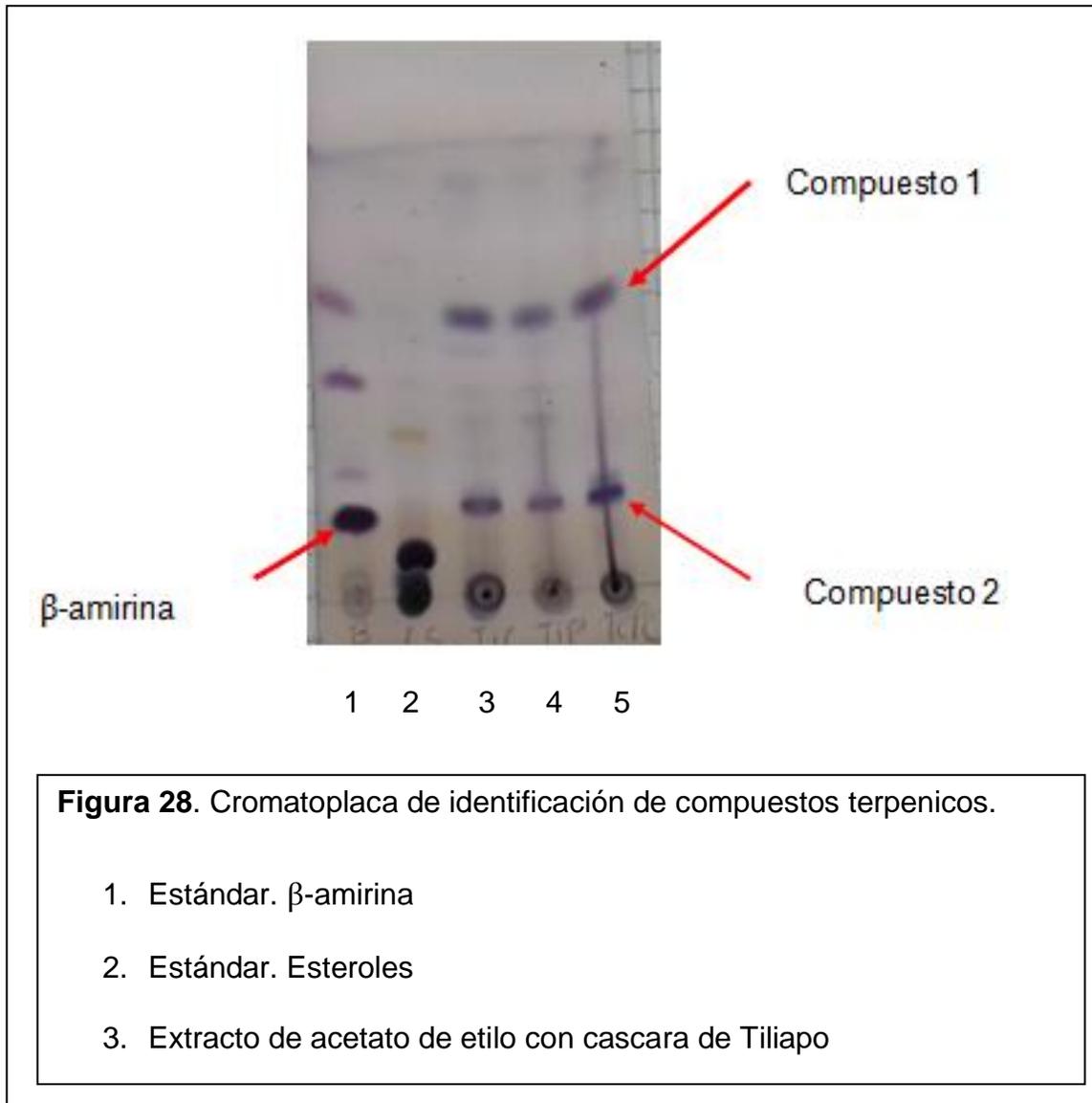


Figura.26. Espectro RMN-1H de la antocianina 1 aislada del fruto de Capulí. Bruker AMX-500, metanol-d₄-TFAd1 (19:1, v/v).

3.9 Identificación de compuestos terpenicos

Otro de los objetivos particulares de este proyecto era determinar si se encontraba algún tipo de compuesto terpenicos, para la identificación de estos compuestos se realizó una cromatoplaaca de sílice, usando como estándares β -amirina, esteroides y copal, la cual fue eluida con la fase móvil de hexano: acetato de etilo en una proporción de (9:1) y reveladas con Anisaldehído. Las muestras analizadas fueron pulpa y cascara del fruto Tiliapo y cascara –pulpa del Tempesquistle. **Figura.27 y 28.**

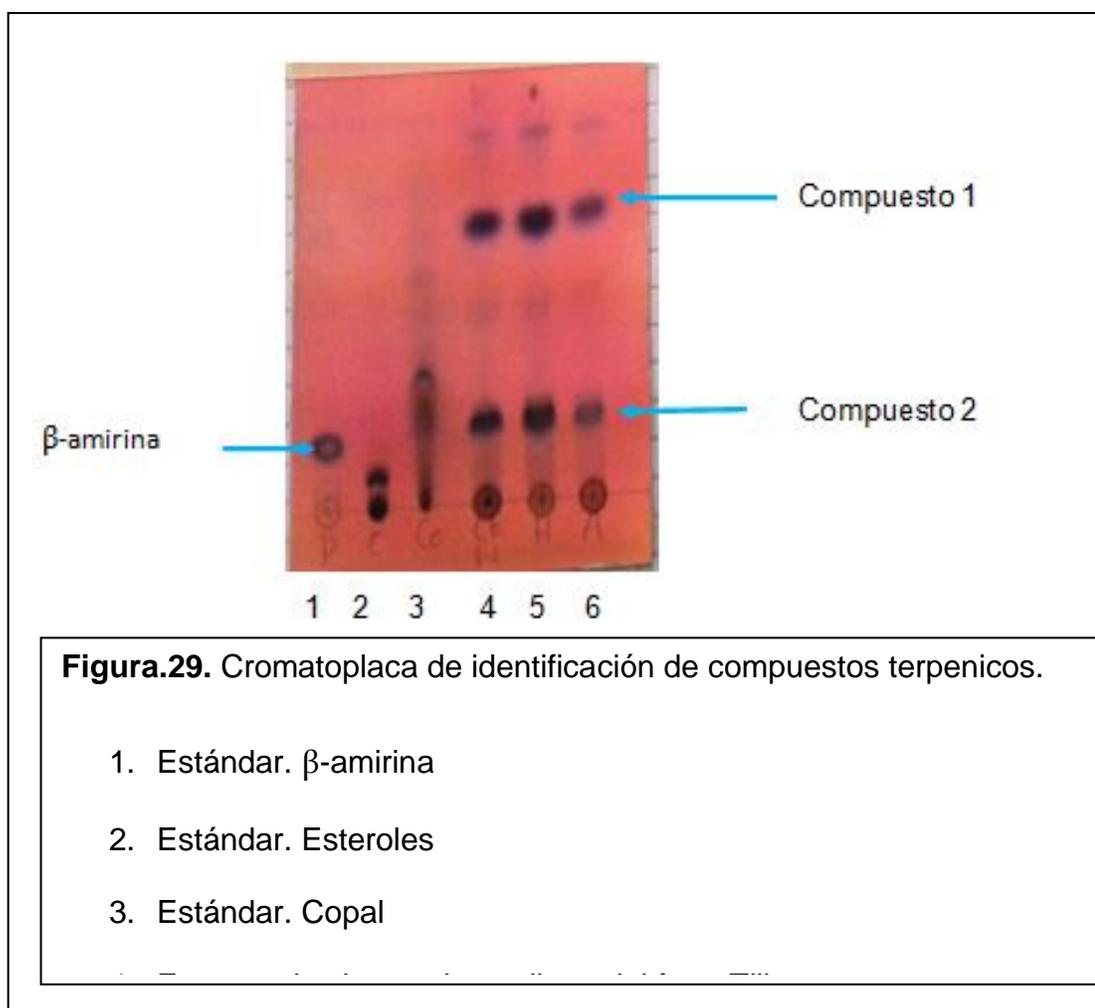




Las cromatoplaças demostraron que efectivamente existe un compuesto de carácter terpénico, consideramos que podría tratarse de β -amirina, ya que a simple vista se aprecia que poseen un Rf similar. A demás comprobamos que este compuesto terpénico se encuentra en la cascara y pulpa del fruto en su estado

inmaduro y en su estado de madurez, lo cual nos indica que es un fruto que posee en gran cantidad este tipo de compuesto.

Posteriormente se realizaron tres extractos del fruto Tiliapo el cual solo fue deshuesado. Se macero una parte con hexano, otra con acetato de etilo y una más con cloruro de metileno. Se realizó una nueva cromatoplaca la cual se muestra en la **Figura.29**.



En la cromatoplaque se aprecia que el compuesto que en un principio se consideraba β -amirina se encuentra un poco más abajo su Rf que el que muestran los compuestos identificados en los extractos. Por tal motivo se realizó una columna para así poder separar estos dos compuestos que desde un inicio se observan muy marcados en las placas de sílice.

La **Figura 30**. Muestra los resultados de las fracciones en donde se aprecia la separación de los compuestos de interés.

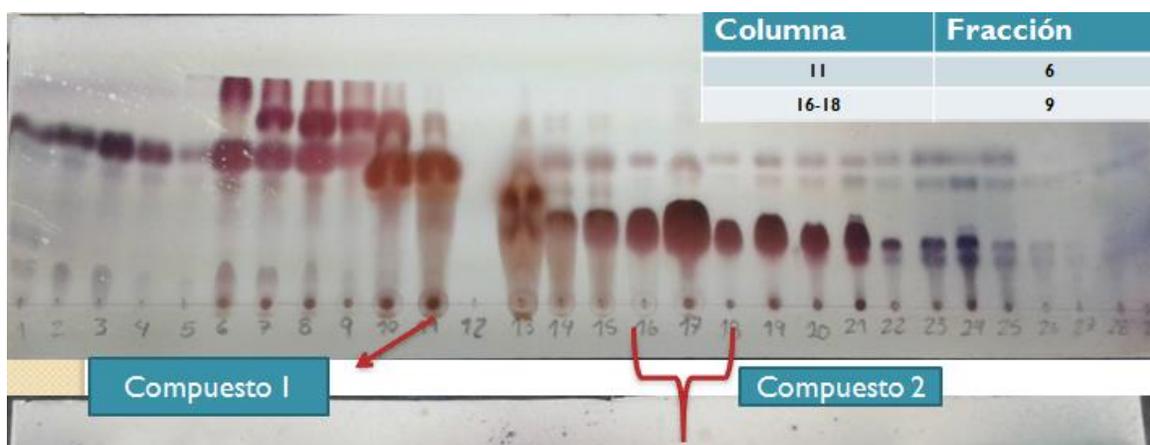


Figura.30. Cromatoplaque de la columna de separación para compuestos

La placa de sílice muestra que efectivamente se logró la separación de los dos diferentes compuestos, los cuales fueron mandados a RMN para así poder tener una mejor precisión de qué tipo de compuestos terpenicos se trata y además descartar definitivamente la opción de que se trate de la β -amirina.

3.10 Identificación de los principales ácidos grasos encontrados en la semilla del fruto Tiliapo y Tempesquistle. Cromatografía de Gases.

La última etapa del proyecto es la realización del perfil de ácidos grasos de ambas semillas del fruto maduro e inmaduro, para lo cual las semillas fueron secadas durante 3 meses en una estufa a 100°C, posteriormente fueron molidas y maceradas en hexano para obtener la extracción de aceite, al cual posteriormente se le realizó un tratamiento de saponificación y esterificación.

Para realizar el perfil de ácidos grasos se utilizó el equipo de Cromatografía de gases y el tratamiento de datos se llevó a cabo comparando los tiempos de retención obtenidos en el Cromatógrafo de gases de cada una de las muestras, con los tiempos de retención obtenidos con las dos curvas de ácidos grasos que se usaron como estándar. Y la cuantificación de estos ácidos grasos fue realizada por normalización del área. La **Tabla.10** y **Tabla 11** muestran los ácidos grasos pertenecientes a cada una de las curvas.

La **Tabla .16**. Ácido graso presentes en la curva GLC 10.

Ácido graso	
C: 16	Acido palmítico
C: 18	Acido esteárico
C: 18:2	Ácido oleico
C: 18:1	Ácido linoleico
C: 18:3	Ácido γ -linolenico

La **Tabla.17.** Ácidos grasos presentes en la curva GLC50.

Ácido graso	
C: 16:1,	Ácido palmitoleico
C: 18:1	Ácido oleico
C: 20:1	Ácido eicosanoico
C: 22:1	Ácido erucico

El espectro obtenido para la semilla del fruto Tiliapo es el que se muestra en la **Figura.31.** y la **Figura 32.** Muestra el espectro obtenido para la semilla del fruto

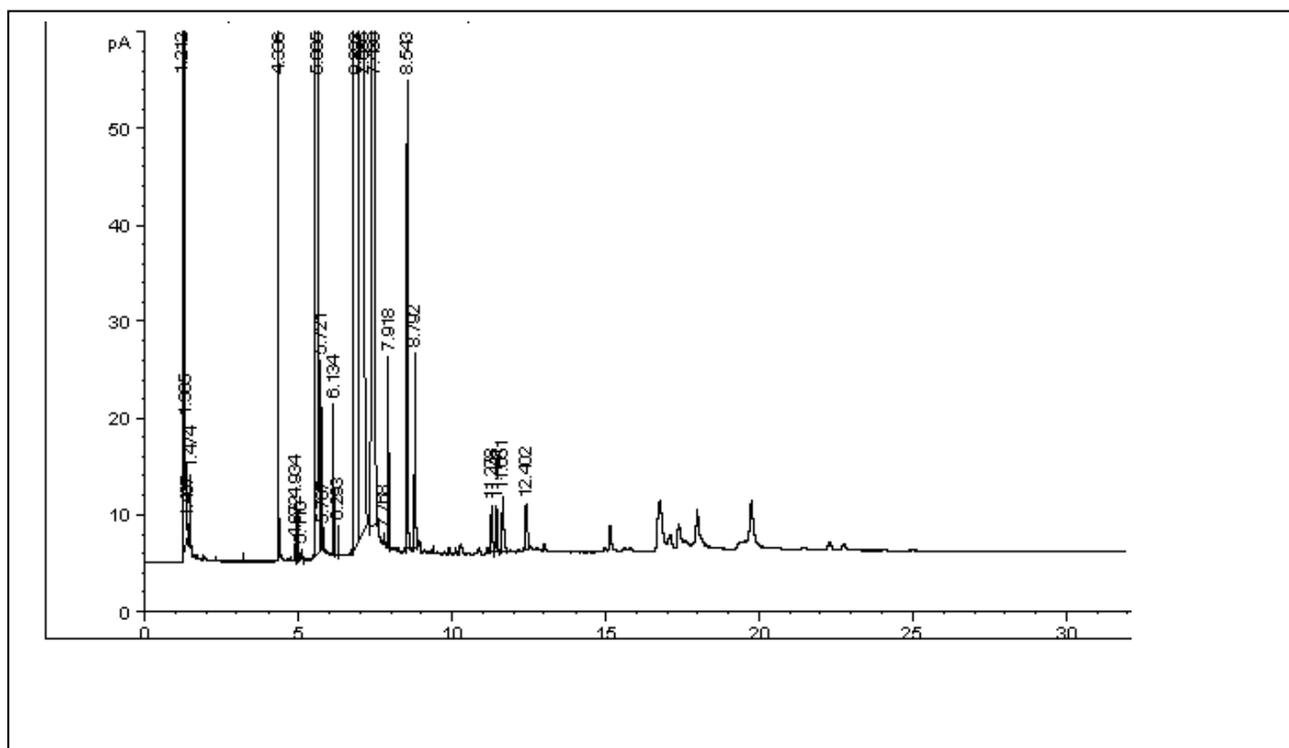


Figura. 31. Espectro obtenido de la lectura en el Cromatógrafo de gases de la muestra del aceite esterificado del fruto Tiliapo.

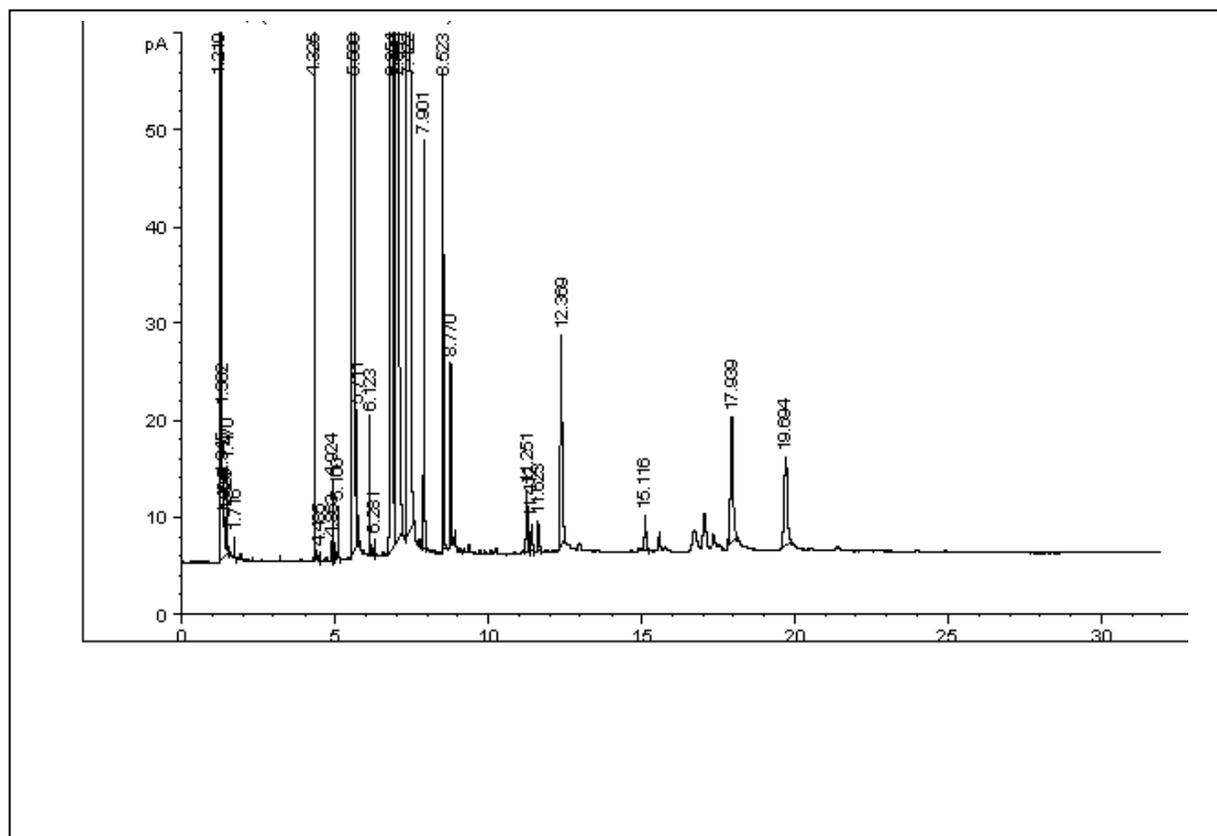


Figura.32. Espectro obtenido de la lectura en el Cromatógrafo de gases de la muestra del aceite esterificado del fruto Tempesquistle.

En la **Tabla 8.** Se muestra el perfil de ácidos grasos para el aceite de la semilla del fruto Tiliapo.

Ácido graso	Nombre	g ácido graso /100 g de extracto etéreo	DE
C:16:0	Ácido palmítico	17.24	1.26
C:16:1	Ácido palmitoleico	0.25	0.01
C:18:0	Ácido esteárico	7.42	0.54
C:18:1	Ácido oleico	26.44	1.98
C:18:2	Ácido linoleico	17.74	1.17
C:18:3	γ -linolenico	0.33	0.01
C: 20:1	Ácido eicosanoico	0.26	0.01
C:22:1	Ácido erucico	0.20	0.01

El aceite de la semilla del fruto Tiliapo presentó en mayor cantidad los siguientes ácidos grasos ; 26.44g de ácido oleico /100 g de extracto etéreo, 17.74 g de ácido linoleico /100g de extracto etéreo , 17.24g de ácido palmítico /100 g de extracto etéreo y 7.42 g de ácido esteárico / 100 g de extracto etéreo , también se detectó la presencia de ácido palmitoleico , ácido γ - linolenico , ácido eicosanoico y ácido erucico estos últimos mencionados en una proporción de entre 0.20-0.33 g de ácido graso correspondiente / 100 g de extracto etéreo.

En la **Tabla.19**. Se muestra el perfil de ácidos grasos para el aceite de la semilla del fruto Tempesquistle

Ácido graso	Nombre	g ácido graso / 100 g de extracto etéreo	DE
C:16:0	Acido palmítico	15.97	0.54
C:16:1	Ácido palmitoleico	0.18	0.009
C:18:0	Acido esteárico	5.15	0.18
C:18:1	Ácido oleico	15.96	0.55
C:18:2	Ácido linoleico	15.58	0.54
C:18:3	γ -linolenico	0.40	0.01
C:20:1	Ácido eicosanoico	0.20	0.02
C:22:1	Ácido erucico	0.16	0.007

El aceite de la semilla del fruto Tempesquistle presenta en mayor cantidad los siguientes ácidos grasos; 15.97g de ácido palmítico/ 100 g de extracto etéreo, 15.96 g de ácido oleico /100 g de extracto etéreo, 15.58 g de ácido linoleico /100 g de extracto etéreo, 5.15g de ácido esteárico /100 g de extracto etéreo , también se detectó la presencia de ácido palmitoleico, γ -linolenico , ácido eicosanoico y ácido

eucico en una proporción de 0.16-0.40 g del ácido graso correspondiente /100 g de extracto etéreo.

Comparando los dos perfiles de ácidos grasos del Tiliapo y del Tempesquistle, se apreciaron diferencias entre la presencia y contenido de ácidos grasos, esto tal vez debido a que a pesar de tratarse del mismo fruto el aceite de cada semilla es diferente ya que uno está en su etapa inmadura y el otro en su etapa madura.

Se aprecia que el contenido de ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido eicosanoico, y ácido erucico se encuentran en mayor cantidad en el fruto Tiliapo que en el Tempesquistle, y el ácido γ -linolenico es el único que se detectó en mayor cantidad en el Tempesquistle que en el Tiliapo.

De igual forma se confirmó que los ácidos grasos presentes en mayor cantidad en el Tiliapo y Tempesquistle son el ácido oleico, ácido linoleico, ácido palmítico y ácido esteárico principalmente.

Estrada es una autora que realizó un perfil de ácidos grasos para *Pouteria sapota* indicando que la principal composición es de 4 ácidos grasos principalmente, ácido oléico (es el que se encuentran en mayor cantidad), ácido esteárico, ácido linoleico y ácido palmítico (Estrada, 2012). Comparando ambos frutos de la familia Sapoteacea *Pouteria sapota* (mamey) y *Sideroxylon Palmeri* (Tiliapo /Tempesquistle) podemos decir que se podrían considerar a estos ácidos grasos como los más descriptivos para esta familia ya que en ambos frutos se perciben

en mayor cantidad. La única diferencia existente es la proporción en la que se encuentran cada uno, en el mamey el ácido graso que se encuentra en la mayor cantidad es el ácido oleico mientras que en el Tiliapo/Tempesquistle también se detectó al ácido oleico en mayor cantidad en comparación con los otros ácidos grasos solo que en menor cantidad en comparación con lo reportado para el mamey.

Un fruto similar morfológicamente y visualmente al Tiliapo es el fruto jaboticaba (*Myrcionaria cualiflora*) con el cual se realizó una gráfica comparativa que se muestra en la **Figura.33**. En donde se muestran los datos reportados por (Neuza, 2011).

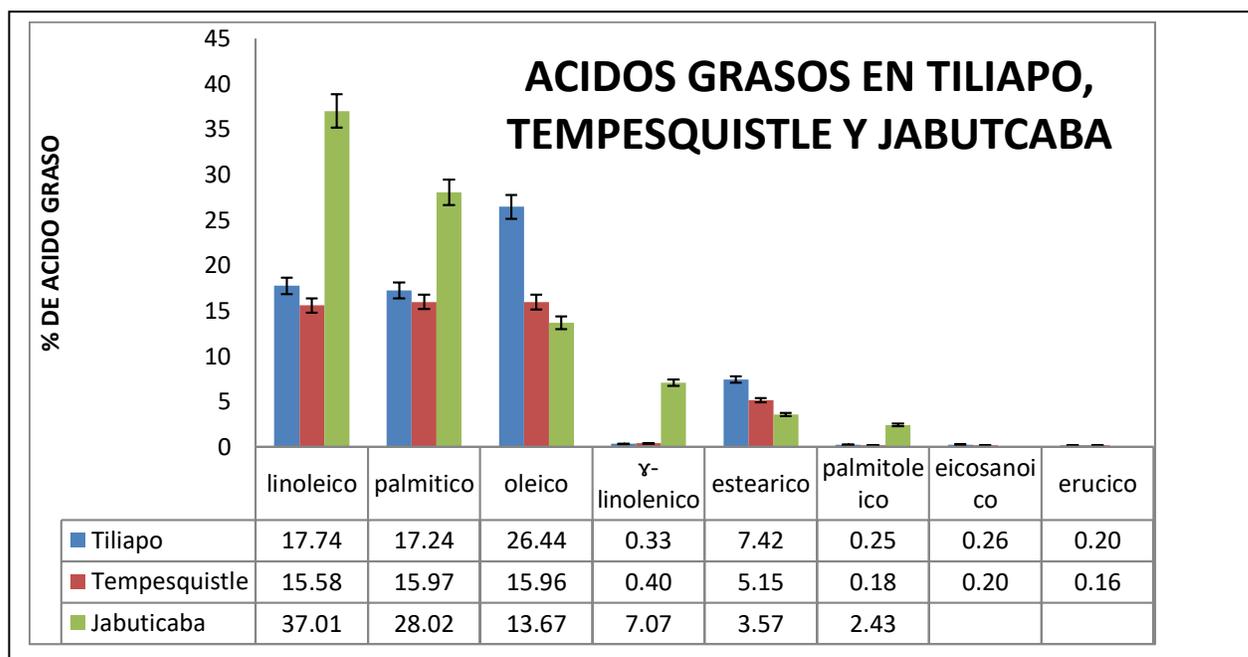


Figura.33. Tiliapo /Tempesquistle datos obtenidos experimentalmente en el proyecto. Jaboticaba reportados por (Neuza, 2011).

Comparando los perfiles de ácidos grasos de ambos frutos Jaboticaba y Tiliapo /Tempesquistle podemos decir que se encuentran los mismos ácidos grasos, solo varía la cantidad de estos en cada fruto y que además en la jaboticaba no se encuentra la presencia de ácido eicosanoico y ácido erucico.

A parte podemos decir que para la jaboticaba el ácido graso que se encuentra en mayor proporción es el ácido linoléico y el ácido palmítico, mientras que para el Tiliapo y Tempesquistle los ácidos en mayor proporción son el ácido oléico, el ácido linoléico y el ácido palmítico. De igual forma se percibe que el ácido esteárico se encuentra en proporciones similares en ambos frutos (jaboticaba y Tiliapo/Tempesquistle). El ácido α -linolenico se encuentra en una proporción mayor en el fruto jaboticaba en comparación con lo obtenido en el fruto Tiliapo /Tempesquistle.

De igual forma se compararon los datos del Tiliapo /Tempesquistle con los reportados por (Ceron, 2012) en el cual el muestra el perfil de ácidos grasos en tres diferentes frutos maracuyá, lulo y mora. En la **Figura.34** se muestra una gráfica comparativa, con los datos expresados por este autor.

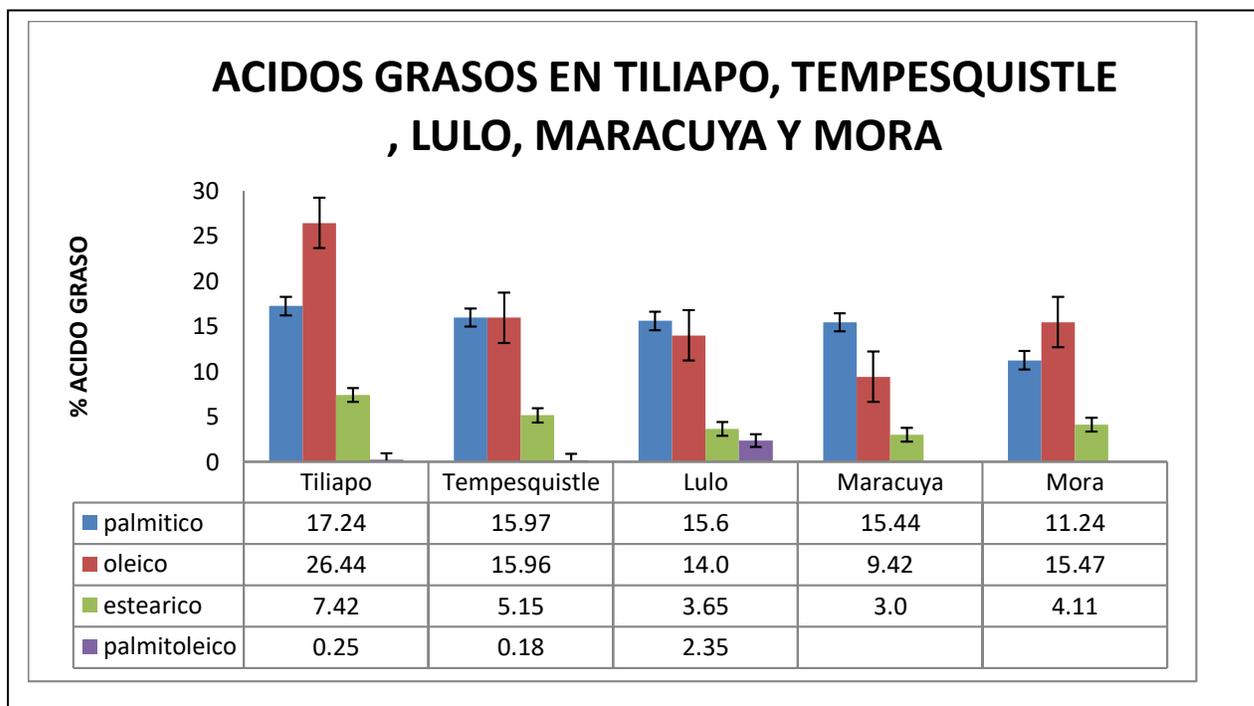


Figura.34. Grafica comparativa de fruto Tiliapo/Tempesquistle (datos obtenidos en el proyecto) con 3 frutos de diferente especie Lulo, Maracuyá y Mora (datos reportados

Podemos apreciar que para el Tiliapo el ácido graso que se encuentra en mayor cantidad es el ácido oléico, y que el ácido palmítico se encuentra en los 5 frutos en una proporción similar, también se hace notar que el ácido esteárico se encuentra en baja concentración en las 5 frutas y solo en el fruto Lulo es en donde se aprecia la mayor cantidad de ácido palmitoleico. Mientras que en el fruto maracuyá y en la mora no se reportan datos de la presencia de ácido palmitoleico.

CONCLUSIONES

Se extrajeron y cuantificaron los compuestos bioactivos como fenoles totales, flavonoides totales, antocianinas totales, carotenos totales en el fruto Tiliapo y Tempesquistle en cascará y pulpa, además se extrajo y se cuantificó la clorofila total en el fruto Tempesquistle.

Se llevó a cabo la purificación e identificación por CCF y RMN de una de las antocianinas presentes en la cascara del fruto Tiliapo.

Se identificó la presencia de compuestos terpenicos en el fruto Tiliapo en el extracto de cloruro de metileno por medio de CCF, y se logró aislar dos compuestos presentes en el fruto Tiliapo, los cuales presentan un comportamiento similar al de un terpeno. Los compuestos fueron llevados a un análisis por RMN para su futura caracterización e identificación.

Se extrajo el aceite de la semilla del fruto Tiliapo y Tempesquistle. Se obtuvo un posible perfil de ácidos grasos en el cual al comparar con la literatura es congruente decir que la mayor cantidad de ácidos grasos correspondiente en este fruto en su estado maduro y en su estado inmaduro corresponde a los ácidos grasos, oleico, linolenico, palmítico y esteárico.

PERSPECTIVAS

Se tiene pensado seguir identificando el grupo faltante de antocianinas y su caracterización, así como su cuantificación total de cada una de ellas. Se desean extraer antocianinas para proyectos en los cuales se realicen reacciones de esterificación a ellas y así poder obtener una antocianina más estable a diversos factores para que en un futuro se pueda usar este pigmento natural y aplicarlo a la industria alimenticia.

Además de la identificación de más compuestos terpénicos, ya que se observa que estos frutos tienen una alta presencia de estos compuestos, los cuales son de alta importancia en la industria farmacológica.

También se desea analizar las posibles resinas que se encuentran en este fruto.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

A Guzmán, N. y. (1989). Tecnología de frutas y hortalizas . *Unisur Bogotá* , 200.

A., D. P., Vanesa, R. G., & Inés, S. d. (s.f.). Cambios producidos en el contenido de sustancias bioactivas (clorofilas totales y carotenoides) en lechuga (*Lactuca sativa* L). *Instituto de Ciencias Químicas. Facultad de Agronomía y Agroindustrias. Universidad Nacional de Santiago del Estero.*

Abu -Goukh, a.-S. A. (1993). Compositional changes during mango fruit Ripening. 33-51.

- Abu-Goukh A, A.-S. A. (1993). Compositional changes during mango fruit Ripening. *J Agr Sc* , 1(1):33-51.
- Alia I, S. C. (2008). Temperaturas de almacenamiento en frutos de mamey Pouteria sapota . *Revista Chapingo .Serie Horticultura* , 6(1):73-78.
- Amstrong, F. B. (1982). *Bioquímica*. Barcelona: Reverte S.A.
- Arellano L, S. C. (2005). Biochemical and physiological changes during ripening of black sapote fruit (Diospyros digyna Jacq.). *Agrociencia* , ;39(2):173-181.
- Arévalo, F. M. (2013). Efecto de compuestos no fenólicos en la capacidad antioxidante en açai (Euterpe oleracea) y jabuticaba (Myrciaria Cauliflora).
- Asterideas. (2010). Diversidad Vegetal Biotaxonomica de Spermatofitos. (págs. 27-32). Corriente Argentina: Universidad Nacional delNordeste -Facultad de Ciencias exactas , Naturales y Agrimensura.
- Aulis, M. F. (2014). *Identificación y cuantificación de antocianinas aciladas de plantas enémicas de México (maíces y salvias)*. México.
- Aulis, Q. M. (2014). *Identificacion y cuantificacion de antocianinas aciladas de plantas endemicas de México (maices y salvias)*. México.
- Badui, S. (2006). *Química de los Alimentos*. México: Pearson.
- Bhathena S.J., V. M. (2002). Beneficial role of dietary phyestrogens in obesity and diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition* , 76(6): 1191-1201.
- Byrd-Bredbenner, C. (2006). *Wardlaw: Perspectivas en nutricion*.
- Castañeda-Ovando, A.-H. M.-H.-V. (2009). Antocyanins: A review .*Food chen*. 113,859-871.

Ceron, A. F. (2012). Identificación de ácidos grasos contenidos en los aceites extraídos a partir de semillas de tres diferentes especies de frutas. *Acta Agronomica. Universidad Nacional de Colombia* , 120-132 vol.62 , no. 2.

Chasquibol S, N., & Laura Lengua C, I. D. (2003). Alimentos funcionales o fitoquímicos clasificación e importancia. *Revista. Peru. Química. Ingeniería .Química. vol.5 no. 2. , 9-20.*

Chavez-Servia, J. (2004). Manejo de la diversidad de los cultivos en agroecosistemas tradicionales . Rome, Italia: FUTURE.

Creus, E. G. (2004). Compuestos fenólicos: un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm* , vol.23.num 6.

Cuevas Montilla Atezana, W. (2008). Análisis y caracterización en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano. *Red alfa lagrotech comunidad europea* , 1-17.

E. Segura, A.]. (1989). Tecnología de frutas y hortalizas. (pág. 200). Bogotá: Unisur.

Estrada, M. E. (2012). *Morfología de frutos, Perfil de Ácidos grasos en semilla y diversidad genética molecular en selecciones de Zapote Mamey (Pouteria sapota)*. Estado de México. Texcoco. Campus Monteillo: Tesis Doctoral en ciencias de recursos genéticos y productividad fruticultura.

FAO, F. (2008). *grasas y ácidos grasos en nutrición humana .Consulta de expertos*. Granada : FAO.

fernanda, Q. F. (2014). *Identificación y cuantificación de antocianinas aciladas de plantas endémicas de México (maíces y salvias)*. México.

Fernández, M. A. (2013). *Efecto de compuestos no fenólicos en la capacidad antioxidante en açai*.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA: CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS.

Figueroa Cares, I. E., & Martínez Damián, M. T. (2015). Capacidad antioxidante en variedades de pimiento morron (*Capsicum annum* L.). *Interciencia* , 696-703.

Figueroa, M. d., Regules, A. E., & Berrios, C. a. (2010). Piranoantocianinas: modificaciones estructurales de antocianinas. *Temas selectos de ingeniería de Alimentos* , 84-95.

Forkmann, H. W. (1993). Biosíntesis , in the Flavonoids. Advance in research since. *Chapman and Hall. London* , 499-535.

Gallegos, E. G., & Nieto, E. G. (2012). La respuesta de haba (*Vicia faba*.L) cultivada en un suelo contaminado con diferentes concentraciones de cadmio. *Revista. Internacional. contaminacion Ambiental.* , 28(2) 119-126.

García, B. a. (2007). *Caracterización bioquímica y Molecular de la Carotenogénesis en frutos Cítricos* . Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos .

Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos :Revisión. *Acta biológica. Colombiana.* , vol.13.no. 13 27-36.

Glasson, W. R. (1998). Postharvest: an introduction the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals. *CAB International* , Nueva York , 262.

González, V., A.Herrera, M. H., Barrera, J., & Pérez, o. M. (2001). Desarrollo del fruto e índices de cosecha de la carambola (*Averrhoa carambola* L.) producida en el pie del monte amazónico colombiano. *Agronomía Colombiana* , 18(1-3), 53-62.

Granados-Sánchez, d. (2004). estudio integral del valle de Tehuacán -Cuicatlán : recursos de plantas . En J. Chavez-Servia, *Manejo de la diversidad de los cultivos en los agroecosistemas tradicionales* (pág. 99). México : FUTURE.

Gross, J. (1987). Pigments in fruits. *London :Academic Press* .

I. Alia-Tejacal, R. S.-H. (2004). analisis preliminar de carotenoides y compuestos fenolicos en frutos de Zapote Mamey . *Revista chapingo Sene Horticultura* , 225-231.

I. Alia-Tejacal, & R.M.Soto-Hernandéz. (2005). analisis preliminar de carotenoides y compuestos fenólicos en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota*). *Revista Chapingo.Serie Horticultura 11(2)* , 225-231.

Ibrahim K, A.-G. A. (1994). Use of ethylene, acetylene and ether on banana fruit ripening. *J Agr Sc* , 2(1):73-92.

Ibrahim, P. S. (2011). Optimizaçao da extraçao e microencapsulamento de polifenóis e antocianinas de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*).

Ibrahimk, A.-G. a. (1994). Use of ethylen, aceylene and ether on banana fruit ripening,. 73-92.

Jáuregui, M. E. (2011). Carotenoides y su funcion antioxidante :Revisión . *Departamento de Nutricion Animal .instituto Nacionla de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán* , vol. 61, no. 3.

Kays, S. (2004). Postharvest biology. *Exon Press, Athens (Georgia)* . , 568.

Loaiza, D. I., Santos, L. E., Mahecha, P. V., & Amariles, H. D. (2012). Cambios en las propiedades fisicoquímicas de frutos de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) cosechados en tres grados de madurez. *Scielo , Acta Agronómica*. 63 (1) 2014, p 11-17.

M.Andersen, O., & KennethR M, E. T. (2006). Flavonoids: Chemistry , Biotechnology and Applications. 1199.

Mackinney. (2008). Metodo de Mackinney 1941. *Journal of food Science and Tecnology* , 43, 173-178.

Mark.F.Neuman. (2008). Flora del Valle de Tehuacan -Puebla. *Instituto de Biología. Departamento de Botánica* (pág. 6). Mexico D,F: Instituto Biología UNAM.

Meléndez-Martínez, A. J. (2004). Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides . *Archivos latinoamericanos de nutrición* .

Mendoza, M. d., González, G. A., & Andrés Aguilar Santelises. (1998). estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila . *Terra* , 135-141.

Mosquera, M. I. (2006). Pigmentos carotenoides. *Agrocsic* , 2-7.

Najera, P. (2013). Extracción de compuestos fenólicos de la cascara de lima (*Citrus limetta* risso) y determinación de su actividad antioxidante. *BioTECNIA* , volumen XV, número 3, 18-22.

Neuza, J. (2011). Actividad antioxidante y perfil de ácidos grasos de las semillas de Jaboticaba (*Myrcionaria qualiflora* BERG). *Acta. Biológica. Colombiana. Vol 16, No. 2* , 75-82.

Nijveltd R.J., v. N. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential. *The American Journal of Clinical Nutrition* , 74 (4):418-425.

Ordóñez, T. C., & Rodríguez, P. E. (2013). Frutos tropicales como fuente de carotenoides: biosíntesis, composición, . *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos.* , 1-23.

Ortiz, M. a. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas . *Revista BIOtecnia* , 16-22.

P.Morales, M. S.-M. (2015). Importancia de la presencia de compuestos bioactivos en los vegetales . *Dpto. Nutrición y Bromatología II* .

P.S, I. (2011). Optimización de la extracción e microencapsulamiento de polifenoles e antocianinas de jaboticaba .

Pennington. (1991). The genero of sapoteacea. *Ritchmond and New York Botanical Garden* , 295.

Pérez, J. C., Best, C. R., & Llanes, F. (2009). Triterpenos pentacíclicos en propóleo. *Revista Social Química Perú* 75(4) , 439-452.

Pérez-Nájera, L.-C. E.-L.-T.-S. (2013). Extracción de compuestos fenolicos de la cascara de lima (Citrus limetta Risso) y determinación de su actividad antioxidante. *BioTECNICA* , vol. XV, numero 3.

Reins, M. (2005). Copigmentacion , reactions and color stability of berry antocyanins. *Tesis Academica Facultad de Agricultura y Selviculrura de la universidad de Helsinki. Departamento de Química Aplicada.*

S.Martinez-Flóres. (s.f.). Los flavonoides :propiedades y acciones antioxidantes . *Departamento de Fisiología , Universidad de leon y Hospital de Leon.España .*

Salisbury F, R. G. (1996). Fisiología vegetal. *Grupo Editorial Iberoamericana.* , 759.

Sánchez, M. d., Hernandez, A., Martinez, P. e., Herrera, M. L., & Jimenez, M. a. (2009). Caracterización de frutos de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.) en el estado de Veracruz, México. *Revista 70 UDO Agrícola* 9 (1): 70-73. , 70-73.

Saskia Abe, V. A. (1998). Structural Aspects of Antioxidant Activity of Flavonoids. *Flavonoids in healt and disease .Ed.Marcel Dekker ,INC New York* , 9:221-251.

Serrano, M. E. (2006). Componentes bioactivos de alimentos fncionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas* , 58-68.

Silva, P. (2011). Otimização da extração e microencapsulamento de fenólicos e antocianinas de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). *Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG* , 159.

Stuchlík M., S. Ž. (2002). Vegetable lipids as components of functional foods. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky Olomouc Czechoslovakia* , 146(2):3-10.

Torres, R., Montes, E. J., Pérez, O. A., & Andrade, R. D. (2013.). Relación del Color y del Estado de Madurez con las Propiedades Fisicoquímicas de Frutas Tropicales. *Scielo.Universidad de Córdoba, Departamento de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingenierías, Grupo de Investigación GIPPAL* , vol.24.no.3, 51-56.

Triana, T. E. (2014). Cuantificación de flavonoides totales y actividad antioxidante de dos frutas: *Theobroma grandiflorum* Y *Manilkara zapota*. *Congreso Colombiano de fitoquímica* , XII .

Yúfera, E. P. *Química Orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria*. vol.2 .

Z.Mercadante, A. (2007). Carotenoids in foods: sources and stability during processing and storage. In *Food colorants: chemical and functional properties*. Boca Raton, USA: CRC Press. , 195-299.

Zea, J. A. (2012). Estudio del contenido de fenoles y actividad antioxidante de guayaba en diferentes estados de madurez. *Acta. biológica. Colombiana* , 611-624.

Bibliografía electrónica

- 1 y 2 <http://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/index1.html> (en línea) visto última vez -noviembre 2015.
- 3...<http://www.interempresas.net/Poscosecha/Articulos/133699-Importancia-de-la-presencia-de-compuestos-bioactivos-en-los-vegetales.html>(en línea) visto última vez -noviembre 2015.
- 4...<http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/aceites-esenciales/terpenos>(en línea) visto última vez –enero 2016.

- 5...<http://www.cyd.conacyt.gob.mx/257/articulos/acidos-grasos-omega.html> (en línea) visto última vez –30 diciembre 2015.
- 6...<http://es.slideshare.net/mihermosamamusa/los-lpidos-14193152>(en línea) visto última vez -febrero 2016.
- 7...http://pendientedemigracion.ucm.es/info/cvicente/seminarios/maduracion_frutos.pdf(en línea) visto última vez -marzo 2016.
- 8...<http://www.saludybuenosalimentos.es/nutricional/index.php?s1=Frutas&s2=Del%2BBosque&s1LI=clases%2F%3As2%3As2%3Aid%3Aop%3Arel%3A0&s3=0&s2LI=clases%2F%3As3%3As3%3Aid%3Aop%3Arel%3A0&s3LI=clases%2F%3As4%3As4%3Aid%3Aop%3Arel%3A0>(en línea) visto última vez -abril 2016.

Índice de figura

Figura 1. Área territorial de la región en la cual se cultiva el fruto *Sideroxylon Palmeri*. (Mark.F.Neuman, 2008). El número 12 corresponde al área de cultivo.

Figura.2. Clasificación de los compuestos poli fenólicos. (Creus, 2004)

Figura. 3. Estructura básica de un compuesto polifenolico.

Figuras. 4. Estructura de fenoles.

Figura 5. Estructuras de algunos flavonoides. Catequina, quercetina y Diosmetina

Figura 6 .Estructura básica de una antocianina. (Badui, 2006)

Figura 7. Estructura de las antocianinas. Cianidina, Peonidina, Delfinidina, petunidina y Malvidina

Figura.8. Estructuras de las antocianinas a diferentes pH's. (Rodríguez-Saona y Wrolstad, 2001).

Figura9. Estructura química del isopreno.

Figura10. Estructuras de terpenos.

Figura. 11. Estructura de algunos carotenos

Figura. 12. Estructura de la clorofila a y b

Figura.13. Espectro de absorción de la clorofila a y b.

Figura. 14. Estructura de un ácido graso. Triacilglicerol.

Figura.15. Fruto Tempesquistle

Figura. 16. Fruto Tiliapo

Figura.17. Muestra del extracto de antocianina del Tiliapo. Eluida con BAA (butanol/agua/ácido acético) (6:3:1)

Figura 18. Cromatopla de sílice, fracciones obtenidas de la columna de sephadex y la nueva agrupación en 8 fracciones.

Figura 19. Cromatopla de las 8 fracciones finales del extracto purificado. La fracción 3 corresponde a la fracción que se analizó por RMN.

Figura.20. Espectro de RMN ¹H de la antocianina aislada del fruto Tiliapo

Figura.21. Estructura de la cianidina -3 –glucósido

Figura.21. Espectro RMN-1H de la antocianina 1 aislada del fruto de Capulí. Bruker AMX-500, metanol-d₄-TFAd1 (19:1, v/v).

Figura. 22. Espectro obtenido de la lectura en el Cromatografo de gases de la muestra del aceite esterificado del fruto Tiliapo.

Figura.23. Espectro obtenido de la lectura en el Cromatografo de gases de la muestra del aceite esterificado del fruto Tempesquistle

Figura.24. Tiliapo /Tempesquistle datos obtenidos experimentalmente en el proyecto.
Jabuticaba reportados por (Neuza, 2011).

Figura.25. Grafica comparativa de fruto Tiliapo/Tempesquistle (datos obtenidos en el proyecto) con 3 frutos de diferente especie Lulo, Maracuyá y Mora (datos reportados en (Ceron, 2012).

Índice de tablas

Tabla 1. Propiedades de los fenoles.

Tabla 2. Flavonoides reportados en la literatura

Tabla 3. Sustituyentes hidroxilos y metoxilos de las antocianinas. (Cuevas Montilla Atezana, 2008) (Ortiz, 2011)

Tabla.4. Clasificación y funcionalidad de los terpenos

Tabla .5. Fuentes de carotenos

Tabla. 6. Principales ácidos grasos encontrados en vegetales y cereales. (FAO, 2008)

Tabla.7. Muestra los contenidos totales de los compuestos bioactivos del fruto Tiliapo en cascara y pulpa.

Tabla.8. Muestra los contenidos totales de los compuestos bioactivos del fruto Tempesquistle en pulpa- cascara.

Tabla.9. Señales del espectro de RMN correspondientes a la antocianina del fruto Tiliapo.

Tabla .10. Acido grasos presentes en la curva GLC 10.

Tabla.11. Ácidos grasos presentes en la curva GLC50

Tabla.12. Muestra el perfil de ácidos grasos para el aceite de la semilla del fruto Tiliapo.

Tabla.13. Muestra el perfil de ácidos grasos para el aceite de la semilla del fruto Tempesquistle