



Instituto Tecnológico Superior de Acatlán de Osorio

SEP TecNM

**DIVISIÓN DE LA CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**

OPCIÓN

“Tesis”

Proyecto

**“Capacidad antidiabética *in vitro* de formulados de pulpa de
chilacayota (*Cucurbita ficifolia* Bouché)”**

Que para obtener el título de:

Ingeniero en Industrias Alimentarias

Presenta

Azel Espinosa Cuevas

160712007

Acatlán de Osorio, Pue., Septiembre de 2021



Instituto Tecnológico Superior de Acatlán de Osorio
Organismo Público Descentralizado del Gobierno del Estado de Puebla

ASUNTO: Aprobación de Trabajo de Titulación.

Acatlán de Osorio, Pue., a 07 de septiembre de 2021.

**I.I.A. ELEODORO GABILÁN LINARES
JEFE DE DIVISIÓN DE LA CARRERA DE
INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
P R E S E N T E.**

Por este medio hago de su conocimiento que el documento bajo el esquema: **OPCIÓN: TESIS PROFESIONAL**, que lleva por nombre **“Capacidad antidiabética *in vitro* de formulados de pulpa de chilacayota (*Cucurbita ficifolia* Bouché)”**, que presenta la candidata a Titulación: **C. ITZEL ESPINOSA CUEVAS** con número de control **160712007** de la carrera de Ingeniería en Industrias Alimentarias, fue revisada y aprobada para su impresión por la comisión revisora conformada por: **M.C. VÍCTOR INOCENCIO PACHECO CONTRERAS**, **DR. RAÚL SALAS CORONADO** y **M.I.A. ERIKA LÓPEZ ARANDA**.

Sin más por el momento, quedo de usted.

A T E N T A M E N T E

“CONOCIMIENTO COMO GUÍA DEL DESARROLLO”

**ING. GABRIELA FORTUNATA LARA RUIZ
PRESIDENTE DE ACADEMIA DE LA CARRERA
DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Vo. Bo.

M.C. VÍCTOR INOCENCIO
CONTRERAS

Vo. Bo.

DR. RAÚL SALAS CORONADO

Vo.Bo.

M.I.A. ERIKA LÓPEZ ARANDA

c. c. p.-Archivo.



AGRADECIMIENTOS

A mi mamá **Zoila Cuevas Salazar** por haberme brindado el apoyo necesario durante toda mi carrera y haberme dado la vida, que sin ella no sería posible este trabajo porque con ella llegué hasta esta recta final de la mano entre caídas, risas, perseverancia, constancia, valores y mucha disciplina.

Al **Dr. Raúl Salas Coronado** ha sido un ser humano que ha dejado un gran impacto positivo en mi entorno como persona y hablando profesionalmente gracias a él hoy estoy aquí cumpliendo uno de mis más grandes sueños, me hizo sentirme segura y sobre todo a demostrar que si puedo con esto y con muchas cosas más. Siempre con disciplina y constancia, por haberme orientado y apoyado en el trabajo de laboratorio, así como en las múltiples revisiones de esta investigación.

A la **Dra. Norma Francenia Sánchez** por permitirme realizar la parte experimental del proyecto en el laboratorio de principios bioactivos, por sus consejos para una mejor manipulación de materiales y siempre mantener una postura de confianza en todo momento.

Quiero agradecer a la Universidad Tecnológica de la Mixteca por brindarme sus instalaciones para poder realizar los experimentos.

A mi asesor el **MC. Víctor I. Pacheco Contreras** por cada una de sus revisiones en esta investigación, ser mi profesor durante la carrera y a todos los maestros que me guiaron en mi formación profesional y llegar a esta meta.

DEDICATORIAS

*Le dedico este trabajo a mi amada madre **Zoila Cuevas Salazar** por nunca soltar mi mano, por creer en mí, por cada día de ánimo aun cuando todo estaba cayéndose, por apoyarme, por darme a mi hermano **Orlando Sosa Cuevas** que más que un hermano es mi hijo, quien me ha impulsado a seguir adelante y ha hecho mi vida más fácil, feliz con travesuras, enojos, llantos y días especiales sin este pequeño mi vida no tendría tantas aventuras y anécdotas que contar a lo largo de estos años de estudio y los que faltan por vivir.*

*A mi abuelo **Mardonio Cuevas Silva** en su ausencia todo esto fue por él, aunque no pudo alcanzarme en vida para verme con un título en las manos, su presencia impacto mucho desde mi infancia siendo el padre con los mejores cuidados, consejos y preocupaciones, que no hay día que no lo recuerde y me motive a luchar por mis sueños, un hombre tan respetable, leal, al que siempre llevare conmigo hasta el último suspiro.*

*A mi abuela **Agustina Salazar Marcial** por ser mi segunda madre, quien me vio crecer, cuidó de mí en todo momento, y quien sin duda merece este título porque sin ella no habría llegado tan lejos con sus cuidados y oraciones.*

*Finalmente, a **Jhonathan García Cuevas** por siempre decirme que luche hasta el final que habrá días buenos o malos, a nunca dar un paso hacia atrás, y siempre a creer en mí, gracias a este hombre hoy soy alguien nueva, con mejores prospectos y sobre todo con ganas de comerme al mundo. **Gracias a todos por creer en mí, aun cuando yo no lo creía posible.***

ÍNDICE

RESUMEN	X
ABSTRACT	XI
1. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	4
2.1. Objetivo general	4
2.2. Objetivos específicos	4
2.3. Hipótesis	4
III. MARCO TEÓRICO	5
3.1. Generalidades de la chilacayota (<i>C. ficifolia</i> B.)	5
3.2. Descripción del fruto	7
3.2.1. Composición nutricional de la chilacayota.	9
3.3. Propiedades y beneficios	12
3.3.1. Compuestos antioxidantes y radicales libres	13
3.4. Factores de intervención en el proceso de secado en alimentos	13
3.5. Tipo de secado	14
3.5.1. Deshidratación osmótica.	14
3.5.2. Secador de charolas	14
3.5.3. Velocidad de aire	16
3.6. Compuestos fenólicos	16
3.6.1. Compuestos fenólicos en <i>C. ficifolia</i> Bouché.	18
3.7. Capacidad antioxidante	19
3.7.1. Evaluación de la capacidad antioxidante por inhibición del radical DPPH [•]	20
3.8. Diabetes mellitus tipo II	21
3.9. Bebidas industriales recomendadas para pacientes diabéticos	22
3.10. Enzimas involucradas en la digestión de almidones	23
3.11. Métodos de evaluación de la actividad antidiabética <i>in vitro</i>	24
3.11.1. Inhibición de la α -amilasa <i>in vitro</i>	24
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	26
4.1. Materia vegetal	26
4.2. Rendimiento de la chilacayota	27
4.3. Obtención de láminas de pulpa de chilacayota	28
4.4. Determinación de humedad en pulpa fresca y jugos de chilacayota	28

4.5. Deshidratación de la pulpa fresca en un secador de charolas giratorias	29
4.6. Obtención de polvos de pulpa de chilacayota.....	29
4.7. Cuantificación de compuestos fenólicos en polvos de chilacayota	30
4.8. Evaluación de la capacidad antioxidante de las muestras por reducción del radical DPPH*	33
4.9. Cuantificación del porcentaje (%) de amilosa en harina de maíz comercial	35
4.10. Pretratamiento del almidón	37
4.11. Separación de amilosa y amilopectina	38
4.12. Obtención de α -amilosa en polvo	38
4.13. Reacción enzimática	39
4.14. Cuantificación de inhibición de acarbossa en α -amilosa de maíz	43
4.15. Análisis estadístico.....	44
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
5.1. Determinación de humedad en la pulpa y jugo de chilacayota.....	45
5.2. Rendimiento de las chilacayotas de cáscara verde de la variedad semilla blanca y negra del mes de febrero y noviembre.....	46
5.3. Deshidratación de la pulpa en un horno de charolas giratorias	47
5.4. Obtención de polvos a partir de la pulpa deshidratada	49
5.5. Contenido de compuestos fenólicos en los jugos y polvos de chilacayota	50
5.6. Capacidad antioxidante expresada como la inhibición del DPPH*	52
5.7. Evaluación de la inhibición de la α -amilasa	54
5.8. Evaluación de la inhibición de la α -amilasa por extractos de polvos y jugos de la chilacayota	57
5.9. Resultados del análisis estadístico	60
VI. CONCLUSIONES.....	61
VII. RECOMENDACIONES.....	62
VIII. BIBLIOGRAFÍA	63
IX. ANEXO	69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Peso comestible de harinas por kg de fruto.	8
Tabla 2	Característica física de muestras de chilacayota.	9
Tabla 3	Análisis proximal del chilacayote (<i>C. ficifolia</i> Bouché).	10
Tabla 4	Cucurbitas y otros frutos con un porcentaje alto de agua y humedad.	11
Tabla 5	Composición química del chilacayote por 100 g de porción comestible.	11
Tabla 6	Fármacos utilizados para el tratamiento de diabetes mellitus tipo II.	21
Tabla 7	Bebidas industrializadas y tradicionales en venta en el mercado.	23
Tabla 8	Contenido de humedad de la pulpa y jugos de chilacayota.	45
Tabla 9	Rendimiento en masa de pulpa de chilacayotas de ambas variedades de semilla (febrero y noviembre).	46
Tabla 10	Promedio MR de pulpa de chilacayota, cáscara verde, semilla blanca y negra. (febrero/noviembre).	48
Tabla 11	Rendimientos de obtención de polvos de chilacayota a partir de las láminas deshidratada.	50
Tabla 12	Contenido de compuestos fenólicos en <i>C. ficifolia</i> B.	51
Tabla 13	Capacidad antirradicalar de las muestras de chilacayota (<i>C. ficifolia</i> B.) frente al radical DPPH'.	54
Tabla 14	Contenido de α -amilosa en distintas harinas de maíz.	56
Tabla 15	Rendimiento de fécula de maíz para la extracción de amilosa y amilopectina.	56
Tabla 16	Actividad antidiabética de las muestras de chilacayota (<i>C. ficifolia</i> B.) frente a la enzima α -amilasa.	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Cucurbita ficifolia</i> Bouché.....	7
Figura 2. Fotografías de <i>C. ficifolia</i> Bouché.	8
Figura 3. Horno de charolas giratorias.	16
Figura 4. Principales grupos de polifenoles de alimentos.	18
Figura 5. Estructura química de algunos compuestos fenólicos representativos.	19
Figura 6. San José del pacifico, Oaxaca.	27
Figura 7. Tiempo de secado en un horno de charolas giratorias en pulpa de chilacayota.....	49
Figura 8. Ecuación de calibración en concentración de amilosa en harina expresada en % (p/p)	55

SÍMBOLOS DE ABREVIATURAS

h	Horas
min	Minutos
s	Segundos
min/s	Minutos sobre segundos
m/s	Metros sobre segundos
%	Porcentaje
°	Grados
C	Celsius
g	Gramos
mg	Miligramos
mL	Mililitros
µg	Microgramos
µL	Microlitros
M	Molaridad
N	Normalidad
N₂	Nitrógeno
NaOH	Hidróxido de sodio
Na₂CO₃	Carbonato de sodio
HCl	Ácido clorhídrico
BLK	Blanco de una muestra
EtOH	Etanol
pH	Potencial de hidrógeno
α	Alfa
nm	Nanómetros

RESUMEN

En el presente estudio, se obtuvieron polvos de dos variedades (semilla blanca y negra) de chilacayota (*Cucurbita ficifolia* Bouché) en dos períodos de cosecha, febrero y noviembre; así como, jugo de pulpa fresca de febrero. Los polvos se obtuvieron utilizando un secador de bandejas rotativas a 50 °C y una velocidad del aire de secado de 1.2 m/s. Las muestras de polvo y jugo fueron sometidas a cuantificación de compuestos fenólicos, evaluación de capacidad antioxidante *in vitro* por reducción de DPPH* y evaluación de capacidad antidiabética por inhibición de α -amilasa. Los resultados mostraron una degradación de los compuestos fenólicos durante el proceso de secado y almacenamiento de polvos. Luego del proceso de secado, en los polvos de chilacayota se observó una degradación de los fenoles totales mayor al 60%. Los polvos de chilacayota obtenidos en el mes de noviembre retuvieron el 37 % del total de fenoles. Los jugos de chilacayota de febrero presentaron un contenido de fenol total de 42.29 ± 0.53 mg GAE / 100 g de sólidos secos. Los polvos de chilacayota de noviembre contienen una mayor capacidad antioxidante que se relaciona con los compuestos fenólicos. El IC₅₀ de esta muestra fue 48.10 ± 1.18 mg/mL. Los polvos de chilacayota de febrero de la variedad de semilla blanca mantuvieron una alta capacidad antidiabética con un IC₅₀ de 0.89 ± 0.14 mg/mL. Este comportamiento mostró una pobre relación del contenido total de fenol con la capacidad antidiabética.

Palabras claves: *Cucurbita ficifolia* B., compuestos fenólicos, antioxidantes, DPPH*, *in vitro*.

ABSTRACT

In the present study, powders were obtained from two varieties (white and black seed) of chilacayota (*Cucurbita ficifolia* Bouché) in two harvest periods, February and November; as well as, juice from fresh pulp of February. Powders were obtained using a rotary tray dryer at 50 °C and a drying air velocity of 1.2 m/s. The powder and juice samples were subjected to phenolic compounds quantification, antioxidant capacity *in vitro* evaluation by DPPH[•] reduction and antidiabetic capacity evaluation by α -amylase inhibition. The results showed a degradation of phenolic compounds during drying process and powders storage. After drying process, in chilacayota powders was observed a degradation of total phenols greater than 60%. The chilacayota powders obtained in the month of November retained 37% of total phenols. The juices from chilacayota of February showed a total phenol content of 42.29 ± 0.53 mg GAE/100 g of dry solids. The chilacayota powders of November contains a higher antioxidant capacity that is related to phenolic compounds. The IC₅₀ of this sample was 48.10 ± 1.18 mg/mL. The chilacayote powders of February from white seed variety kept a high antidiabetic capacity with an IC₅₀ of 0.89 ± 0.14 mg/mL. This behavior showed a poor relationship of total phenol content with antidiabetic capacity.

Keywords: *Cucurbita ficifolia* B., phenolic compounds, antioxidants, DPPH[•], *in vitro*.

1. INTRODUCCIÓN

En el año 2017 el INEGI realizó una encuesta nacional agropecuaria para la producción de frutos y hortalizas. El reporte indica que se tiene un total de 75 551 ha de superficie sembrada o plantada con una producción de 740 011 ton de *Cucurbita ficifolia* Bouché (Agropecuaria, 2018). Las calabazas son plantas anuales, herbáceas y trepadoras de la familia de las cucurbitáceas, dentro de ella se encuentra el género *Cucurbita*, uno de los más importantes. En este género existen cinco especies principales, *C. argyrosperma* H., *C. ficifolia* Bouché, *C. moschata* (Duchesne ex Lam.), *C. maxima* (Duchesne ex Poiret), y *C. pepo* L.

La *C. ficifolia* B. comúnmente conocida como chilacayota presenta dos variedades de cáscara; fruto con cáscara blanca y fruto con cáscara verde, o conocido también como fruto con cáscara pinta; además, dos variedades de semilla, frutos con semilla negra y blanca. La chilacayota es una excelente enredadera para emparrados y enramados; sin embargo, la mayor producción se registra cuando las guías son extendidas en surcos por unos 3 o 4 metros a partir de su pie, ya que así se aumenta la cabellera radical, obteniendo mayor producción de frutos (Ayuntamiento de Pahuatlán, 1990).

Las *cucurbitas* se caracterizan por tener una gran diversidad de compuestos bioactivos, entre ellos saponinas, esteroides, flavonoides y en general compuestos fenólicos de estructura variada, entre otros. Particularmente, los componentes fenólicos constituyen uno de los grupos de principios bioactivos presentes en los frutos, y estos forman parte de la dieta humana. Estos compuestos pueden emplearse en el tratamiento y prevención de enfermedades degenerativas y de carácter patológico. Esto se debe a que los compuestos fenólicos son moléculas capaces de prevenir o retardar la oxidación de moléculas biológicas como proteínas, lípidos y ácidos

nucleicos. Por lo tanto, son de vital importancia para la prevención de la actuación de los radicales libres sobre el organismo, disminuyendo los procesos oxidativos, retardando el proceso de envejecimiento y previniendo el desarrollo de diversas enfermedades.

En estudios anteriores se ha demostrado que la *C. ficifolia* B. tiene actividad antidiabética con un potencial uso en el tratamiento de la diabetes tipo II. Este tipo de diabetes se produce por un defecto combinado en la sensibilidad a la insulina y en la secreción de insulina debido a una progresiva disfunción de las células beta pancreáticas. El control de esta enfermedad se puede llevar a cabo empleando inhibidores de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa, tal como el miglitol y la acarbosa. Esto se debe a que los inhibidores de estas enzimas interfieren en la absorción intestinal de los azúcares provocando una disminución de la hiperglucemia postprandial al inhibir de forma competitiva la acción de las enzimas antes mencionadas que hidrolizan los oligosacáridos y polisacáridos. Estos últimos compuestos no digeridos son metabolizados por bacterias intestinales en el colon, con formación de ácidos grasos y diversos gases que explican los efectos secundarios frecuentes de estos fármacos (meteorismo, flatulencia, diarreas, etc.). Posiblemente la pulpa de *C. ficifolia* tenga un efecto antidiabético a través de un mecanismo de inhibición de α -glucosidasa debido a la presencia de compuestos fenólicos.

En la presente investigación se llevó a cabo la obtención de polvos a partir de la pulpa de chilacayota en un secador de charolas giratorias. Este proceso consiste en la exposición de láminas de la pulpa en fresco con un grosor de 5 mm, a una corriente de aire caliente para producir un producto en polvo (Pérez, 2006). Con el proceso de secado, se observó que los polvos se conservan hasta un año a una temperatura de -18 °C.

Por esta razón, el objetivo de esta investigación consistió en estudiar las propiedades antioxidantes y antidiabéticas de jugos y polvos de pulpa de *C. ficifolia* B. Los polvos fueron obtenidos en un deshidratador de charolas giratorias. La capacidad antioxidante se determinó a partir de la cuantificación de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu, capacidad antirradicalar por el método de reducción del DPPH^{*}; mientras que la actividad antidiabética se determinó por el método de inhibición de la α -amilasa empleando un nuevo protocolo que implicó medir espectrofotométricamente el contenido de α -amilosa a partir de su reacción con el triyoduro en un buffer de acetatos a un pH de 5.0. Para minimizar las interferencias provocadas por la matriz del extracto, se llevaron a cabo reacciones blanco involucrando condiciones de inactivación enzimática.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1. Objetivo general

Obtener un producto de pulpa de chilacayota (*Cucurbita ficifolia* B.) con alta capacidad antidiabética.

2.2. Objetivos específicos

1. Obtener polvos a partir de la pulpa de dos variedades de chilacayota (semilla blanca y negra).
2. Determinar la capacidad antioxidante y antidiabética de los formulados *in vitro*.
3. Identificar el producto con la mayor capacidad antidiabética.

2.3. Hipótesis

Los polvos de la pulpa de chilacayota (*Cucurbita ficifolia* B.) deshidratada en un secador de charolas giratorias retienen compuestos fenólicos e inhiben la actividad de la α -amilasa en un modelo *in vitro*.

III. MARCO TEÓRICO

En la presente sección se describen las características taxonómicas, variedades, composición nutricional de la *C. ficifolia* B. Así como el proceso de secado en un horno de charolas giratorias. Los compuestos fenólicos en relación a la capacidad antioxidante y la capacidad antidiabética *in vitro* respecto a la inhibición de la α -amilasa.

3.1. Generalidades de la chilacayota (*C. ficifolia* B.)

La familia cucurbitácea comprende alrededor de 90 géneros y 750 especies (Mera *et al.*, 2011), incluyendo el género *Cucurbita*. Este último está constituido de plantas herbáceas, rastreras, trepadoras. Estas plantas tienen raíces fibrosas y anuales tuberiformes de almacenamiento perennes. Los tallos pueden ser sólidos o huecos, rectos o casi rectos. Las hojas de estas plantas son pecioladas, en forma de láminas ovado-cortadas u orbiculares ligeras. Las flores son axilares, solitarias, normalmente pentámeras y son estaminadas (masculinas) o pistiladas (femeninas), (Figura 1).

Estas plantas crecen de forma abundante, principalmente en zonas altas con temperatura media anual de 13.7 °C y con alturas de 2300 a 2500 msnm y el ciclo de cultivo dura siete meses. Mientras que a temperaturas de 18.9 °C y a una altura de 1500 msnm el ciclo de cultivo es de cinco meses, (Valdez, 1994). Es una especie cultivada, principalmente en toda América latina. Para esta especie el intervalo de altitud es de 1000-3000 m.

De acuerdo con Gabrys *et al.*, (2008) la chilacayota es una planta trepadora robusta, de tamaño variable, ya que trepa los árboles. El tallo está cubierto por pelillos cortos y finos, con algunos largos y rígidos. Las hojas son alternas y ampliamente ovaladas a casi circulares, con 25 cm de largo y de ancho. Las flores masculinas largamente pedunculadas, el cáliz es un tubo cortamente acampanado, de hasta 1 cm de largo, que hacia el ápice se divide en lóbulos linear-

lanceolados de hasta 12 mm de largo. La corola tiene una coloración de amarilla a anaranjado-pálida, de hasta 12 cm de largo, es un tubo (de un tercio del largo total de la corola) que hacia el ápice se divide en lóbulos anchos, puntiagudos y con los márgenes algo enrollados hacia adentro. Los estambres son tres con las anteras lineares y unidas entre sí formando un cuerpo cónico o cilíndrico. Las flores femeninas son similares, a veces un poco más grandes, con un estilo engrosado y 3 estigmas lobadas, se observa el ovario ínfero.

La *C. ficifolia* B., objeto del presente estudio, comúnmente se conoce como chilacayota. Mera *et al.*, (2011) mencionan que la chilacayota o *tinduyu* (nombre mixteco) crece en “tierra fría” de lugares altos y es resistente a las sequías (Velasco Gutiérrez & Juárez Sierra, 2009). Un factor determinante para las calabazas al igual que otros cultivos, son las lluvias. Estas son necesarias para el buen desarrollo de la planta y en general para que se logre el cultivo. Sin embargo, la lluvia en exceso es también dañina, ya que los frutos se pudren fácilmente al estar en el suelo (Ventura, 2012).

La chilacayota es una de las *cucurbitas* que mayor número de frutos produce, con más de 50 frutos por planta (Saade, 2018). La composición química de la chilacayota es variable, mientras que sus características físicas propician un rendimiento alto de producción de frutos.

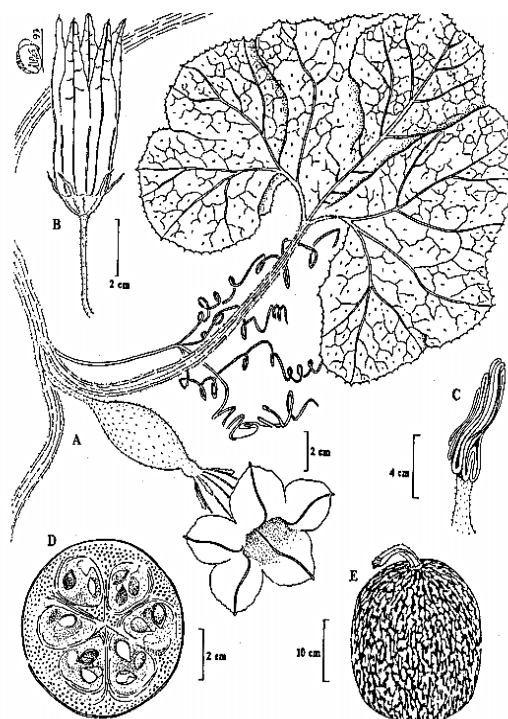


Figura 1. *Cucurbita ficifolia* Bouché. A. Rama con flor, B. Flor estaminada, C. Detalle de los estambres y E. Fruto.

Fuente: Bressani, 2015

3.2. Descripción del fruto

Los frutos tienen una forma de globosa a oblonga, de hasta 35 cm de largo y hasta 20 cm de ancho, con cáscara dura, de color verde con rayas, con hileras de manchas longitudinales de color crema (Figura 2). El pedúnculo de hasta 6 cm de largo, algo expandido en la unión al fruto. Semillas numerosas, fuertemente comprimidas, ovado-elípticas, de hasta 20 mm de largo, café oscuras a negras (Sulis, 2018).



Figura 2. Fotografías de *C. ficifolia* Bouché.

Fuente: Divulgación UAEM, (2015)

Así mismo, la cantidad de pulpa, jugo y semillas, son altos respecto a otras especies no convencionales propuestas para la obtención de harinas, tales como la malanga (Alcántar, 2018) con una masa promedio de 1 kg/fruto (Palomino & Pérez, 2010), la papa criolla (*Solanum phureja*) 0.038 kg/fruto (Buitrago *et al.*, 2004) y el camote (*Dioscorea spp.*) con un peso de 0.4 a 0.9 kg/fruto (Guízar *et al.*, 2008), (Tabla 1).

Tabla 1

Peso comestible de harinas por kg de fruto.

Obtención de harina	Peso comestible por kg de fruto	Fuente
<i>C. ficifolia</i> B.	6.6	(Alcántar, 2018)
Malanga	1	(Palomino & Pérez, 2010)
Papa criolla	0.038	(Buitrago <i>et al.</i> , 2004)
Camote	de 0.4 a 0.9	(Guízar <i>et al.</i> , 2008)

3.2.1. Composición nutricional de la chilacayota.

En la Tabla 2 se muestra la composición de la chilacayota de acuerdo a sus dimensiones y peso de la pulpa, cáscara, semillas y el volumen del jugo en 12 chilacayotas obteniendo un peso de 6.40 ± 1.50 kg, una longitud de 29.74 ± 3.84 cm, un ancho de 21.68 ± 2.17 cm, peso de cáscara 1.09 ± 0.39 kg, pulpa con 5.07 ± 1.06 kg, peso de semillas 0.24 ± 0.13 kg y volumen de jugo con 3.64 ± 0.87 L.

Tabla 2

Característica física de muestras de chilacayota.

Muestra	Peso (kg)	Longitud (cm)	Anchura (cm)	Peso cáscara (kg)	Pulpa (kg)	Peso semillas (kg)	Vol. jugo (L)
1	6.38	27.80	22.80	1.49	4.56	0.32	4.00
2	8.45	29.00	21.00	2.00	5.97	0.48	4.22
3	5.85	30.00	20.00	0.98	4.41	0.46	3.45
4	6.32	27.00	23.70	0.97	5.10	0.26	4.10
5	8.85	36.60	24.40	1.08	7.50	0.27	4.84
6	4.76	25.60	21.90	0.79	3.79	0.18	3.31
7	4.98	25.50	21.20	0.67	4.11	0.21	2.06
8	8.78	33.20	25.60	1.45	7.07	0.26	5.00
9	5.74	32.90	18.90	0.99	4.60	0.16	3.30
10	7.20	35.10	21.50	1.10	5.95	0.15	3.55
11	4.87	26.00	21.00	0.65	4.16	0.06	2.43
12	4.64	28.20	18.20	0.88	3.68	0.09	3.42
Promedio	6.40	29.74	21.68	1.09	5.07	0.24	3.64
DS	1.58	3.837	2.17	0.39	1.06	0.13	0.87

* Cada muestra representa el promedio de 12 chilacayotas analizadas. DS: Desviación estándar.

Las características físicas muestran que esta especie presenta un rendimiento alto de la parte comestible, ya que la pulpa representa el 79 % del fruto (Palomino & Pérez, 2010). Así mismo la cantidad de pulpa, jugo y semillas, de alrededor de 5.5 kg siendo alta respecto a otras especies no convencionales propuestas para la obtención de harinas tales como la malanga

(Gabrys *et al.*, 2008) con un peso promedio de 1 kg, la papa criolla (*Solanum phureja*) 0.038 kg (Alcántar, 2018) y el camote (*Dioscorea spp.*) con un peso de 0.4 a 0.9 kg (García-Méndez *et al.*, 2016).

La Tabla 3 muestra el análisis proximal de la chilacayota en estado maduro y tierno teniendo un porcentaje de humedad de 94.5 y 91.4 %.

Tabla 3

Análisis proximal del chilacayote (C. ficifolia Bouché).

Fruto	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Carbohidratos totales (%)	Fibra cruda (%)	Cenizas (%)
Tierno	94.5	0.3	0.1	4.4	0.5	0.2
Maduro	91.4	0.2	0.5	6.9	0.6	0.4

De acuerdo a Nee, (1993) estos datos la composición proximal de la chilacayota puede variar en función de la población y clima, riego y suelo donde se cultiva. Badui, (2006) menciona que los alimentos tienen diferentes estados energéticos en los que se encuentra el agua, es decir, no toda el agua de un producto tiene las mismas propiedades fisicoquímicas, y esto se puede comprobar fácilmente por las diversas temperaturas de congelamiento que se observan, en general un alimento se congela a -20 °C, pero aun en estas condiciones una fracción del agua permanece líquida y requiere de temperaturas más bajas, por ejemplo hasta -40 °C, para que solidifique completamente.

En la Tabla 4 se muestran *cucurbitas* en relación de porcentaje en su contenido de agua y humedad.

Tabla 4

Cucurbitas y otros frutos con un porcentaje alto de agua y humedad.

Nombre	% agua	% humedad
Chilacayota tierna (<i>C. ficifolia</i> B.)	94.5	95.08
Chilacayota madura (<i>C. ficifolia</i> B.)	91.4	91.22
Calabaza (<i>C. maxima</i>)	87.75	95.34
Acelga cocida s/sal, escurrida	92.65	95
Acelga cruda	91.10	98
Apio, tallos	95.43	98
calabaza, amarillo/maduro (<i>C. mostacha</i>)	91.00	-
Ayote/guicoy/zapallo/calabaza, flores	95.15	-
Ayote/guicoy/zapallo/calabaza, hojas y puntas	92.88	-

La Tabla 5 muestra la composición química de la chilacayota mostrando el porcentaje de compuestos bioactivos que aporta, además de mostrar el porcentaje de agua tanto en la chilacayota como en presentaciones de la semilla cruda y tostada.

Tabla 5

Composición química del chilacayote por 100 g de porción comestible.

Composición	Chilacayota madura	Chilacayota tierna	Semilla de chilacayota cruda	Semilla de chilacayota tostada
Agua (%)	93.60	92.70	6.92	7.10
Energía (kcal)	21	24	541	522
Proteína (g)	0.80	0.80	24.54	32.97
grasa total (g)	0.10	0.10	45.85	42.13
Carbohidratos (g)	5.10	5.10	17.81	13.43
fibra dietética total (g)	-	-	3.90	3.90
Ceniza (g)	0.40	0.40	4.88	4.37
Calcio (mg)	15	12	43	43
Fosforo (mg)	19	41	1174	1172
Hierro (mg)	0.40	0.20	4.97	14.94
Tiamina (mg)	0.04	0.06	0.21	0.21

Rivoflavina (mg)	0.03	0.04	0.32	0.32
Niacina (mg)	0.03	0.70	1.75	1.74
Vitamina C (mg)	11	46	2	2
Retinol (µg)	-	6	19	19
A. grasos monoinsaturados (g)	-	-	14.26	13.10
A. grasos poliinsaturados (g)	-	-	20.90	19.21
A. grasos saturados (g)	-	-	8.67	7.97
Potasio m	-	-	807	806
Sodio (mg)	-	-	18	18
Zinc (mg)	-	-	7.46	7.44
Magnesio (mg)	-	-	535	534
Vitamina B6 (mg)	-	-	0.22	0.09
Folato equiv. FD mcg	-	-	58	57
Fracción comestible %	0.71	0.90	0.74	1.00

Fuente: INCAP (Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, 2012).

3.3. Propiedades y beneficios

La chilacayota (*C. ficifolia* B.), es un fruto que contiene el azúcar D-quirol-inositol, el cual nivela los efectos de insulina, sin embargo, este compuesto únicamente presenta acción cuando se administra conjuntamente con otros elementos obtenidos (flavonoides) del mismo vegetal (Saavedra *et al.*, 2015). Además, el consumo de la chilacayota produce efectos antiinflamatorios, antioxidantes, antidiabéticos, antibacteriales, antivirales, etc. (Hernández *et al.*, 2005).

Rossel *et al.*, (2018) reportó que las semillas de la calabaza tienen el efecto terapéutico más potente ayudando a eliminar los parásitos intestinales, regulando el colesterol, estimulando la actividad renal, al tratamiento de la leucemia, esclerosis múltiple, entre otras enfermedades crónicas.

El aceite de semilla de calabaza proporciona grandes beneficios a la salud (Rossel Kipping, Ortiz Laurel, 2018) es altamente insaturado con niveles que van desde 60 - 90 % de ácido oleico y linoleico. Además, que la semilla de calabaza contiene una cantidad alta de antioxidantes que protegen contra los procesos de oxidación (Valenzuela *et al.*, 2014).

3.3.1. Compuestos antioxidantes y radicales libres.

En los últimos años las investigaciones acerca de la chilacayota y sus antioxidantes ha recibido un mayor interés debido a su capacidad para reducir los radicales libres. Cabe recordar que los radicales libres son especies químicas con electrones desapareados en su capa de valencia. Cuando existe un déficit de antioxidantes en el organismo, los radicales pueden ocasionar un desequilibrio entre el oxidante y el sistema antioxidante. Esto da origen al estrés oxidativo que lleva a enfermedades degenerativas como el envejecimiento acelerado, enfermedades cardiovasculares, afectación del sistema inmune (López Nahuatt *et al.*, 2017). La chilacayota combate la oxidación causada a través de procesos naturales del cuerpo como la respiración o por funciones propias del metabolismo pero también generado por tabaquismo, radiación, alimentos procesados y pesticidas (Jain *et al.*, 2018).

3.4. Factores de intervención en el proceso de secado en alimentos

La deshidratación de pulpa y semilla de chilacayota para fines de consumo humano puede conducir a productos con humedades de 3.8 y 3.2 %, respectivamente. Esto permite prolongar la vida útil del producto. Cabe señalar que la temperatura del aire secante está relacionada con la humedad relativa del aire. Entre mayor sea la temperatura del aire menor será su humedad relativa. Sin embargo, es importante señalar que la calidad de los productos deshidratados está

en función de la temperatura y entre mayor sea la temperatura, mayor será la degradación de componentes bioactivos que le confieren propiedades al alimento. El intervalo de temperatura recomendado para el secado de alimentos con aire caliente se encuentra entre 40 y 60 °C (Pérez, 2006).

3.5. Tipo de secado

Algunos tipos de secado empleados en la deshidratación de *C. ficifolia* B. para obtener productos comestibles tanto para pulpa y jugos se describen a continuación.

3.5.1. Deshidratación osmótica.

La ósmosis se conoce como un proceso de deshidratación parcial. Aunque no elimina suficiente humedad para ser considerado como un producto seco, el proceso tiene la ventaja de requerir poca energía. Este método de deshidratado funciona bien como tratamiento previo antes del secado por otros métodos. La aplicación de la deshidratación por osmosis está principalmente orientado a las frutas y en menor medida a las verduras. Este método ha recibido atención en los últimos años como una técnica para la producción de alimentos con humedad intermedia o como un pretratamiento antes del secado para reducir el consumo de energía o el daño por calor (Sagar & Suresh Kumar, 2010).

3.5.2. Secador de charolas.

El funcionamiento de los secadores de charolas depende del mantenimiento de una temperatura constante y una velocidad de aire uniforme sobre todo el material que se está secando. Conviene tener una circulación de aire con velocidad de 1 a 10 m/s para mejorar el

coeficiente de transmisión de calor en la superficie y con el propósito de eliminar bolsas de aire estancado. La corriente de aire adecuada para este tipo de secadores depende de que el ventilador tenga una capacidad suficiente, del diseño de la red de ductos para modificar cambios repentinos de dirección y de desviadores correctamente ubicados.

El secador de charolas es el más utilizado a nivel planta piloto (Figura 3), con calentamiento directo y modo de funcionamiento discontinuo. El material a secar puede ser un sólido en forma de terrones o pasta, éste se esparce uniformemente sobre una charola de metal de 10 a 100 mm de profundidad. El aire utilizado es arrojado por un ventilador y calentado mediante resistencias eléctricas, vapor de agua o mediante un gas inerte. Después del secado, se abre el gabinete y las charolas se reemplazan con otras charolas conteniendo más material para secar. Generalmente los secadores de charolas operan por cargas, además tienen la desventaja de no secar el producto uniformemente, dependiendo de su posición en el secador. Por ello, se necesita girar las charolas durante el proceso para lograr un secado uniforme (Pérez, 2006).



Figura 3. Horno de charolas giratorias.

Fuente: Pérez, 2006

3.5.3. Velocidad de aire.

La velocidad del aire es importante considerando que el aire caliente tiene las funciones de transmitir la energía requerida para calentar el agua contenida en el material facilitando su evaporación y remover la humedad del alimento (Checa-Peralta, 2013).

El control apropiado de las condiciones de secado de un alimento puede permitir minimizar la degradación de los constituyentes bioactivos, tal como los compuestos fenólicos, responsables de las propiedades antioxidantes de los alimentos.

3.6. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que cumplen la función de protección de las plantas. Estos compuestos son susceptibles tanto a condiciones pre-cosecha

(temperatura, suelo, irradiación, riego, fertilizantes) como pos-cosecha (temperatura, atmosfera modificada, tratamiento de calor). (Bonilla & Maricela, 2019).

Las plantas sintetizan una gran variedad de metabolitos secundarios que contienen un grupo con una estructura base de fenol (Pękal & Pyrzyńska, 2014). Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo (Hipolito & Martinez, 2014).

Las sustancias fenólicas o polifenoles constituyen un grupo muy numeroso de sustancias que incluyen familias de compuestos con estructuras diversas (Figura 4). Muchos compuestos fenólicos son en parte responsables de las propiedades organolépticas de los alimentos de origen vegetal y por tanto tienen importancia en la calidad de los mismos (Santos *et al.*, 2018). Así, entre éstos hay pigmentos como las antocianinas, responsables de los tonos rojos, azules y violáceos característicos de muchas frutas (fresas, ciruelas, uvas, etc.), hortalizas (berenjena, lombarda, rábano, etc.) y del vino tinto, o los flavonoles, de tonalidad crema-amarillenta, que están presentes principalmente en las partes externas de frutas y hortalizas.

Desde el punto de vista de su actividad biológica muchos polifenoles tienen propiedades captadoras de radicales libres, lo que les confiere actividad antioxidante que podría estar relacionada con la prevención de enfermedades cardiovasculares y de algunos tipos de cáncer (F. A. Tomás-Barberán, 2015).

Gracias al poder antioxidante que tienen los polifenoles, éstos presentan una variedad de efectos benéficos, como lo son la capacidad antioxidante, antimicrobiana, anti cáncer, antiinflamatoria, entre otras.

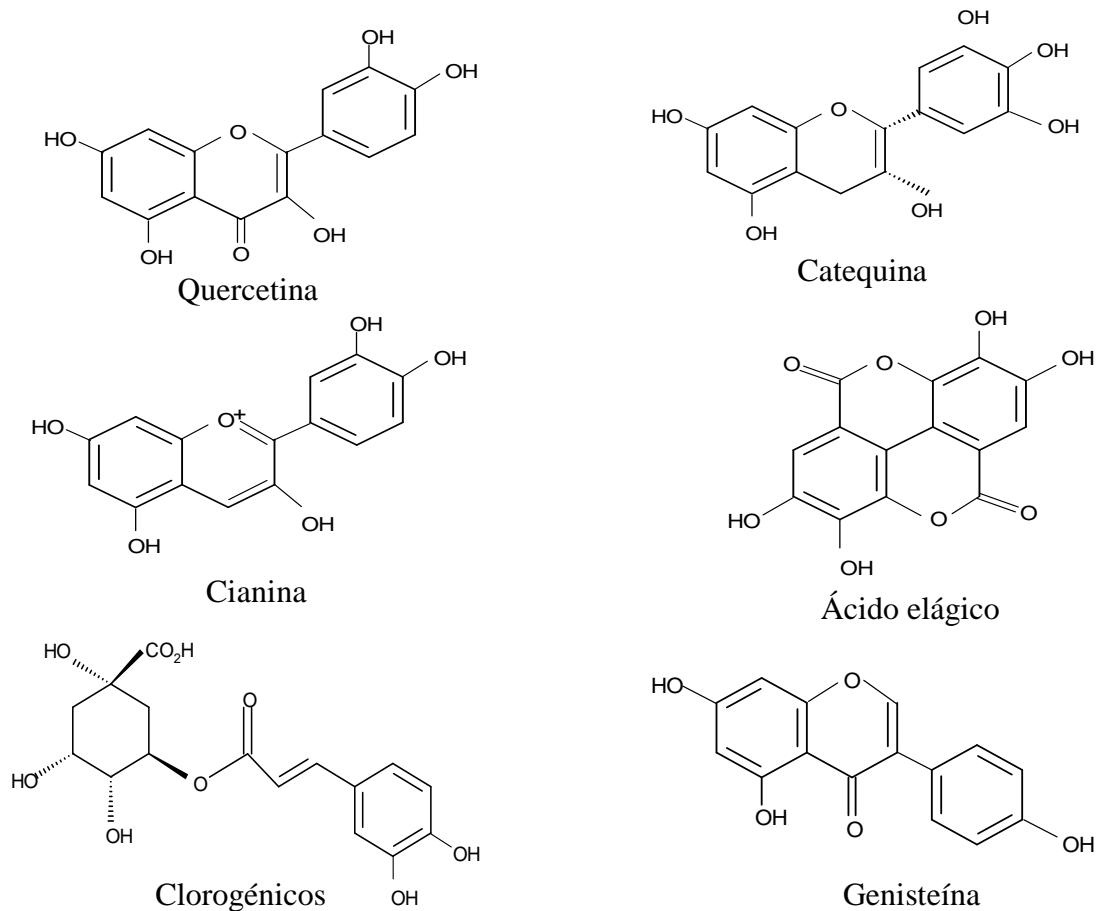


Figura 4. Principales grupos de polifenoles de alimentos.

Fuente: F. A. Tomás-Barberan, (2015)

3.6.1. Compuestos fenólicos en *C. ficifolia* Bouché.

Plata Soto, (2015) realizó la extracción de compuestos fenólicos con propiedades hipoglucemiantes a partir de la *C. ficifolia* B. (Figura 5). Entre los resultados obtenidos, encontró que el compuesto fenólico más abundante fue el ácido gálico con 33.25 ± 0.16 mg/100 g, seguido de la catequina con 11.5 ± 0.08 mg/100 g, la quercetina con 2.7 ± 9.25 mg/100 y el de menor concentración fue la miricetina con 0.88 ± 0.22 mg/100 g. Hayqui, (2016) realizó una extracción y caracterización de las semillas del zapallo (*C. maxima*) y encontró 16 aminoácidos

esenciales presentes en la semilla, entre los cuales encontró la tirosina, un aminoácido con estructura fenólica, en una proporción de 3.26 ± 0.001 % respecto al resto de los aminoácidos.

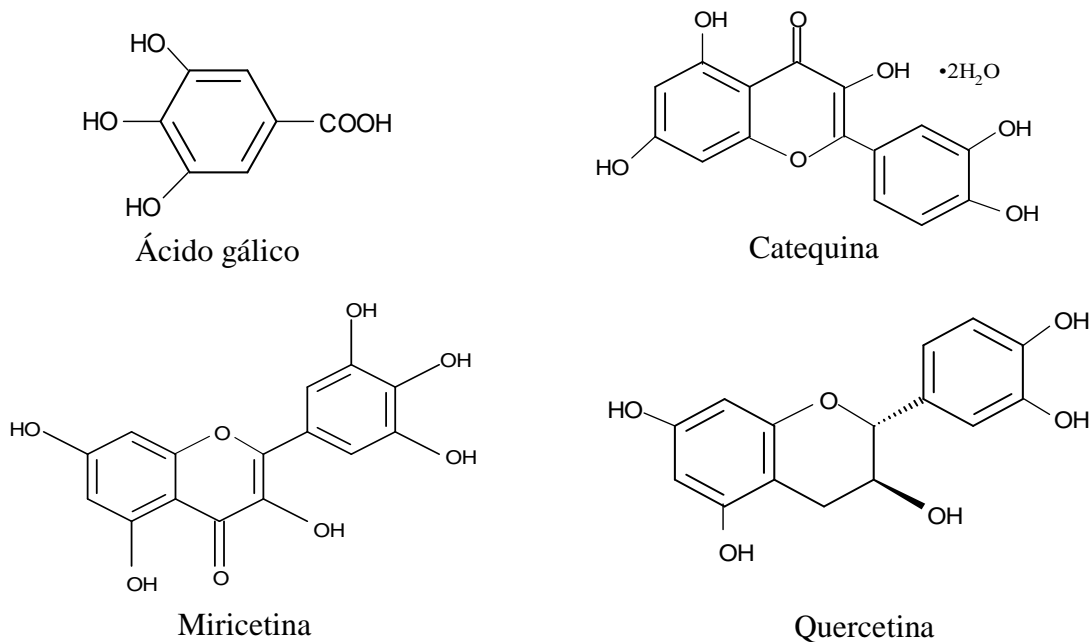


Figura 5. Estructura química de algunos compuestos fenólicos representativos.

Fuente: Plata Soto, (2015.)

Elaboración en software BIOVIA DRAW 2017

3.7. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante está relacionada principalmente a la presencia de compuestos fenólicos (Martín Gordo, 2018) debido a su capacidad para atrapar, o inhibir la producción de radicales libres (Quideau *et al.*, 2011; Ambigaipalan *et al.*, 2015).

La capacidad de los antioxidantes auxilia en la prevención de los efectos nocivos de la hiperglucemia. También, esta propiedad mejora el metabolismo y la absorción de la glucosa. Por lo tanto, el uso de antioxidantes debe considerarse como una alternativa principal en el

tratamiento de la diabetes mellitus tipo II (Sarian *et al.*, 2017). Existen evidencias que el estrés oxidativo juega un papel muy importante en el desarrollo de complicaciones vasculares, las variaciones en los niveles de enzimas hacen a los tejidos susceptibles al estrés oxidativo. De acuerdo a estudios epidemiológicos, la mortalidad por diabetes puede explicarse notablemente por un incremento en las enfermedades vasculares derivadas de la hiperglucemia (Suárez-Cunza, 2017).

3.7.1. Evaluación de la capacidad antioxidante por inhibición del radical DPPH[•].

Existen métodos para medir la capacidad antioxidante de una especie o sustancia, el más utilizado se basa en la evaluación de la estabilidad del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH[•]). Esto consiste en reducir el DPPH[•] que tiene una coloración violeta que después de la reducción se produce una decoloración en una disolución polar, por ejemplo, etanólica, metanólica o en dimetilsulfóxido. El porcentaje de inhibición del radical DPPH[•] se mide a partir de la absorbancia a una longitud de onda de 520 nm. El compuesto antioxidante después de reaccionar con el DPPH[•] dona un átomo de hidrógeno o un fragmento R[•] y se produce la forma reducida DPPH-H o DPPH-R (Garlick *et al.*, 1965). A diferencia del DPPH[•], los radicales libres del antioxidante formados durante la reacción REDOX, son estables debido a que pueden estabilizar la deficiencia del electrón por deslocalización electrónica.

3.8. Diabetes mellitus tipo II

En México el 90 % de los casos de Diabetes Mellitus tipo II están relacionados con el sobrepeso y la obesidad , y como la principal causa de muerte (Trinh *et al.*, 2016). La diabetes tipo II se encuentra entre los primeros 10 lugares como causa de consulta y mortalidad en la población adulta. Los consensos de expertos han sugerido diferentes enfoques para el manejo de la hiperglucemia en pacientes con diabetes tipo II. Los más destacados incluyen intervenciones con metformina y modificaciones en los hábitos de vida después del diagnóstico, (Rigalleau *et al.*, 2018). En la tabla 6 se muestran algunos de los fármacos más empleados en el tratamiento de la diabetes tipo II.

Algunas alternativas viables para el tratamiento de la diabetes tipo II se basan en el uso de plantas medicinales y ciertos alimentos. Entre ellos se encuentra el uso de la chilacayota. En la literatura existen reportes sobre la evaluación de la actividad antidiabética del jugo de la pulpa de la chilacayota en ratas diabéticas con resultados prometedores (Miranda-Pérez *et al.*, 2012).

Tabla 6

Fármacos utilizados para el tratamiento de diabetes mellitus tipo II.

	Medicamentos orales	Inhibidores de α-glucosidasa	Biguanidas	Gliburida
Nombre del medicamento	Meglitinidas, Repaglinida (Prandin), Nateglinida (Starlix).	Acarbosa, Miglitol	Metformina (Fortamet, Glucophage, otros).	Glibenclamida.
Acción	Estimula la liberación de insulina.	Desacelera la descomposición de los	Inhibe la liberación	Estimula las células beta del páncreas y hace

		almidones y algunos azúcares.	de glucosa del hígado Mejora la sensibilidad a la insulina.	que aumente la liberación de la insulina preformada.
Ventajas	Actúa rápidamente.	No causa aumento de peso No causa hipoglucemia (a menos que se combine con insulina o una sulfonilurea).	Muy eficaz, puede promover una pérdida de peso leve y bajo costo.	Incrementa la sensibilidad de los tejidos periféricos a la acción de la insulina y disminuye la glucogenólisis hepática y la gluconeogénesis.
Efectos secundarios	Bajo nivel de azúcar en sangre (hipoglucemia) Aumento de peso Náuseas o vómitos al interactuar con el alcohol.	Dolor estomacal, gases y diarrea.	Náuseas, Diarrea, en muy raras ocasiones, la acumulación dañina de ácido láctico.	Náusea, vómito, hiperacidez gástrica, dolor epigástrico, anorexia, estreñimiento diarrea y alteraciones del gusto.

Fuente: FEPREVA (Fundación para el Estudio, la Prevención y el Tratamiento de la enfermedad vascular A.).

3.9. Bebidas industriales recomendadas para pacientes diabéticos

En la industria de bebidas y jugos se encuentran diferentes marcas que ofrecen productos para el control de la glucosa en personas diabéticas. Entre las que destaca la Glucerna, esta bebida contiene niveles bajos de azúcar y no contiene gluten. Esto permite evitar incrementar los niveles de los triglicéridos. Sin embargo, el costo de Glucerna en el mercado es elevado. En la Tabla 7 se muestran algunas bebidas poco conocidas. Estas bebidas están elaboradas a base de algunas plantas medicinales que su efecto hipoglucemiante no está comprobado científicamente. A pesar de esto, diversas personas que padecen diabetes mellitus tipo II optan

por estos productos (Rigalleau *et al.*, 2018). en la tabla se muestran tres presentaciones de la marca glucerna debido a que esta marca en la industria de bebidas para personas con diabetes predomina en el mercado.

Tabla 7

Bebidas industrializadas y tradicionales en venta en el mercado.

Bebida	Presentación	Precio (\$)
Glucerna	Polvo (400 g)	329
	Polvo (900 g)	980
	Bebible (237 mL)	35
Yiitzee	Capsulas (90 pzs.)	400
Te de higo (polvo)	Polvo (para 80 tzs)	197
Sábila y nopal	Capsulas (400 mg)	120
Té negro	Hojas en venta en el mercado tradicional	Variado
Orgmex jugo de nopal cristalino	Bebible (1 L)	135
jugo de maracuyá (producto natural)	Fruto en venta en el mercado tradicional	-

Fuente: Propia

3.10. Enzimas involucradas en la digestión de almidones

La α -amilasa es una enzima producida principalmente en las glándulas salivales y el páncreas, desempeñan la hidrólisis de los enlaces α -1,4-glucosídicos, entre la glucosa del almidón (consta de dos tipos de polisacárido amilosa y amilopectina) liberando la maltosa. El nivel elevado de α -amilasas en suero puede usarse como marcadores para el diagnóstico clínico de enfermedades (Arabia, n.d.). La α -amilasa se encuentra en dos formas:

1. α -amilasa (en saliva y jugo pancreático) que es endoglucosidasa ataca al almidón al azar y es inactivada por la acidez del estómago con poca producción de maltosa, un producto de la

hidrólisis del almidón. De acuerdo a lo reportado su pH para actuar está entre 5-7. El pH de la α -amilasa pancreática es 6.5 y actúa en almidones crudos y gelatinizados.

2. La β -amilasa (de origen vegetal), una exoglucosidasa reacciona con la amilosa escindiendo la maltosa del extremo no reductor para producir β -maltosa. Esta enzima no necesita de un activador para actuar, sin embargo, es inestable al calor.

3.11. Métodos de evaluación de la actividad antidiabética *in vitro*

Las propiedades antidiabéticas de las sustancias sintéticas o naturales pueden evaluarse mediante métodos *in vitro* como el estudio de la simulación de la absorción de glucosa a nivel intestinal (Sagar & Suresh Kumar, 2010). El efecto sobre la glucosilación de la hemoglobina, así como la inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa (Jijith & S, 2017).

3.11.1. Inhibición de la α -amilasa *in vitro*.

La enzima α -amilasa es responsable de la hidrólisis de los polisacáridos unidos a enlaces alfa, como el almidón y el glucógeno a disacáridos (Van Der Maarel, 2002). Por lo tanto, la naturaleza inhibitoria del compuesto de prueba refleja la actividad antidiabética debido a la falta de disponibilidad del almidón o glucógeno. Los inhibidores de la α -amilasa se unen a los enlaces alfa en los polisacáridos y evitan la conversión de los polisacáridos en disacáridos y monosacáridos. El método consiste en mezclar la muestra con una disolución de almidón en un vaso de precipitados, agregar α -amilasa a esta mezcla, agitar vigorosamente y finalmente incubar a 37 °C por una hora (Sagar & Suresh Kumar, 2010). Después de la incubación, se agrega NaOH 0.1 M o HCl 1.5 M para terminar la actividad enzimática. Posteriormente se centrifuga la mezcla durante 15 min y se determina el contenido de glucosa en la capa superficial

midiendo la absorbancia de la solución coloreada a 565 nm (Lee *et al.*, 2010). El porcentaje de inhibición se calcula usando la fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Absorbancia de control} - \text{Absorbancia de muestra}}{\text{Absorbancia de control}} \times 100$$

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente proyecto se realizó en colaboración académica entre el Instituto de Agroindustrias de la Universidad Tecnológica de la Mixteca y el Instituto Tecnológico Superior de Acatlán de Osorio. El trabajo experimental se realizó en los laboratorios de Bromatología, Análisis Instrumental y Principios Bioactivos del Instituto de Agroindustrias de la Universidad Tecnológica de la Mixteca (UTM).

4.1. Materia vegetal

La materia prima se obtuvo de la comunidad de San José del Pacífico, Oaxaca (Figura 6), localizada a una latitud de 16.1667 y una longitud de -96.5. Las muestras consistieron en dos chilacayotas de la variedad de cáscara verde en dos variedades de semilla, una con semilla blanca y la segunda con semilla negra en el mes de febrero. Las chilacayotas se seleccionaron de acuerdo al tamaño y apariencia con una madurez promedio, sin presencia de manchas o putrefacción. Las muestras se almacenaron en un lugar fresco durante un tiempo no mayor a tres días para el proceso de extracción de pulpa en el mes de febrero. También se utilizó chilacayota de cáscara verde semilla blanca del mes de noviembre, ya que se hizo un almacenamiento prolongado de siete meses (debido a la pandemia que inició en el 2020). Cabe señalar que se realizaron los estudios en ambos grupos de muestras (febrero y noviembre), para verificar la posible variación de las muestras de febrero durante su almacenamiento. Por tal motivo, se llevó a cabo la cuantificación de los compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y capacidad antidiabética.

La obtención de las muestras se llevó a cabo en apego a las normas de higiene (Paz, 2010), utilizando cofia, cubrebocas, guantes de látex y utensilios esterilizados en el taller de procesamiento de alimentos de la UTM. El lavado de las chilacayotas se realizó con agua y jabón para remover cualquier materia extraña adherida a la cáscara y está a su vez no afectara a los posteriores experimentos.



Figura 6. San José del pacifico, Oaxaca.

Fuente: https://satellites.pro/mapa_de_San_Jose_del_Pacifico#16.173941,-96.503874,17

4.2. Rendimiento de la chilacayota

Las chilacayotas se pesaron en una báscula Tor-Rey, se anotaron los pesos (kg) iniciales cada una de ellas. Posteriormente, se realizaron cortes en forma horizontal con ayuda de un cuchillo; el corte fue en forma vertical desde el vértice del tallo de la chilacayota hasta llegar al otro extremo sin dañar la cáscara y pulpa, se homogenizaron en un solo lote de acuerdo a su variedad de semilla. Cada muestra de pulpa, cáscara, semilla y placenta se pesó por separado, Anexo 1.

A partir de estos datos se calculó el rendimiento de masa de cada una de las partes de cada *cucurbita*.

4.3. Obtención de láminas de pulpa de chilacayota

Una vez obtenida la pulpa de chilacayota, se obtuvieron láminas con un grosor de 5 mm empleando un cortador casero. Para confirmar el espesor de las láminas de pulpa de chilacayota, se utilizó un Vernier digital. La superficie de la lámina fue rectangular con dimensiones de 10 cm de largo por 5 cm de ancho. Finalmente, las láminas se colocaron en bolsas ziploc para evitar la entrada de aire y de esa manera minimizar la oxidación de la pulpa durante su almacenamiento a temperatura de refrigeración, Anexo 2. Las muestras de láminas de pulpa de chilacayota de cáscara verde, semilla blanca y semilla negra de febrero, consistieron de una masa de 500 g cada una de ellas. Mientras que la muestra de láminas de chilacayota de cáscara verde, semilla blanca del mes de noviembre quedó constituida de una masa de 234.16 g de pulpa.

4.4. Determinación de humedad en pulpa fresca y jugos de chilacayota

El análisis de humedad se realizó por triplicado de acuerdo a la norma AOAC-1999-9-5209. Como primer paso, la sílica del desecador se secó en una estufa hasta a una temperatura de 105 °C durante 1 h, se observó el cambio de color característico, un color azul intenso. Esto se llevó a cabo con el objetivo de evitar la ganancia de humedad en los crisoles y muestras durante su enfriamiento y almacenamiento. En una segunda etapa, nueve crisoles se introdujeron en la estufa a 105 °C hasta lograr alcanzar un peso constante. Para determinar el tiempo en el que se logró el peso constante de los crisoles, cada 4 h estos se retiraron de la estufa y se colocaron en el desecador para su enfriamiento durante 15 min. Posteriormente, los crisoles se pesaron, y nuevamente se llevaron a la estufa. Este proceso se repitió tres veces, alcanzando un peso constante a las 12 h de secado. Una vez que los crisoles se llevaron a peso constante, se

procedió a colocar las muestras correspondientes. La masa de la pulpa fresca colocada en los crisoles fue de 5 g mientras que de jugo de la pulpa fresca fue de 1 mL. La pérdida de humedad de la muestra se midió de forma periódica hasta alcanzar un peso constante. Esto se logró a las 18 h de secado a 105 °C en la estufa. El experimento de medición de humedad en las muestras se realizó por triplicado y se reportó la media \pm desviación estándar, Anexo 4.

4.5. Deshidratación de la pulpa fresca en un secador de charolas giratorias

Antes de utilizar el secador de charolas giratorias, la cámara de secado se calentó previamente durante 20 min. Las condiciones de operación del equipo fueron una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire secante de 1.2 m/s. Posteriormente, se seleccionaron aquellas láminas de chilacayota (de semilla blanca y negra) con un peso de 20 ± 2 g con ayuda de una báscula analítica. La masa total de pulpa fresca en láminas que se sometieron al secado fue de 352.0 g para la variedad de semilla blanca y 374.2 g de la muestra de semilla negra. Para realizar el monitoreo de la pérdida de humedad en las muestras, se seleccionaron como referencia tres láminas de cada variedad de semilla. Estas láminas se pesaron cada hora, colocando los datos de los pesos en una hoja de Excel previamente configurada para generar el % de humedad a partir de los pesos de las muestras a los tiempos t y con el porcentaje de humedad inicial. La operación de secado de la muestra se suspendió al momento de alcanzar un 10 % de humedad. A partir de los datos de secado obtenidos se construyeron las curvas de secado correspondientes, Anexo 5.

4.6. Obtención de polvos de pulpa de chilacayota

A partir de las láminas de chilacayota deshidratadas, se seleccionaron aquellas muestras cuya coloración fue uniforme durante el proceso de secado. Cabe señalar que algunas de las

láminas deshidratadas presentaron una coloración ligeramente café, debido posiblemente a reacciones de pardeamiento que involucraron a los azúcares presentes en la chilacayota. Las muestras se cortaron en pequeñas dimensiones para incorporarlas a un molino de granos. El tiempo de molienda fue de 4 min con un descanso de 5 min, esto se repitió seis veces. Una vez obtenidos los polvos, se sometieron a un tamizado a través de una malla #60. Posteriormente, los polvos se almacenaron en frascos de poliestireno sellados con papel parafilm para evitar la entrada de aire y absorción de humedad a una temperatura de congelación de -18 °C, para su posterior análisis experimental.

4.7. Cuantificación de compuestos fenólicos en polvos de chilacayota

Preparación de disoluciones

Antes de preparar los reactivos o disoluciones para cada experimento, los disolventes se sometieron a una sonicación durante 30 min para remover las burbujas de aire. Cabe resaltar que el oxígeno en las burbujas, en los disolventes, reacciona con los compuestos antioxidantes, provocando cambios indeseables en las muestras y estándares.

Disolución de EtOH 90 % (v/v)

En un matraz volumétrico de 100 mL se adicionaron 90 mL de EtOH destilado y posteriormente se aforó con agua tipo 1.

Disolución de Folin-Ciocalteou 1 M

En un matraz volumétrico de 10 mL se agregaron 0.5 mL de disolución de Folin-Ciocalteou 2 M y se aforó con agua tipo 1.

Disolución de Na₂CO₃ 0.05 % (m/v)

En un matraz volumétrico de 10 mL se agregaron 5 mg de carbonato de sodio y posteriormente se aforó con agua tipo 1.

Disolución patrón de ácido gálico de 100 µg/mL

Primero se obtuvo una disolución patrón de 1000 µg/mL para ello, se colocaron 10 mg de ácido gálico en un matraz volumétrico de 10 mL, y este se aforó con EtOH al 90 %. A partir de esta disolución se tomó una alícuota de 1000 µL y se transfirió a un matraz volumétrico de 10 mL. Posteriormente, el matraz se aforó en con EtOH al 90 %, esta corresponde a la disolución patrón de 100 µg/mL. Estándares de ácido gálico a concentraciones de 5, 10, 15, 20 y 25 µg/mL se prepararon a partir de esa disolución, Anexo 6.

Obtención de los extractos de polvos y jugos de chilacayota

En tubos Eppendorf se colocaron 150 mg de polvo de chilacayota de semilla blanca y negra, del mes de febrero y 120 mg de polvo de chilacayota de semilla blanca del mes de noviembre. A cada tubo se le adicionó 1 mL de EtOH al 90 %. Los extractos se prepararon por cuadruplicado.

Para la obtención de los jugos, se pesaron dos láminas de chilacayota fresca de semilla blanca y negra del mes de febrero con una masa total de 35.36 g y 38.00 g, respectivamente.

Después, las láminas se transfirieron a morteros para realizar una trituration y de esa manera liberar los jugos de los sólidos. Los jugos se retiraron del mortero con una micropipeta y se colocaron en frascos de poliestireno. Los volúmenes de jugo obtenidos a partir de las láminas de chilacayota de semilla blanca y negra fueron de 18.88 mL y 18.52 mL,

respectivamente. Alícuotas de los jugos obtenidos se sometieron a una centrifugación, decantación y una sonicación durante 20 min con la finalidad de eliminar el los sólidos y el oxígeno. Estos jugos se utilizaron para preparar diluciones en tubos Eppendorf. Esto consistió en adicionar 200 μL de jugo de chilacayota de semilla blanca en un tubo Eppendorf y después adicionar 150 μL de EtOH al 90 %. La dilución del jugo de chilacayota de semilla negra se preparó con 200 μL del jugo y 120 μL de EtOH al 90 %. Las diluciones se llevaron a una sonicación durante 25 min y a una centrifugación de 2000 rpm durante 15 min. Las diluciones de los jugos se prepararon por cuadruplicado, Anexo 6.

Reacción colorimétrica

En una microplaca de 96 pozos se agregaron 40 μL del estándar 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 40 μL de agua tipo 1 para preparar el blanco, por otra parte 40 μL de estándares (5, 10, 15, 20, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) más 40 μL del reactivo de Folin-Ciocalteou. Este proceso se repite de la misma manera para las disoluciones de las muestras en polvo y jugos diluidos de chilacayota. La microplaca se colocó en un lector espectrofotométrico BioTek ELX808 con un reposo de 3 min a temperatura ambiente. Completado el tiempo se agitó la microplaca a una velocidad variable durante 1.5 min. Se retiró la placa del lector y se adicionaron 40 μL de Na_2CO_3 al 0.05 % a todos los pozos, tanto en los blancos, estándares, y muestras de extractos de polvos y jugos. Nuevamente se colocó la placa en el lector y se dejó reposar a 40 °C con 30 min a una absorbancia de 750 nm, Anexo 6.1. Las determinaciones se llevaron a cabo por cuadruplicado.

4.8. Evaluación de la capacidad antioxidante de las muestras por reducción del radical DPPH'

Disolución del radical DPPH'

Diez mg del reactivo DPPH' se pesaron y transfirieron a un matraz volumétrico de 10 mL. Posteriormente, el matraz se aforó con etanol purificado para obtener una disolución de DPPH' al 0.1 %. Una alícuota de 400 µL de esta disolución se colocó en un matraz volumétrico de 10 mL. Después, el matraz se aforó con EtOH destilado para obtener la disolución de DPPH' al 0.004 % del reactivo.

Estándares de BHT

En un matraz volumétrico de 10 mL se adicionaron 10 mg de BHT. El matraz se aforó con EtOH al 90 % para obtener una disolución de BHT de 1000 µg/mL. A partir de esta disolución se prepararon 10 mL de una disolución patrón de 200 µg/mL. Finalmente, a partir de la disolución anterior se prepararon 10 mL de estándares 10, 20, 30, 50 y 70 µg/mL, Anexo 7. La disolución patrón de 200 µg/mL y los estándares se prepararon con etanol al 90 %.

Estándares de ácido ascórbico

En un matraz volumétrico de 10 mL se adicionaron 10 mg de ácido ascórbico. El matraz se aforó con EtOH al 90 % para obtener una disolución de 1000 µg/mL. A partir de esta disolución se prepararon 10 mL de una disolución patrón de 200 µg/mL. Finalmente, a partir de la disolución anterior se prepararon 10 mL de una disolución patrón de 50 µg/mL para preparar los estándares de 2, 4, 6, 8 y 10 µg/mL, Anexo 7. Las disoluciones de 200, 50 µg/mL y los estándares se prepararon con etanol al 90 %.

Estándares de ácido gálico

En un matraz volumétrico de 10 mL se adicionaron 10 mg de ácido gálico. El matraz se aforó con EtOH al 90 % para obtener una disolución de 1000 µg/mL. A partir de esta disolución se prepararon 10 mL de una disolución patrón de 200 µg/mL. Finalmente, a partir de la disolución anterior se prepararon 10 mL de estándares de 1, 2, 3, 4 y 5 µg/mL, Anexo 8.

Preparación de muestras

En tubos Eppendorf se colocaron 100 mg de polvo de chilacayota de semilla blanca y negra del mes de febrero y noviembre, con un 1 mL de EtOH al 90 %. Las muestras se sonicaron durante 25 min y posteriormente se centrifugaron con el objetivo de remover los sólidos.

Posteriormente en tubos Eppendorf se colocó una alícuota de los sobrenadantes y se realizaron diluciones 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 con EtOH al 90 % para obtener volúmenes totales de 1 mL. Respecto a los jugos de semilla negra y blanca, se utilizaron los sobrenadantes sin diluir, previamente centrifugados durante 20 min, para remover los sólidos. Posteriormente, se realizaron diluciones con factores de dilución de 1, 6, 9.75, 13.5 y 21 con agua tipo 1 para obtener volúmenes totales de 1 mL. Las diluciones se llevaron nuevamente a centrifugación durante 15 min. Las diluciones se realizaron por cuadruplicado, Anexo 8.

Evaluación de la capacidad antirradicalar de las muestras frente al DPPH'

En una placa de 96 pozos se agregaron 75 µL de los estándares de BHT, ácido gálico y ácido ascórbico de mayor concentración con 75 µL de solución etanólica de DPPH' (0.004 %) para blancos; 75 µL de cada control a las distintas concentraciones establecidas y 75 µL de la

disolución de DPPH' 0.004 %, para construir las curvas de concentración de control versus % de inhibición de DPPH'. Los volúmenes de las diluciones de los extractos de polvos y jugos se fueron iguales a los utilizados para los controles. Las mezclas de reacción se dejaron reposar durante 30 min. Posteriormente, se agitaron a una velocidad media durante 1 min y finalmente se realizó la lectura de la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro BIOTEK ELX808 a temperatura ambiente, Anexo 8.1. A partir de las curvas construidas se llevó a cabo una regresión logarítmica para calcular la concentración de controles o muestras para inhibir en un 50 % la concentración del DPPH' en la mezcla de reacción.

4.9. Cuantificación del porcentaje (%) de amilosa en harina de maíz comercial

Disolución EtOH al 95 %

En un matraz volumétrico de 10 mL se colocaron 9.5 mL de EtOH acuoso, y posteriormente el matraz se aforó con agua tipo 1.

Disolución ácido acético 1 N

En un matraz volumétrico de 10 mL se colocaron 577 μ L de ácido acético glacial, y posteriormente el matraz se aforó con agua tipo 1.

Disolución NaOH 1 N

En un matraz volumétrico de 25 mL se colocaron 1 g de NaOH, y después el matraz se aforó con agua tipo 1.

Disolución de yoduro de potasio 0.01 M

En un matraz volumétrico de 10 mL se colocaron 0.2 g de yoduro de potasio y 20 mg de I_2 . Posteriormente, el matraz se aforó con agua tipo 1, Anexo 9

Determinar el valor azul del almidón de maíz

En un vial de 4 mL, se agregaron 25 mg de almidón de maíz, 250 μ L de EtOH al 95 % y 2.25 mL de NaOH 1 N. La mezcla se llevó a un baño maría alcanzando el punto de ebullición del agua y se dejó reposar durante 10 min a esas condiciones para gelatinizar el almidón. Transcurrido este tiempo, la muestra se retiró del baño maría y se transfirió a un matraz volumétrico de 25 mL. Posteriormente, el vial se lavó con 5-10 mL de agua tipo 1 para ayudar para ayudar a transferir todo el almidón del vial al matraz, finalmente adicionó agua tipo 1 al matraz de 25 mL hasta la línea de aforo. Esta disolución de almidón gelatinizado se utilizó para cuantificar el valor azul.

Preparación de la reacción colorimétrica y medición del valor azul

Para esta solución, 1.25 mL de la disolución de almidón gelatinizado se transfirieron a un matraz volumétrico de 25 mL, después se adicionaron 250 μ L de ácido acético 1 N, 500 μ L de una disolución de yodo y finalmente el matraz se aforó con agua tipo 1. La mezcla se agitó y se dejó reposar por 20 min a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se transfirió a un frasco ámbar y se almacenó. También se preparó un blanco de la reacción a partir de una disolución preparada de la misma manera que la muestra, en ausencia del almidón. Finalmente, se transfirieron alícuotas de 3.5 mL de la mezcla de reacción del almidón y del blanco a celdas de metacrilato y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 680 nm en un espectrofotómetro

de UV/vis Hach DR 5000 (Anexo 9). El valor de la absorbancia a 680 nm se define como el valor azul. Este valor se utilizó para realizar un estimado del contenido de amilosa en la muestra de almidón comercial (Maizena^{MR}). El estimado se obtuvo a partir de datos reportados en la literatura que relacionaban ambos valores para distintas muestras de almidón comercial, Anexo 9.1.

4.10. Pretratamiento del almidón

El almidón se pretrató para retirar la grasa y facilitar la extracción de la amilosa y la amilopectina empleando únicamente agua.

Primero se preparó una disolución de glicerol al 70 %, la cual se obtuvo a partir de 70 mL de glicerol medidos en una probeta y transferidos a un matraz volumétrico de 100 mL. Posteriormente, el matraz se aforó con agua tipo 1, Anexo 10. Esta disolución se utilizó para inducir la precipitación del almidón de acuerdo al procedimiento siguiente.

Obtención del almidón desengrasado

En un matraz Erlenmeyer de 250 mL provisto de un termómetro y un agitador magnético colocado en un baño de ultrasonido se colocaron 5 g de almidón de maíz y 95 mL de glicerol al 70 %. La mezcla se agitó de forma constante y se calentó hasta alcanzar una temperatura de 89 °C a una velocidad aproximada de 0.8 °C/min. Posteriormente, la mezcla se mantuvo a esa temperatura durante 1 h. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se filtró sobre un papel filtro Whatman #5 en un sistema de filtración a vacío, empleando un embudo büchner y un matraz Kitasato conectado a una bomba de vacío de membrana marca Buy Rocker 300. Para asegurar la remoción del glicerol de los sólidos retenidos en el papel filtro, se procedió

a realizar un lavado con aproximadamente 50 mL de etanol absoluto. El almidón pretratado es el sólido retenido en el papel filtro (almidón desengrasado), se pesó y almacenó en un frasco ámbar.

4.11. Separación de amilosa y amilopectina

Preparación de disolución buffer de fosfatos 0.1 M (pH = 6.3)

En un matraz volumétrico del 100 mL se colocaron 1.247 g de fosfato de sodio monobásico, 0.348 g de fosfato de sodio dibásico. Posteriormente, el matraz se aforó con agua tipo 1, Anexo 11.

Disolución del almidón en buffer de fosfatos 0.1 M (pH = 6.3)

En un matraz Erlenmeyer de 500 mL se colocaron 2 g de almidón desengrasado con 100 mL de la disolución buffer de fosfatos. La suspensión se agitó manualmente a una temperatura de 95 °C durante 15 min en una parrilla eléctrica. Transcurrido el tiempo, la suspensión se transfirió a un baño de hielo con agua (0-2 °C) para su enfriamiento. Después, el sobrenadante se transfirió a tubos Falcón de 50 mL. Posteriormente, los tubos se llevaron a una centrifugación a 4500 rpm durante 1 h. El sobrenadante resultante consistió de amilosa producida por la separación. Mientras el sólido sedimentado consistió de amilopectina, Anexo 11.

4.12. Obtención de α -amilosa en polvo

En un matraz Erlenmeyer de 250 mL se colocó el sobrenadante conteniendo amilosa proveniente de la etapa anterior. Posteriormente, se realizó una dilución 1:3 con butanol (disolución de amilosa/butanol). La mezcla se dejó reposar durante 8 h a temperatura ambiente.

Después, la mezcla se llevó a una centrifugación de 4500 rpm durante 20 min. La fracción del sólido obtenido se llevó a una filtración con un papel filtro Whatman #5 usando 50 mL de etanol para la remoción de sólidos suspendidos de la disolución de buffer de fosfatos/butanol. La amilosa retenida en el papel filtro se llevó a estufa a una temperatura de 40 °C durante 1 h. Finalmente, la amilosa obtenida se pesó para su análisis de rendimiento, Anexo 12.

4.13. Reacción enzimática

Disolución de triyoduro de potasio 0.01 M

En un vaso precipitados de 10 mL se colocaron 63 mg de yodo molecular, 0.0415 g de yoduro de potasio utilizando alrededor de 4 mL de agua tipo 1. Posteriormente, se realizó una agitación manualmente hasta obtener una mezcla homogénea. Seguido de esto, la mezcla se colocó en un matraz Erlenmeyer de 50 mL, realizando un lavado con agua tipo 1 en las paredes del vaso precipitado hasta alcanzar la línea de aforo. La disolución de triyoduro se almacenó a temperatura ambiente, en un frasco ámbar y bien sellado. Cabe señalar que antes de emplear el triyoduro se agitó previamente durante 20 min.

Disolución de HCl 1.5 M

En un matraz volumétrico de 10 mL se colocaron 1.447 mL de HCl al 37%. Posteriormente, el matraz se aforó con agua tipo 1.

Disolución buffer de acetatos 0.1 M

En un matraz volumétrico de 50 mL se colocaron 85 mg de acetato de sodio, 10 mg de azida de sodio, 0.104 mL de ácido acético glacial. Posteriormente, el matraz se aforó con agua tipo 1.

Disolución de α -amilosa de maíz de 1000 $\mu\text{g/mL}$

En un vaso precipitado de 10 mL se colocaron 10 mg de amilosa de maíz y 1 mL de NaOH 1 N, se dejó en reposo durante 18 h a una temperatura de refrigeración de 4 °C. Posteriormente, una vez transcurrido el tiempo de refrigeración de la mezcla, se adicionaron 7 mL de agua tipo 1, agregando lentamente gotas de ácido acético glacial hasta alcanzar un pH de 5. Finalmente, se agregaron 10 mg de azida de sodio como conservador del buffer. la mezcla se transfirió a un matraz volumétrico de 10 mL y se aforó con agua tipo 1, Anexo 13 y 14.

Reacción enzimática de la α -amilosa

En un matraz volumétrico de 10 mL, a partir de la disolución de α -amilosa de 1000 $\mu\text{g/mL}$ se realizó una disolución de 200 $\mu\text{g/mL}$. La preparación de esta disolución se realizó con el buffer de acetatos 0.1 M. Posteriormente, en tubos Eppendorf se prepararon disoluciones estándares de α -amilosa de 25, 50, 75, 100, 125, 150 y 300 $\mu\text{g/mL}$. Los estándares se prepararon con buffer de acetatos 0.1 M para obtener volúmenes de 1 mL.

En una microplaca de 96 pozos, se colocaron 30 μL de EtOH al 90 % y 60 μL de buffer de acetatos para los blancos. Posteriormente, se colocaron 30 μL de los estándares de α -amilosa, 30 μL de buffer de acetatos 0.1 M, 10 μL de HCl 1.5 M y 50 μL de triyoduro 0.01 M. La adición del HCl tuvo la función de inactivar la enzima. La microplaca se colocó en un lector

espectrofotométrico y se dejó reposar a una temperatura de 37 °C durante 5 min. Transcurrido el tiempo, se procedió a una agitación media de 30 s. Finalmente, la mezcla de reacción se leyó a una absorbancia de 595 nm, Anexo 14. Las diluciones se realizaron por cuadruplicado.

Disolución de α -amilasa de 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$

En un vaso de precipitados de 10 mL se colocaron 10 mg de α -amilasa (Amylace enzyme formula, marca: SBG). La enzima se homogenizó con 4 mL de buffer de acetatos 0.1 M (pH 5).

La mezcla se transfirió a un matraz volumétrico de 10 mL. Posteriormente, el matraz se aforó con el buffer de acetatos 0.1 M. Finalmente, en tubos Eppendorf se preparó 1 ml de disoluciones de α -amilasa a concentraciones de 500, 400, 300, 200, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ con buffer de acetatos 0.1 M.

A partir de la concentración de 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de α -amilosa se prepararon dos grupos de reacciones en la microplaca, uno con enzima hidrolizada y otro con enzima activa, Anexo 15.

Reacción enzimática de la α -amilosa con la α -amilasa

Antes de realizar la lectura de absorbancia se preparó el espectrofotómetro a 37 °C. Por otra parte, las disoluciones de la enzima α -amilasa se calentaron a 37 °C durante 10 min en un baño María. Posteriormente, para el grupo de reacciones con la enzima hidrolizada (control negativo), se agregaron 30 μL de α -amilosa 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 10 μL de HCl 1.5 M y 30 μL de α -amilasa a las concentraciones de 500, 400, 300, 200 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en una placa de 96 pozos.

Para el grupo de reacciones de enzima activa se agregaron 30 μL de α -amilosa de 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 30 μL de α -amilasa con a concentraciones de 500, 400, 300, 200 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Cabe mencionar, que el blanco de las reacciones enzimáticas se preparó con 30 μL de EtOH al 90 %,

en lugar de las disoluciones de la enzima α -amilasa. La placa se llevó al lector espectrofotométrico a una agitación media de 30 s con un posterior reposo de 30 min.

Transcurrido el tiempo, se retiró la placa y al grupo de reacciones con enzima hidrolizada se le adicionaron 50 μ L de triyoduro 0.01 M. En el grupo de reacciones con la enzima activa, se agregaron 10 μ L de HCl 1.5 M y 50 μ L de triyoduro 0.01 M. La placa se colocó en el lector de microplacas, se agitó a velocidad media durante 30 s y se dejó en reposo por 5 min. Finalmente, se leyó la absorbancia a las mezclas de reacción a una longitud de onda de 595 nm, Anexo 16. Las determinaciones se realizaron por cuadruplicado. A partir de estos resultados se determinó la concentración de α -amilasa adecuada para llevar a cabo la reacción con los extractos de chilacayota.

Preparación de extractos de polvos y jugos de chilacayota

En tubos Eppendorf se colocaron 10 mg de polvos de chilacayota de ambas variedades de semilla (blanca y negra) del mes de febrero y noviembre con 1 mL de EtOH al 90 %.

Posteriormente, los tubos se sonicaron durante 20 min y centrifugaron a 2000 rpm durante 15 min para remover el oxígeno y sólidos suspendidos, respectivamente. A partir de este extracto se prepararon disoluciones de 1 mL a concentraciones de 1, 2, 3, 4 y 5 μ g/mL EtOH al 90 %. Las disoluciones se sonicaron y centrifugaron durante 25 min con el objetivo de eliminar el oxígeno y sólidos disueltos, respectivamente.

Respecto a los jugos de chilacayota de ambas variedades de semilla (blanca y negra), se realizaron disoluciones de 1 mL con factores de dilución de 10, 20, 100, 200 y 1000 empleando agua tipo 1. También se preparó un grupo de disoluciones de los jugos con un buffer de acetatos 0.1 M a un pH de 5 con factores de dilución 2, 4, 20, 40 y 200. Finalmente, ambos grupos de

disoluciones de jugos en agua tipo 1 y buffer de acetatos 0.1 M se sonicaron y centrifugaron durante 15 min para remover el oxígeno y sólidos suspendidos para evitar interferencias y evaluar su efecto inhibitor durante la reacción enzimática de la α -amilasa con la α -amilosa.

Cuantificación de capacidad antidiabética de polvos y jugos de chilacayota a partir de la inhibición de la reacción enzimática de la α -amilasa con la α -amilosa

Una vez determinadas las disoluciones de enzima α -amilasa y α -amilosa a las concentraciones adecuadas, a partir de experimentos previos. Se procedió a realizar un acondicionamiento térmico de la disolución α -amilasa, en un baño maría a 37 °C.

Posteriormente, se prepararon las mezclas de reacción correspondientes a los controles negativos. Esto consistió en colocar 30 μ L de extracto/jugo, 30 μ L de disolución de α -amilosa de 300 μ g/mL, 10 μ L de HCl 1.5 M y 30 μ L de α -amilasa 500 μ g/mL en una microplaca de 96 pozos. Para el grupo de reacciones con enzima activa, se agregaron 30 μ L de extracto/jugo, 30 μ L de α -amilosa de 300 μ g/mL y 30 μ L de α -amilasa de 500 μ g/mL, Anexo 16, 17 y 18. A partir de este paso se sigue el procedimiento antes descrito.

4.14. Cuantificación de inhibición de acarbosa en α -amilosa de maíz

Preparación de disoluciones de acarbosa

La preparación de una disolución de acarbosa de 1000 μ g/mL, en un matraz volumétrico de 10 mL se colocaron 10 mg de acarbosa pura. Posteriormente, el matraz se aforó con buffer de acetatos 0.1 M a un pH de 5.

En un matraz volumétrico de 10 mL, a partir de la disolución de acarbosa de 1000 $\mu\text{g/mL}$ se prepararon disoluciones de 350, 250, 150, 75, 30 y 10 $\mu\text{g/mL}$ empleando un buffer de acetatos 0.1 M como disolvente, Anexo 19.

El procedimiento para llevar a cabo la evaluación de la inhibición de la reacción de la α -amilasa con la α -amilosa se llevó a cabo de acuerdo al procedimiento antes descrito.

4.15. Análisis estadístico

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y un comparativo múltiple de medias por el método de Tukey para determinar diferencias significativas entre las cinco muestras estudiadas. Los análisis se llevaron a cabo a un nivel de significancia de 0.05, Anexo 24.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Determinación de humedad en la pulpa y jugo de chilacayota

En la Tabla 8 se muestran los porcentajes de humedad de las pulpas y jugos de chilacayotas. Estos resultados indican que el intervalo de la humedad de las pulpas se encuentra entre 92.84 y 89.59 %. La muestra de pulpa con un menor contenido de humedad fue la pulpa de chilacayota de semilla negra del mes de febrero. En general el contenido de humedad de las pulpas es similar a lo reportado por Rodríguez *et al.*, (2018). Estos autores reportaron un contenido de humedad del 87.75 ± 0.46 % en pulpa. Respecto a los jugos, se obtuvo un resultado similar al reportado por Tirado *et al.*, (2015), quienes reportaron un contenido del 95.34 ± 0.01 % en el jugo de calabaza.

Estos reportes confirman que el porcentaje de humedad de la chilacayota estudiada y su jugo se encuentran dentro del intervalo descrito para *cucurbitas*.

Tabla 8

Contenido de humedad de la pulpa y jugos de chilacayota.

Muestra	Contenido de humedad (%)	Fuente
CSB-F	92.84 ± 0.61	Presente estudio
CSN-F	89.59 ± 0.57	
CSB-N	90.33 ± 0.74	
JSB-F	94.34 ± 0.58	
JSN-F	93.84 ± 0.42	
Pulpa de <i>C. maxima</i>	87.75 ± 0.46	(Rodríguez <i>et al.</i> , 2018)
Jugo de <i>C. maxima</i>	95.34 ± 0.01	(Tirado <i>et al.</i> , 2015)

CSB-F: Chilacayota semilla blanca-Febrero. CSN-F: Chilacayota semilla negra-Febrero. CSB-N: Chilacayota semilla blanca-Noviembre. JSB-F: Jugo chilacayota semilla blanca-Febrero. JSN-F: Jugo chilacayota semilla blanca-Febrero.

Nota: los datos se expresan como la media de las muestras por triplicado \pm desviación estándar.

5.2. Rendimiento de las chilacayotas de cáscara verde de la variedad semilla blanca y negra del mes de febrero y noviembre

Los rendimientos del producto se deben a sus condiciones de cultivo, entre ellos, clima, suelo, agua, cuidados para evitar plagas, entre otros. Estas condiciones influyen en el desarrollo del fruto, su composición química y propiedades físicas (Ayuntamiento de Pahuatlán, 1990).

Cabe señalar que los cultivos pueden llegar a ser altamente productivos cuando se extienden en el suelo, sobre surcos de 3 o 4 m a partir de su pie. Esto permite aumentar la cabellera radical de la planta conduciendo a una mayor producción de frutos.

Tabla 9

Rendimiento en masa de pulpa de chilacayotas de ambas variedades de semilla (febrero y noviembre).

Muestra	Peso inicial (kg)	Peso semillas (kg)	Peso placenta (kg)	Peso pulpa (kg)	Rendimiento en masa total de pulpa (%)
CSB-F	9.52	0.35	1.67	5.58	79.83
CSN-F	8.98	0.32	1.14	5.48	77.28
CSB-N	6.69	1.29	2.75	0.74	71.45

CSB-F: Chilacayota semilla blanca-Febrero. **CSN-F:** Chilacayota semilla negra-Febrero. **CSB-N:** Chilacayota Semilla blanca-Noviembre.

Nota: los datos se expresan como la media de las muestras por triplicado \pm desviación estándar.

El rendimiento en masa de la pulpa de las muestras de chilacayota estudiadas en el presente trabajo se encuentran en el intervalo de 71.45 a 79.83 %. Así mismo, es posible observar que la chilacayota de semilla blanca obtenida en noviembre tuvo un menor rendimiento que la obtenida en febrero. La diferencia en rendimiento, sin lugar a dudas se debe a las

condiciones de cultivo. En relación a esto Alcántar, (2018) reportó una clasificación de las *cucurbitas*, indicando que los frutos medianos tienen un peso promedio de 5.4 ± 0.7 kg y una porción comestible (pulpa sin semillas) de 4.3 ± 0.3 kg. Mientras que los frutos grandes tienen un peso promedio de 8.3 ± 0.7 kg con porción comestible de 6.6 ± 0.7 kg. Por lo tanto, se puede concluir que los frutos de las chilacayotas estudiadas son grandes. Por otra parte, Bressani, (2015) menciona un rendimiento de masa en pulpa de chilacayota de 68.2-72 %, y Gabrys *et al.*, (2008) del 79 %, estos reportes confirman que en las muestras utilizadas para la presente investigación están dentro del intervalo descrito para *cucurbitas* (Tabla 9).

5.3. Deshidratación de la pulpa en un horno de charolas giratorias

Para el proceso de secado se obtuvo un producto final con un contenido de humedad del 10 %. La cámara de secado se conservó a una temperatura 50 ± 1 °C con una circulación de aire secante de 1.2 m/s. Esto indicó una distribución homogénea del aire caliente durante el proceso de secado. Esto permitió un secado uniforme de las muestras. En la Tabla 10 se muestran los resultados del secado de las láminas de pulpa de chilacayota.

Tabla 10

Promedio MR de pulpa de chilacayota, cáscara verde, semilla blanca y negra.

(febrero/noviembre).

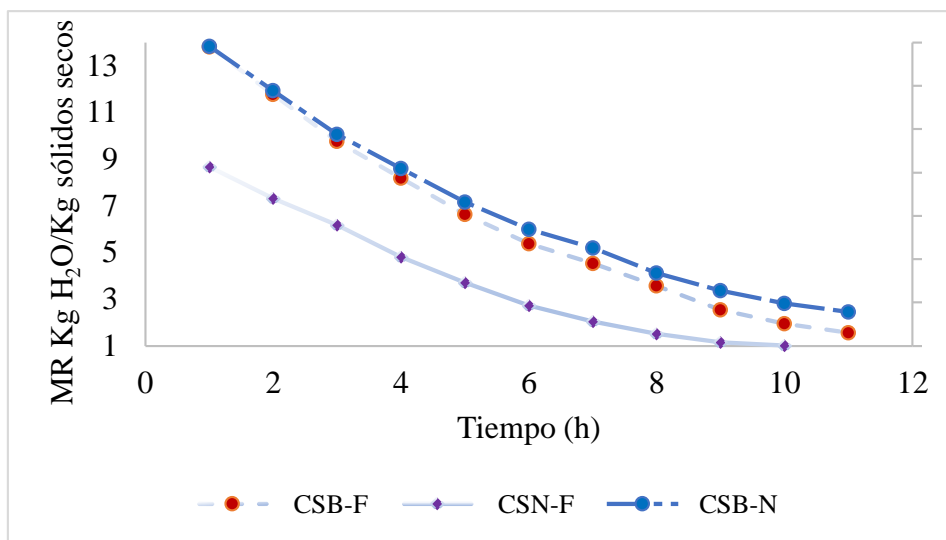
Muestra	Masa inicial (g)	Humedad inicial (%)	Tiempo (h)	Masa final (g)	Humedad final (%)
PuSB-F	21.37 ± 1.20	92.84 ± 0.61	11	2.26 ± 0.34	9.80 ± 0.94
PuSN-F	20.00 ± 0.25	89.59 ± 0.57	10	2.27 ± 0.25	10.40 ± 1.85
PuSB-N	16.73 ± 1.81	90.33 ± 0.74	11	2.94 ± 0.68	9.50 ± 0.63

PuSB-F: Pulpa semilla blanca-Febrero. **PuSN-F:** Pulpa semilla negra-Febrero. **PuSB-N:** Pulpa semilla blanca-Noviembre.

Nota: los datos se expresan como la media de las muestras por triplicado ± desviación estándar.

En la Figura 7 se presentan las curvas de secado, donde se muestra el tiempo de secado (h) *versus* la razón de humedad (MR) (kg de agua/kg de sólidos secos). La Figura 7 muestra las curvas de secado de la pulpa deshidratada de la chilacayota en ambas variedades de semilla blanca y negra del mes de febrero y noviembre. Los resultados indican que las láminas de la pulpa de semilla negra requirieron de 1 h menos que las láminas de la pulpa de semilla blanca. Cabe recordar que las muestras son de diferente cosecha.

Después de realizar una revisión exhaustiva de la literatura sobre procesos de deshidratación de *cucurbitas*, se encontraron diversos estudios que involucran procesos de liofilización, secado por aspersion y por ósmosis. Sin embargo, no se encontraron reportes del secado de pulpa de *cucurbitas* con aire calientes en secadores de charolas. Por lo tanto, este es el primer reporte que utiliza el secado de una *cucurbita* en un secador de charolas con una posterior obtención de un producto en polvo a un porcentaje de humedad al 10 %.



CSB-F: Chilacayota semilla blanca-Febrero. **CSN-F:** Chilacayota semilla negra-Febrero. **CSB-N:** Chilacayota semilla blanca-Noviembre.

Figura 7. Tiempo de secado en un horno de charolas giratorias en pulpa de chilacayota.

5.4. Obtención de polvos a partir de la pulpa deshidratada

Los resultados de la obtención de polvos a partir de las láminas deshidratadas de chilacayota se muestran en la Tabla 11. Estos resultados indican un rendimiento de alrededor del 50 %. Esto se debió a que las láminas fueron muy resistentes al corte con las cuchillas del molino. Además, durante la molienda se provocó la formación de aglomerados que no se recuperaron e influyeron en el bajo rendimiento de obtención de polvos.

Tabla 11

Rendimientos de obtención de polvos de chilacayota a partir de las láminas deshidratada.

Chilacayota	Peso de pulpa (kg)	Peso muestra fresca-pulpa (g)	Peso muestra seca (g)	polvo de chilacayota obtenido (g)	Pérdida (g)	Rendimiento %
PSB-F	5.58	351.99	42.64	22.50	20.14	52.76
PSN-F	5.48	657.60	68.33	34.72	33.61	50.81
PSB-N	0.74	234.15	36.26	22.30	13.96	61.50

PSB-F: Polvo semilla blanca-Febrero. **PSN-F:** Polvo semilla negra-Febrero. **PSB-N:** Polvo semilla blanca-Noviembre.

Nota: los datos se expresan como la media de las muestras por triplicado \pm desviación estándar.

5.5. Contenido de compuestos fenólicos en los jugos y polvos de chilacayota

La cuantificación de fenoles se realizó en los jugos de la chilacayota del mes febrero obtenidos a partir de la pulpa fresca y de los polvos de chilacayota de semilla blanca y negra de ambos meses (febrero y noviembre). Durante el almacenamiento, la pulpa fresca y los polvos se almacenaron a una temperatura de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabla 12).

La cuantificación de los fenoles totales se realizó con base a una curva de calibración de ácido gálico. A partir de una regresión lineal de los datos se obtuvieron los valores del intercepto (b) y la pendiente (a) para la ecuación general $y = ax+b$. Posteriormente, con la absorbancia obtenida para cada muestra, se calculó la concentración de fenoles totales expresados mg EAG/100 g de sólidos secos.

Para la chilacayota de cáscara verde semilla blanca del mes de noviembre se obtuvo un contenido de fenoles totales de 15.99 ± 0.18 mg EAG/100 mg de sólidos secos. Cabe mencionar que en los polvos de chilacayota del mes de febrero no se detectaron fenoles debido a que la

cuantificación se llevó a cabo 6 meses después de su obtención y durante este período se degradaron. Además, los resultados muestran que el proceso de secado degrada los compuestos fenólicos hasta en un 60% (Tabla 12).

Tabla 12

Contenido de compuestos fenólicos en C. ficifolia B.

Partes estudiadas	Tratamientos material vegetal	FT (mg EAG/100 g sólidos secos)	Autor
Pulpa	PSB-Fdeshidratado 10%	ND	Presente estudio
Pulpa	PSN-F deshidratado 10%	ND	
Pulpa	PSB-N deshidratado 10%	15.99 ± 0.18 ^a	
Pulpa	Secado y maceración (<i>C. ecuadorensis</i>)	20.82 ± 0.9	(Jhon & Castillo, 2019)
Pulpa	Secado por aspersión (<i>C.ficifolia B.</i>)	90.25 ± 3.1	(Lucero P.,2019)
Pulpa	Secado (<i>C. moschata</i>)	22.9 ± 1.1	(Jhon & Castillo, 2019)
Jugo de la pulpa	Jugo semilla blanca fresco	42.29 ± 0.53 ^b	Presente estudio
Jugo de la pulpa	Jugo semilla negra fresco	44.26 ± 0.69 ^c	
Jugo de la pulpa	Aspersión con coadyuvante (SLP)	182.99 ± 2.81	(Lucero P.,2019)

PSB-F: Polvo semilla blanca-Febrero. **PSN-F:** Polvo semilla negra-Febrero. **PSB-N:** Polvo semilla blanca-Noviembre. **SLP:** Proteína de suero láctico. Las letras superíndice diferentes indican diferencia significativa entre medias en la columna a un $\alpha=0.05$ empleando la prueba de TUKEY

Nota: los datos se expresan como la media de las muestras por triplicado ± desviación estándar.

De acuerdo a la literatura consultada, los valores más altos en fenoles totales se reportaron en las fracciones metanólicas de las cuatro variedades de *cucurbita* spp con valores de 10.68-16.32 mg EAG/g de muestra seca. En general, los disolventes reportados para la extracción de

fenoles en *cucurbitas* son el metanol, etanol y acetato de etilo debido a que tienen una fuerte afinidad por estos compuestos. El acetato de etilo se recomienda debido a que se minimiza la extracción de los azúcares reductores que pueden interferir en la reacción entre los fenoles y el Folin-Ciocalteou. Empleando este disolvente se reportó que las pulpas de *C. ecuadorensis*, *C. maxima*, *C. moschata* y *C. pepo* contiene, 20.8 ± 0.9 , 7.3 ± 0.4 , 22.9 ± 1.1 y 5.0 ± 0.3 mg EAG/100 g de sólidos secos de pulpa, respectivamente (Sedigheh *et al.*, 2011), (Jhon & Castillo, 2019).

Los jugos de la chilacayota tuvieron una concentración de fenoles totales menor que los reportados por (Santiago P., 2019), 182.99 ± 2.81 mg EAG/100 g sólidos de chilacayota.

Santiago (2019) reportó un contenido de fenoles totales de 90.25 ± 3.1 mg EAG/100 g de sólidos de chilacayota en polvos de chilacayota obtenidos por secado de aspersion, empleando como coadyuvante proteína de suero lácteo. Santiago, (2019) sugiere que la proteína de suero lácteo, permitió una retención de fenoles del 49.3 %. Esta retención es similar a la obtenida en el presente trabajo. Cabe señalar que en el secado de las láminas de chilacayota que se llevaron al secado en el secador de charolas no se les incorporó coadyuvante o pretratamiento alguno.

5.6. Capacidad antioxidante expresada como la inhibición del DPPH'

Los resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante de los jugos de chilacayota expresados como la concentración de jugo en base seca necesaria para reducir el 50 % del DPPH', abreviada como IC₅₀, se reportan en la Tabla 13. En esta Tabla, también se incluyen los resultados de tres controles positivos que permitieron validar la prueba. A partir de los resultados obtenidos para las muestras, se puede apreciar que los jugos de semilla blanca del mes de febrero tienen una mayor actividad antirradicalar que los jugos de semilla negra del mismo mes. Así mismo, también fue posible apreciar que los polvos, en general, tienen una

mayor actividad antirradicalar que los jugos. Esto posiblemente se debe a que, durante la extracción de las muestras en polvo, se lograron liberar más eficiente los compuestos antioxidantes. Por otra parte, al comparar los resultados obtenidos con valores reportados en la literatura, los extractos de muestra en polvo como los jugos son similares a los resultados obtenidos por Ramón *et al.*, (2006).

De acuerdo a los autores consultados las muestras estudiadas en polvo de pulpa de chilacayota nos muestra una capacidad antioxidante similar a *C. ecuadorensis* con un IC₅₀ de 86.32 ± 1.5 mg/mL presentado por Jhon & Castillo, (2019), *C. moschata* con un IC₅₀ de 78.50 ± 0.85 mg/mL, *C. pepo L.* con un IC₅₀ de 93.55 mg/mL (Mondal *et al.*, 2017) y con la pulpa seca de *C. ficifolia B.* con un IC₅₀ de 91.82 ± 0.23 mg/mL (Ventura, 2012). Consecuentemente, las muestras estudiadas contienen una capacidad antioxidante equiparable a cualquier otra *cucurbita* reportada en la literatura. Además, al relacionar los resultados capacidad antioxidante con el contenido de fenoles totales es posible afirmar que estos parámetros no están del todo relacionados entre sí.

Tabla 13

Capacidad antirradicalar de las muestras de chilacayota (C. ficifolia B.) frente al radical DPPH.

Control/Muestra	Concentración	Intervalo de concentración	IC ₅₀
Ácido gálico		0.02 - 0.1	1.60 ± 0.017
Ácido ascórbico	µg/mL	0.02 - 0.1	4.81 ± 0.33
BHT		0.1 - 0.7	34.16 ± 0.64
PSB-N		18 - 90	48.10 ± 1.18 ^a
PSB-F		18 - 90	56.12 ± 0.61 ^b
PSN-F	mg/mL	18 - 90	54.38 ± 0.82 ^b
JSB-F		8.18 - 171.80	61.04 ± 2.90 ^c
JSN-F		11.76 - 247.07	80.63 ± 1.76 ^d

PSB-F: Polvo semilla blanca-Febrero. **PSN-F:** Polvo semilla negra-Febrero. **PSB-N:** Polvo semilla blanca-Noviembre. **JSB-F:** Jugo semilla blanca-Febrero. **JSN-F:** Jugo semilla negra-Febrero. Las letras superíndice diferentes indican diferencia significativa entre medias en la columna a un $\alpha=0.05$ empleando la prueba de TUKEY

Nota: los datos se expresan como la media de las muestras por triplicado ± desviación estándar.

5.7. Evaluación de la inhibición de la α -amilasa

Para evaluar la capacidad antidiabética se utilizó una nueva prueba de inhibición de la α -amilasa. Esta prueba implicó un par de reacciones. La primera reacción consistió en exponer α -amilosa con los extractos a un medio ácido capaz de inactivar a la enzima α -amilasa. La segunda reacción consistió en hacer reaccionar la mezcla de α -amilosa con α -amilasa y después de un periodo de 10 min se inactivó la enzima. Posteriormente, las mezclas de reacción, se combinaron con una disolución de triyoduro para promover la formación de un complejo de α -amilosa-triyoduro con un color azul característico que absorbe luz a 595 nm. Las diferencias de absorbancia de las muestras con enzima inactivan menos enzima activa permitieron calcular los porcentajes de inhibición correspondientes.

Para lograr obtener resultados confiables se aisló α -amilosa a partir de harina de maíz comercial. Previamente una muestra de harina se sometió a una prueba de cuantificación de α -amilosa empleando el valor azul, calculado por espectrofotometría a una longitud de onda de 595 nm y un camino del haz de luz de 1 cm. Este valor se correlacionó con valores de % de α -amilosa *versus* valor azul reportados en la literatura. En la Figura 8 se muestra la curva que relaciona el % de α -amilosa con el valor azul. La cuantificación del valor azul en el almidón comercial (Maizena^{MR}) se realizó con el método reportado por Vitor *et al.*, (2019).

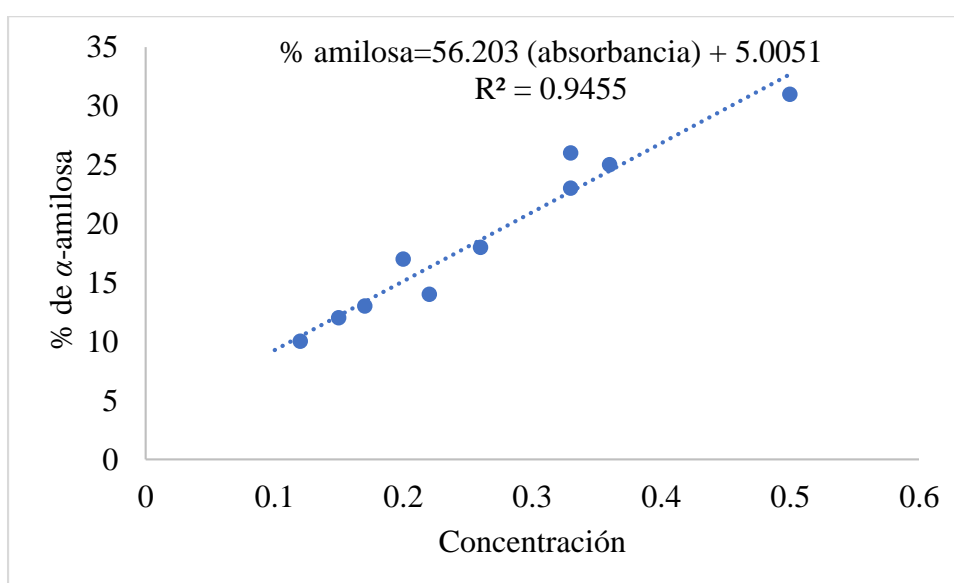


Figura 8. Ecuación de calibración en concentración de amilosa en harina expresada en % (p/p).

La absorbancia calculada para la muestra de harina fue de 0.2217 ± 0.0031 y al emplear la ecuación de calibración reportada en la Figura 8, conduce a un contenido de α -amilosa de 17.42 ± 0.0031 % ($n = 3$). Este valor es similar al reportado por diversos autores para el contenido de α -amilosa en diversas harinas de maíz comerciales (Tabla 14).

Tabla 14

Contenido de α -amilosa en distintas harinas de maíz.

Almidón	Amilosa %	Fuente
Maíz	27	(Agama-Acevedo <i>et al.</i> , 2013)
Endospermo de maíz blanco	20.60	(Agama-Acevedo <i>et al.</i> , 2013)
Maíz común	28	(Tester <i>et al.</i> , 2004)
Maíz tabloncillo	23.40	(Tester <i>et al.</i> , 2004).

Una vez determinado el % de α -amilosa se procedió al aislamiento de la misma. Posteriormente se calculó el porcentaje de α -amilosa obtenida desde la muestra, el cual fue del 5.7 %. Si el % de α -amilosa teórico en la muestra fue del 17.42 ± 0.0031 %. El % de α -amilosa recuperada fue del 32.7 %. Adicionalmente. Se obtuvo una fracción de amilopectina correspondiente al 80 % de la masa de la muestra de harina de maíz. En la Tabla 15 se resumen los porcentajes de productos en la etapa de obtención de α -amilosa.

Tabla 15

Rendimiento de fécula de maíz para la extracción de amilosa y amilopectina.

Muestra	%
Almidón desengrasado	100
Amilopectina	80
Amilosa	5.7

En general, las muestras caen en la clasificación de almidón normal en base a su contenido de amilosa que va de 20-35 % de acuerdo a Tester *et al.*, (2004).

Es importante señalar que el valor azul depende de la amilosa y variedad del producto a utilizar debido a los diferentes tipos de maíz (blanco, azul, amarillo, colorado, negro, etc.),

propiedades fisicoquímicas y el tipo de tratamiento industrial al que se somete (Amagama-Acevedo *et al.*, 2013).

5.8. Evaluación de la inhibición de la α -amilasa por extractos de polvos y jugos de la chilacayota

Una vez obtenida la α -amilosa se procedió a llevar cabo la reacción enzimática con la α -amilasa. Esto tuvo como finalidad identificar las concentraciones de sustrato y enzima adecuadas, para en una etapa posterior realizar las pruebas de inhibición enzimática. La concentración del formulado de α -amilasa se fijó en 500 $\mu\text{g/mL}$. Mientras que las concentraciones de α -amilosa se variaron en un intervalo inicial de 25 a 300 $\mu\text{g/mL}$, Anexo 22.

Los resultados muestran un comportamiento lineal después de un período de reacción de 5 min. Estos resultados permitieron proponer el uso de una disolución de α -amilosa de 300 $\mu\text{g/mL}$ y de α -amilasa de 500 $\mu\text{g/mL}$ para llevar a cabo una reacción enzimática durante 10 min.

Los experimentos de inhibición de la α -amilasa involucraron cinco de muestras de chilacayota, tres muestras de polvos, de pulpa de chilacayota de semilla blanca de febrero (PSB-F) y de noviembre (PSB-N) y una de semilla negra de febrero (PSN-F), y los jugos de chilacayota de semilla blanca (JSB-F) y negra de febrero (JSN-F). También se utilizó como control positivo la acarbosa, Los resultados de las pruebas se muestran en la Tabla 16. Estos resultados muestran que los polvos tienen una mayor capacidad para inhibir la α -amilasa que los jugos. También se puede apreciar que la alta eficiencia de inhibición de los polvos de chilacayota retienen sus propiedades por más de 6 meses. Sin embargo, los polvos de semilla blanca del mes de febrero contienen una alta capacidad antidiabética con un IC_{50} de 0.89 ± 0.14 mg/mL (Tabla 16). Todos los polvos de chilacayota mostraron una mayor capacidad para inhibir

la α -amilasa que la acarbosa grado analítico, la cual presentó un porcentaje de inhibición máximo de 12.65 %, por lo que no se logró obtener un IC₅₀.

Cabe señalar que se ha reportado que la acarbosa a concentraciones de 100 $\mu\text{g/mL}$ muestra un porcentaje de inhibición máximo de 58.45 % en la actividad la α -amilasa (Tamil *et al.*, 2010).

Es importante señalar que la capacidad para inhibir la α -amilasa depende de diversos factores, por ejemplo, el pH, disolvente y temperatura de la mezcla de reacción. Por lo tanto, resulta complicado realizar análisis comparativos entre distintos estudios. Esto se confirma con otro estudio realizado por Duraiswamy *et al.*, (2016), quienes reportan un IC₅₀ de acarbosa de $200 \pm 10 \mu\text{g/mL}$.

Por otro lado, los jugos presentaron una capacidad de inhibición de la similar a la acarbosa. Es importante mencionar que las pruebas de los jugos para evaluar la inhibición de α -amilasa se llevaron a cabo en agua y en un buffer de acetatos de pH = 5. Los resultados obtenidos en ambos casos fueron similares (Tabla 16).

Las diferencias en los resultados obtenidos entre jugos y polvos de chilacayota, posiblemente se pueden atribuir a que los jugos contenían polisacáridos digeribles, tal como la amilosa y posiblemente esto interfirió en la medición de la inhibición de la α -amilasa.

La prueba de inhibición de α -amilasa desarrollada en el presente trabajo permite de manera rápida y reproducible la obtención de resultados confiables. Esto ayuda a contribuir a la obtención de datos *in vitro* para la evaluación antidiabética. De esta manera se puede evitar o restringir el uso de animales para detectar la actividad antidiabética (Jijith & S, 2017).

Tabla 16

Actividad antidiabética de las muestras de chilacayota (C. ficifolia B.) frente a la enzima α -amilasa.

Control/Muestra	Concentración	Intervalo de concentración	% Inhibición máximo	IC ₅₀ mg/mL
Acarbosa	μg/mL	0.10 – 0.250	12.65	-
PSB-F		0.1 – 10	71.70	0.89 ± 0.14 ^a
PSN-F		0.1 – 10	73.44	1.05 ± 0.28 ^a
PSB-N		0.1 – 10	69.97	1.33 ± 0.31 ^a
JSB-F (H₂O)	mg/mL	0.49 – 98.46	8.45	-
JSN-F (H₂O)		0.48 – 96.51	7.38	-
JSB-F (buffer)		4.92 – 492.30	16.90	-
JSN-F (buffer)		4.82 – 482.55	16.66	-

PSB-F: Polvo semilla blanca-Febrero. **PSN-F:** Polvo semilla negra-Febrero. **PSB-N:** Polvo semilla blanca-Noviembre. **JSB-F:** Jugo semilla blanca-Febrero. **JSN-F:** Jugo semilla negra-Febrero. Las letras superíndice diferentes indican diferencia significativa entre medias en la columna a un $\alpha=0.05$ empleando la prueba de TUKEY

Nota: los datos se expresan como la media de las muestras por triplicado ± desviación estándar.

No obstante, debemos tener en cuenta que no es completamente acertado en humanos, debido a que cada persona tiene estilos de vida diferentes lo cual variará los efectos de este método dentro de un laboratorio. Por lo tanto, se vuelve importante desarrollar estudios con pacientes para determinar el efecto de los polvos de chilacayota en el control de la diabetes mellitus tipo II.

Después de realizar una revisión de la literatura sobre procesos de capacidad antidiabética en *cucurbitas* tanto en polvos y jugos, no se encontraron reportes de este proceso. Por lo tanto, este es el primer reporte que utiliza un nuevo método que consiste en medir la cantidad de α -amilosa remanente después de llevar a cabo una reacción controlada con la α -amilosa, empleando como reactivo cromogénico al triyoduro. Este reactivo es altamente selectivo para

α -amilosa; consecuentemente, hace confiable la medición de la inhibición de la actividad enzimática de la α -amilasa.

5.9. Resultados del análisis estadístico

De acuerdo con los análisis comparativos de medias empleando la prueba *post hoc* de Tukey a los resultados del ANOVA. Los resultados de la prueba del comparativo de medias de los datos de la cuantificación de fenoles totales en polvos (PSB-F, PSN-F y PSB-N) y jugos (JSB-F y JSN-F) muestran una marcada diferencia significativa. Mientras que los resultados del análisis comparativo de medias de los datos de la capacidad antirradicalar frente al DPPH* entre los polvos PSB-F y PSN-F no muestran diferencia significativa entre ellas; sin embargo, estas dos muestras con la muestra de PSB-N si tuvieron diferencia. Esto se debió principalmente al período prolongado de almacenamiento de PSB-F y PSN-F, previo a la cuantificación de la capacidad antirradicalar. Adicionalmente, cabe recordar que PSB-N corresponde a un lote de un cultivo distinto. Finalmente, para la capacidad antidiabética para ambas chilacayotas de diferente cosecha (febrero y noviembre) así como el método de conservación ambos polvos no muestran diferencia significativa. Este resultado indica la capacidad antidiabética de los polvos no es afectada por el procesamiento, almacenamiento o período de cultivo del fruto de chilacayota.

VI. CONCLUSIONES

El secado de láminas de pulpa de chilacayota de 5 mm de espesor a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire secante de 1.2 m/s en un horno de charolas se logró en tiempo de 10-11 h.

Los polvos de chilacayota preparados recientemente mostraron una degradación de fenoles totales de alrededor del 60 %. Mientras que los polvos almacenados durante más de 6 meses a -18 °C mostraron una degradación total, no se detectó la presencia de fenoles durante la cuantificación. Esto indica que los compuestos fenólicos presentes en la pulpa de chilacayota son altamente sensibles a temperaturas de 50 °C y al aire a bajas temperaturas (-18 °C) durante periodos de almacenamientos de alrededor de 6 meses.

La capacidad antioxidante expresada como IC₅₀ calculada mediante el ensayo de reducción del DPPH^{*} de los extractos de polvos fue mayor que la de los jugos. Mientras que, entre los polvos no existe una diferencia significativa, aún durante períodos de almacenamiento ligeramente mayores a 6 meses. Debido a estos resultados es posible afirmar que la capacidad antioxidante no está del todo relacionada con los compuestos fenólicos.

De acuerdo a los resultados obtenidos de la evaluación de la capacidad antidiabética de los polvos de chilacayota, cabe la posibilidad que los polvos de chilacayota se conserven durante 1 año sin afectar sus propiedades antidiabéticas durante su almacenamiento a -18 °C. La chilacayota de cáscara verde de la variedad de semilla blanca tiene potencial para su uso como un suplemento nutraceútico antidiabético.

El análisis de varianza (ANOVA) empleando el uso de la prueba de Tukey permitió la comparación de las medias de los diferentes niveles de un factor para identificar las medias que son diferentes para cada una de las variables dependientes con un $\alpha=0.05$.

VII. RECOMENDACIONES

- Implementar un nuevo método de molienda de láminas de chilacayota para incrementar el rendimiento de obtención de polvos.
- Realizar pruebas *in vivo* con los polvos de chilacayota obtenidos a partir de secado en un secador de charolas. Se sugiere realizar un estudio en pacientes con diabetes tipo 2.
- Realizar estudios de identificación y cuantificación de compuestos bioactivos antidiabéticos en los polvos de pulpa de chilacayota.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Agama-Acevedo, E., Juárez-García, E., Evangelista-Lozano, S., Rosales-Reynoso, O. L., & Bello-Pérez, L. A. (2013). Características del almidón de maíz y relación con las enzimas de su biosíntesis. *Agrociencia*, 47(1), 1–12.
- Agropecuaria, E. N. (2018). Encuesta Nacional Agropecuaria ENA 2017 Conociendo el campo de México Resultados Conferencia de prensa 25 de julio de 2018.
- Alcántar, J. (2018). Caracterización parcial del chilacayote (*Cucurbita ficifolia* Bouché), como alternativa de uso industrial para la región Cañada de Oaxaca. *Journal Nutrition*, 22(universidad de papaloapan, Oaxaca-Mexico), 3–12.
- Agama-Acevedo, E., Juárez-García, E., Evangelista-lozano, S., Rosales- Reinoso, O., & Bello Pérez, L. (2013). Characteristics of Maize Starch. *Agrociencia*, 47, 1–12.
- Arabia, S. (n.d.). *Enzymology Practical Manual BIOC231* 2. 8–10.
- Ayuntamiento de Pahuatlán. (1990). El Chilacayote mexicano (*Cucurbita ficifolia* Bouché). 2014, 2(4), 274–278.
- Badui, S. (2006). Salvador Badui Dergal. In *Química de los alimentos*.
- Bonilla, A., & Maricela, L. (2019). compuestos fenólicos y actividad antioxidante en la harina de semilla de calabaza (*Cucurbita ficifolia*).
- Bressani, R. (2015). “ Caracterización química y nutricional de la semilla , pulpa y cáscara de chilacayote (*Cucurbita ficifolia*) y aplicaciones en el desarrollo de productos ” (Issue 023).
- Buitrago, G. V, López, A. P., Coronado, A. P., & Osorno, F. L. (2004). Determinación de las características físicas y propiedades mecanicas de papa cultivada en Colombia . 102–110.
- Duraiswamy, A., Shanmugasundaram, D., Sasikumar, C. S., Cherian, S. M., & Cherian, K. M.

- (2016). Development of an antidiabetic formulation (ADJ6) and its inhibitory activity against α -amylase and α -glucosidase. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6(3), 204–208.
- F. A. Tomás-Barberán. (2015). Los polifenoles de los alimentos y la salud en Alimentación, nutrición y salud. (Vol. 10, Issue 2).
- Gabrys, B., Capinera, J. L., Legaspi, J. C., Legaspi, B. C., Long, L. S., Capinera, J. L., Ellis, J., Weber, D. C., Saska, P., Chaboo, C. S., Wiener, L., Cresswell, J., Giberson, D., Orphanides, G. M., Klotz, J. H., Hansen, L. D., Capinera, J. L., Heppner, J. B., Sikes, D. S., ... Jolivet, P. (2008). *Cucurbit*. In *Encyclopedia of Entomology* (pp. 1130–1130).
- García-Méndez, A. D., Pérez-Darniz, M. Y., García-Méndez, A. A., & Madriz-Iztúriz, P. M. (2016). Caracterización postcosecha y composición química de la batata (*Ipomoea batatas* Lamb.) variedad Topera. *Agronomía Mesoamericana*, 27(2), 287.
- Garlick, D. G., Courtice, F. C., & Muñoz-Marcus, M. (1965). Plasma Lipoproteins in Hyperlipaemic States in Man and in the Rabbit. *Australasian Annals of Medicine*, 14(2), 102–110.
- Guízar, A., Luís, J., Soto, M., & García, I. (2008).
- Hipólito, J., & Martínez, I. (2014). Taninos o polifenoles vegetales. *Scientia Et Technica Universidad Tecnológica de Pereira. January 2007*.
- “Tesis ” Ingeniero en Industrias Alimentarias Presenta Lucero Patricia Santiago Hernández. (2019).
- Jain, A., Mishra, M., Yadav, D., Khatarker, D., Jadaun, P., Tiwari, A., Katare, C., & Prasad, G. (2018). Evaluation of the antihyperglycemic, antilipidemic and antioxidant potential of *Cucurbita ficifolia* in human type 2 diabetes. *Progress in Nutrition*, 20(5), 191–198.

- Jhon, A., & Castillo, E. (2019). Trabajo de titulación previo a la obtención del grado de biólogo.
- Jijith, U. S., & S, J. (2017). Recent Advances and Methods for in-Vitro Evaluation of Antidiabetic Activity: a Review. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 8(1), 81–87.
- Lee, W. K., Wong, L. L., Loo, Y. Y., Kasapis, S., & Huang, D. (2010). Evaluation of different teas against starch digestibility by mammalian glycosidases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 148–154.
- López Nahuatt, G., Sumaya Martínez, M. T., Jiménez Ruiz, E. I., Balois Morales, R., Medina Carrillo, R. E., & Guzmán Ceferino, J. (2017). Antimicrobial and antioxidant properties of roselle calyces. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 3(3), 61–69.
- Martín Gordo, D. A. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1), 81.
- Mera, L., Bye, R., Villanueva, C., & Mera, L. (2011). Las especies cultivadas de *cucurbita L*. Documento de Diagnóstico de las especies cultivadas de *Cucurbita L* (Vol. 1).
- Miranda-Pérez, M. E., Escobar-Villanueva, M. D. C., Ortega-, C., Sánchez-Muñoz, F., Almanza-Pérez, J. C., & Alarcón-, F. J. (2012). *Cucurbita ficifolia* Bouché fruit acts as an insulin secretagogue in RINm5F cells. *Ibcj*, 3(1), 8–14.
- Mondal, S., Hossain, I., & Islam, M. N. (2017). Determination of antioxidant potential of *Cucurbita pepo* Linn. (An edible herbs of Bangladesh). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(5), 1016–1019.
- Nee, M. (1993). *Cucurbitaceae* 1-45. In Flora de Veracruz (Issue Fasciculo 74).
- Palomino, C., & Pérez, E. (2010). Physical and chemical of flour and starches of tubers of tubers of *Colocasia esculenta* (L.) Schott and *Xanthosoma sagittifolium* (L .). *Facultad*

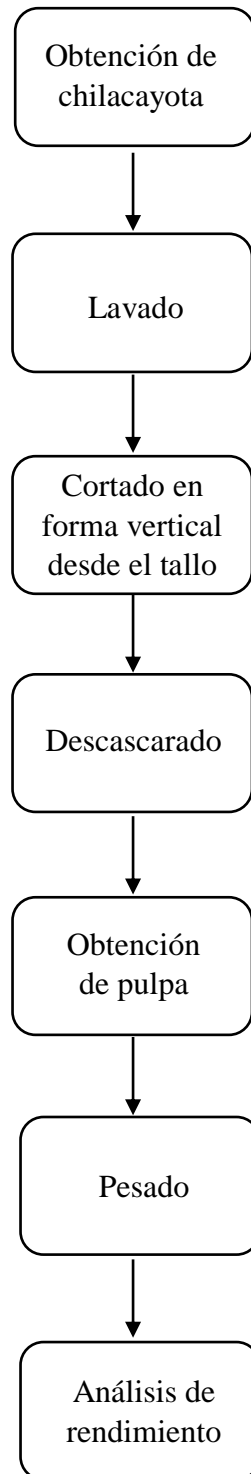
- Agronomica*, 36(2), 58–66.
- Paz, M. (2010). Higiene Y Sanidad. *Medicina Preventiva*, 583, 575–583.
- Pękal, A., & Pyrzyńska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776–1782.
- Pérez, A. (2006). Construcción De Un Secador De Charolas Giratorio Y Su Valoración Con Ajo. 97.
- Plata Soto, L. (n.d.). Extracción de compuestos fenólicos de interés hipoglucémico y antioxidante del chilacayote (*Cucurbita ficifolia* Bouché).
- Ramón, J., Calvo, V., Sosa, F. C., López, V., Josefa, A., López, E., De, D., & El, I. (2006). (*Cucurbita ficifolia* Bouchè). 2(186), 9340.
- Rigalleau, V., Cherifi, B., Blanco, L., Alexandre, L., & Mohammedi, K. (2018). Tratamiento de la diabetes tipo 2. *EMC - Tratado de Medicina*, 22(2), 1–7.
- Rodríguez R, R., Valdés R, M., & Ortiz G, S. (2018). Características agronómicas y calidad nutricional de los frutos y semillas de zapallo *Cucurbita spp.* *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 10(1), 86.
- Rossel Kipping, E. D., Ortiz Laurel, H., Amante Orozco, A., Durán García, H. M., & López Martínez, L. A. (2018). Características físicas y químicas de la semilla de calabaza para mecanización y procesamiento. *Nova Scientia*, 10(21), 61.
- Saade, R. L. (2018). Informe final del Proyecto JM003 Distribución potencial de las especies silvestres de la familia *Cucurbitaceae* de México Responsable : Dr . Rafael Lira Saade Institución : *Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Estudios Superiores Iztacala* .
- Saavedra, J. P., Xochicueponi, J., Calderon, M., Daniel, D., Pérez, C., & Torres, J. B. (2015).

- Utilización del chilacayote (*Cucurbita ficifolia*) para la elaboración de productos biotecnológicos . 17(6), 2017.
- Sagar, V. R., & Suresh Kumar, P. (2010). Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 47(1), 15–26.
- Santos, M., Rocha, F., Silva, D., Ferraz, A. C., Andrade, J. T., Marjorie, K., Herrera, S., & Lima, W. G. (2018). Triazole - chalcones : Lack of Antibacterial , Anti - candida , and Anti - dengue Virus Activities. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 9(1), 39–43.
- Sarian, M. N., Ahmed, Q. U., Mat So'Ad, S. Z., Alhassan, A. M., Murugesu, S., Perumal, V., Syed Mohamad, S. N. A., Khatib, A., & Latip, J. (2017). Antioxidant and antidiabetic effects of flavonoids: A structure-activity relationship based study. *BioMed Research International*, 2017.
- Sedigheh, A., Jamal, M. S., Mahbubeh, S., Somayeh, K., Mahmoud, R. kopaei, Azadeh, A., & Fatemeh, S. (2011). Hypoglycaemic and hypolipidemic effects of pumpkin (*cucurbita pepo L.*) on alloxan-induced diabetic rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(23), 2620–2626. <https://doi.org/10.5897/AJPP11.635>
- Suárez-Cunza, S. (2017). Capacidad antioxidante in vitro y efecto hipoglucemiante de la maca negra (*Lepidium meyenii*) preparada tradicionalmente. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 83(1), 40–51.
- Sulis, E. (2018). Evaluación de porta injertos de calabazas sobre adaptabilidad y rendimiento de chilacayote (*Cucurbita ficifolia*); santa rosa tesis de grado. *Universidad Rafael Landívar* (Vol. 10, Issue 2).
- Tamil, I. G., Dineshkumar, B., & Mitra, A. (2010). In vitro study on α -amylase inhibitory activity of an Indian medicinal plant , *Phyllanthus amarus* Abstract Materials and

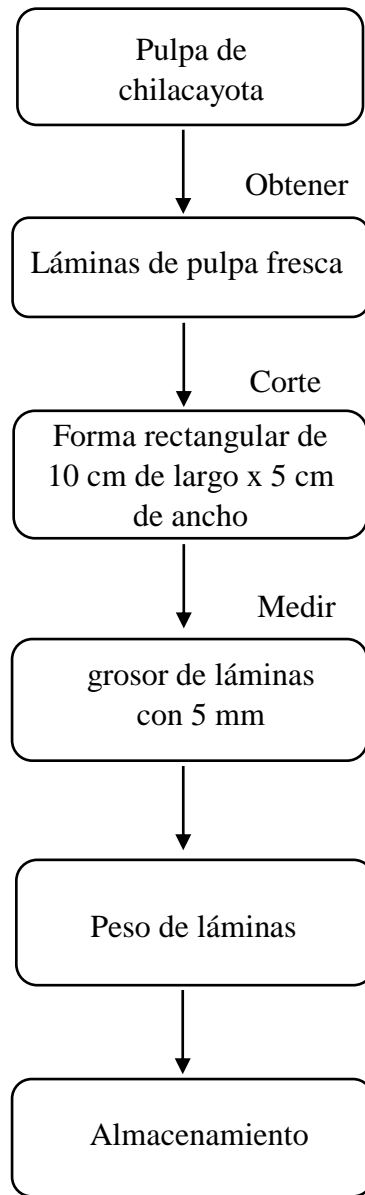
- Methods : Results : Conclusion : Preparation of Plant Extracts. *Indian J Pharmacol*, 1–7.
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch - Composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151–165.
- Tirado, D. F., Montero, P. M., & Acevedo, D. (2015). Estudio comparativo de métodos empleados para la determinación de humedad de varias matrices alimentarias. *Informacion Tecnologica*, 26(2), 3–10.
- Trinh, B. T. D., Staerk, D., & Jäger, A. K. (2016). Screening for potential α -glucosidase and α -amylase inhibitory constituents from selected Vietnamese plants used to treat type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 186, 189–195.
- Valenzuela, G., Cravzov, A., Soro, A., Tauguinias, A., Giménez, M., & Gruszycki, M. (2014). Relación entre actividad antioxidante y contenido de fenoles y flavonoides totales en semillas de *Cucurbita spp.* *Dominquezia*, 30(1), 19–24.
- Van Der Maarel, M. J. E. C., Van Der Veen, B., Uitdehaag, J. C. M., Leemhuis, H., & Dijkhuizen, L. (2002). Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*, 94(2), 137–155.
- Velasco Gutiérrez, K., & Juárez Sierra, J. (2009). Etnobotánica del Género *Cucurbita* en dos localidades mixtecas de Oaxaca, México. *Etnobiología*, 7(1), 63–85.
- Ventura, L. (2012). Evaluación Fitoquímica e Hipoglucemiante de *Curcubita ficifolia* y *Teucrium chamaedrys*.
- Vitor, P., Lemos, F., Santos, L., Graça, I., Estevam, R., & Izabel, J. (2019). International Journal of Biological Macromolecules Characterization of amylose and amylopectin fractions separated from potato , banana , corn , and cassava starches. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 32–42.

IX. ANEXO

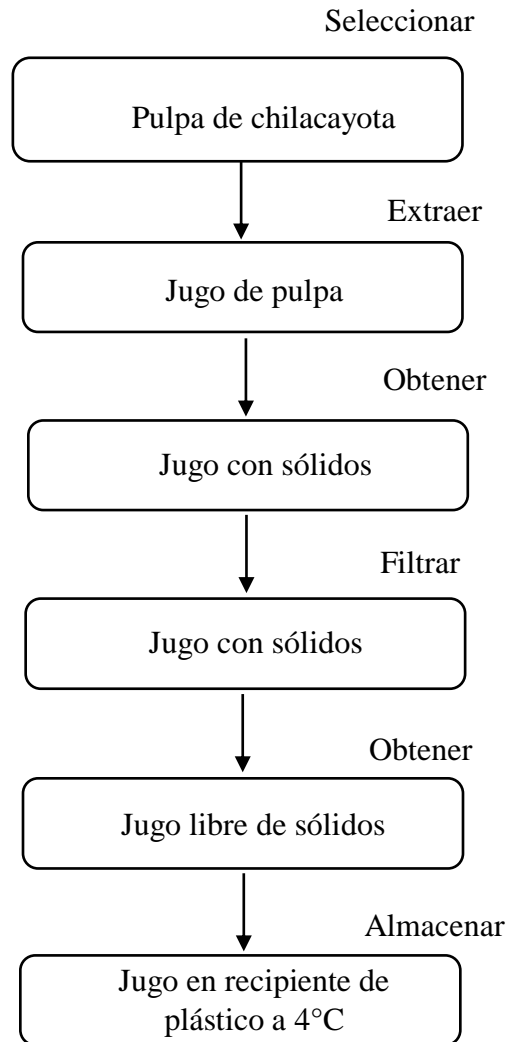
Anexo 1. Obtención de chilacayota



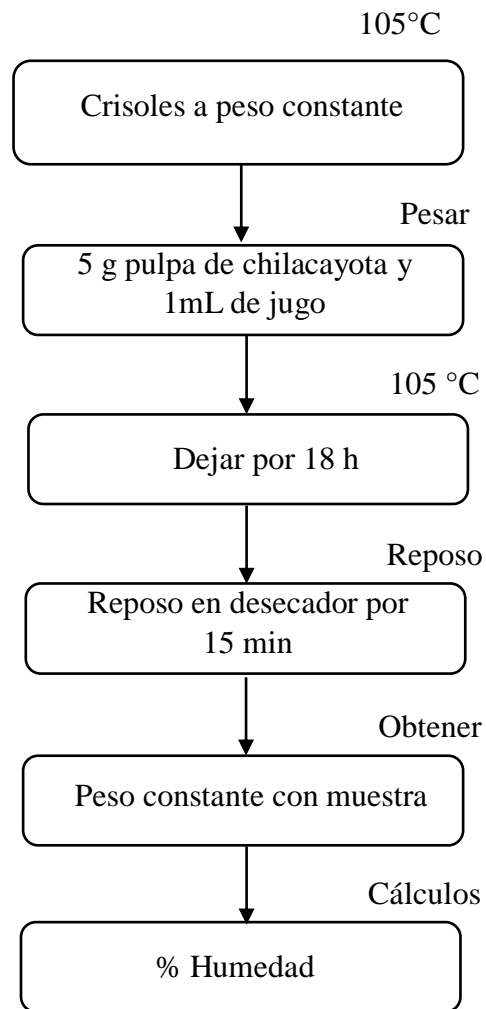
Anexo 2. Obtención de pulpa de chilacayota



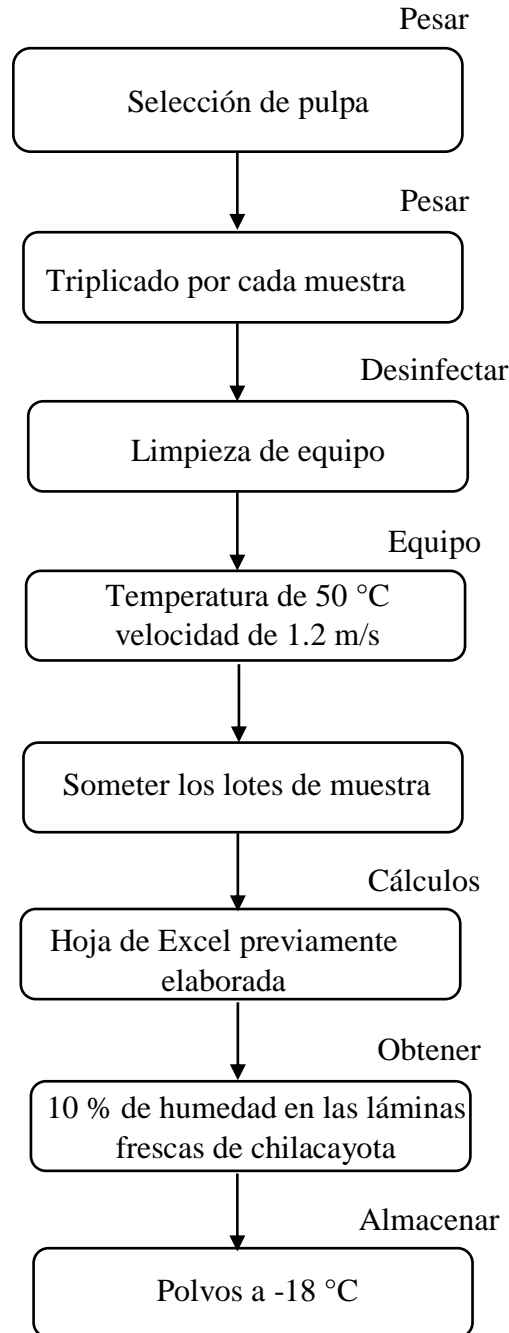
Anexo 3. Obtención de jugo de chilacayota



Anexo 4. Determinación de humedad en pulpa y jugo de chilacayota por estufa.



Anexo 5. Deshidratación de pulpa de chilacayota en un horno de charolas giratorio y termobalanza



Anexo 5.1. Humedad en horno y termobalanza

Determinación de humedad por termobalanza (Polvo de *C.*

***ficifolia B.*, cáscara verde, semilla blanca).**

Método de secado	Humedad (%)
Peso de la muestra polvo (Estufa)	9.8
Peso de la muestra en polvo (Termobalanza)	8.72

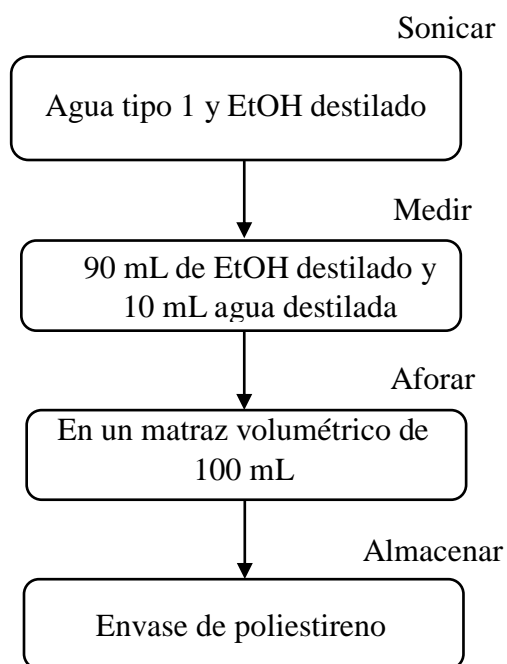
Determinación de humedad por termobalanza (Polvo de *C.*

***ficifolia B.*, cáscara verde, semilla negra).**

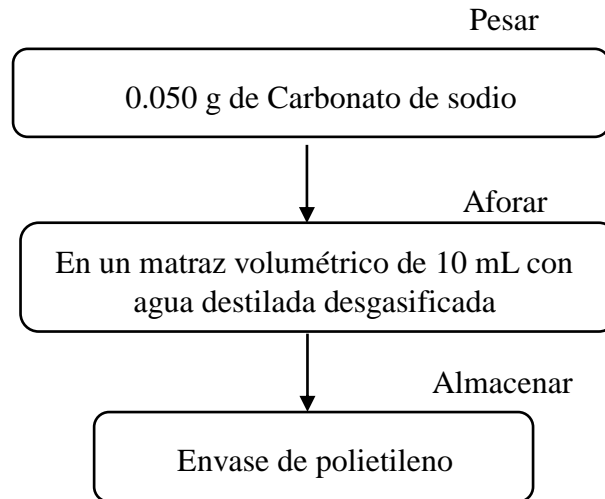
Método de secado	Humedad (%)
Peso de la muestra polvo (Estufa)	10.4
Peso de la muestra en polvo (Termobalanza)	9.49

Anexo 6. Diagramas de proceso para la preparación de disoluciones y estándares de ácido gálico para la cuantificación de fenoles

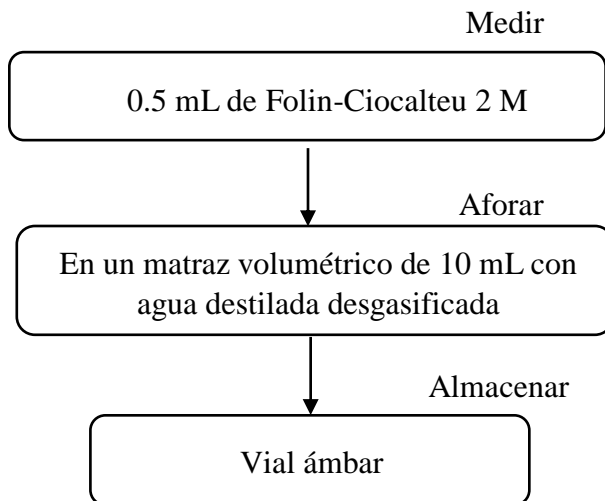
preparación de disolución de ETOH al 90 %



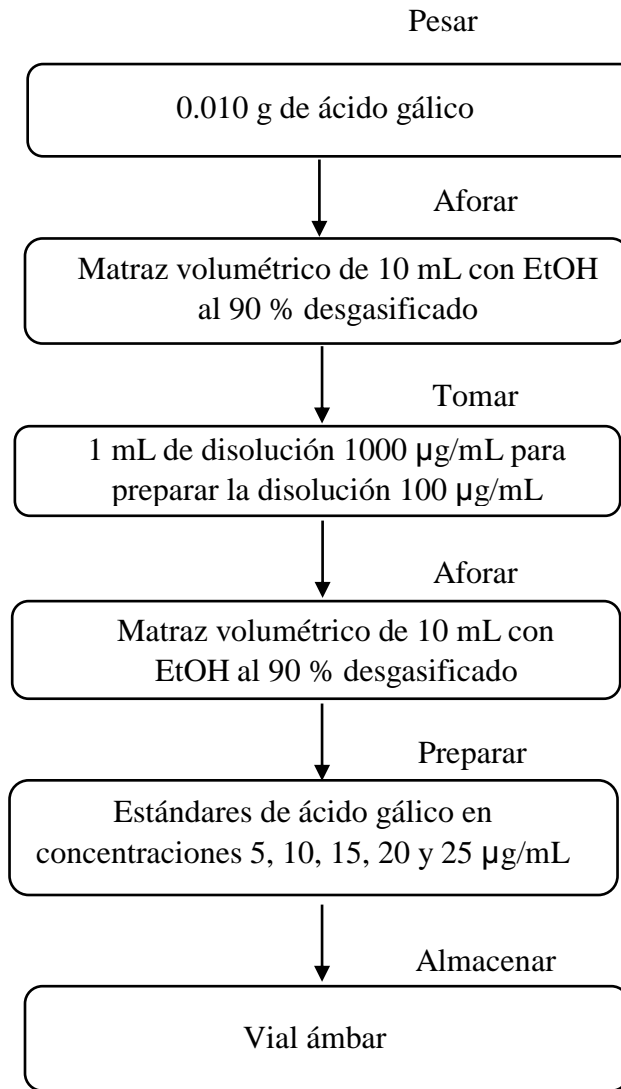
Preparación de carbonato de sodio al 0.05 %



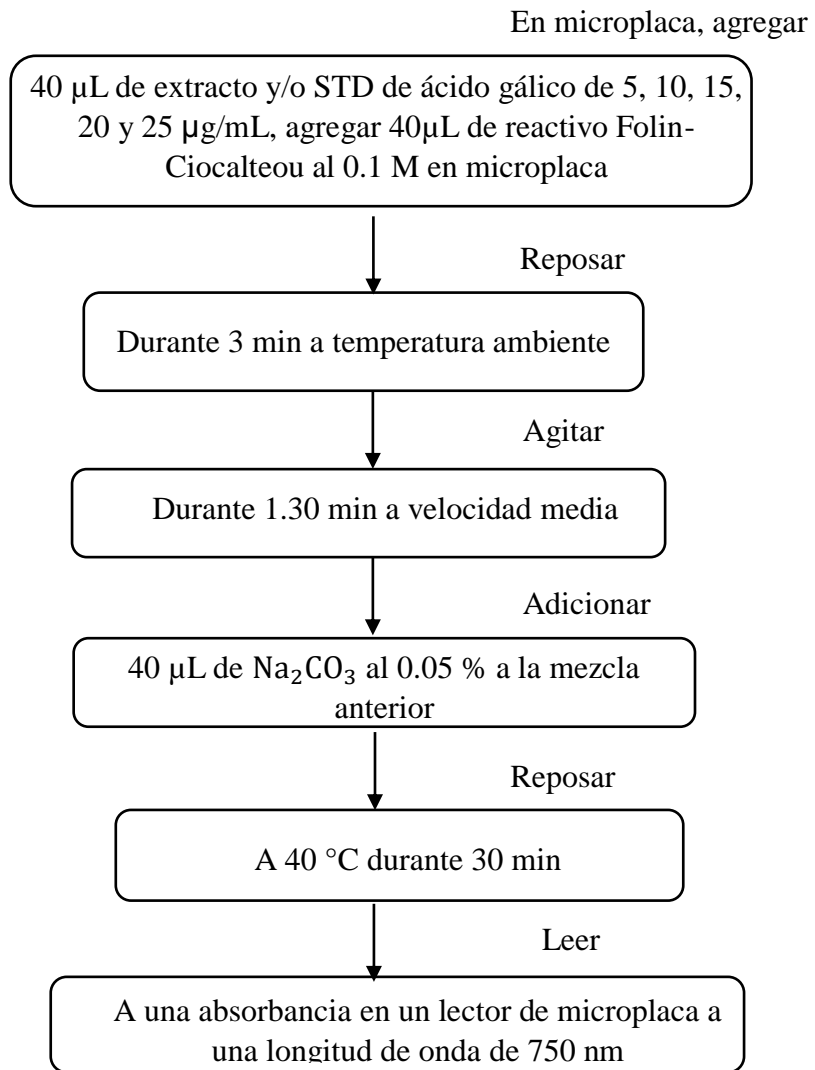
Preparación de Folin-Ciocalteu 1.0 M



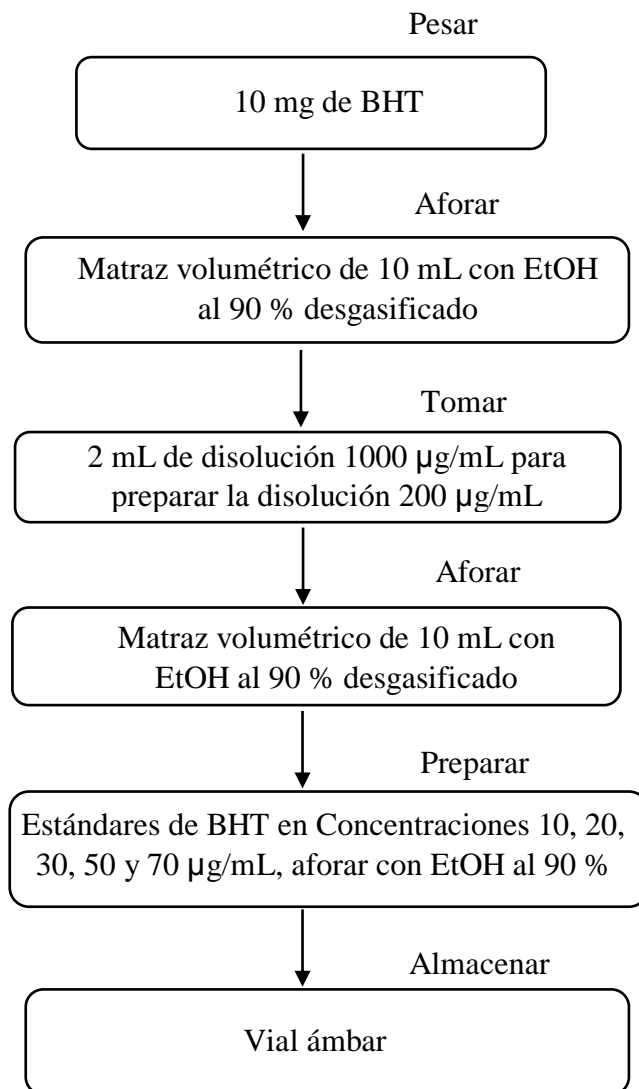
Preparación de estándares de ácido gálico

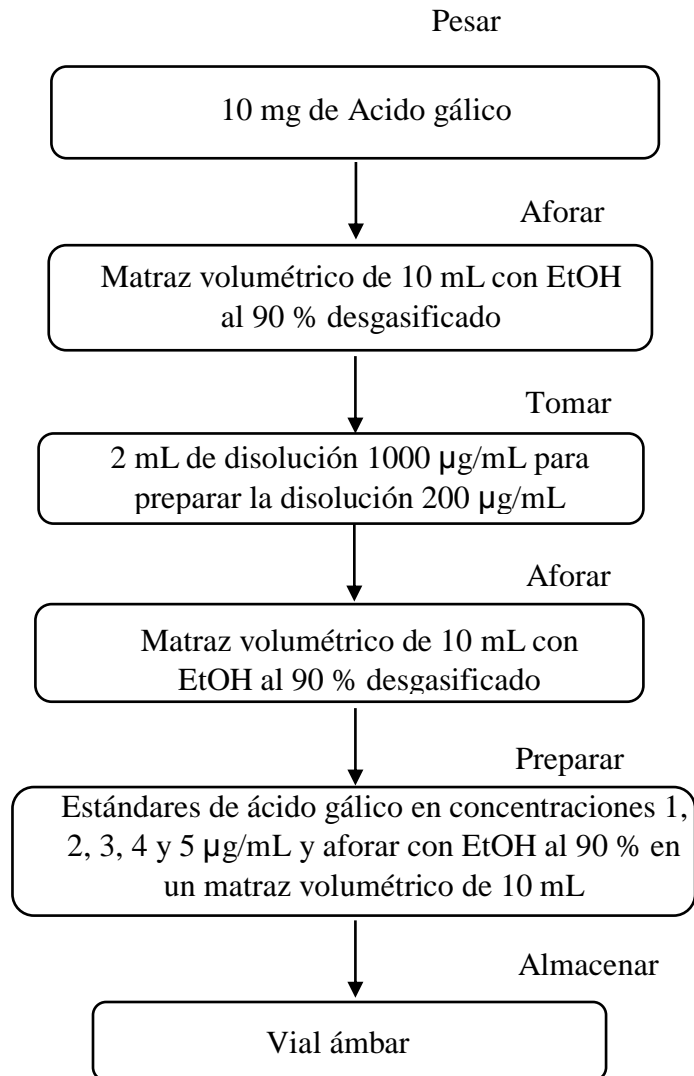


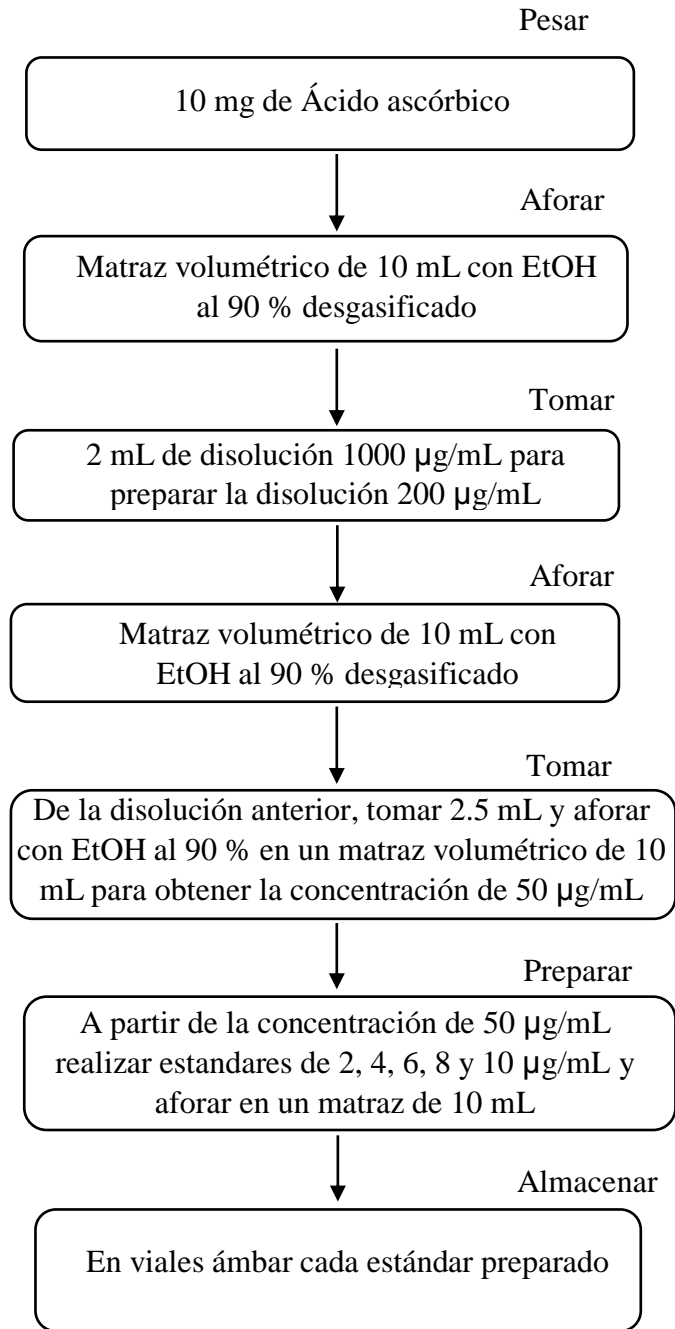
Anexo 6.1. Proceso para la cuantificación de fenoles totales



Anexo 7. Preparación de estándares (BHT, ácido gálico y ácido ascórbico) para la determinación de actividad antioxidante en muestras de polvo y jugos de chilacayota.

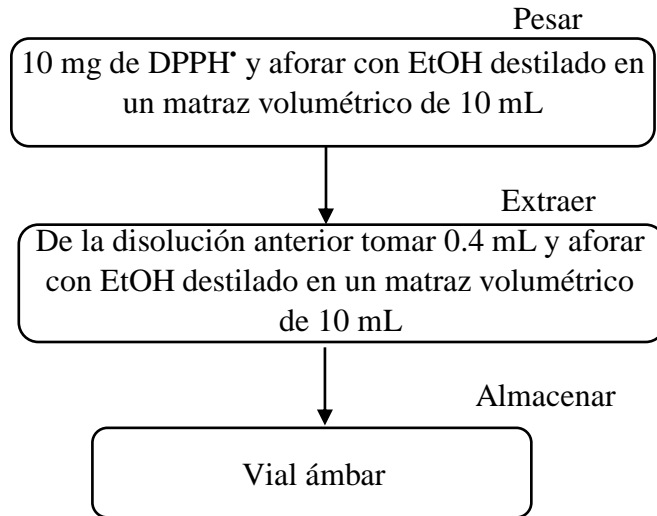




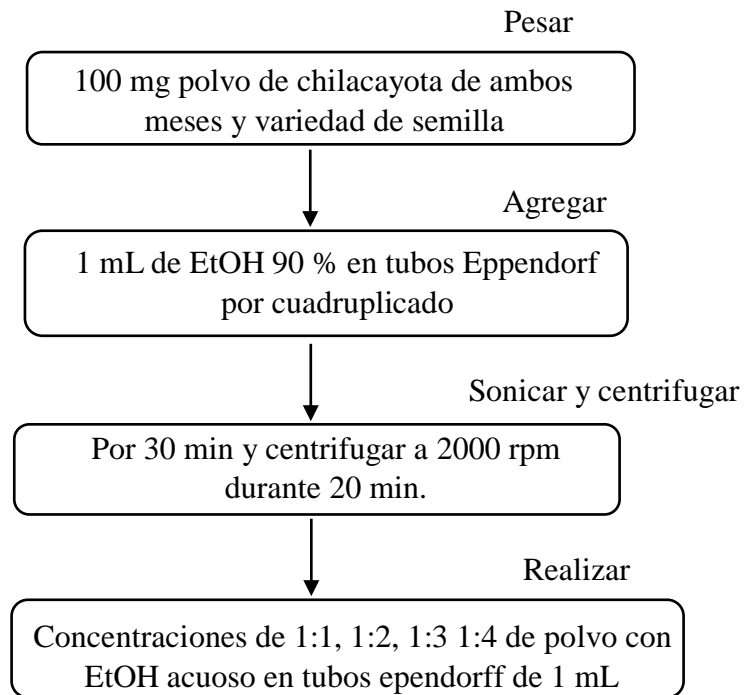


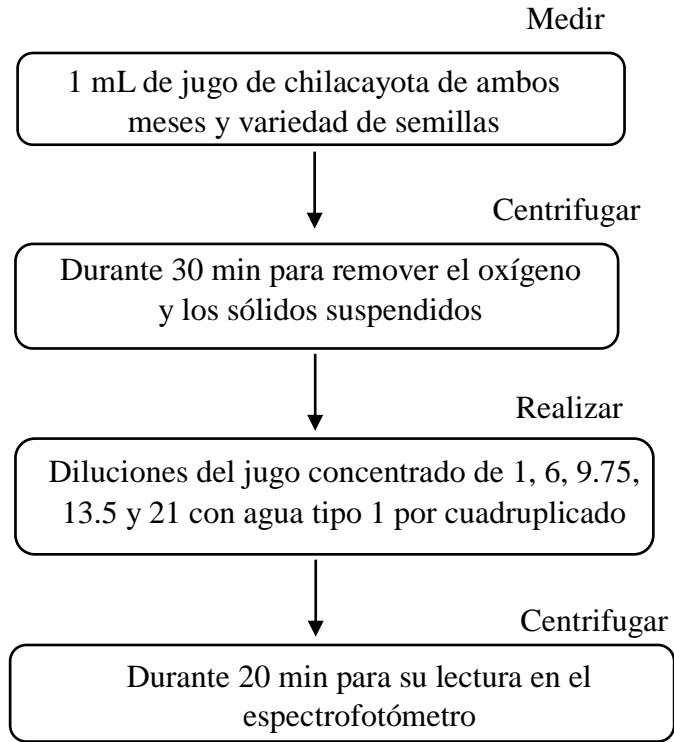
Anexo 8. Cuantificación de la capacidad antioxidante por el radical DPPH^{*} en polvos y jugos de chilacayota del mes de febrero y noviembre.

Preparación del radical DPPH^{*} al 0.004 %

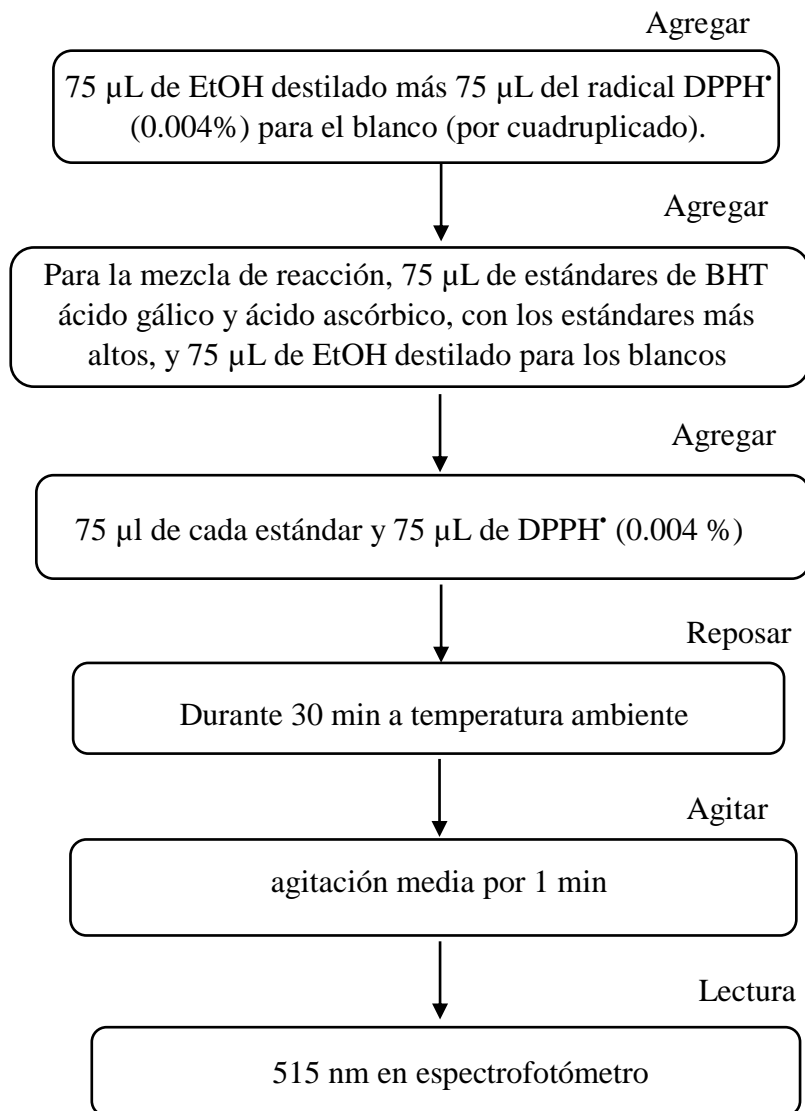


Preparación de polvos y jugos de chilacayota para la determinación de actividad antioxidante por el antirradicalar DPPH^{*}.

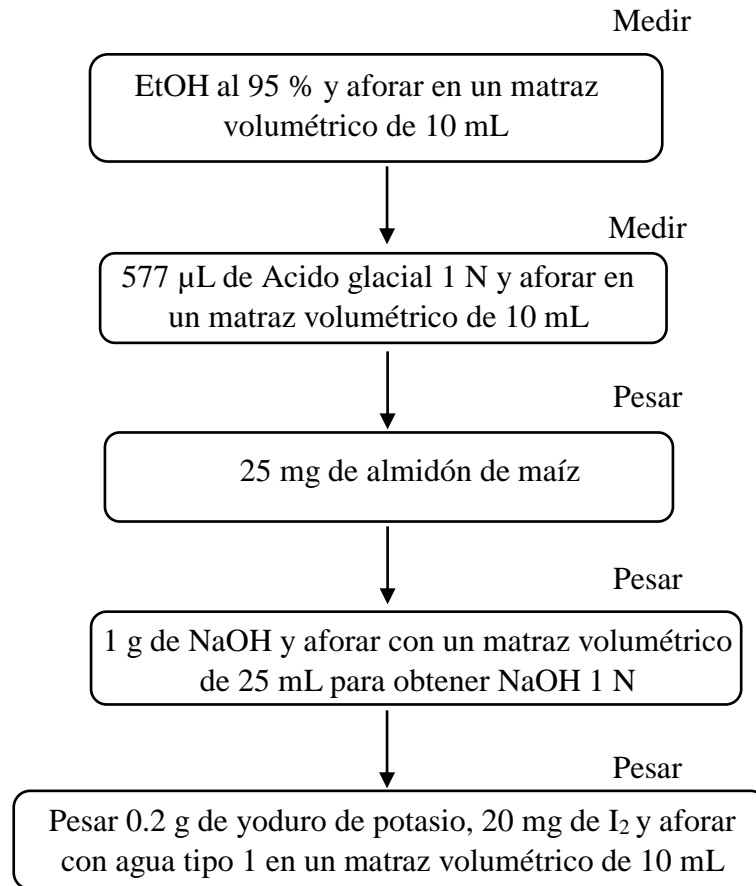




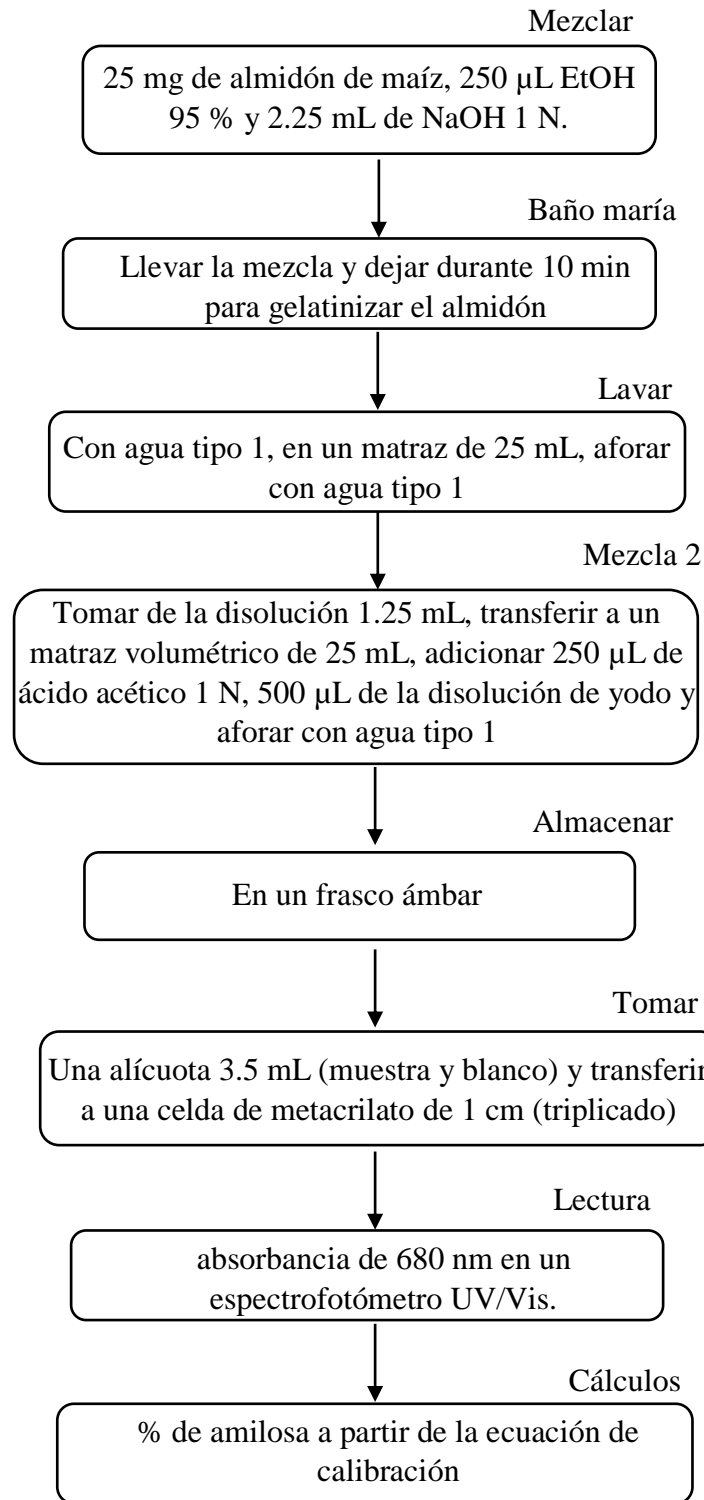
Anexo 8.1. Proceso para la determinación de actividad antioxidante para BHT, ácido gálico y ácido ascórbico por el radical DPPH^{*} en una microplaca de 96 pozos.



Anexo 9. Determinación del % de α -amilosa en el almidón a partir del valor azul.

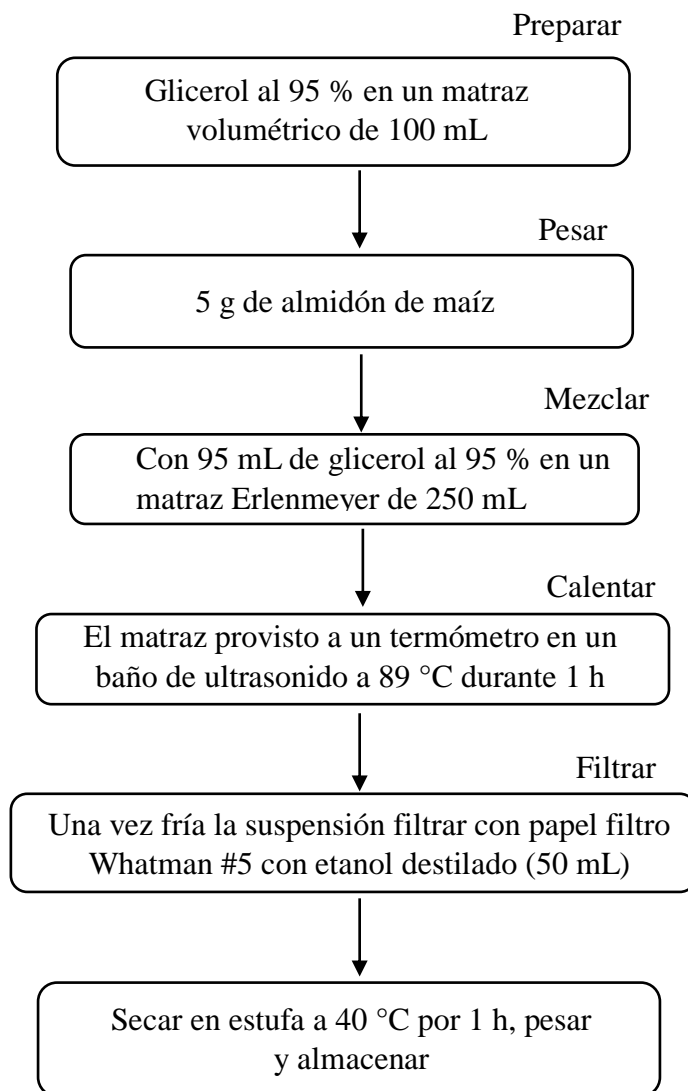


Anexo 9.1. Lectura de absorbancia para determinar el porcentaje de α -amilosa



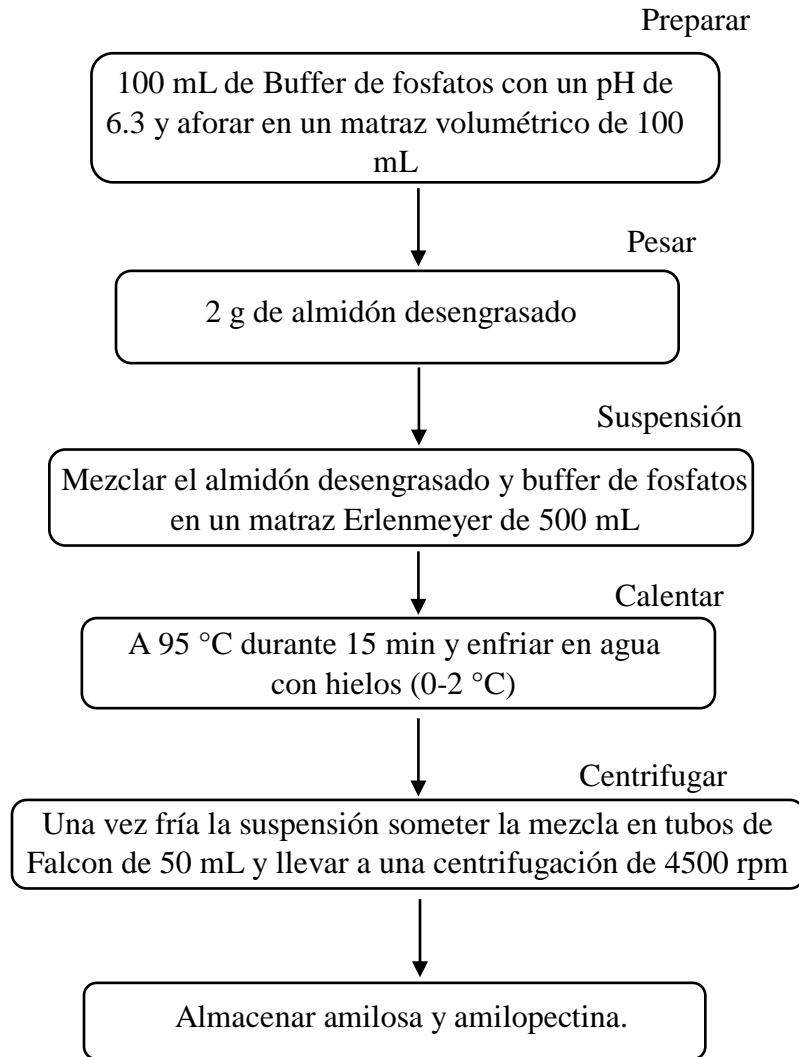
Nota: Los blancos se hacen de la misma manera en ausencia del almidón

Anexo 10. Pretratamiento del almidón



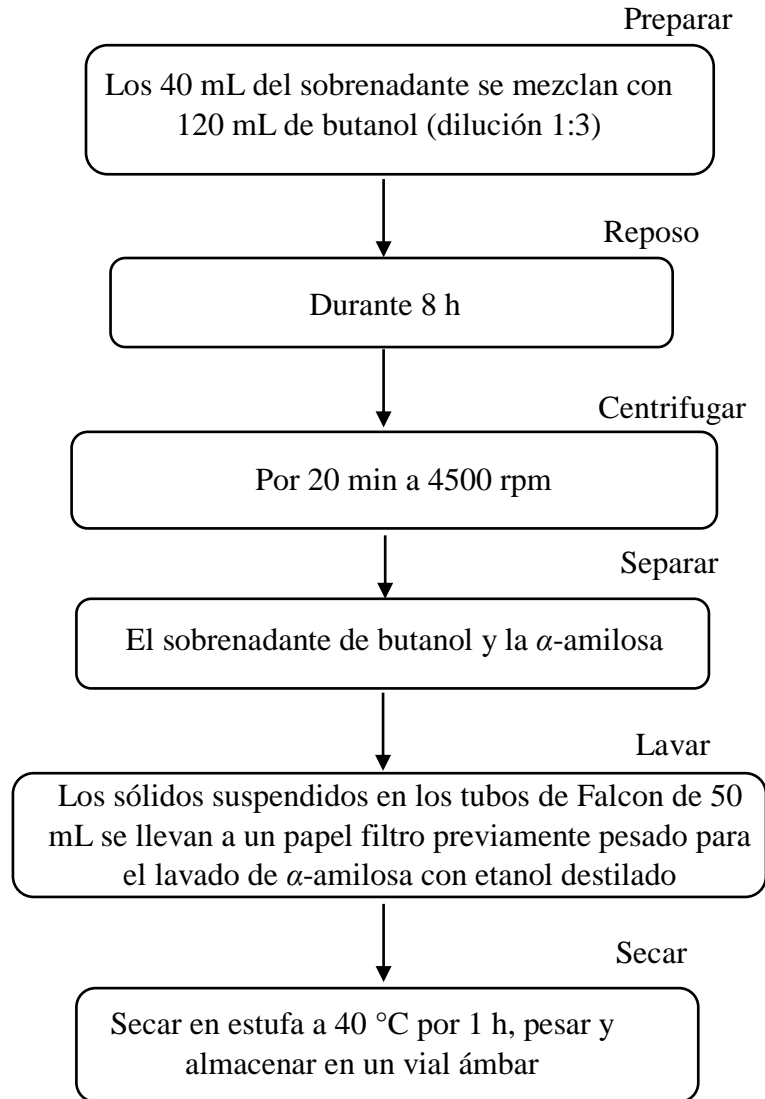
Nota: El almidón obtenido en el papel filtro es el almidón desengrasado.

Anexo 11. Separación de α -amilosa y amilopectina

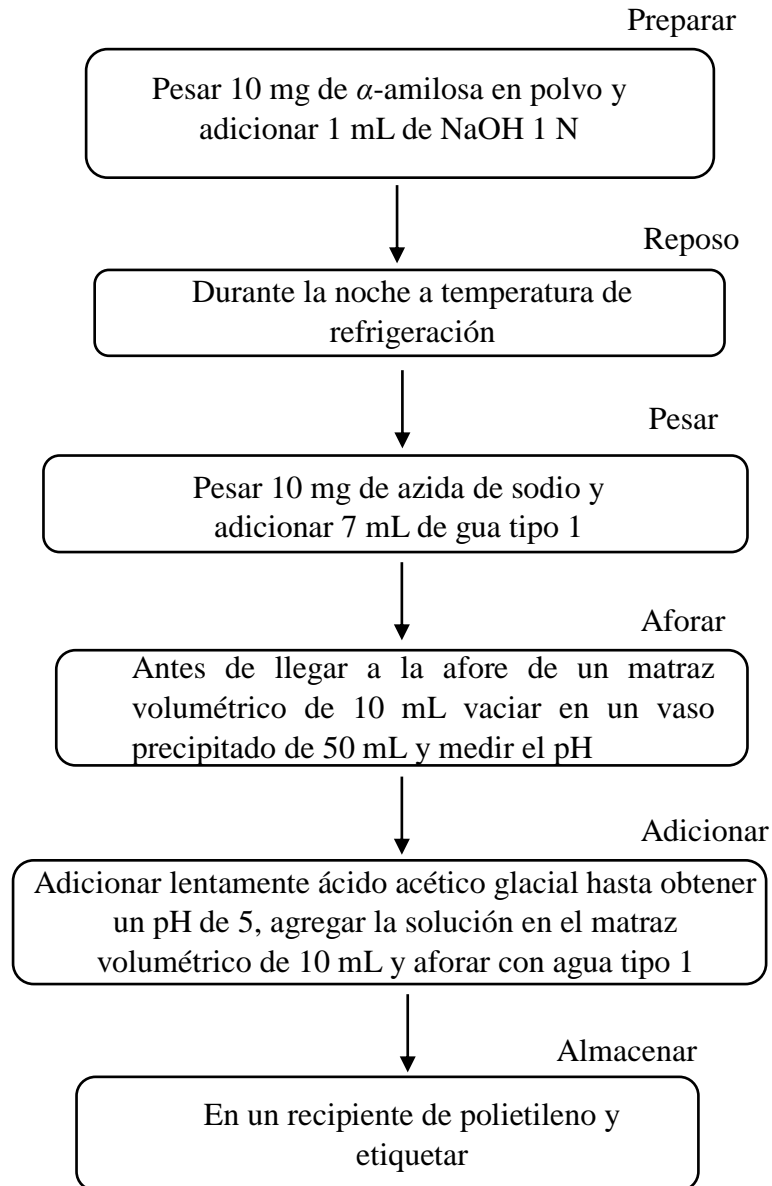


Nota: el sobrenadante resultante consiste en la amilosa producida por la separación, y los sólidos suspendidos consiste en la amilopectina.

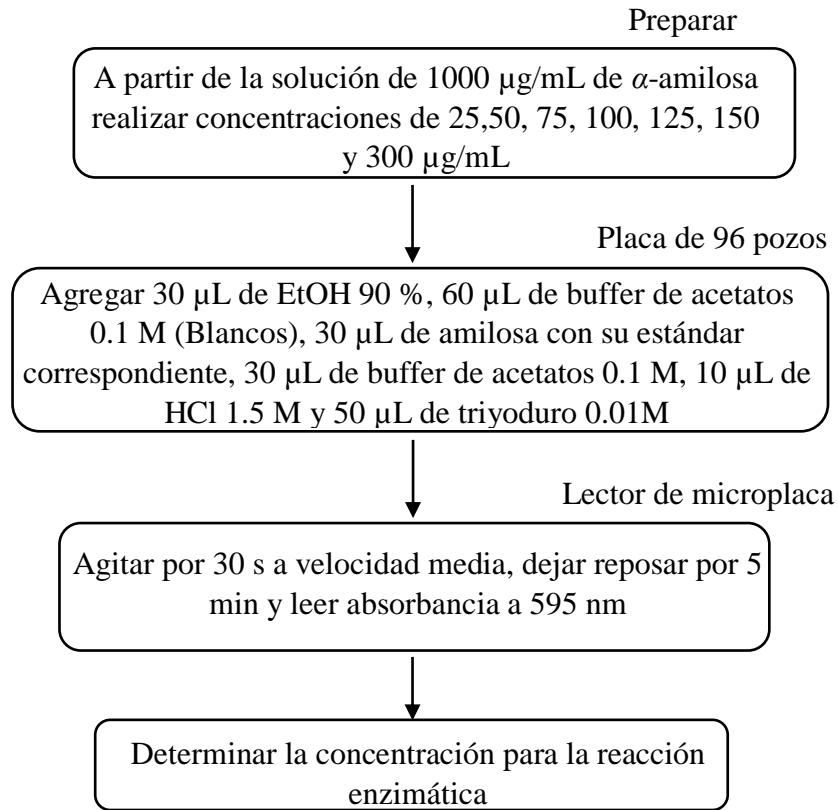
Anexo 12. Obtención de α -amilosa en polvo



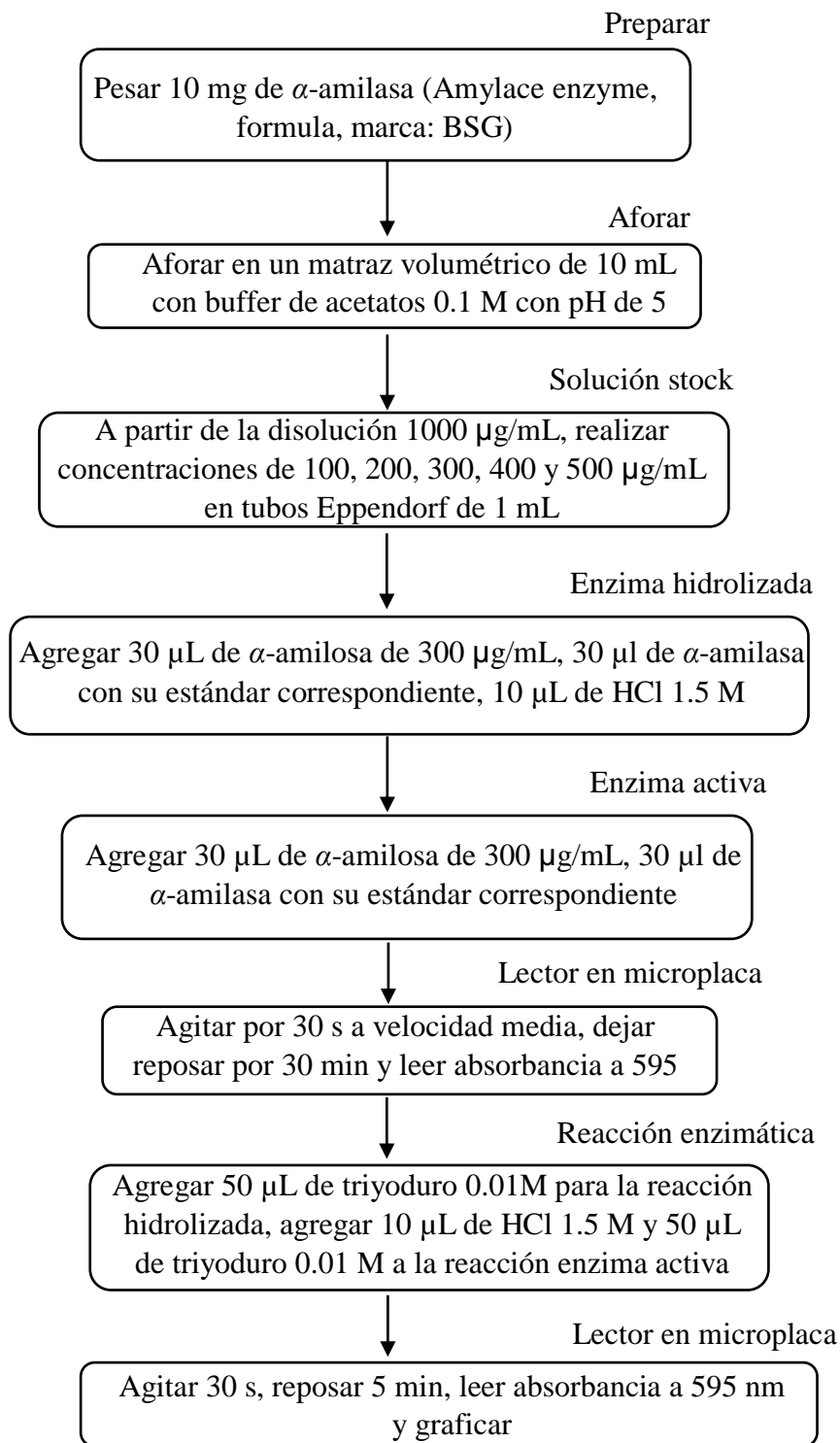
Anexo 13. Proceso para solubilizar la α -amilosa en polvo



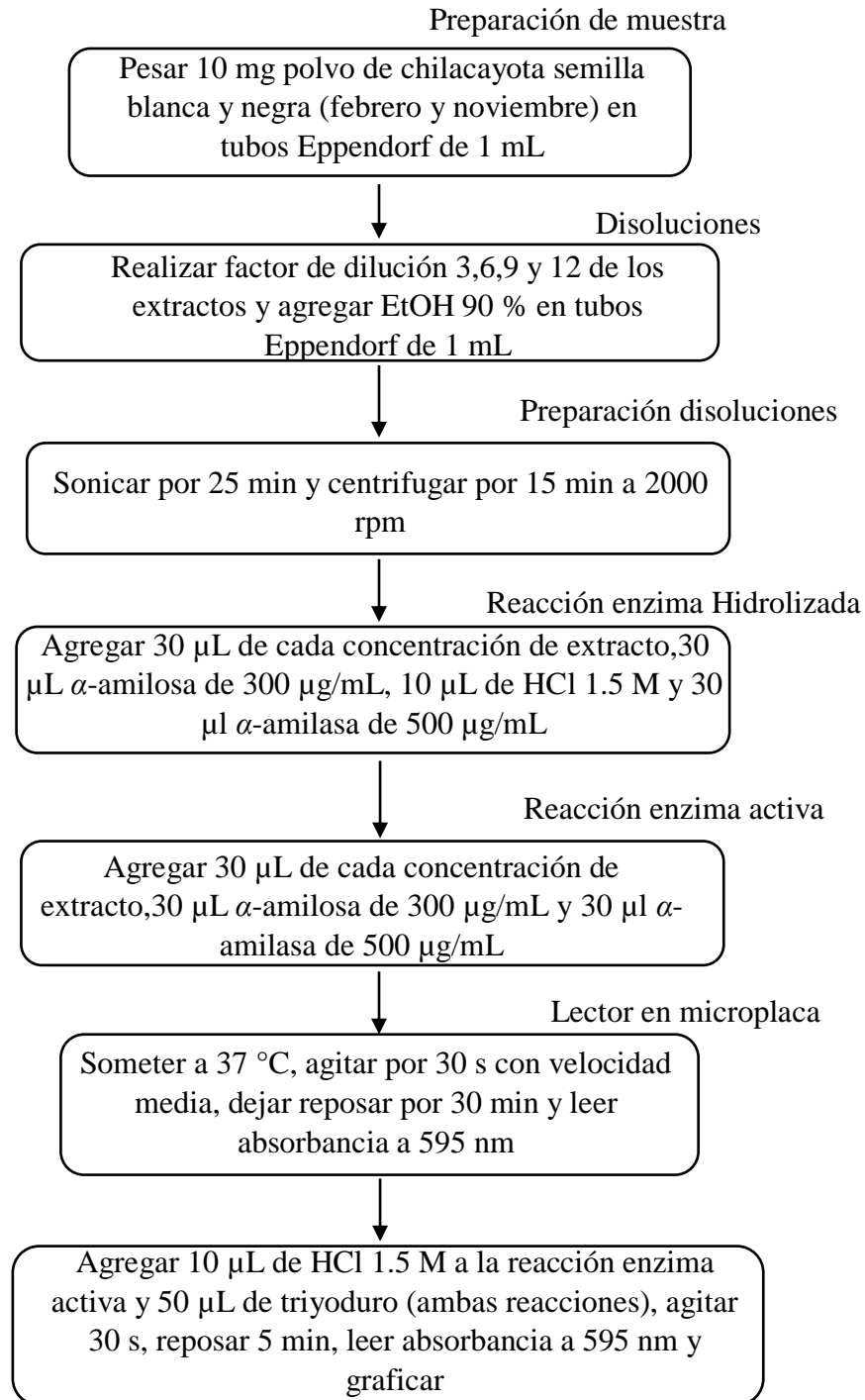
Anexo 14. Disolución de α -amilosa en polvo



Anexo 15. Disolución de α -amilasa en polvo

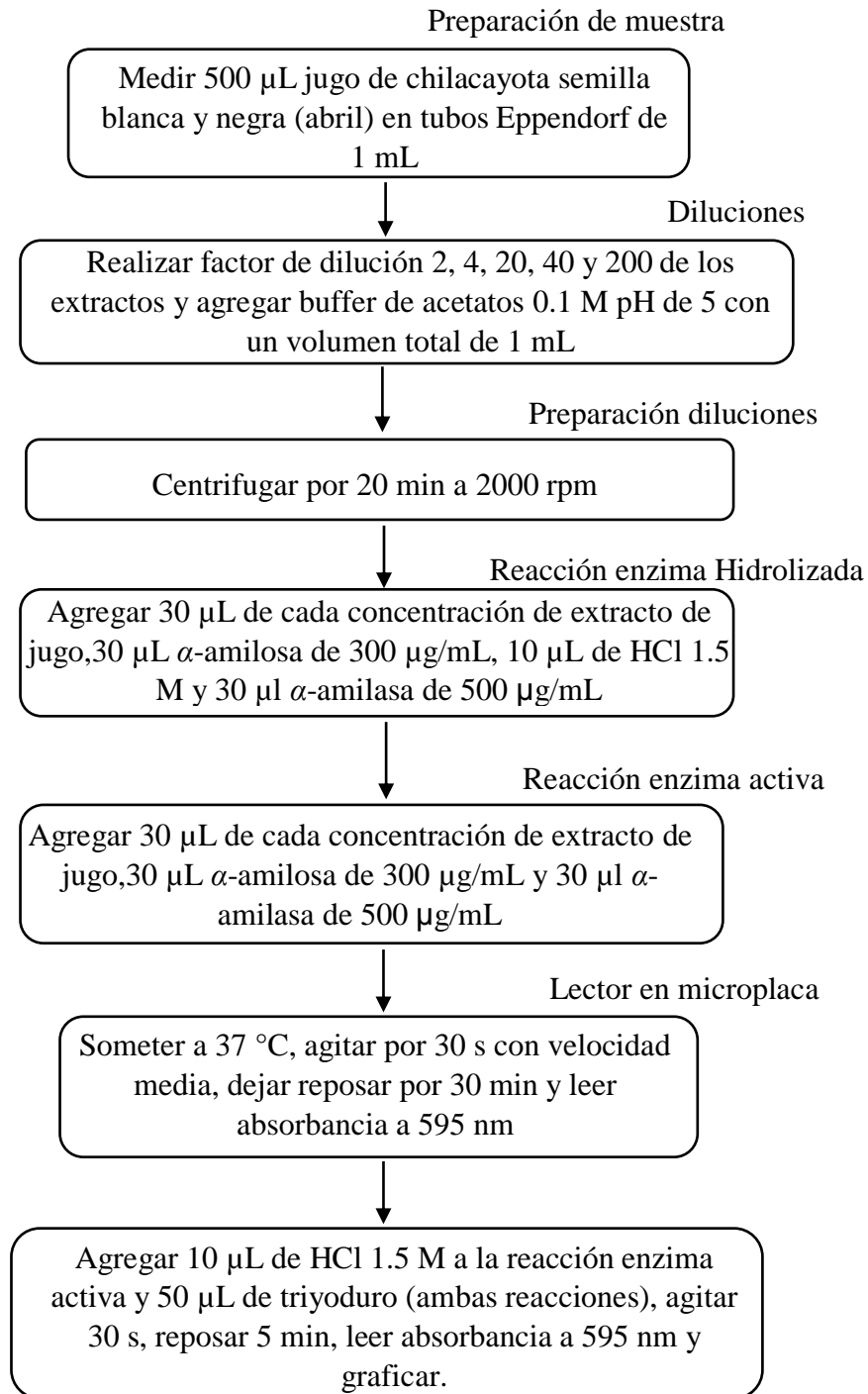


Anexo 16. Evaluación de inhibición de α -amilasa en extractos de polvo de pulpa de chilacayota semilla blanca y negra (febrero/ noviembre)



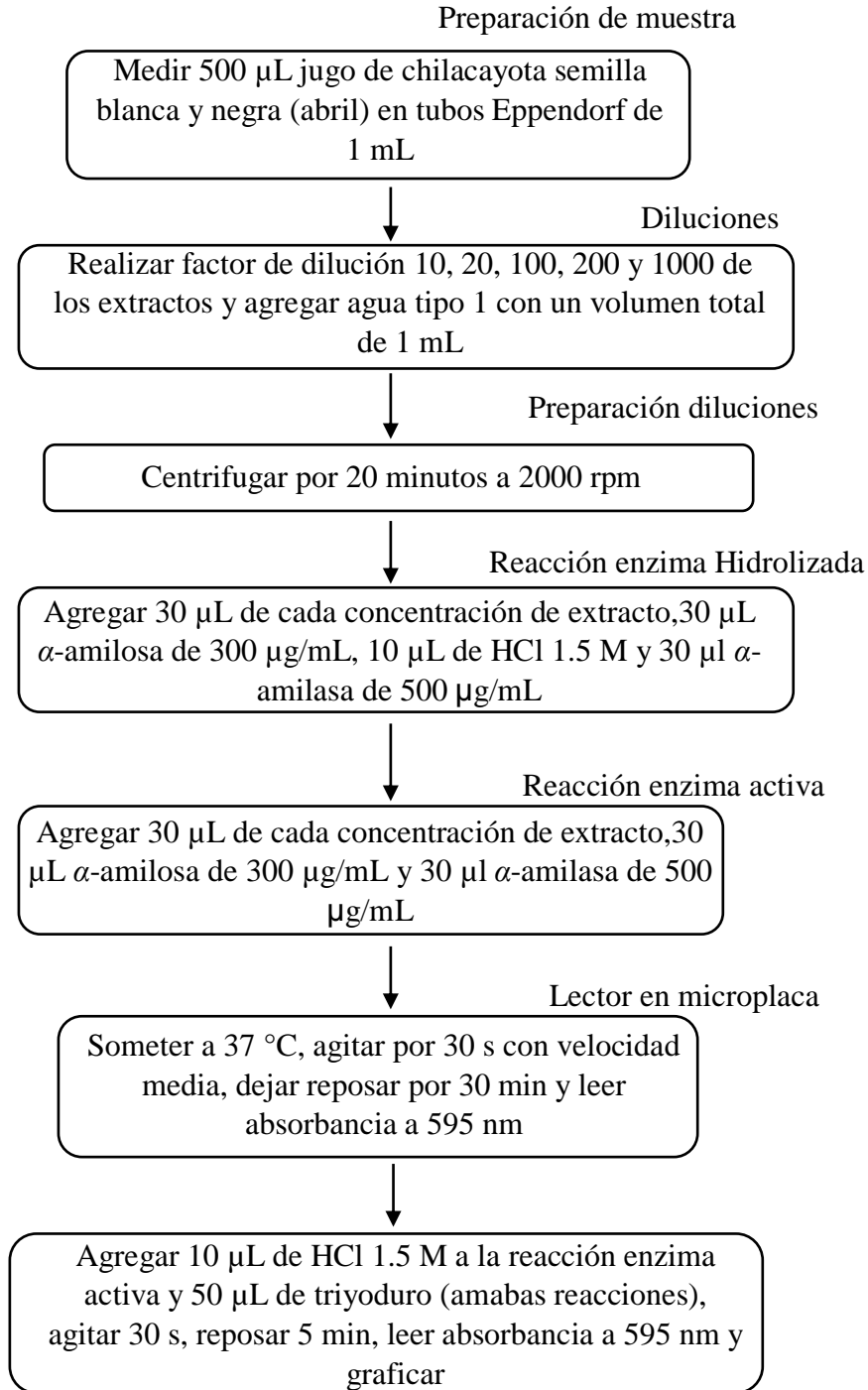
Anexo 17. Inhibición de α -amilasa en extractos jugo de chilacayota semilla blanca y negra

(febrero)

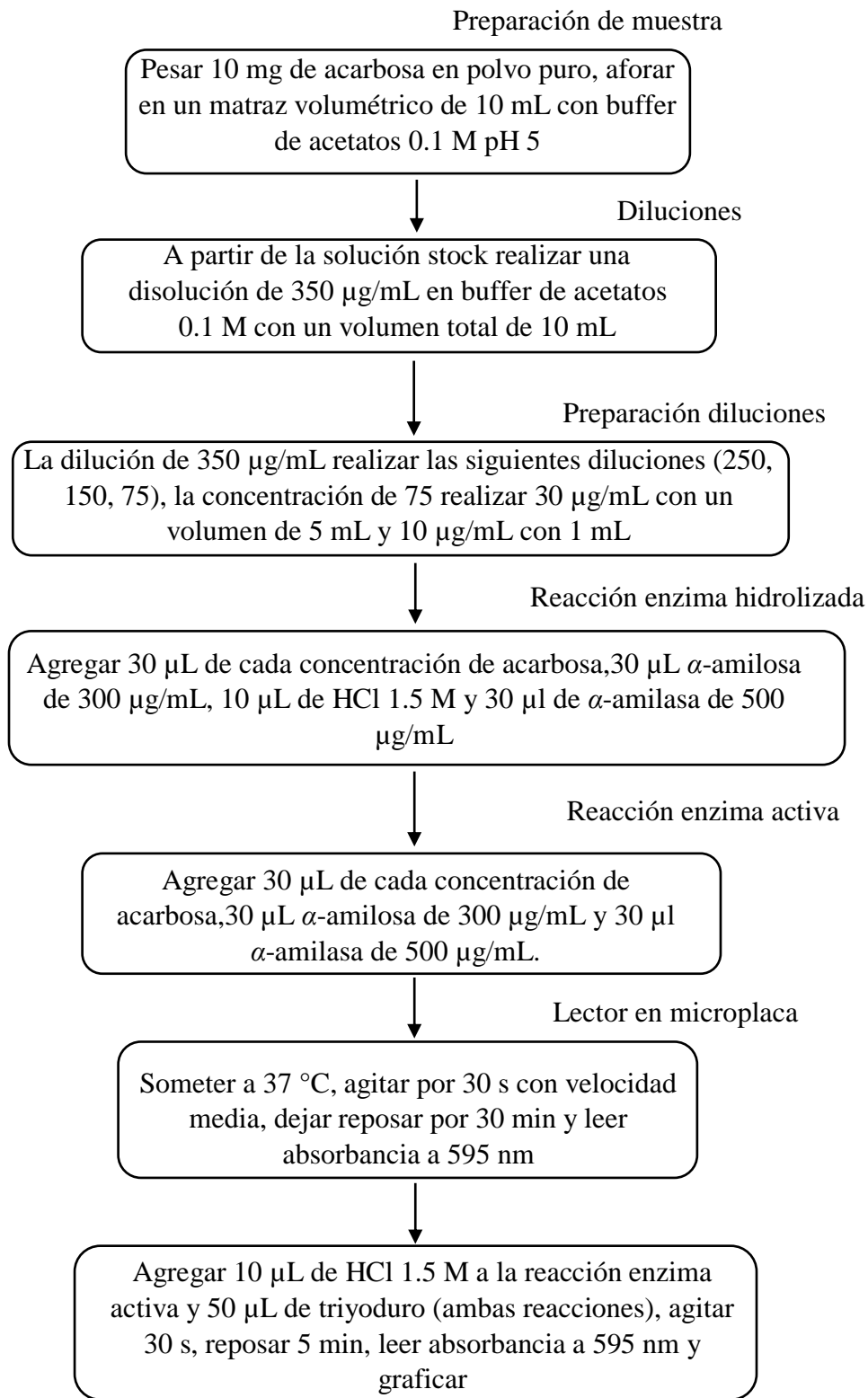


Anexo 18. Inhibición de α -amilasa en extractos jugo de chilacayota semilla blanca y negra

(febrero)



Anexo 19. Inhibición de acarbosa en α -amilasa de maíz.



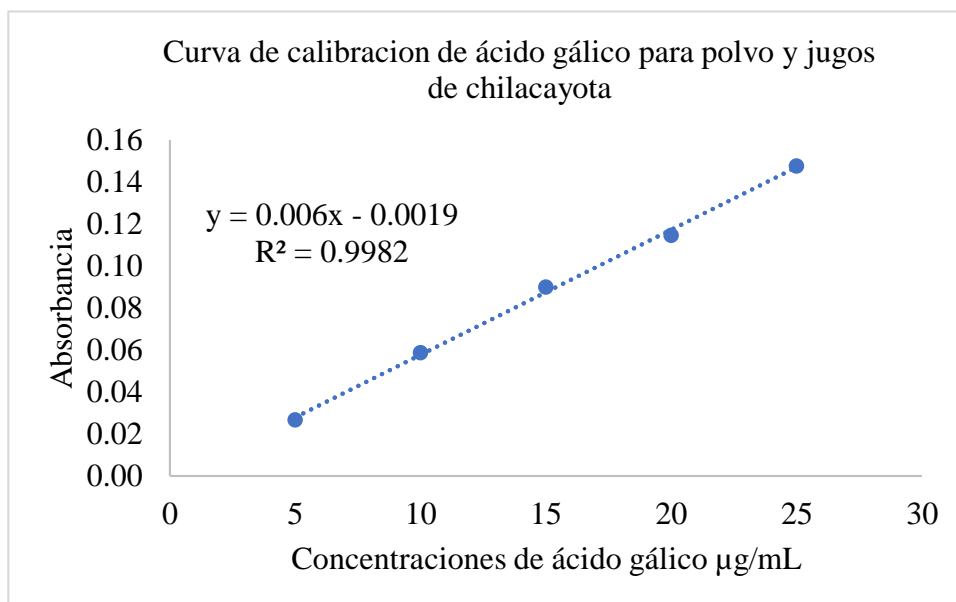
Anexo 20. Cálculos de cuantificación de fenoles totales en extractos en jugos y polvo de pulpa fresca de chilacayota del mes de febrero y noviembre.

Concentración ácido gálico $\mu\text{g/mL}$	Absorbancias		
	R1	R2	R3
5	0.067	0.069	0.069
10	0.099	0.101	0.101
15	0.132	0.131	0.132
20	0.156	0.157	0.156
25	0.189	0.189	0.19
BLK	0.041	0.042	0.042

Absorbancias ajustadas para la ecuación de regresión lineal

Concentración Ácido gálico $\mu\text{g/mL}$	ABS – BLK STD			ABS Promedio STD	Fórmula	Donde
	R1	R2	R3			
5	0.025	0.027	0.027	0.027	$Y = Ax + B$	A= 0.006 B= 0.001
10	0.057	0.059	0.059	0.059	X=	
15	0.090	0.089	0.090	0.090	concentración	
20	0.114	0.115	0.114	0.115	en $\mu\text{L/mL}$ de A.	
25	0.147	0.147	0.148	0.148	gál. A= Pendiente B= Intercepto	

Nota: Los parámetros A Y B de la ecuación de regresión lineal, $Y = Ax + B$, se calcularon a partir del promedio de las réplicas.

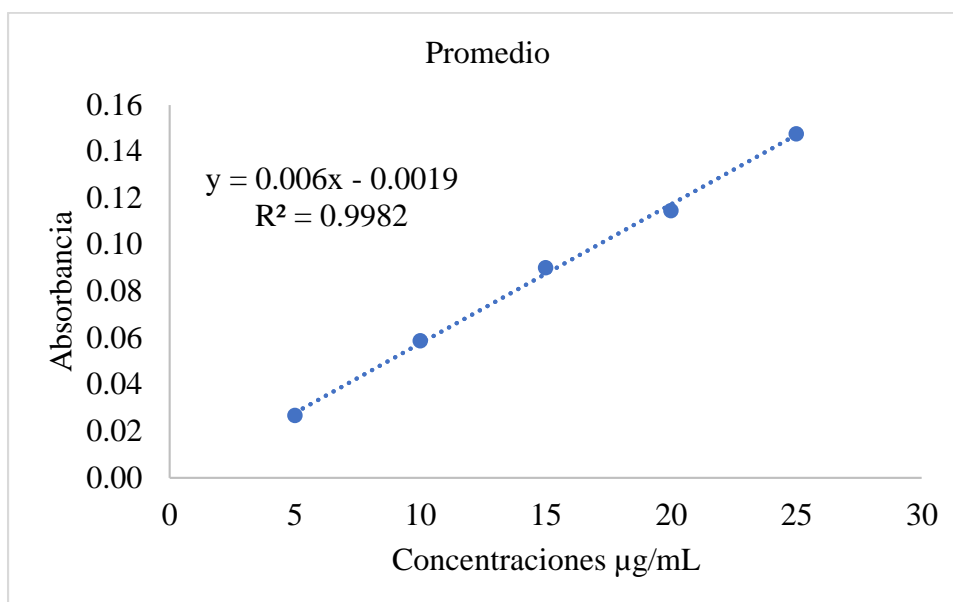


Curva de calibración de los estándares de ácido gálico para la cuantificación de fenoles en extractos y jugos de *Cucurbita ficifolia* B.

Cálculos de cuantificación de Fenoles Totales en polvo de chilacayota cascara verde, semilla negra mes de febrero.

Concentración Ácido gálico µg/mL	ABS Promedio STD			Fórmula	Donde	
	ABS – BLK STD					
	R1	R2	R3			
5	0.025	0.027	0.027	0.027	Y=Ax + B	
10	0.057	0.059	0.059	0.059	Y=Absorbancia	A= 0.006
15	0.090	0.089	0.090	0.090	X=	B= 0.001
20	0.114	0.115	0.114	0.115	concentración en µL/mL de A.	
25	0.147	0.147	0.148	0.148	gál.	
					A= Pendiente	
					B= Intercepto	

Nota: Los parámetros A Y B de la ecuación de regresión lineal, $Y=Ax+B$, se calcularon a partir del promedio de las réplicas.



Curva de calibración de promedio de las tres réplicas de los estándares de ácido gálico para la cuantificación de fenoles totales en extractos de *Cucurbita ficifolia* B.

Ecuación de calibración promedio a partir de las réplicas del polvo de chilacayota, semilla blanca del mes de noviembre

BLK	Muestras ajustadas			\bar{x}	S	CV
	R1	R2	R3			
0.039	0.100	0.100	0.102	0.101	0.001	1.147

Ecuación de calibración promedio a partir de las réplicas del jugo de chilacayota, semilla blanca del mes de febrero

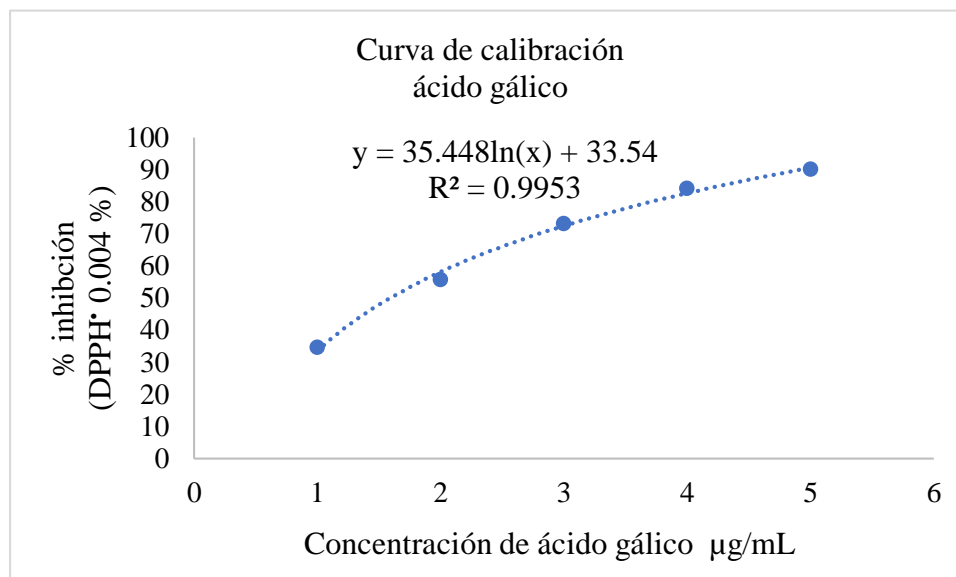
BLK	Muestras ajustadas			\bar{x}	S	CV
	R1	R2	R3			
0.052	0.079	0.078	0.077	0.078	0.001	1.282

Ecuación de calibración promedio a partir de las réplicas del jugo de chilacayota, semilla negra del mes de febrero

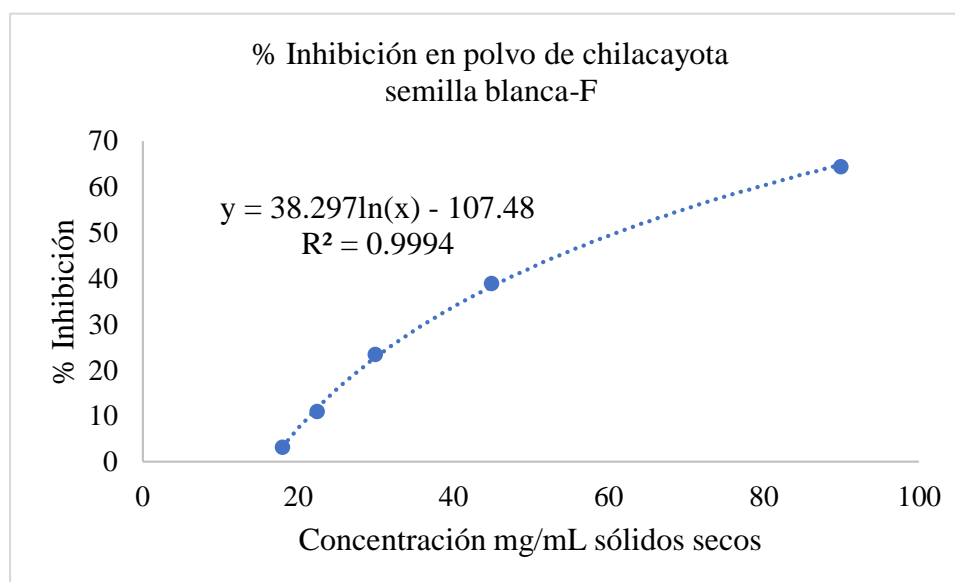
BLK	Muestras ajustadas			\bar{x}	S	CV
	R1	R2	R3			
0.049	0.096	0.097	0.094	0.096	0.002	1.597

Anexo 21. Datos generales para cálculos de capacidad antioxidante DPPH[•] en polvo y jugo de chilacayota con su respectiva curva de calibración de ácido gálico (1, 2, 3, 4, y 5 µg/mL), ácido ascórbico (2, 4, 6, 8 y 10 µg/mL) y BHT (10, 20, 30, 50 y 70 µg/mL).

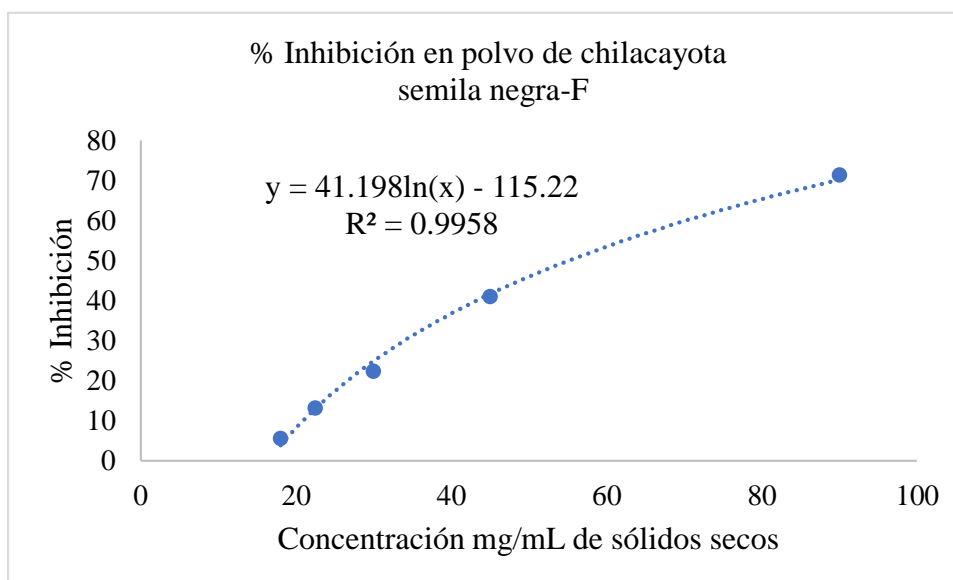
Inhibición DPPH[•] (Ácido gálico)					
Estándares µg/mL	R1	R2	R3	Promedio	Promedio IC₅₀
1	34.69	36.04	32.88	34.53 ± 1.58	3.18
2	55.05	55.05	56.86	55.65 ± 1.04	
3	71.79	72.24	75.41	73.15 ± 1.97	
4	84.01	84.46	83.56	84.01 ± 0.45	
5	90.34	89.89	89.89	90.04 ± 0.26	
BLK CTRL 5	0.039	0.039	0.041	0.039	



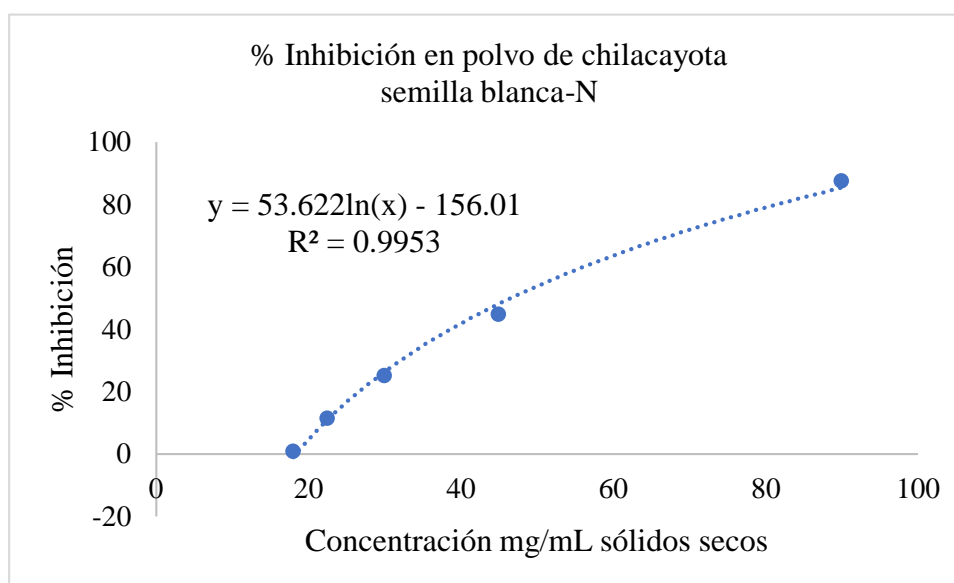
Polvo de chilacayota semilla blanca-Febrero					
Factor de dilución	mg/mL de polvo	R1	R2	R3	Promedio IC₅₀ (mg/mL)
polvo concentrado	90	65.16	62.90	65.16	
Muestra 1:1	45	38.01	39.82	38.91	
Muestra 1:2	30	23.98	23.08	23.08	56.13
Muestra 1:3	22.5	10.86	11.31	10.86	
Muestra 1:4	18	3.17	3.17	3.17	
IC₅₀		56.66	55.46	56.26	



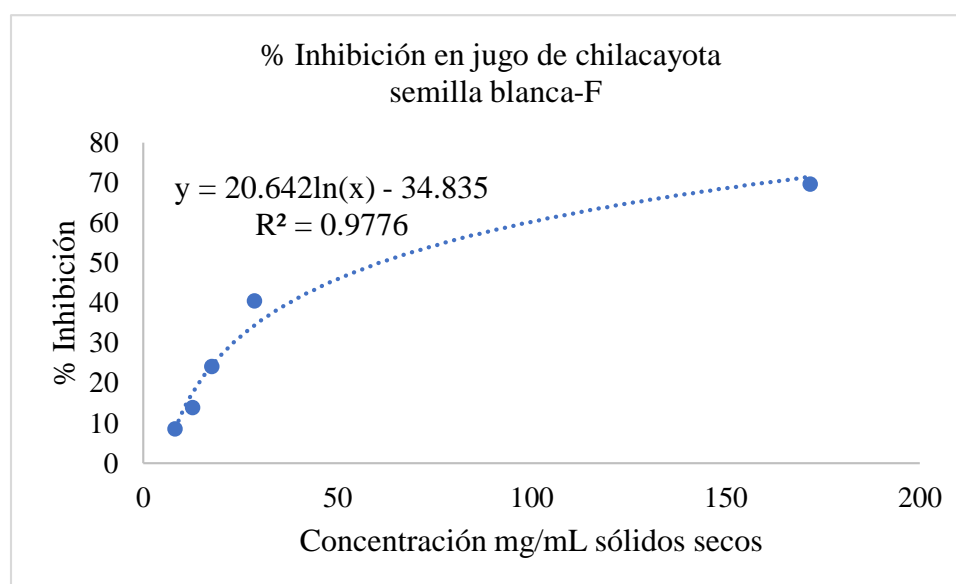
Polvo de chilacayota semilla negra – Febrero					
Factor de dilución	mg/mL de polvo	R1	R2	R3	Promedio IC ₅₀ (mg/mL)
polvo concentrado	90	72.70	70.90	70.27	
Muestra 1:1	45	39.64	42.34	40.99	
Muestra 1:2	30.	22.97	21.17	22.97	54.38
Muestra 1:3	22.5	13.06	13.06	13.51	
Muestra 1:4	18	5.86	5.86	5.41	
IC ₅₀		55.24	53.60	54.29	



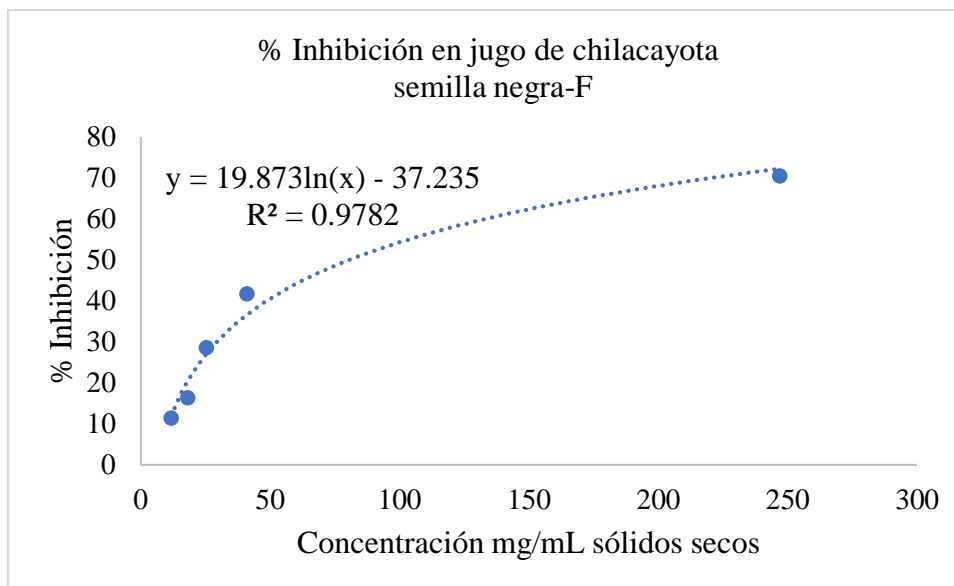
Polvo de chilacayota semilla blanca - Noviembre					
Factor de dilución	mg/mL de polvo	R1	R2	R3	Promedio IC ₅₀ (mg/mL)
polvo concentrado	90	87.84	87.84	86.94	
Muestra 1:1	45	46.40	44.59	43.24	
Muestra 1:2	30.00	25.68	24.77	24.77	48.10
Muestra 1:3	22.5	11.26	11.71	11.26	
Muestra 1:4	18	0.90	0.90	0.90	
IC ₅₀		46.86	48.23	49.22	



Jugo de chilacayota semilla blanca- Febrero				
mg sólido secos de pulpa/mL	R1	R2	R3	Promedio IC₅₀ (mg/mL)
171.805	69.55	70.90	68.21	
28.634	41.34	41.79	38.21	
17.621	23.88	23.43	24.78	
12.726	13.58	13.58	14.48	61.04
8.181	8.21	8.66	8.66	
IC₅₀	60.50	58.44	64.16	



Jugo de chilacayota semilla negra- Febrero				
mg sólidos secos de pulpa/mL	R1	R2	R3	Promedio IC₅₀ (mg/mL)
247.072	69.55	70.90	70.90	
41.179	41.79	41.79	41.34	
25.341	28.36	28.36	28.81	80.63
18.302	15.82	14.93	18.06	
11.765	11.34	11.79	10.90	
IC₅₀	82.57	80.18	79.14	



Anexo 22. Cálculos de inhibición de α -amilosa en α -amilasa en extractos de polvo de pulpa de chilacayota semilla blanca (febrero).

Absorbancia de harina de maíz para determinar el valor azul

Almidón de maíz (Maizena comercial: 25 mg)						
BLK	R1	R2	R3	Promedio	Desv Std	CV
0	0.221	0.225	0.219	0.2217	0.0031	1.3782

Fórmula para calcular el valor azul de la enzima α -amilosa

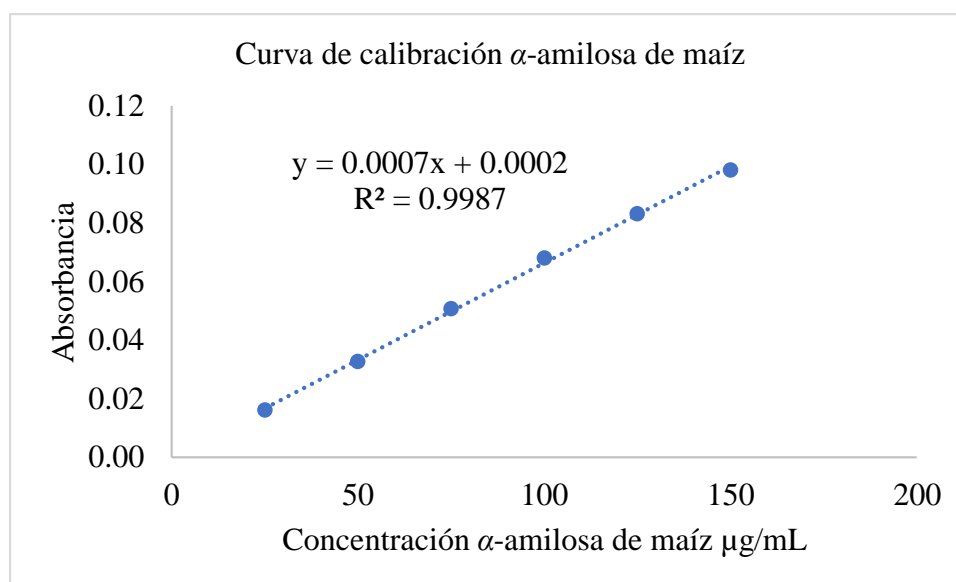
Fórmula
56.203 (absorbancia) + 5.0051
α-amilosa en Maizena 17.42 \pm 0.0031 %

Rendimiento de α -amilosa y amilopectina en 2 g de almidón desengrasado

Muestra	Cantidad (g)	%
Almidón desengrasado	2	100%
Amilopectina	1.6	80%
Amilosa	0.114	5.7%

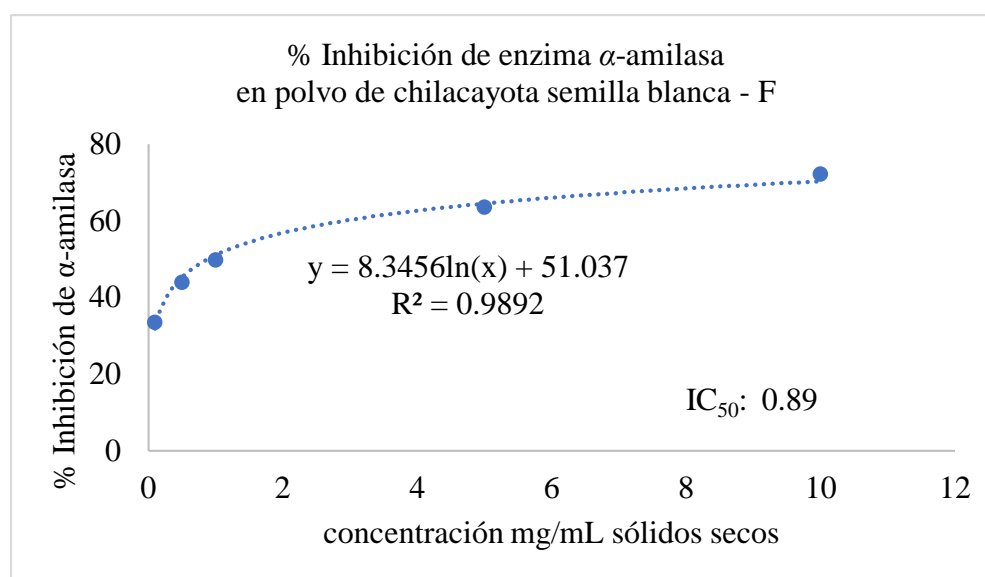
Absorbancia en concentraciones de α -amilosa de maíz para la curva de calibración.

Inhibición α-amilosa de maíz en polvo				
Concentración	R1	R2	R3	Promedio
25	0.016	0.016	0.015	0.016 \pm 0.01
50	0.032	0.032	0.033	0.033 \pm 0.01
75	0.051	0.050	0.050	0.050 \pm 0.01
100	0.067	0.068	0.068	0.068 \pm 0.01
125	0.083	0.083	0.082	0.082 \pm 0.01
150	0.098	0.098	0.097	0.098 \pm 0.01



Concentración de chilacayota semilla blanca- Febrero (mg/mL)	E. Hidrolizada	E. Activa	%AE	%AE - El disolvente	% Inhibición
10	0.22	0.19	12.34	27.86	72.13
5	0.21	0.18	16.17	36.49	63.50
1	0.21	0.16	22.24	50.17	49.82
0.5	0.21	0.16	24.85	56.06	43.93
0.1	0.25	0.17	29.50	66.57	33.42
BLK EtOH 90 %	0.29	0.16	44.32	100	0

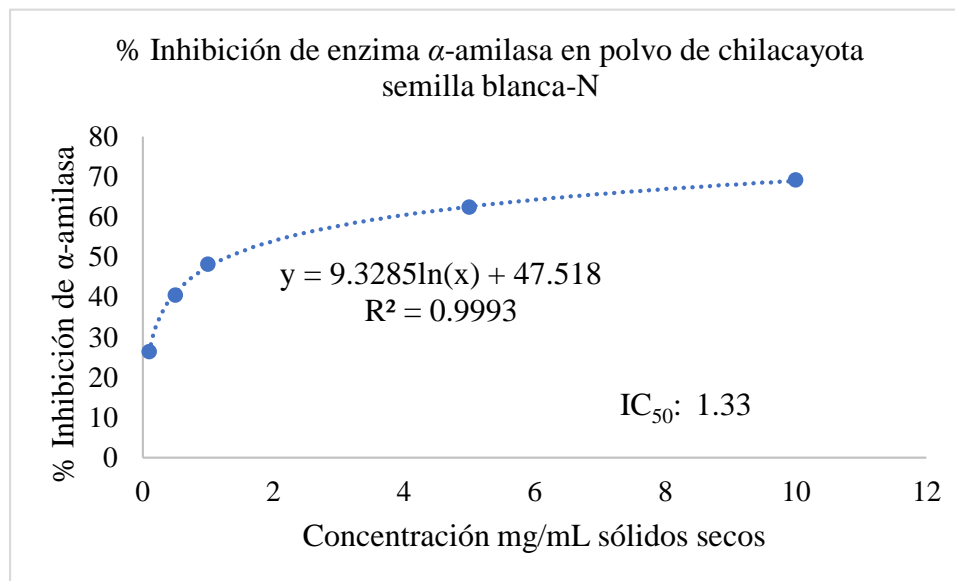
AE: Absorbancia del disolvente (EtOH 90 %).



Anexo 23. Cálculos de inhibición de α -amilasa en extractos de polvo de pulpa de chilacayota semilla blanca (noviembre)

Concentración de chilacayota semilla blanca- Noviembre (mg/mL)	E. Hidrolizada	E. Activa	%AE	%AE - El disolvente	% Inhibición
10	0.20	0.17	15.20	30.87	69.12
5	0.20	0.16	18.55	37.67	62.32
1	0.21	0.16	25.57	51.93	48.06
0.5	0.21	0.15	29.35	59.60	40.39
0.1	0.24	0.15	36.33	73.77	26.22
BLK EtOH 90 %	0.22	0.11	49.25	100	0

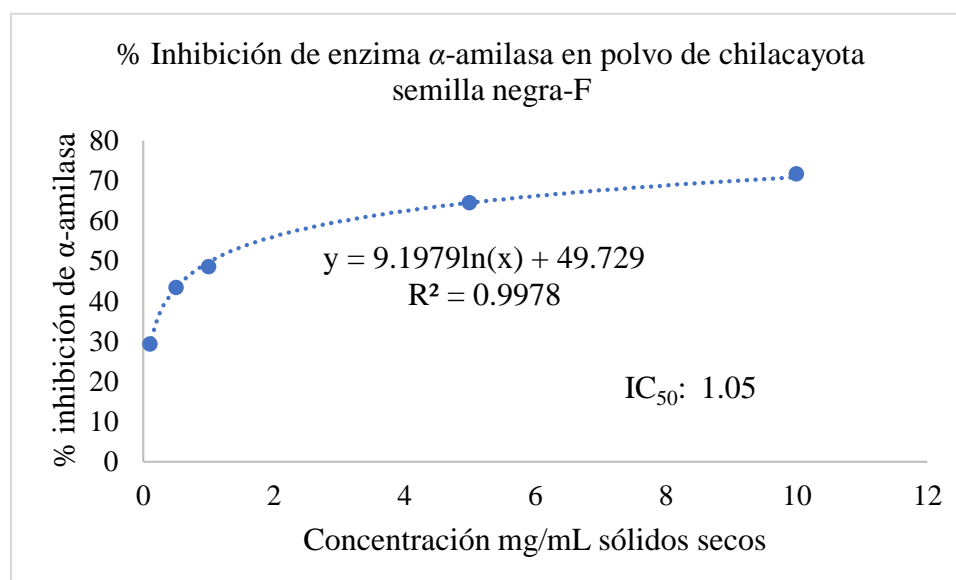
AE: Absorbancia del disolvente (etanol 90 %).



Cálculos de inhibición de α -amilasa en extractos de polvo de pulpa de chilacayota semilla negra (febrero).

Concentración de chilacayota semilla negra-febrero (mg/mL)	E. Hidrolizada	E. Activa	%AE	%AE - El disolvente	% Inhibición
10	0.22	0.19	13.98	28.39	71.60
5	0.21	0.17	17.50	35.53	64.47
1	0.22	0.17	25.36	51.50	48.49
0.5	0.22	0.16	27.94	56.72	43.27
0.1	0.23	0.15	34.85	70.77	29.22
BLK EtOH 90 %	0.22	0.11	49.25	100	0

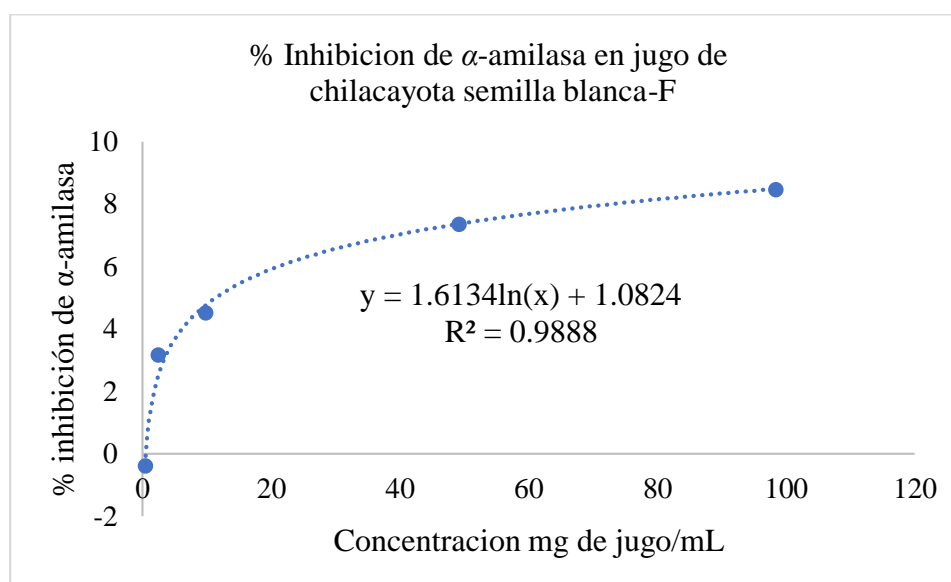
AE: Absorbancia del disolvente (etanol 90 %).



Cálculos de Inhibición de α -amilasa en extractos de jugo de chilacayota semilla blanca (febrero) con agua tipo 1.

Concentración del Jugo (mg de jugo/mL)	E. Hidrolizada	E. Activa	%AE	%AE - El disolvente	% Inhibición
98.46	0.30	0.08	72.46	91.55	8.45
49.23	0.31	0.08	73.33	92.64	7.36
9.85	0.35	0.08	75.58	95.48	4.52
2.46	0.35	0.08	76.66	96.84	3.16
0.49	0.36	0.07	79.46	100.39	-0.39
H ₂ O	0.38	0.08	79.16	100.00	0.00

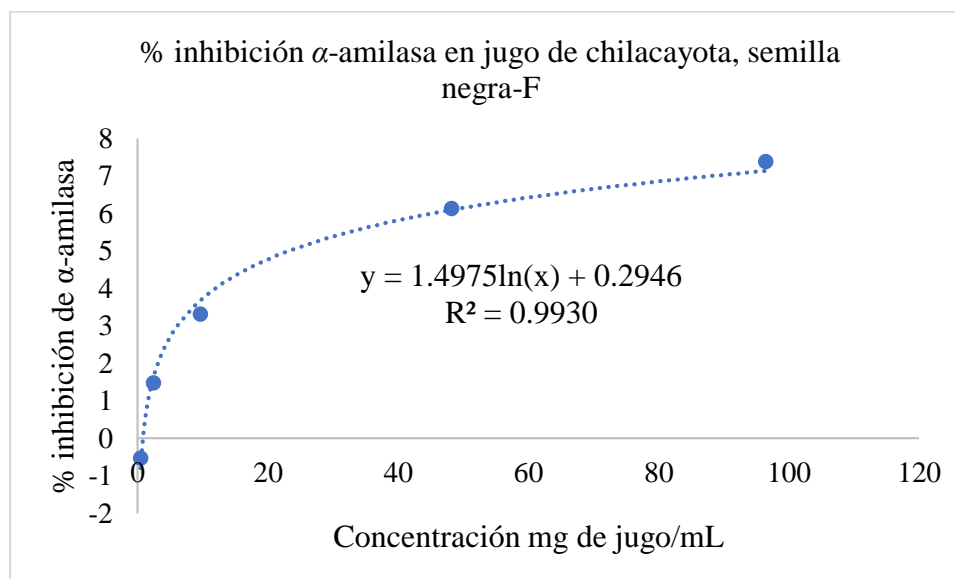
AE: Absorbancia del disolvente buffer.



Cálculos de Inhibición de α -amilasa en extractos jugo de chilacayota semilla negra (febrero) con agua tipo 1.

Concentración del Jugo (mg de jugo/mL)	E. Hidrolizada	E. Activa	%AE	%AE - El disolvente	% Inhibición
96.51	0.30	0.08	73.23	92.62	7.38
48.26	0.31	0.08	74.22	93.88	6.12
9.65	0.34	0.08	76.45	96.70	3.30
2.41	0.35	0.08	77.90	98.52	1.48
0.48	0.36	0.07	79.49	100.54	-0.54
H ₂ O	0.30	0.08	73.23	92.62	7.38

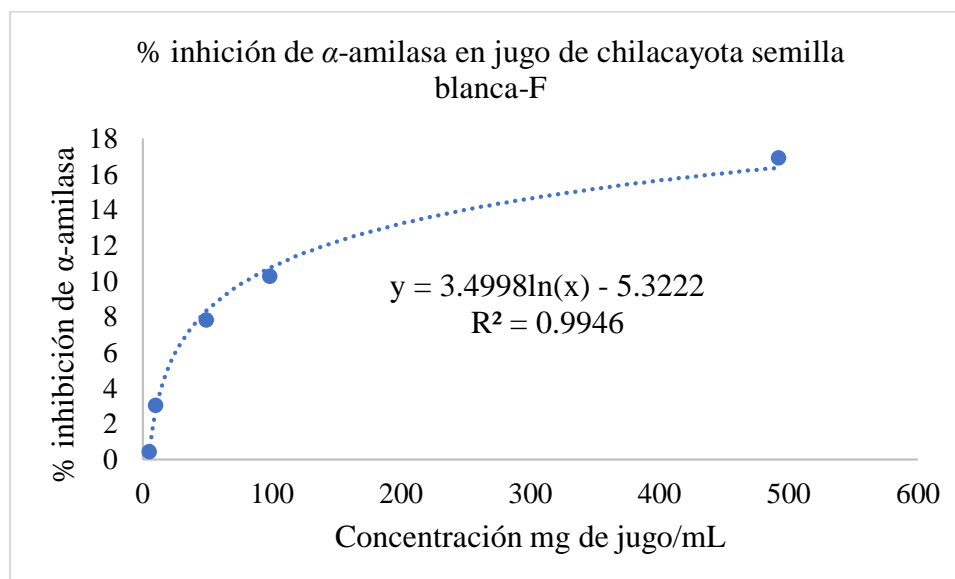
AE: Absorbancia del disolvente buffer.



Cálculos de Inhibición de α -amilasa en extractos jugo de chilacayota semilla blanca (febrero) con buffer de acetatos 0.1 M pH 5.

Concentración del Jugo (mg de jugo/mL)	E. Hidrolizada	E. Activa	%AE	%AE - El disolvente	% Inhibición
492.30	0.29	0.10	65.17	83.10	16.90
98.46	0.30	0.09	70.37	89.73	10.27
49.23	0.30	0.08	72.31	92.21	7.79
9.85	0.32	0.08	76.07	97.00	3.00
4.92	0.33	0.07	78.10	99.59	0.41
BLK Buffer	0.35	0.08	78.42	100.00	0.00

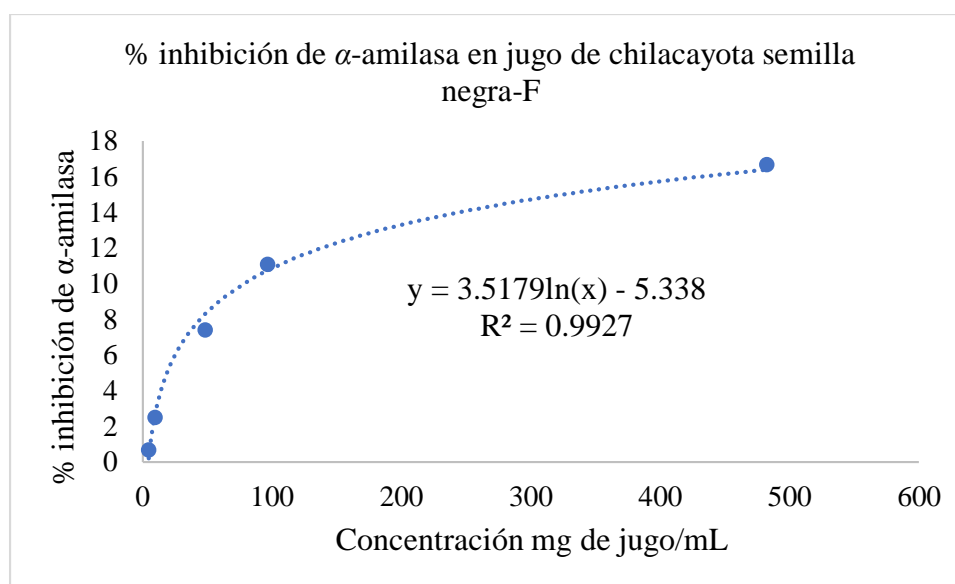
AE: Absorbancia del disolvente (buffer)



Cálculos de Inhibición de α -amilasa en extractos jugo de chilacayota semilla negra (febrero) con buffer de acetatos 0.1 M pH 5.

Concentración del Jugo (mg/mL)	E. Hidrolizada	E. Activa	%AE	%AE - El disolvente	% Inhibición
482.55	0.28	0.09	66.55	83.34	16.66
96.51	0.30	0.09	71.01	88.93	11.07
48.255	0.31	0.08	73.94	92.60	7.40
9.651	0.33	0.07	77.87	97.52	2.48
4.8255	0.34	0.07	79.32	99.34	0.66
BLK Buffer	0.35	0.07	79.85	100.00	0.00

Absorbancia del disolvente buffer.



Anexo 24. Análisis de varianza (ANOVA) empleando la prueba de TUKEY para fenoles totales

Categoría	Diferencia	Diferencia estandarizada	Pr > Dif	Significativo	Grupos
JSN-F	28.267	67.355	<0.0001	Sí	A
JSB-F	1.968	4.690	0.008	Sí	B
PSB-N	26.299	62.665	<0.0001	Sí	C

Análisis de varianza (ANOVA) empleando la prueba de TUKEY para capacidad antioxidante

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Pr > Dif	Significativo
JSN-F vs PSB-N	32.525	27.714	<0.0001	Sí
JSN-F vs PSN-F	26.248	22.365	<0.0001	Sí
JSN-F vs PSB-F	24.506	20.881	<0.0001	Sí
JSN-F vs JSB-F	19.592	16.694	<0.0001	Sí
JSB-F vs PSB-N	12.933	11.020	<0.0001	Sí
JSB-F vs PSN-F	6.656	5.671	0.001	Sí
JSB-F vs PSB-F	4.914	4.187	0.012	Sí
PSB-F vs PSB-N	8.019	6.833	0.000	Sí
PSB-F vs PSN-F	1.742	1.485	0.749	No
PSN-F vs PSB-N	6.277	5.349	0.002	Sí

Análisis de varianza (ANOVA) empleando la prueba de TUKEY para capacidad antidiabética

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Pr > Dif	Significativo	Media	Grupos
PSB-N vs PSB-F	0.437	2.111	0.168	No	1.327	A
PSB-N vs PSN-F	0.275	1.327	0.432	No	1.052	A
PSN-F vs PSB-F	0.162	0.784	0.726	No	0.890	A