



Instituto Tecnológico Superior de Acatlán de Osorio

SEP

SEIT

TecNM

DIVISIÓN DE LA CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

OPCIÓN

“Tesis”

Proyecto

**“ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO Y EVALUACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN
EXTRACTOS DE CHILACAYOTE (*Cucúrbita ficifolia* Bouché)”**

Que para obtener el título de:

Ingeniero en Industrias Alimentarias

Presenta

Rafael Bautista Vásquez

130412002

Acatlán de Osorio, Pue., Noviembre del 2020.

AGRADECIMIENTOS

A mi **Madre y hermanos** por su apoyo incondicional que me han brindado, por estar siempre para mí, por cuidarme y no dejarme nunca solo, por la confianza que depositaron en mí y la comprensión que me han tenido, por el amor que me tienen y por ayudarme a cumplir este sueño.

Al **Instituto Tecnológico Superior de Acatlán de Osorio (ITSAO)** por la oportunidad de abrirme sus puertas y ser parte del alumnado de esta institución y de esta manera adquirir conocimientos básicos y necesarios para desarrollar este proyecto de investigación.

Al jefe de carrera **Ing. Eleodoro Gavilán Linares y maestros de la división (al Mvz. Oscar, a los Ings. Erika, Anabel, Rolando y Genaro)** por el apoyo, conocimiento y tiempo que me brindaron, por la experiencia, consejos, motivación constante, y dudas que me resolvieron para seguir progresando.

A la **Dra. Adriana Contreras Oliva** por la confianza, paciencia y oportunidad que me ha brindado para culminar este proyecto de investigación en el laboratorio de **análisis de los alimentos y extractos vegetales** y el tiempo que se tomó en revisar los avances y detalles de la estructura del proyecto.

A la comisión revisora **M. C. Víctor I. Pacheco Contreras y Ing. Gabriela F. Lara Ruiz** por su apoyo y ánimo al comienzo de esta investigación, por la motivación que me dio para darle seguimiento, confianza y tiempo de revisar la estructura del proyecto.

Al **Colegio de Postgraduados Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas Campus Córdoba (COLPOS)** por darme la oportunidad de realizar mi residencia profesional dentro de sus instalaciones y facilitarme lo necesario para culminar este proyecto de investigación.

A mis **compañer@s y amig@s en particular a (Sandra, Brenda, Diego etc.)** por ser como mi tercera familia, por su apoyo, ánimo y los momentos que vivimos y pasamos juntos dentro y fuera del ITSAO.

A mis **companer@s y amig@s de COLPOS** por el apoyo que me brindaron durante el transcurso de la residencia para realizar este proyecto de investigación.

DEDICATORIAS

Especialmente a **Dios** por darme el don de la vida, por haberme permitido llegar hasta este punto, por ser mi luz y esperanza de cada día, por haberme dado salud, sabiduría, por ser mi guía para lograr este objetivo, por su fortaleza en los momentos más difíciles, por estar conmigo cada instante cada paso que doy, por su infinita bondad y amor.

A mi **Madre Catarina** por haberme apoyado en todo momento, ya que ella asumió dos responsabilidades tanto como madre y padre, por sus esfuerzos, retos y persistencia y dar de sí mismo cada día, por sus consejos, valores, confianza y motivación constante, pero ante todo por su amor incondicional. Te amo Mami.

A mi **Hermano Daniel** y su esposa Isabel por su apoyo incondicional, confianza, valores, motivaciones y dar de sí mismo cada día, por ser un buen ejemplo en la vida y constante trabajo, esfuerzo para un bien. Los quiero mucho.

A mi **Hermano Adán** y su esposa Margarita por su apoyo, cariño y todos los momentos buenos que hemos compartido, por la confianza, motivación constante y un ejemplo a seguir.

A mis **Familiares** tíos (Juan, Catarino, Hilario etc.) y tías (Juana, Carmen, M. Asunción etc.), primas (Cecilia, Eva, Areli, Carmela, Alicia, Roselia, Irma etc.) y primos (Edgar, Maximino, Carlos etc.) por el apoyo que me han brindado constantemente, por depositar la confianza mutua en mí y el esfuerzo de cada uno ellos para lograr al fin este objetivo.

A mi tío **Jacinto** que en paz descanse, por el apoyo que me brindo, constante motivación y valores que me inculco por todos los consejos y sacrificios que hizo por ser un buen ejemplo. Te extrañare.

A mis **sobrinas** Ofelia, Luz, Tatiana y Yamileth por sus palabras, cariño, respeto, momentos de alegría, por tus risas que me hacen crecer y hacerme sentirme muy afortunado de tenerlas conmigo, las quiero muchas princesitas.

A mis **Companer@s y Amig@s** dentro y fuera del ITSAO quienes me han acompañado en los momentos importantes y divertidos en vida, por compartirme sus experiencias, por hacerme reír y su gran apoyo, siempre fuimos buen equipo de trabajo y hemos logrado salir adelante.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
LISTA DE SÍMBOLOS Y/O NOMENCLATURAS	X
RESUMEN	XI
ABSTRACT	XII
I INTRODUCCIÓN	1
II OBJETIVOS E HIPÓTESIS	2
2.1 Objetivo general	2
2.2 Objetivo específico	2
2.3 Hipótesis	2
III REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1 Origen de Chilacayote (<i>Cucúrbita ficifolia</i>)	3
3.1.1 Taxonomía.....	4
3.1.2 Morfología.....	4
3.1.3 Descripción botánica	5
3.1.4 Distribución geográfica	5
3.1.5 Composición química	6
3.1.6 Composición fisicoquímica	6
3.1.7 Composición química y nutrimental de la semilla	7
3.1.8 Vitaminas y Minerales.....	8
3.1.9 Producción nacional	8
3.1.10 Importancia y usos.....	9
3.1.11 Información Económica	9
3.2 Compuestos bioactivos	10
3.2.1 Compuestos bioactivos en el reino vegetal.....	11
3.3 Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante.....	13
3.3.1 Actividad antioxidante.....	15
3.3.2 Flavonoides como antioxidante	16
3.3.3 Estructura del antioxidante flavonoide	17
3.4 Compuestos fenólicos	18
3.4.1 Clasificación de los Compuestos fenólicos.....	19
3.4.2 Clasificación química de fenoles.....	20
3.5 Flavonoides.....	21
3.5.1 Generalidades de flavonoides	21
3.5.2 Clasificación de flavonoides.....	22

3.5.3	Estructura química de los flavonoides más comunes	23
3.5.4	Efectos antioxidantes de los flavonoides	25
3.5.6	Flavonoides e hipertensión	26
3.5.7	Vitamina P	27
3.6	Catequina.....	28
3.6.1	Estructuras químicas de las catequinas	29
3.6.2	Propiedades físicas de las catequinas.....	29
3.6.3	Estabilidad de la catequina.....	30
3.7	Quercetina.....	30
3.8	Ácido gálico	31
3.8.1	Aplicaciones y actividades biológicas del ácido gálico	32
3.9	Kaempferol.....	33
3.9.1	Kaempferol en el reino vegetal	33
3.10	Miricetina.....	34
3.10.1	Síntesis química de la miricetina.	35
3.11	Azúcares	35
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	37
4.1	Localización de lugar del experimento	37
4.2	Material vegetal.....	37
4.3	Reactivos.....	39
4.4	Equipos de laboratorio	40
4.5	Análisis fisicoquímicos de la pulpa de chilacayote.	41
4.5.1	Determinación de pH.....	41
4.5.2	Determinación de acidez titulable	41
4.5.3	Determinación de grados Brix.....	42
4.5.4	Determinación de color de chilacayote.	42
4.5.5	Preparación de muestra para retención de glucosa.	43
4.6	Obtención del extracto de chilacayote.....	46
4.6.1	Obtención de harina de pulpa de chilacayote.....	46
4.6.2	Obtención del extracto a partir de pulpa seca.....	47
4.6.3	Obtención de extracto a partir de pulpa fresca.	47
4.7	Análisis de compuestos bioactivos (fitoquímicos).	48
4.7.1	Determinación de capacidad antioxidantes por el método DDPH (2,2 difenil-1-picrihidraxil).....	48
4.7.2	Diagrama de ensayo de DPPH.....	49

4.7.3	Determinación de compuestos fenólicos totales (FT) por el método (espectrofotométrico Folin-Ciocalteu).	49
4.7.4	Cuantificación de flavonoides (quercetina, catequina, miricetina, kaempferol y ácido gálico) por el método (NaNO ₂ -AlCl ₃ -NaOH espectrofotométrico).	51
4.8	Diseño experimental.....	58
4.9	Análisis estadístico.....	58
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
5.1	Caracterización fisicoquímica de los chilacayotes.....	59
5.2	Determinación de compuestos bioactivos en chilacayotes.	60
5.2.1	Determinación de compuestos fenólicos totales (FT) por el método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu.....	60
5.2.2	Determinación de la capacidad antioxidante total por el método DPPH (radical 2,2 difenil-1-picrihidraxil).....	62
5.2.3	Determinación de flavonoides.....	63
5.2.4	Azúcares reductores	67
5.2.5	Evaluación de compuestos bioactivos de acuerdo a la población estudiada.	69
VI.	CONCLUSIÓN.....	74
VII.	RECOMENDACIÓN	75
IV.	BIBLIOGRAFÍA.....	76
V.	ANEXOS.....	85

ÍNDICE DE CUADROS

Contenido	Página
Cuadro 1. Taxonomía del chilacayote (<i>Cucúrbita ficifolia</i> B.)	4
Cuadro 2. Composición fisicoquímica del chilacayote.....	7
Cuadro 3. Composición química y nutrimental de la semilla de chilacayote.	7
Cuadro 4. Contenido de vitaminas y minerales en chilacayote.	8
Cuadro 5. Producción de chilacayote en México.	10
Cuadro 6. Clasificación de los compuestos fenólicos.....	19
Cuadro 7. Reactivos para el desarrollo experimental.	39
Cuadro 8. Equipos de laboratorio para el desarrollo experimental.	40
Cuadro 9. Concentración de la curva patrón para retención de glucosa.	44
Cuadro 10. Concentración para la curva patrón para compuestos fenólicos totales (CFT), solución patrón (SP), ácido gálico (AG), agua destilada (H ₂ O), Folin-Ciocalteu (F-C).....	50
Cuadro 11. Concentración de curva patrón para (Quercetina, Catequina y Ácido gálico).52	
Cuadro 12. Concentración de curva patrón para Kaempferol y Miricetina	52
Cuadro 13. Rectas de calibrado de flavonoides.....	53
Cuadro 14. Resultado de análisis fisicoquímica del chilacayote.	59
Cuadro 15. Contenido de compuestos bioactivos en chilacayote.	69
Cuadro 16. Contenido de flavonoides en chilacayotes.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1. Planta de chilacayote.....	3
Figura 2. D-quirositol.	6
Figura 3. Dulce típico de chilacayote.	9
Figura 4. Compuestos bioactivos de los alimentos vegetales	12
Figura 5. Formación de radicales libres en las mitocondrias	14
Figura 6. Quercetina oxidada.....	16
Figura 7. Estructura de un flavonoide.	18
Figura 8. Clasificación química de los flavonoides	21
Figura 9. Tendencia de las publicaciones acerca de quercetina.....	22
Figura 10. Clasificación de los polifenoles.....	23
Figura 11. Estructura química de los flavonoles más comunes.....	24
Figura 12. Esquemas representativos de la estructura química de la familia de Catequina.	29
Figura 13. Oxidación de la Catequina.	30
Figura 14. Estructura Química de la Quercetina	31
Figura 15. Estructura química del ácido gálico.....	32
Figura 16. Estructura química del Kaempferol.	33
Figura 17. Biosíntesis de Kaempferol.	34
Figura 18. Estructura química de la Miricetina.	35
Figura 19. Ubicación geográfica del Colpos, Campus Córdoba.	37
Figura 20. Material Biológico.....	38
Figura 21. Escala de Hunter Lab	42
Figura 22. Determinación de azúcares reductores (AR).	44
Figura 23. Diagrama de proceso para determinación de azúcares reductores (AR).....	45
Figura 24. Chilacayote fresco y deshidratado.	46
Figura 25. Obtención de extracto fresco y seco de pulpa de chilacayote.....	47
Figura 26. Diagrama de proceso para determinación de actividad antioxidante.	49
Figura 27. Curva patrón de ácido gálico (AG) para cuantificación de compuestos fenoles totales (CFT).....	50
Figura 28. Diagrama de cuantificación de Catequina y Ácido Gálico.	55
Figura 29. Diagrama para cuantificación de Quercetina, Miricetina y Kaempferol.	57
Figura 30. Curva de calibración de ácido gálico para compuestos fenólicos totales (CFT) expresado en (mg EAG / mL).	61
Figura 31. Curva de calibración de Trolox expresada en Eq. Trolox / mL.....	62
Figura 32. Curva de calibración de ácido gálico para flavonoides expresada en mg EAG / mL sol.....	63
Figura 33. Lectura de absorbancia de ácido gálico(AG).	64
Figura 34. Curva de calibración de quercetina para flavonoides expresada en solución (mg EQ / mL sol.).....	64
Figura 35. Lectura de absorbancia de quercetina.....	65
Figura 36. Curva de calibración de catequina expresada en mg EC / mL sol.....	65
Figura 37. Curva de calibración de miricetina expresada en mg EM / mL sol.	66
Figura 38. Curva de calibración de kaempferol expresada en mg EK / mL sol.....	67
Figura 39. Curva de calibración tipo glucosa (AR) expresada en mg AR/mL sol.	68
Figura 40. Lectura de azúcares reductores (AR) en extracto de chilacayote.....	69
Figura 41. Preparación del DNS.....	85
Figura 42. Peso de Chilacayote deshidratado.....	85

LISTA DE SÍMBOLOS Y/O NOMENCLATURAS

DPPH	Acido 2,2-difenil-1-picrihidraxil.
ANOVA	Análisis de la varianza
CFT	Compuestos fenólicos totales
DNS	Acido 3,5-dinitrosalicílico
°Brix	Grados brix
mM	Milimolar
rpm	Revoluciones por minuto
EAG	Equivalentes de ácido gálico
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
CA	Capacidad Antioxidante
Abs	Absorbancias
UV	Ultravioleta
OMS	Organización Mundial de la Salud
Min	Minutos
P f	Pulpa fresca
P s	Pulpa seca
SAS	Statistical Analysis System
°C	Grados centígrados
AR	Azúcar Reductor
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
p/v	Peso/Volumen
v/v	Volumen/Volumen
T	Temperatura
Ton	Toneladas
pH	Potencial de hidrogeno
t	Tiempo
μM	Micromolar
IS	InfoStat/L
Trolox	(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)

RESUMEN

El chilacayote (*Cucúrbita ficifolia* Bouché) es un fruto que contiene compuestos fitoquímicos que al ser consumidos actúan como antiinflamatorios, antioxidantes y antivirales. Además, contiene azúcar D-quiró inositol, el cual nivela los efectos de insulina en conjunto con otros elementos obtenidos (flavonoides, flavononas, flavonas) que han contribuido para prevenir o disminuir el riesgo de ciertas enfermedades como: cáncer, padecimientos cardiovasculares, sobrepeso, entre otras. Por lo anteriormente mencionado, el objetivo de la investigación fue evaluar y cuantificar el contenido de compuestos bioactivos como fenoles totales, capacidad antioxidante, flavonoides totales: catequina, miricetina, kaempferol, quercetina y ácido gálico y azúcares reductores. La cuantificación de compuestos fenólicos totales, la capacidad antioxidante, azúcares reductores y flavonoides se realizó por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu; DPPH (radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil), DNS (Ácido 3,5-dinitrosalicílico) y por espectrofotometría $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$; respectivamente. El análisis estadístico indicó diferencia significativa ($P < 0.05$) en contenido de compuestos bioactivos entre los tratamientos con fruto seco y fresco de chilacayote. Fruto seco presentó mayor contenido de compuesto bioactivos seguida de fruto fresco, capacidad antioxidante total en % inhibición fue de 92.64 y 76.95, respectivamente, en mg Eq. Trolox de 5.54 y 4.72 mg Eq. Trolox/g p, respectivamente. Compuestos fenólicos totales (296.51 y 72.26 mg EAG/g p, respectivamente). Azúcares reductores (254.47 y 74.10 mg G/100 g p, respectivamente). Flavonoides totales: quercetina (5.05 y 0.85 mg Eq/100 g p, respectivamente), catequina (12.31 y 2.76 mg Eq/100 g p, respectivamente), ácido gálico (29.67 y 4.07 mg Eq/100 g p, respectivamente), miricetina (0.49 y 0.11 mg Eq/100 g p, respectivamente), Kaempferol (2.3 y 0.51 mg Eq/100 g p, respectivamente). Los resultados obtenidos mostraron que el chilacayote posee compuestos bioactivos, que pueden ser aprovechados para elaborar productos dirigidos a personas que cuidan su salud, peso y aquellas que padecen diabetes.

Palabras clave: Azúcares reductores, Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, flavonoides.

ABSTRACT

The chilacayote (*Cucurbita ficifolia Bouché*) is a fruit that contains phytochemical compounds that when consumed act as anti-inflammatory, antioxidants and antivirals. In addition, it contains D-chiro inositol sugar, which levels the effects of insulin in conjunction with other elements obtained (flavonoids, flavonones, flavones) that have contributed to prevent or reduce the risk of certain diseases such as cancer, cardiovascular diseases, overweight, among others. Therefore, the objective of the research is to evaluate and quantify the content of bioactive compounds such as total phenolic compounds, antioxidant capacity, total flavonoids: catechin, myricetin, kaempferol, quercetin and gallic acid and reducing sugars. For the quantification of total phenolic compounds, the spectrophotometric method of Folin-Ciocalteu was used; for the antioxidant capacity the DPPH method (radical 2,2-Diphenyl-1-picrilhidrazil); for reducing sugars, the DNS method (3,5-dinitrosalicylic acid), and for the flavonoids, the spectrophotometric method $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$ was used. Among the results, the statistical analysis indicated that there is a significant difference ($P < 0.05$) in the content of bioactive compounds in the dry and fresh fruit treatments of chilacayotes evaluated. Dry fruit showed higher content of bioactive compounds followed by fresh fruit, total antioxidant capacity in% inhibition was 92.64 and 76.95, respectively, in mg Eq. Trolox of 5.54 and 4.72 mg Eq Trolox / g p, respectively. Total phenolic compounds (296.51 and 72.26 mg EAG / g p, respectively). Reductive azures (254.47 and 74.10 mg G / 100 g p, respectively). Total flavonoids: quercetin (5.05 and 0.85 mg Eq / 100 g p, respectively), catechin (12.31 and 2.76 mg Eq / 100 g p, respectively), gallic acid (29.67 and 4.07 mg Eq / 100 g p, respectively), myricetin (0.49 and 0.11 mg Eq / 100 g p, respectively), Kaempferol (2.3 and 0.51 mg Eq / 100 g p respectively). With which we can conclude that the consumption of chilacayote represents an alternative for the use of bioactive compounds for human consumption.

Key words: Reductive sugars, antioxidant capacity, phenolic compounds, flavonoids.

I INTRODUCCIÓN

La producción del chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*) se da principalmente en países como: Chile, Argentina y Estados Unidos. En México su producción es de 3,323 toneladas, dieciséis entidades producen chilacayote; siendo los estados de Morelos con 33%, Oaxaca con 21%, Michoacán con 17%, Guanajuato con 12%, Chiapas con 9%; los que destacan por los altos volúmenes de producción y participación equivalente al 92% del total de chilacayote en el país. Las once entidades restantes aportaron el 8% de la producción total del país. En el distrito de Tlaxiaco (114,171 habitantes), Oaxaca; la producción de chilacayote es común, cada integrante de familia produce 61 piezas en promedio de chilacayote al año; la mitad de esta cosecha se descompone o se destina para los animales, ya que se desconocen las propiedades del fruto (INEGI, 2010).

Las enfermedades son un conjunto de trastornos en la salud, en las que se incluyen principalmente enfermedades cardiovasculares como: el cáncer, vías respiratorias y la diabetes entre otras. Estas representan el 63% de muertes en el mundo; 9 millones de estas muertes cobran la vida de personas menores de 60 años (OMS, 2013). Entre otras medidas, está comprobado que aumentar el consumo de productos que contienen compuestos bioactivos como antioxidantes, compuestos fenólicos, carotenoides, flavonoides, taninos entre otros fitoquímicos pueden ayudar a reducir el riesgo de padecer alguna de estas enfermedades (Martínez, 2010). Por lo anterior el interés principal de esta investigación es realizar un análisis fisicoquímico y evaluar el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT), capacidad antioxidante total (CAT), flavonoides totales (FT) y azúcares reductores (AR) en pulpa fresca y seca de chilacayote producido en las comunidades rurales de la región Mixteca Alta, Distrito de Tlaxiaco, Estado de Oaxaca, México.

II OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivo general

Realizar análisis físico-químico y evaluación de compuestos bioactivos en extractos de chilacayote (*Cucúrbita ficifolia* Bouché).

2.2 Objetivo específico

- ❖ Caracterizar fisicoquímicamente (pH, grados Brix, Acidez titulable, color) del Chilacayote (*Cucúrbita ficifolia* Bouché).
- ❖ Determinar la capacidad antioxidante total en extractos de chilacayote por el método espectrofotométrico DPPH (radical 2,2 difenil-1-picrihidraxil).
- ❖ Determinar compuestos fenólicos totales (CFT) presentes en extractos de chilacayote por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu.
- ❖ Determinar la capacidad de retención de glucosa en extractos de chilacayote por método DNS (Acido 3,5-dinitrosalicílico).
- ❖ Cuantificar Flavonoides (Quercetina, Catequina, Miricetina, Kaempferol y Acido gálico) por el método espectrofotométrico $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$ en extractos de chilacayote.

2.3 Hipótesis

El contenido de compuestos bioactivos del extracto etanólico de chilacayote en fruto seco, es igual al contenido de compuestos bioactivos del extracto de chilacayote en fruto fresco.

III REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Origen de Chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*)

El chilacayote (*Cucúrbita ficifolia* Bouché), es de la familia Cucurbitaceae, alcanza cerca de 90 géneros y 750 especies. El género más importante es el de *Cucúrbita* que cuenta con 27 especies. Las especies de este género forman un grupo conocido como calabazas, de las cuales cinco se cultivan comercialmente: *Cucúrbita pepo* L. (calabacín), *Cucúrbita ficifolia* Bouché (chilacayote), *Cucúrbita moschata* (Duchesne ex Lam.) Duchesne ex Poiret (calabaza de castilla); *Cucúrbita maxima* Duchesne ex Lam (calabaza kabosha) y *Cucúrbita argyrosperma* Huber (ayote o pipián) (Cerón *et al.*, 2010).

El nombre científico del chilacayote (*Cucúrbita ficifolia* Bouché) proviene del latín *ficifolia*, “hojas de higuera”. Desde mediados del presente siglo existe consenso respecto a que se trata de un cultivo de origen americano, no obstante, su centro de origen y domesticación son todavía desconocidos. Algunos autores han propuesto como lugares de origen América Central o el Sur de México, mientras que otros sugieren América del Sur, y más específicamente los Andes. El cultivo del chilacayote o calabaza blanca en Ecuador, no se encuentra ampliamente difundido, razón por la cual su cultivo es de forma artesanal (Quinteros, 2010).



Figura 1. Planta de chilacayote.

Fuente: Agustí, 2008.

Cucúrbita ficifolia es conocida en México como chilacayote, nombre que procede del náhuatl. Los frutos del chilacayote se caracterizan por su similitud con las sandías por la forma ovalada y la presencia de semillas negras (Figura 1). Éstos poseen una ligera variación en el color de la corteza, que puede ser de color blanco-cremoso y verde uniforme, reticulado o rayado. Normalmente presenta una capa gruesa fibrosa de pulpa blanca con semillas negras o blancas (Delgado, 2013).

3.1.1 Taxonomía

La clasificación taxonómica del chilacayote (*Cucúrbita ficifolia* Bouché) es perteneciente a la familia cucurbitácea y del género cucúrbita como se muestra en el siguiente cuadro.

Cuadro 1. Taxonomía del chilacayote (*Cucúrbita ficifolia* B.).

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Violales
Familia:	Cucurbitaceae
Género:	<i>Cucúrbita</i>
Especie:	<i>cucúrbita ficifolia</i> Bouché

Fuente: Agustí, 2008.

3.1.2 Morfología.

Es una planta rastrera o trepadora, anuales; perteneciente a la familia de plantas dicotiledóneas. Resisten bajas temperaturas (Ortega, 2013).

El fruto es globoso; de 20 cm de diámetro, y el peso promedio es de 5-6 kg. La cascara, verde o blanquecina, protege una pulpa conformada básicamente por mesocarpio, seca, fibrosa, de color claro y dulce. Puede contener hasta 500

semillas de forma aplanada y color oscuro, parduzcas o negras según las variedades. Una planta puede dar hasta 50 frutos en condiciones favorables (Quinteros, 2010).

3.1.3 Descripción botánica

Planta perenne, resistente a las temperaturas extremas, excepto a la nieve. Ligeramente pubescente. Tiene cinco tallos angulares y hojas pecioladas. Con o sin manchas blancas en la superficie verde. Las flores masculinas son largas con una calidez en forma de campana de 5 a 10 mm de largo y aproximadamente 5 a 15 mm de ancho, sépalos lineales y corola tubular en forma de campana, la cual es más ancha en la base de 6 a 12 cm. Las flores femeninas tienen pedúnculos fuertes de 3 a 5 cm de largo, su forma va de ovoide a elíptica, sépalos ocasionalmente foliáceos y una corola poco más grande que las flores masculinas. Fruta globosa, cuya forma va de ovoide a elíptica, el color va de verde claro a verde oscuro con o sin líneas blancas longitudinales o rayas hacia el ápice, el endocarpio es dulce y la semilla son ovaladas de 7 a 12 mm color castaño oscuro o negro (Ortega, 2013).

3.1.4 Distribución geográfica

Los países como Chile, Argentina y Estados Unidos son los principales distribuidores del fruto de chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*), sin embargo Europa y Japón se han convertido en los principales productores (FAO, 2007).

El cultivo de chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*), se extiende desde México, Argentina y Chile. La aparición de chilacayote en Europa, Francia, Portugal, Asia, India comenzó en los siglos XVI y XVII, desde entonces su cultivo se ha extendido a muchas otras partes del mundo como: Alemania, Francia, Japón y las Filipinas.

En algunas regiones de México, como la Mixteca alta de Oaxaca, se ha encontrado que, el cultivo se establece durante las estaciones de lluvias, crece y se cosecha durante la estación seca (Xia y Wang, 2006).

3.1.5 Composición química

El chilacayote (*Cucúrbita ficifolia* Bouché) posee principalmente los siguientes compuestos: lecitinas en tallos y raíces. Xia y Wang (2006), afirmaron que en el extracto acuoso del chilacayote se encuentra en mayor proporción el compuesto D-qui-ro-inositol (DQI) mediador de los efectos de insulina (Figura 2), además de catequina, L- ácido ascórbico, ácido p-cumárico, ácido gálico y nicotinamida como compuestos antioxidantes en el extracto.

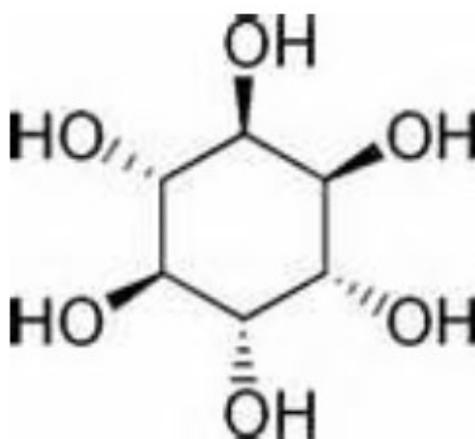


Figura 2. D-qui-ro inositol.

Fuente: Andrade –Cetto y Heinrich, 2005

3.1.6 Composición fisicoquímica

La FAO (2007) indicó que la composición fisicoquímica del chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*) varía dependiendo del área geográfica, las condiciones de cultivo y el tipo de tierra. El fruto de chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*) contiene 90% de humedad, 6.5% de fibra y 1.2% de proteínas. También contiene 1.7 mg de Ca, 0.6 mg de Fe, 7 mg de ácido ascórbico y 0.03 mg de tiamina, por kilogramo de peso seco (Saeed *et al.*, 2007).

Los componentes principales del chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*) es el agua y los carbohidratos, como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Composición fisicoquímica del chilacayote

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

Fuente: López y Tamayo, 2013.
*En base fresca

3.1.7 Composición química y nutrimental de la semilla

Delgado (2013) afirmó que las semillas de chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*) además de ser un alimento muy nutritivo y sabroso, poseen propiedades extraordinarias para tratar ciertas enfermedades; entre las principales tenemos las siguientes: enfermedades reumáticas, diarrea y fortalecimiento del cerebro. Estas semillas representan un aporte considerable de lípidos y proteínas que son muy apreciadas en la elaboración de dulces, barras energéticas y granolas con un alto contenido de fibra que es consumida en dietas nutricionales (Ortega, 2013).

Cuadro 3. Composición química y nutrimental de la semilla de chilacayote.

Concepto	Cantidad
Calorías	321.0
Agua %	5.9
Proteína (g)	21.6
Fibra	1.7
Grasa (g)	32.6
Calcio (mg)	31.2
Fosforo (mg)	0.077
Hierro (mg)	6.8

Vitamina B1(Tiamina) (mg)	0.19
Vitamina B2 (Riboflavina) (mg)	0.17

Fuente: González y Yáñez, 2012.

3.1.8 Vitaminas y Minerales

En el contenido de vitaminas y minerales totales del chilacayote tierno como maduro, se observa que en estado tierno es mayor el contenido de calcio (24 mg) al compararlo con el maduro. Esto es uno de los minerales básicos que forma parte de los ácidos nucleicos DNA, RNA y de los fosfolípidos que participan en la emulsificación y transporte de grasa (FAO, 2007).

Cuadro 4. Contenido de vitaminas y minerales en chilacayote.

Constituyente	Tierna	Madura
Calcio	24	21
Fosforo	13	6
Hierro	0.3	0.5
Caroteno	0.04	---
Tiamina	0.02	0.01
Riboflavina	0.01	0.02
Niacina	0.26	0.22
Ácido ascórbico	18	4

Fuente: FAO, 2007.

El chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*) contiene principalmente vitaminas del grupo B; la más abundante es la Niacina. También se observa que el aporte del ácido ascórbico se eleva a medida que el chilacayote alcanza su grado de maduración óptimo (46 mg). Dando su poder antioxidante, el ácido ascórbico neutraliza los radicales libres y evita así el daño que los mismos generan al organismo (Arévalo y Arias, 2008).

3.1.9 Producción nacional

Los principales Estados productores del chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*) son Morelos, Michoacán, Guanajuato, Oaxaca, Chiapas, entre otros. La forma

tradicional de siembra del chilacayote es en combinación con el maíz y generalmente en tiempos de lluvia, de sequía y últimamente en huertos familiares. La principal característica que hay que considerar, es la humedad ya que la planta se adapta fácilmente bajo condiciones de humedad. La producción de chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*) en México, es de 3,323 toneladas y representa el 92%. Se cultiva en dieciséis entidades, de las cuales destacan cinco por los altos volúmenes de producción: Morelos con 33%, Oaxaca con 21%, Michoacán con 17%, Guanajuato con 12%, Chiapas con 9%. Las once entidades restantes aportaron el 8% de la producción total del país (INEGI, 2010).

3.1.10 Importancia y usos

En nuestro país el consumo de Chilacayote es en sopas (Sopa Mixteca del estado de Oaxaca), mermeladas (Compota del Estado de Puebla), también forma parte como ingrediente de un plato tradicional de nuestra cultura como es el Pepeto (Estado de México). Para la preparación de estos platos, es necesario utilizar el chilacayote tierno y en la elaboración de dulces (Figura 3) se utilizan el chilacayote maduro (Gómez y Navas, 2007).



Figura 3. Dulce típico de chilacayote.

Fuente: Gómez y Navas, 2007

3.1.11 Información Económica

En México, el chilacayote se encuentra entre las especies comestibles de menor importancia económica por la reducida superficie cosechada y el valor de la cosecha (Cuadro 5) (SIAP, 2012). A pesar de ello, las flores y los frutos forman parte de la alimentación en varias regiones del país. Se consume en pequeñas

porciones como complemento del plato fuerte o como platillo especial para días festivos, principalmente en el Valle de México (Molina *et al.*, 2006).

Cuadro 5. Producción de chilacayote en México.

Chilacayote (<i>Cucúrbita ficifolia</i>)	Morelos	Edo. de México	Ciudad de México	Nacional
Superficie sembrada (Ha)	18	145	6	169
Superficie cosechada (Ha)	18	145	6	169
Producción (Ton)	223.20	3526.35	81	3830.55
Rendimiento (Ton/ Ha)	12.40	24.32	13.50	22.67
PMR(\$/Ton)	5800	4172.69	5018.52	4285.49
Valor de la producción (miles de pesos)	1294.56	14714.37	406.50	16415.43

Fuente: SIAP, 2012

3.2 Compuestos bioactivos

Un alimento con componentes bioactivos (CB) es aquel que aporta un beneficio para la salud más allá de las consideraciones propias de la nutrición básica. Estos componentes se encuentran en general en pequeñas cantidades en los productos de origen vegetal. Se puede considerar como componentes bioactivos, tanto algunas vitaminas o minerales, como a otros compuestos fundamentales en las plantas (fitoquímicos) que inducen efectos metabólicos derivados de su actividad biológica constatada en modelos de laboratorio y asociadas a efectos beneficiosos sobre la salud humana, como por ejemplo mejora de funciones fisiológicas o reducción de riesgos de padecer enfermedades cardiovasculares, cáncer, hipertensión arterial, Diabetes, sobrepeso, obesidad entre otras (Olmedilla y Granado, 2007).

Dentro de los compuestos fitoquímicos beneficiosos para la salud humana se podrían destacar a las vitaminas C, E, K, vitaminas del grupo B, el ácido fólico; minerales, como el hierro, zinc, calcio, selenio; carotenoides (tanto los que poseen actividad provitamina A como las que no las poseen); compuestos fenólicos (flavonoides, cinamatos y taninos), glucosinolatos y fitoesteroles. Muchos de los

compuestos mencionados son capaces de actuar por diversos mecanismos (quizás el más conocido sea como antioxidantes), así como actuar de forma sinérgica o antagónica entre sí (Olmedilla y Granado, 2007).

Los alimentos además de aportar nutrientes, contienen una serie de sustancias que pueden ser protectores contra enfermedades crónicas, cáncer, enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares, e incluso de la enfermedad de Alzheimer, a los que genéricamente se han denominado como fitoprotectores, compuestos bioactivos o fitoquímicos. Estos compuestos con capacidad biológica, se encuentran abundantemente en frutas, verduras y en productos lácteos obtenidos por fermentación ácido láctica (Aponte *et al.*, 2011).

En definitiva, el término fitoquímico o compuesto bioactivo significa tipo de sustancia química que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos (como frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales). Los compuestos bioactivos cumplen funciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud (Aponte *et al.*, 2011).

3.2.1 Compuestos bioactivos en el reino vegetal

El consumo de frutas y hortalizas frescas cubren un elevado porcentaje de los requerimientos diarios de algunas vitaminas y minerales, pero sus efectos beneficiosos no se deben únicamente a la presencia de un solo componente, sino al efecto sinérgico de los distintos componentes presentes en las mismas. Estas interacciones pueden ser positivas, favoreciendo la absorción de determinados nutrientes (por ejemplo, la presencia de vitamina C mejora la absorción intestinal del hierro; tocoferoles y tiene un efecto sinérgico con el ácido fólico y con la vitamina B12) o negativa (el ácido oxálico disminuye la absorción del calcio). Por ello es conveniente seleccionar frutas y verduras lo más diversas posibles para poder obtener así todos los nutrientes necesarios para nuestro organismo en cantidades suficientes (Lampe, 1999; Chew, 1995).

Como se mencionó en el apartado anterior, los compuestos bioactivos se encuentran en general en pequeñas cantidades en los productos de origen vegetal (Figura 4).

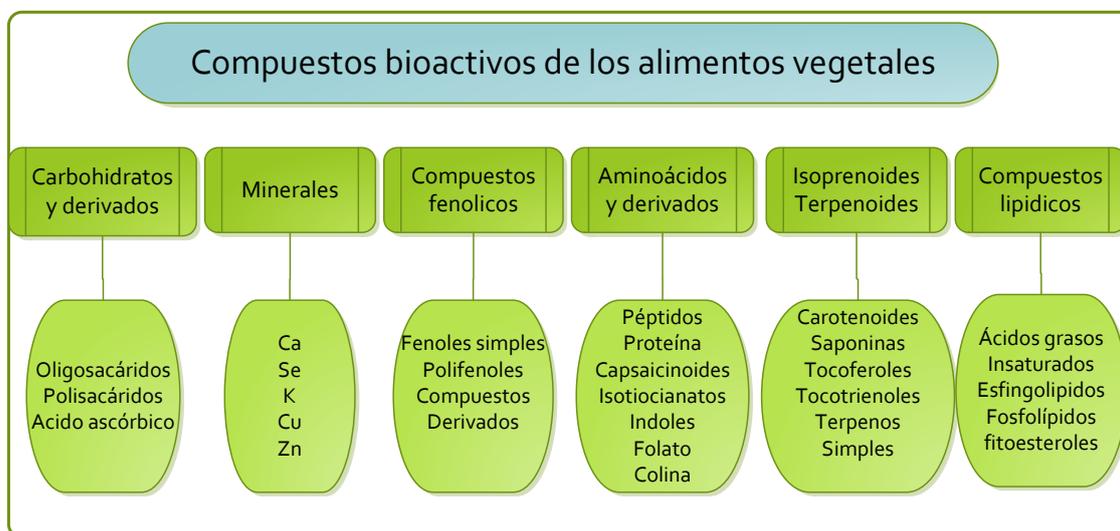


Figura 4. Compuestos bioactivos de los alimentos vegetales

Fuente: Lampe, 1999.

Se puede considerar como componente bioactivo, tanto algunas vitaminas y minerales, como a otros compuestos no nutrientes presentes fundamentalmente en plantas (fitoquímicos) que inducen efectos metabólicos derivados de su actividad biológica constatada en modelos de laboratorio y asociada a efectos beneficiosos sobre la salud humana como por ejemplo mejoría de las funciones fisiológicas o reducción de riesgo de padecer enfermedades (Olmedilla y Granado, 2007).

En el reino vegetal, se pueden distinguir 4 grandes grupos de compuestos bioactivos, entre los que se incluyen sustancias de diversas familias químicas, como son las sustancias nitrogenadas, las azufradas, las terpénicas y, las más ampliamente estudiadas, las fenólicas (Martínez, 2010).

Los polifenoles representan un grupo extremadamente variado de metabolitos secundarios en las plantas que son los antioxidantes más abundantes en nuestra dieta. La cuantificación de polifenoles presentes en la naturaleza mencionan hasta 8,000 compuestos individuales. Su síntesis coincide con periodos de estrés

ambiental como fuerte radiación UV, calor o frío excesivo, sequía, infestación y depredación. Se divide en cuatro clases principales: los flavonoides y los ácidos fenólicos son las dos clases principales; los estilbenos y los lignanos representan el resto (Howard *et al.*, 2001).

La clase más grande está compuesta por los flavonoides, que representa más de diferentes moléculas bioactivas muy extendidas en el reino vegetal. Los flavonoides son conocidos como los modificadores de la respuesta biológica por su capacidad de alterar las reacciones del cuerpo a los alérgenos, virus y agentes carcinógenos y de proteger los tejidos celulares contra ataques oxidantes. Los flavonoides, grupo de pigmentos altamente coloridos encontrados en la pulpa comestible de muchas frutas y verduras, imparten un sabor agrio cuando se les aísla. Los cítricos como naranjas, limones, toronjas y kiwis son fuentes particularmente ricas de flavonoides (Beal, 2002).

En particular las frutas pertenecen a los 2 últimos grupos: sustancias terpénicas y fenólicas. Entre los terpenos se encuentran el d-limoneno, los carotenoides y los fitoesteroles. Los carotenoides agrupan a compuestos como el alfacaroteno y betacaroteno, la luteína, el licopeno, la β -cryptoxanthina y la zeaxanthina, y son abundantes, entre otras frutas, en cítricos, cerezas, albaricoque, níspero, ciruela amarilla, mango, melocotón y papaya (Martínez, 2008).

3.3 Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante

Este lado oscuro del oxígeno tiene relación con el hecho de que cada molécula de oxígeno tiene dos electrones impares en su capa de valencia. En efecto, el oxígeno birradical, no obstante, no es particularmente uno reactivo. Si bien casi todos los organismos vivos (incluyendo las plantas) necesitan oxígeno molecular para vivir, el simple acto de vivir crea otras especies reactivas de oxígeno mucho más dañinas, incluyendo el superóxido, el radical hidroxil (OH) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que pueden ser el medio para nuestra propia muerte (Figura 5). Al final, el envejecimiento y la muerte pueden ser nada más que la última consecuencia el eterno conflicto entre la química y la biología (Pauling, 2016).

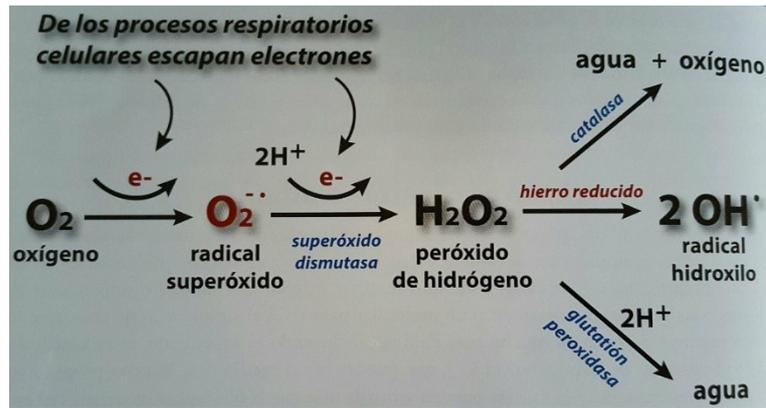


Figura 5. Formación de radicales libres en las mitocondrias
Fuente: Pauling, 2016.

La generación de especies reactivas de oxígeno y otros radicales durante el metabolismo celular aeróbico es proceso normal y necesario que generalmente se encuentra compensado por los sistemas de defensa antioxidante endógenos, los cuales ayudan a mantener el equilibrio redox. No obstante, ciertas condiciones ambientales, estilo de vida o situaciones patológicas pueden derivar en un exceso de radicales libres que conduzca a una situación de estrés oxidativo (Pauling, 2016).

Harman (1997) propuso que los radicales libres generados por las fuerzas metabólicas dentro de la célula eran los principales culpables que inducían este tipo de daño. Su tesis central era que el aumento de desechos moleculares en las células era responsable de la inevitable decadencia de la salud fisiológica que acompaña al envejecimiento. Sin embargo, diversos estudios clínicos no lograron proporcionar evidencia de su propuesta en torno a que la expectativa de vida podría aumentar a través del consumo de suplementos a base de antioxidantes comunes. Harman (1997) en consecuencia concluyó que debido a que la mayoría de los antioxidantes provenientes de los alimentos no entran a las mitocondrias, debían ser las mitocondrias mismas las que están produciendo los radicales libres y siendo dañadas por estos.

Este equilibrio entre especies oxidativas y antioxidantes, debido por otro lado a la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno, o por otra parte al déficit de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, se conoce como estrés oxidativo, el cual está asociado a numerosas enfermedades (carcinogénesis, enfermedad

cardiovascular, hipertensión, diabetes, enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson y artritis reumatoide) y al proceso normal de envejecimiento (Valko *et al.*, 2006).

En este punto, la dieta juega un papel importante en la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, fundamentalmente a través del aporte de compuestos bioactivos de origen vegetal, los cuales presentan efectos sinérgicos o aditivos (Liu y Gutterman, 2004; Devalarajas *et al.*, 2011).

Estudios epidemiológicos han demostrado que, efectivamente, el consumo de frutas tiene un efecto beneficioso en la salud y contribuye a la prevención de procesos degenerativos, particularmente aterosclerosis y cáncer. Estos efectos beneficiosos, han sido atribuidos en parte a la presencia de componentes bioactivos con actividad antioxidante, cuyo mecanismo de acción es inhibir la iniciación o impedir la propagación de las reacciones de oxidación, evitándose así el daño oxidativo (Shah y Channon, 2004).

3.3.1 Actividad antioxidante

El concepto de actividad antioxidante hace referencia a las especies reactivas de oxígeno y a los antioxidantes; es decir, una especie reactiva de oxígeno es cualquier átomo o molécula con electrones desapareados (González-Laredo *et al.*, 2010). Químicamente la oxidación de un compuesto es la pérdida de electrones de hidrógenos o la ganancia de oxígeno en una molécula. La reducción de compuestos es exactamente lo contrario; es decir, la ganancia de electrones de hidrógenos o la pérdida de oxígeno (Calderón y Maldonado, 2008).

Las principales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes están representadas por el radical hidroxilo (HO)[•], peróxido de hidrógeno (H₂O₂), anión superóxido (O₂^{•-}), oxígeno singlete (¹O₂), oxígeno nítrico (NO); peróxido (ROO); semiquinona (Q) y el ozono (Venereo, 2002).

El antioxidante es una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre

las funciones fisiológicas normales de los humanos. Las propiedades antioxidantes no solo se estudian para funciones por su interacción químico biológico si no que se estudia el deterioro oxidativo que afecta los alimentos puesto que se utilizan en la industria alimentaria en grasas y otros productos para retrasar el proceso de oxidación (Coronado *et al.*, 2015).

3.3.2 Flavonoides como antioxidante

La actividad de los flavonoides en la funcionalidad como antioxidante depende de las propiedades de REDOX puesto que son grupos hidroxifenólicos y de la reacción estructural entre las diferentes partes de la estructura química, es decir los compuestos fenólicos se destacan por poseer actividad antioxidante; ya que cada polifenol tiene una cierta actividad antioxidante (Abeyasinghe *et al.*, 2014).

Los compuestos antioxidantes poseen la facultad de proteger a las células contra el daño oxidativo, es decir, provoca envejecimiento y enfermedades degenerativas, por ejemplo el cáncer, enfermedades cardiovasculares y diabéticos, se producen reacciones de oxidaciones cuando el átomo o grupos de átomos ceden electrones para cada oxidación, existe la correspondiente reducción que da lugar a adición de electrones, la actividad antioxidante es la que permite neutralizar los átomos de oxígeno, el oxígeno en estado libre tiene cuatro pares de electrones y se torna inestable cuando este pierde un electrón(Figura 6) (Escobar *et al.*, 2010).

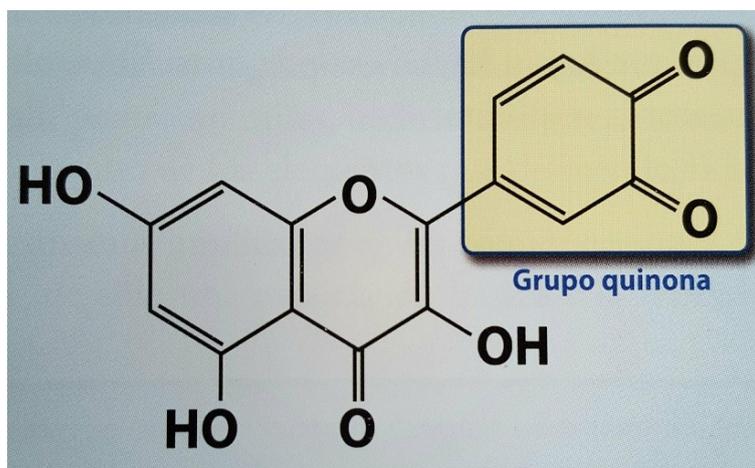


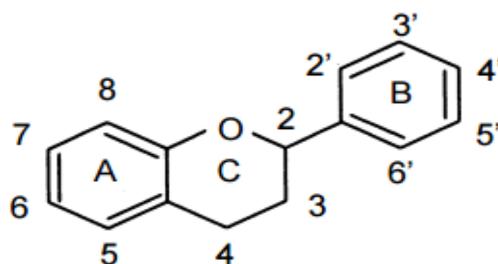
Figura 6. Quercetina oxidada
Fuente: Escobar *et al.*, 2010.

El radical libre es un átomo de oxígeno con siete electrones, al quedar libre esta toma un electrón de la membrana del tejido corporal y se produce otro radical libre, de manera que un radical libre es una molécula que en su estructura atómica presenta un electrón no apareado, siendo altamente reactivo, generando una reacción REDOX, además los radicales libres son altamente inestables y generan una reacción en cadena (Escobar *et al.*, 2010).

La oxidación en los alimentos, son responsables de la pérdida del sabor debido a la formación de compuestos que reducen la calidad sensorial y nutricional de estos, para evitar dichos cambios en los alimentos, en la industria se utilizan antioxidantes sintéticos, un ejemplo es el butil hidroxianisol (BHA) y butil hidroxitolueno (BHT), pero estos han sido limitados debido a que son tóxicos y tienen efecto cancerígeno para el ser humano por esta razón se ha despertado el interés en los antioxidantes naturales, puesto que tiene la capacidad de remover o atrapar los radicales libres (Escobar *et al.*, 2010).

3.3.3 Estructura del antioxidante flavonoide

El creciente interés en los flavonoides se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica. Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos, tales como Hierro (Fe^{2+}), Cobre (Cu^{2+}) y Zinc (Zn^{2+}), catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres (Figura 7). Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal e inflamaciones (Garibay y San Martín, 2006).



Flavonoide

Figura 7. Estructura de un flavonoide.
Fuente: Garibay y San Martín, 2006.

3.4 Compuestos fenólicos

Ramos *et al.*, (2007), indicaron que los compuestos bioactivos, provienen de alimentos funcionales que poseen efectos farmacológicos y terapéuticos. Un alimento funcional puede ser elaborado mediante la aplicación de algunas tecnologías al incrementar la concentración, adicionar, remover o modificar un componente en particular para mejorar su biodisponibilidad. Los compuestos presentes en los alimentos funcionales son: polifenoles, conjunto heterogéneo de moléculas con actividad antioxidante que incluyen a los fenoles ácidos y flavonoides (Villanueva-Tiburcio, 2010).

Los fenoles ácidos se caracterizan por tener un anillo aromático central, los cuales pueden incluir grupos funcionales como ésteres, glicósidos, entre otros. Dentro de este grupo se encuentran el ácido cumárico, cafeico y ferúlico, inhiben la actividad de agentes mutagénicos, estimulan la actividad de la enzima fenol sulfotransferasa implicada en la detoxificación de compuestos metabólicos potencialmente tóxicos y poseen actividad bactericida, son secretados por las plantas como mecanismos de defensa ante condiciones de estrés: infecciones, radiaciones UV, entre otros. (Allende *et al.*, 2007).

En los alimentos los compuestos fenólicos habitualmente se presentan conjugados con los azúcares (glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa), los ácidos glucurónico y galacturónico, ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas y lípidos,

mismos que tienen la función de actuar como agentes reductores, eliminando radicales libres o como agentes quelantes de metales, además que algunos de estos compuestos pueden regenerar otros antioxidantes y actuar de forma sinérgica con ellos. La utilización de estos antioxidantes naturales permite prolongar la vida útil del producto, evitando en algunos casos cambios de color, manteniendo sus condiciones organolépticas inalterables, ralentizando procesos oxidativos como el enranciamiento o pardeamiento, incrementando la resistencia al crecimiento bacteriano, debido a que los antioxidantes de naturaleza polifénolica poseen actividad antimicrobiana (Christian y Jackson, 2009).

3.4.1 Clasificación de los Compuestos fenólicos

De acuerdo con su complejidad química, se han encontrado los siguientes grupos: fenoles simples, ácidos fenólicos, acetofenonas, cumarinas, benzofenonas, estilbenos, xantonas y flavonoides (Cuadro 6), aunque estos últimos constituyen el grupo de mayor relevancia y abundancia en la naturaleza, incluso su identificación fue motivo para otorgar premio Nobel en bioquímica, al Dr. Albert Szent-Gyorgi, quien les denominó como “vitamina P” (Castro- López *et al.*, 2015).

Cuadro 6. Clasificación de los compuestos fenólicos

Grupo estructural		Compuesto fenólico
Flavonoles y flavonas planares	Flavonoles	Kaempferol, quercetina, Isorhamnetina y Mirecetina.
	Flavonas	Epigenina, Luteolina, Crisoeriol y Diosmetina.
Pigmentos antocianídicos		Pelargonidina, Cianidina, Peonidina, Delfinidina, Petumidina, Malvinidina.
Flavan-3 oles ópticamente activos		Epigallocatequin-3-galato, Galocatequin-3-galato, Epigallocatequina, Catequina.
Derivativos del ácido hidroxicinámico		Ácido clorogenico Ácido criptoclorogenico,

		<p>Ácido neoclorogenico, Ácido isoclorogenico, Acido cinámico Acido p-cumárico, ácido ferúlico, Acido sinapico, ácido cafeico.</p>
Derivados del ácido benzoico		<p>Ácido galico, ácido vinílico, ácido siringico.</p>
Otros fenoles minoritarios		<p>Flavanonas cítricas Chalconas del tomate Dihidrochalconas de manzana Cumarinas cítricas Furocumarinas del perejil Estilbenos de uvas (resveratrol).</p>

Fuente: Tomas-Barberan & Clifford, 2000

3.4.2 Clasificación química de fenoles

Químicamente, esta familia de compuestos presenta una gran diversidad estructural pero todos ellos tienen en común la presencia de un anillo aromático unido a uno o más grupo hidroxilo (-OH). Una primera clasificación de los compuestos fenólicos podría basarse en el número de unidades de fenol que constituye la molécula: fenoles simples y de las diferentes variaciones estructurales que pueden formar parte de su esqueleto base, se pueden clasificar, a su vez, en diferentes clases o familias, como se muestra en la figura 8.

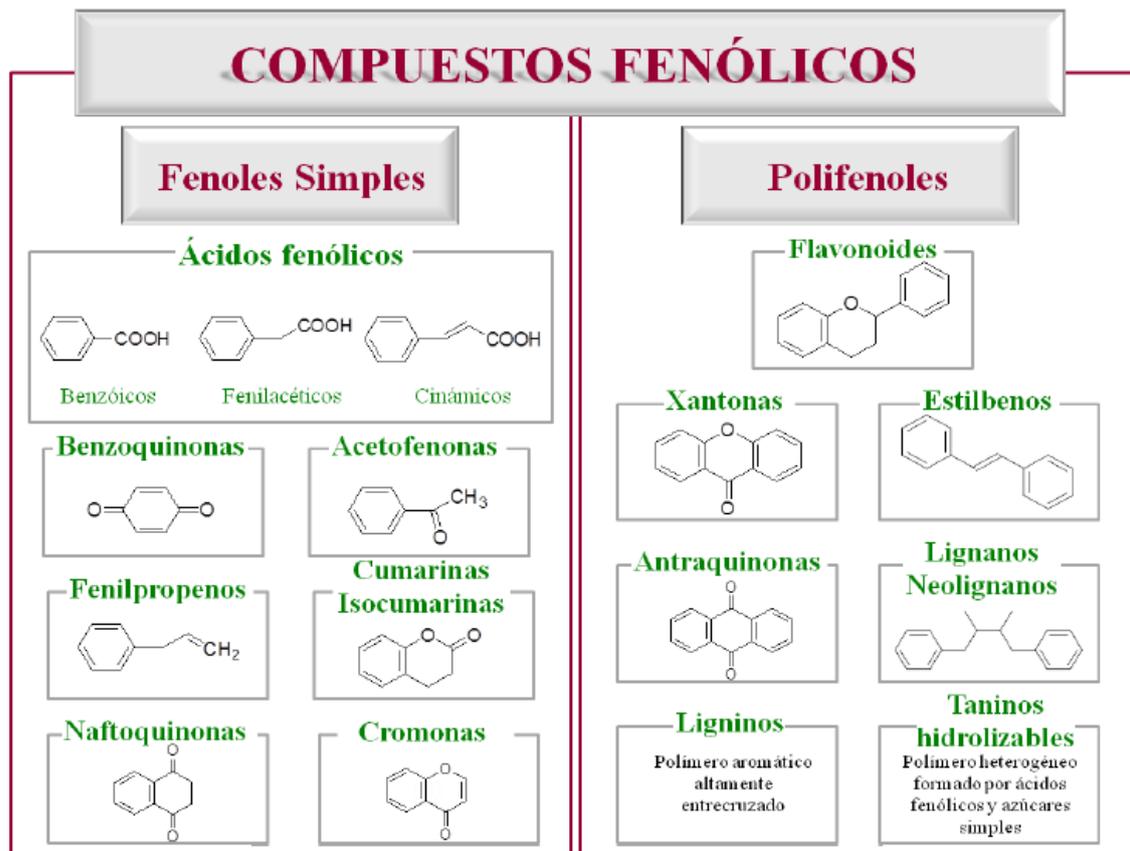


Figura 8. Clasificación química de los flavonoides
 Fuente: Tomas-Barberan & Clifford, 2000.

3.5 Flavonoides

3.5.1 Generalidades de flavonoides

Flavo proviene del latín flavus y significa de color entre amarillo y rojo, como el de la miel o el del oro; flavonoide, se refiere a un grupo aromático, pigmentos heterocíclicos que contienen oxígeno ampliamente distribuido entre las plantas, constituyendo la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas y frutas (Escamilla *et al.*, 2009).

Los flavonoides fueron descubiertos en 1930 e inicialmente considerados como vitaminas (se les denominó vitamina P) por sus efectos en la permeabilidad capilar. El interés de estos componentes decayó, tras demostrar que no eran requeridos como micronutrientes para la salud humana, en los años 40. Sin embargo, una gran expansión de este campo se llevó a cabo años más tarde, en los años 90, debido a la publicación de varios estudios epidemiológicos que demostraron una

correlación inversa entre el consumo diario de flavonoides, y las tasas de incidencia y mortalidad de las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. Hoy en día, más de 30,000 estudios han sido publicados sobre flavonoides y más de 10,000 tratan sobre uno solo de ellos: la quercetina (Figura 9) (Rice-Evans, 2006).

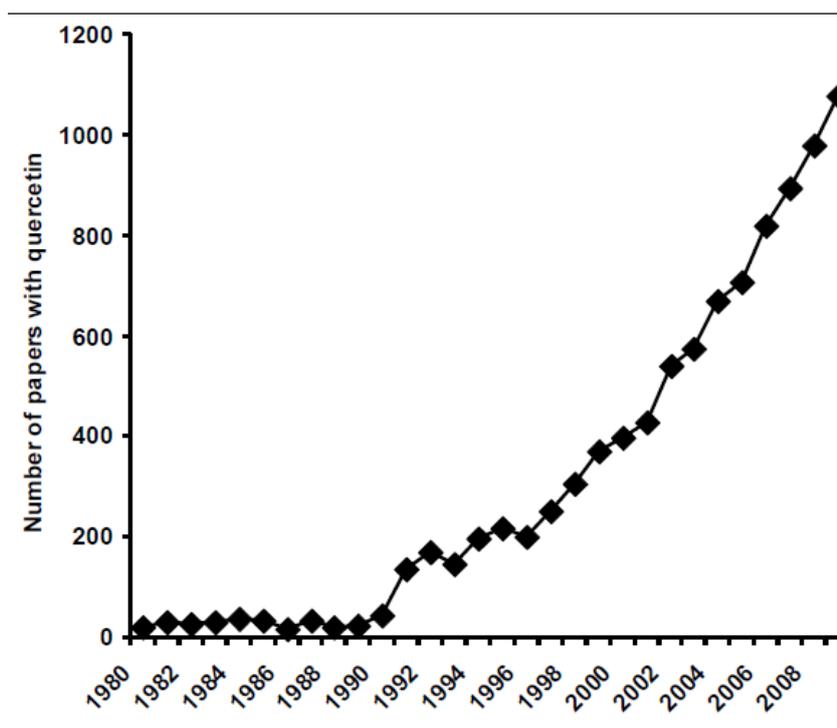


Figura 9. Tendencia de las publicaciones acerca de quercetina.

Fuente: Rice, 2006.

3.5.2 Clasificación de flavonoides

Los flavonoides constituyen una gran clase de polifenoles encontrados en las plantas (Figura 10). Concretamente son sustancias producidas como metabolitos secundarios por las plantas, donde ejercen diversas funciones como antifúngicos, bactericidas, quelantes de metales, protectores de radiación ultravioleta, colorantes y controladores de las auxinas reguladoras de crecimiento y de la diferenciación en los vegetales, cuyo elemento estructural común es que todas poseen un esqueleto de difenilpirano ($C_6-C_3-C_6$), compuestos por dos anillos fenilo ligados a través de un anillo de pirano. Sobre este esqueleto pueden darse miles de sustituciones, lo que origina las diferentes clases de flavonoides: flavonoles, flavononas, flavanoles,

antocianidinas, isoflavonas, dihidroflavonoles y chalconas (Martínez-Flórez *et al.*, 2002).

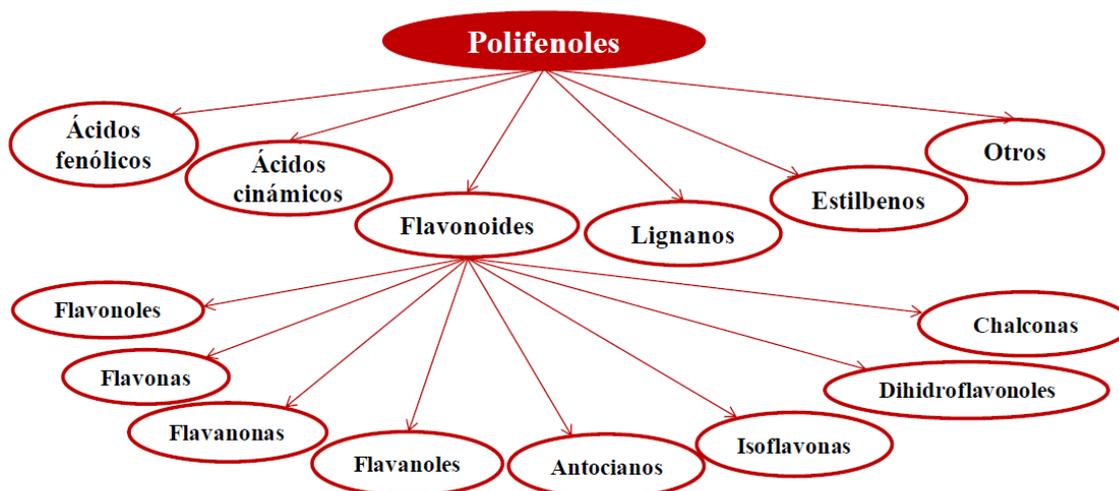


Figura 10. Clasificación de los polifenoles.

Fuente: Martínez, 2006.

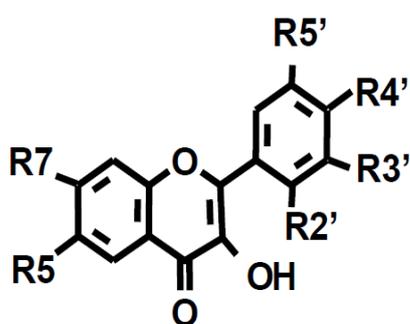
3.5.3 Estructura química de los flavonoides más comunes

Entre los flavonoides, los flavonoles (junto con los flavanoles) son las más abundantes y están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Los flavonoles están presentes, normalmente como diversos glucósidos, en cantidades considerables en nuestra dieta normal. A pesar de que los flavonoles pueden encontrarse prácticamente en casi todos los vegetales y las frutas, las fuentes más ricas son cebolla, lechuga, repollo, brócoli, judías, manzana, sidra, uva, vino y té. Todos ellos derivan de la 3-hidroxi flavona, que es el flavonol más simple. La quercetina es el flavonol prototipo, el más abundante en las plantas y el mejor estudiado. Otros flavonoles comunes son el Kaempferol y la miricetina, la isoramnetina, la tamarixetina, la morina y la fisetina (Figura 11). El kaempferol y la miricetina están también presentes en muchos alimentos. La isoramnetina y la tamarixetina son metabolitos metilados de la quercetina y se encuentran normalmente en el plasma o en los tejidos, tras el consumo de quercetina. La ingesta diaria de flavonoles ha sido estimada sobre 20-35 mg/día, de los cuales el 65% corresponden con la quercetina y sus glucósidos, siendo las principales fuentes de flavonoles las

cebollas (350-1200 mg/kg), la col rizada, el puerro y los tomates cherrys (Hertog *et al.*, 1996).

La biodisponibilidad de quercetina depende de la naturaleza del azúcar adjunto a ella y de los componentes de la matriz de los alimentos (etanol, grasa, emulsionantes, etc.), los cuales pueden afectar a su solubilidad. El consumo de cebollas conduce a niveles plasmáticos más elevados de quercetina que otras fuentes alimenticias (Aron y Kennedy, 2009). Los glucósidos existentes en las cebollas son fuentes de quercetina con mayor biodisponibilidad, que los aglicones administrados como compuesto puro (Hollman *et al.*, 1995).

Sin embargo, cuando una fuente alimenticia rica en glucósidos (por ejemplo, la carne de la chalota) fue comparada con una rica en aglicones (la piel seca de la chalota), esta última dio un mayor nivel plasmático de quercetina, indicando que a la matriz del alimento es un factor clave para la biodisponibilidad de la quercetina (Fraga *et al.*, 2010).



	R2'	R3'	R4'	R5'	R5	R7
3-OH-flavona	H	H	H	H	H	H
Quercetina	H	OH	OH	H	OH	OH
Kaenferol	H	H	OH	H	OH	OH
Miricetina	H	OH	OH	OH	OH	OH
Isorramnetina	H	OCH ₃	OH	H	OH	OH
Tamarixetina	H	OH	OCH ₃	H	OH	OH
Morina	OH	H	OH	H	OH	OH
Fisetina	H	OH	OH	H	H	OH

Figura 11. Estructura química de los flavonoles más comunes.
Fuente: Fraga *et al.*, 2010.

Los flavonoles muestran una amplia gama de actividades biológicas, siendo los compuestos más activos dentro del grupo de los flavonoides. Por lo tanto, los efectos beneficiosos de las dietas ricas en frutas y verduras, sobre la salud cardiovascular, han sido a menudo atribuidos a los flavonoides, en general, y a los flavonoles, más concretamente. Los flavonoles son comercializados como suplementos dietéticos, en forma de compuestos puros (quercetina), de mezclas

de flavonoides o como extractos, normalmente de dosis que exceden en gran medida la ingesta dietética diaria, algunos flavonoides también se utilizan como drogas venotónicas para el tratamiento de varias enfermedades venosas (Lyseng-Williamson *et al.*, 2003).

3.5.4 Efectos antioxidantes de los flavonoides

Los efectos beneficiosos de los flavonoides suelen atribuirse generalmente a su gran capacidad antioxidante. La quercetina y otros flavonoides son potentes captadores de ROS, como el O_2 , grupos hidroxilos (OH^\cdot) y H_2O_2 , a concentraciones micromolares (Ozgoval *et al.*, 2003). También se ha demostrado que los glucurónicos de quercetina tienen propiedades antioxidantes (Moon *et al.*, 2001). Pero aparte de estas propiedades como captadores (escavenger) de ROS, los flavonoides son capaces de inhibir numerosas enzimas generadoras de estas especies reactivas, lo que puede ser aún más importante. Entre estas incluyen la xantina oxidasa (XO), la COX (Chang *et al.* 1998; Ferrándiz y Alcaraz, 1991), la lipooxigenasa, y la NAD(P)H oxidasa existente en la membrana de neutrófilos, y en las células del músculo liso vascular (CMLV). También puede estimular otras enzimas con antioxidantes como la catalasa y la SOD. Al disminuir las concentraciones celulares de O_2 a través de estos mecanismos, los flavonoides protegen al NO y aumentan su actividad biológica (Sudheesh *et al.*, 2002).

Sin embargo, también pueden ser pro-oxidantes (paradoja de la quercetina) (Boots *et al.*, 2008). La quercetina puede auto-oxidarse en soluciones acuosas y generar radicales libres, además de disminuir los niveles de tioles intracelulares, como el glutatión. Pero este efecto pro-oxidante puede ser paradójicamente beneficioso, ya que podría jugar un papel positivo en la disfunción endotelial, porque la generación de O_2^\cdot en las células endoteliales puede estimular la señal del Ca^{2+} y aumentar así la actividad del óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS, *endothelial nitric oxide synthase*) la liberación del factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHE, *endothelium-derived hyperpolarizing factor*) (Duarte *et al.*, 2003).

3.5.6 Flavonoides e hipertensión

La hipertensión es una de los factores de riesgo más importantes para los eventos cardiovasculares, incluyendo el infarto de miocardio y el accidente cerebrovascular. El tratamiento con cualquier régimen antihipertensivo comúnmente usado reduce el riesgo de los eventos cardiovasculares totales; una mayor reducción de presión arterial, significa una mayor reducción del riesgo bajo condiciones rigurosamente controladas, el consumo de frutas y verduras están asociado a una reducción de la presión arterial. Sin embargo, los efectos de frutas y verduras sobre la diabetes mellitus, el peso corporal y los niveles plasmáticos de lípidos no están claros todavía (Dauchet *et al.*, 2009).

La quercetina redujo la presión arterial en modelos animales con resistencia a la insulina y síndrome metabólico tales como las ratas Zucker obesas y en ratas alimentadas con una dieta rica en grasas y sacarosa (Rivera *et al.*, 2008).

El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplemento. Los flavonoides se denominaron en un inicio vitamina P (por permeabilidad). Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante (Martínez *et al.*, 2012).

Los flavonoides pertenecen a un grupo de compuestos naturales arreglados bajo un sistema C6-C3-C6, en la cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidas por una unidad de tres carbonos que pueden o no llamar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C. Se conocen 10 clases de flavonoides los cuales pueden encontrarse como aglicona o bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos 3 o 7, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa. Es frecuente que diferentes azúcares se hallen unidos a una misma aglicona y en diferentes posiciones lo que hace mayor el número de glicósidos conocidos, es también

común, que se encuentre en mezclas como agliconas y glicósidos, aun de las diferentes clases siendo esto último lo más frecuente. Se hallan presente en todas las partes de las plantas, algunas clases se encuentran más ampliamente distribuidas que otras, siendo más comunes las flavonas y flavonoles y más restringidos en su ocurrencia las isoflavonas, las chalconas y auronas (Martínez, 2012).

Aunque los flavonoides han sido empleados desde mucho tiempo como colorantes de lana, se les atribuye diversas propiedades en las plantas, entre ellos podemos citar protección a los vegetales contra la incidencia de los rayos ultravioleta y visible, así como protección contra insectos, hongos virus y bacterias, atrayentes de animales con la finalidad de polinización antioxidantes, control de la acción de las hormonas vegetales, agentes alelopáticas e inhibidora de las enzimas. Por otro lado, estos compuestos poseen también importancia farmacológica, resultado de algunas propiedades importantes atribuidas a algunos representantes de las diferentes clases como, por ejemplo, antiinflamatorio, antialérgico, antiulcerogenico, antiviral, anticarcinogénicas, asimismo, son utilizados para el tratamiento de la fragilidad capilar, de las diabetes, de las afecciones para el tratamiento de la fragilidad (Yamamoto y Oue, 2006).

3.5.7 Vitamina P

Vitamina P es el nombre que se le dio a los primeros bioflavonoides, aunque el nombre ha tenido cambios puesto que se han descubierto muchos más compuestos de este tipo. Se trata de una vitamina soluble en agua. Tiene una estructura cristalina y se comporta como un bioflavonoide. Su función principal es la de mantener los vasos sanguíneos fuertes. Una forma en la que la vitamina P actúa es regulando la permeabilidad de los capilares para evitar pérdidas de sangre. Los bioflavonoides, este tipo de sustancias, son los Antioxidantes celulares o Biomoleculares, otros compuestos relacionados son un grupo de Polifenoles naturales, hidrosolubles, presentes en los vegetales superiores, siendo en muchos casos responsables de la coloración de flores y frutos, especialmente abundantes en la uva, en la cebolla o en los cítricos, por ejemplo, son esenciales en la absorción

y metabolismo de la Vitamina C. se presentan algunos ejemplos de bioflavonoides (Sebastián, 2003).

- Quercetina y Kaempferol los más ampliamente extendidos en las plantas.
- Rutina, de la Bergamota (*Citrus bergamia*) y la Mandarina (*Citrus reticulata*).
- Naringina, específica del Pomelo (*Citrus paradisi*).
- Hesperidina y Tangeretina, de la Naranja dulce (*Citrus sinensis*).
- Eriodictiol y Eriodictina del Limón (*Citrus limón*) y la Bergamota (*Citrus bergamia*) (Sebastián, 2003).

Entre los beneficios fisiológicos de los bioflavonoides, se encuentran su actividad Antioxidante y la captación de Radicales Libres, gran efecto fitoprotector, disminuyendo el envejecimiento celular, como actividad protectora en el sistema cardiovascular, el ácido ascórbico (Vitamina C) se efectúa como protección de la degradación y oxidación natural, la luz y contacto con el aire. De acuerdo con Sebastián (2003), la asociación de bioflavonoides y Ácido Ascórbico muestra efectos sinérgicos en sus actividades antioxidantes, antimicrobianas, inmunoprotectoras, antivirales, antiinflamatorias, anticarcinogénicas, protectoras cardiovasculares e inhibidoras de la peroxidación lipídica.

3.6 Catequina

Las catequinas y leucoantocianidinas son compuestos incoloros que muestran similitud, diferenciándose solamente en el número de grupos hidroxilos presentes. La catequina y galocatequina son compuestos más conocidos, se diferencian en el número de grupos hidroxilos que poseen en el anillo B. Estos compuestos poseen dos carbonos asimétricos y cuatro posibles isómeros. Su estereoquímica es todavía un poco confusa, hallándose que la (+) y (-) catequina tiene en la posición 2 y 3 hidrógenos trans, mientras que la epicatequina se encuentra en posición cis (Calderón, 2009).

3.6.1 Estructuras químicas de las catequinas

Las catequinas tienen una estructura química general de C₆-C₃-C₆ con dos anillos aromáticos y muchos grupos hidroxilos como se muestra en la figura 12.

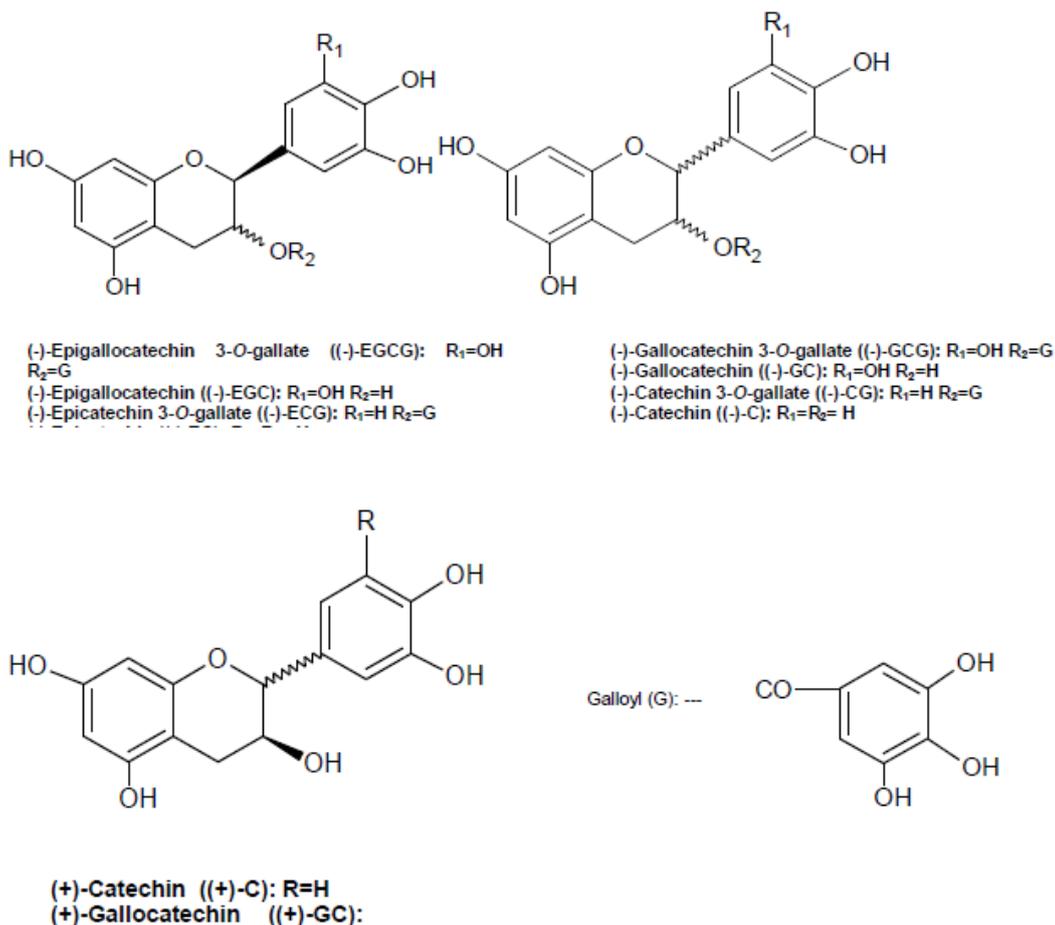


Figura 12. Esquemas representativos de la estructura química de la familia de Catequina.

Fuente: Nishitani y Sagesaka, 2004.

3.6.2 Propiedades físicas de las catequinas.

Las catequinas se constituyen en uno de los componentes más abundantes de las hojas de té verde, son solubles en medios acuosos y solventes orgánicos polares. Sin embargo, la solubilidad de las catequinas individuales varía y algunas dependen de la temperatura de extracción, tiempo de extracción o del tipo de solvente. Estos factores son muy importantes y se deben tener en cuenta para la identificación y cuantificación de la catequina de interés, que depende tanto de la temperatura

como el tiempo de extracción. Por otro lado, la absorción UV de las catequinas, se encuentran en un intervalo de 269 a 280 nm (Vuong *et al.*, 2010).

3.6.3 Estabilidad de la catequina

Las catequinas son sensibles a la oxidación por enzimas, Ácidos y calor. En presencia de la enzima polifenol oxidasa (PPO), las catequinas sufren oxidación y se convierten en Teaflavinas y Tearubinas (Figura 13). Las hojas de té verde al someterse a un proceso de calentamiento después de su cosecha, inactiva la enzima PPO, lo que permite una mayor conservación de catequinas y una menor presencia de Teaflavinas.

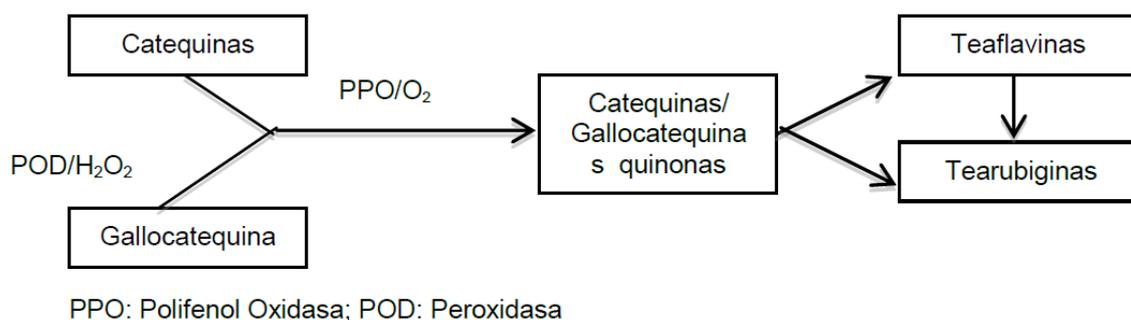


Figura 13. Oxidación de la Catequina.
Fuente: Vuong *et al.*, 2010.

3.7 Quercetina

La quercetina es un flavonoide amarillo-verdoso presente en cebollas, manzanas, brócolis, cerezas, uvas entre otros (Figura 14). Tiene una capacidad antioxidante de 4.7 mM expresada como trolox, la cual es cinco veces mayor que la de las vitaminas E y C. Además, presenta una solubilidad similar a la vitamina E (Sartor *et al.*, 2002).

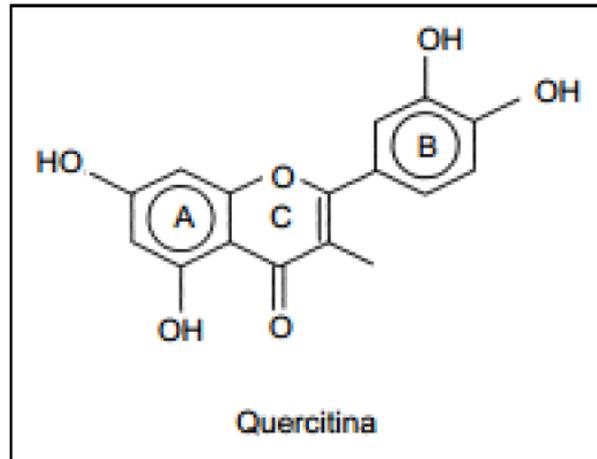


Figura 14. Estructura Química de la Quercetina
Fuente: Sartor, 2002.

Debido a que los flavonoides son susceptibles a la degradación por factores ambientales o del propio alimento donde es añadido, la microencapsulación permitirá proteger estos compuestos activos y liberados en forma controlada.

3.8 Ácido gálico

El ácido gálico (AG), también conocido como ácido 3, 4, 5-trihidroxibenzoico, es un ácido fenólico presente en diversas fuentes naturales como a) plantas: *Larrea tridentata* y *Turnera diffusa*, b) frutas como: uva, granada, nueces, plátano, fresa, limón, arándano, cascara de manzana y mango, c) Verduras: acelgas y espinacas y d) bebidas: café, vino tinto y té verde (Taitzoglou *et al.*, 2001). Este ácido se obtiene directamente del alimento o por hidrólisis del ácido tánico mediante una reacción con la enzima tanasa, que cataliza la hidrólisis de los enlaces tipo éster presentes en los galotaninos (Figura 15) (Aguilar *et al.*, 2007). Asimismo, se le atribuyen efectos biológicos, que van desde la actividad antiinflamatoria, antioxidante antibiótico, hasta la protección cardiovascular y anticancerígena.

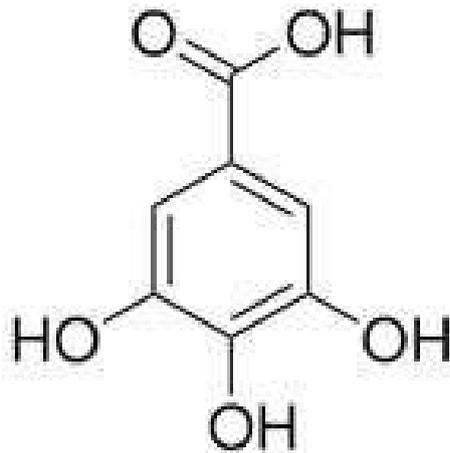


Figura 15. Estructura química del ácido gálico.
Fuente: Aguilar *et al.*, 2007.

3.8.1 Aplicaciones y actividades biológicas del ácido gálico

El ácido gálico (AG) tiene aplicaciones en diversas áreas, principalmente en la farmacéutica, ya que es un precursor en la manufactura de antibióticos de amplio espectro como trimetoprima. Además, en el área de alimentos, se ha utilizado como antioxidante de grasas y aceites, así como aditivo en algunas bebidas y alimentos, evitando la oxidación de los mismos (Hocman, 1988).

También el AG es capaz de regular diversos procesos biológicos, como protección cardiovascular, evitando la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) que transportan colesterol en la sangre, previniendo así, enfermedades como aterosclerosis. Por su parte, Cowan (1999), mencionó que el ácido gálico presenta actividad antibacteriana, promoviendo la inhibición enzimática de algunos microorganismos, la interacción sobre las adhesinas (proteínas de la pared celular), y la capacidad que tiene de unirse a polisacáridos, interviniendo así, en el desarrollo microbiano. Además, el ácido gálico también destaca por su actividad antioxidante y anticancerígena, debido a que es un compuesto donador de electrones, que neutralizan radicales libres, siendo estos los causantes de algunos padecimientos como envejecimiento y cardiopatías y en algunos casos cáncer (Sharma *et al.*, 1997).

3.9 Kaempferol

El flavonoide Kaempferol (3,5,7-trihidroxi-2-(4-hidroxifenol)-4H-1-benzopirán-4-1) es amarillo compuesto con un bajo peso molecular (p/v: 286,2 g/mol) que se encuentra comúnmente en alimentos derivados de plantas y es usado como medicina tradicional (ver figura 16). Aunque hay más de dos mil artículos en PubMed informando el aislamiento y propiedades biológicas de este flavonoide. La distribución y actividades de kaempferol se encuentran principalmente en frutas y hortalizas donde kaempferol y glucósidos de kaempferol han sido identificados. La evidencia epidemiológica del consumo de alimentos que contienen kaempferol a la incidencia de varias enfermedades, presenta propiedades toxicológicas de este polifenol (Bentham, 2011).

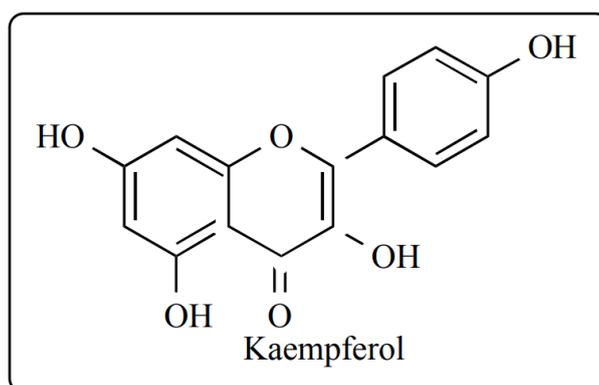


Figura 16. Estructura química del Kaempferol.
Fuente: Bentham, 2011.

3.9.1 Kaempferol en el reino vegetal

Al igual que otros flavonoides, Kaempferol tiene difenilpropano estructura ($C_6C_3C_6$) y se sintetizan por condensación de 4-cumariol-CoA (C_6-C_3) con tres moléculas de malonilCoA (C_6-C_3) con tres moléculas de malonilCoA (C_6) esta reacción, catalizada por la enzima chalcona sintasa (Winkel-Shirley, 2002), resulta en la formación de flavonoide naringenin chalcona ($C_6C_3C_6$). Esta chalcona se transforma en la flavonona naringenin por el enzima chalcona isomerasa, que cataliza el cierre del anillo C_3 . La enzima flavonona 3-dioxigenasa (referencia) introduce un grupo hidroxilo en naringenina en C_3 para formar dihidrokaempferol. Finalmente, la

enzima sintasa introduce un doble enlace en dihidrokaempferol en C₂-C₃ para producir kaempferol por las enzimas involucradas en la biosíntesis de Kaempferol es relativamente común en el reino vegetal (Figura 17), no es sorprendente que este flavonoide sea ampliamente distribuido en las plantas (Winkel y Shirley, 2002).

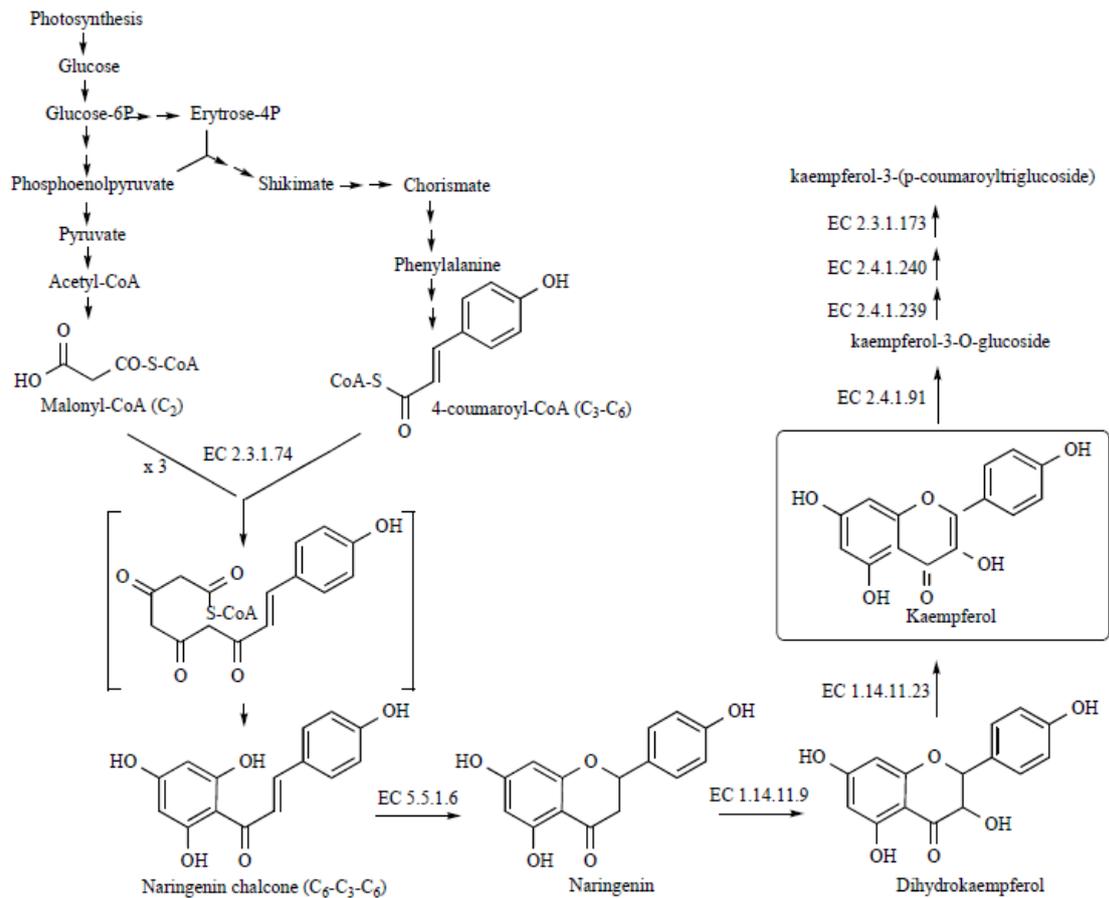
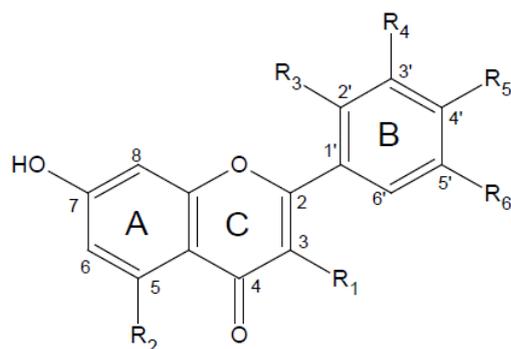


Figura 17. Biosíntesis de Kaempferol.
Fuente: Winkel-Shirley, 2002.

3.10 Miricetina

La miricetina está estructuralmente relacionado con varios compuestos fenólicos conocidos como quercetina, morfina, Kaempferol y fisetina (Figura 18). El compuesto a veces se conoce como hidroxquercetina, resultado de su similitud estructural con la quercetina (referencia). Los nutraceuticos y las propiedades antioxidantes de miricetina son altamente valoradas. La evidencia científica subraya las afirmaciones de que el compuesto muestra una variedad de actividades farmacológicas, incluyendo antiinflamatorio, analgésico, actividades antitumorales, hepatoprotectoras y antidiabéticas (Winkel-Shirley, 2002).



Myricetin (1)	[R ₁ =R ₂ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =OH; R ₃ =H]
Myricitrin (2)	[R ₁ =Rham; R ₂ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =OH; R ₃ =H]
Quercetin (3)	[R ₁ =R ₂ =R ₄ =R ₅ =OH; R ₃ =R ₆ =H]
Morin (4)	[R ₁ =R ₂ =R ₃ =R ₅ =OH; R ₄ =R ₆ =H]
Kaempferol (5)	[R ₁ =R ₂ =R ₅ =OH; R ₃ =R ₄ =R ₆ =H]
Fisetin (6)	[R ₁ =R ₅ =R ₆ =OH; R ₂ =R ₃ =R ₄ =H]

Figura 18. Estructura química de la Miricetina.
Fuente: Winkel-Shirley, 2002.

3.10.1 Síntesis química de la miricetina.

La síntesis de miricetina es muy importante en términos de su uso como material de partida clave para la síntesis de varios otros compuestos beneficiosos incluyendo hibicetin; Kalff y Robinson (1925) lograron sintetizar la miricetina aplicando el procedimiento de Kostanecki y Auwers. Este método implica calentar al inicio material junto con anhídrido trimetilgalico y trimetilgallato de sodio. Después del hidrolisis del producto 5,7-dihidro-3,31,51,51-tetramethoxyflavone se formó finalmente miricetina.

3.11 Azúcares

La sacarosa es el disacárido, ampliamente distribuido en la naturaleza, está constituida por glucosa y fructosa unida a través de un enlace glucósido α (1,2); es el edulcorante de mayor demanda mundial y su consumo percapita anual excede los 40 kg en el mundo occidental. La glucosa o dextrosa es el azúcar más importante en el metabolismo de las células vivas, su aporte calórico es de 4 Kcal/g y constituye la principal forma a la que otros azúcares son transformados en el cuerpo, de aquí que sea el azúcar más abundante encontrado en la sangre, está

presente en muchas frutas y es la unidad base de la celulosa, el almidón y el glucógeno. Se obtiene principalmente de la hidrólisis acida o enzimática del almidón de maíz o de la sacarosa; su poder edulcorante es menor al de la sacarosa y cuenta con un amplio mercado en el área de alimentos, bebidas y productos farmacéuticos (García, 2008).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Localización de lugar del experimento

El presente trabajo se llevó a cabo en el Colegio de Posgraduados (Colpos) Campus Córdoba ubicado en Carretera Federal Córdoba-Veracruz km. 348, Congregación Manuel León Municipio de Amatlán de los Reyes. Veracruz C.P 94946. MÉXICO (Figura 19).



Figura 19. Ubicación geográfica del Colpos, Campus Córdoba.
Fuente: SAGARPA, 2012.

4.2 Material vegetal

El fruto bajo estudio en el presente proyecto, pertenece a la especie *Cucúrbita ficifolia* (Figura 20), de la familia de plantas dicotiledóneas, es procedente del municipio de San Pablo Tijaltepec que se localiza en la región Mixteca en el estado de Oaxaca y pertenece al Distrito de Tlaxiaco; colinda con algunos lugares: al norte con el municipio de San Pedro Molinos, al noreste con San Juan Tefta, al oeste con Chalcatongo de Hidalgo y en la parte sur colinda con el Municipio de Tindaco. El mapa general mexicano señala que el municipio de San Pablo Tijaltepec se localiza entre las siguientes coordenadas geográficas: 17° 01' latitud norte respecto al trópico de cáncer y 97° 30' longitud oeste respecto al meridiano de Greenwich. Cuenta con una extensión territorial de aproximadamente 63.79 km². Su territorio

está formado principalmente por colinas, lomas y algunos cerros, lo cual provoca que la altitud promedio de San Pablo Tijaltepec oscile entre los 2,240 metros sobre el nivel del mar (INEGI, 2010).

El fruto se recolectó en parcelas de la comunidad anteriormente mencionada, posteriormente se llevó al Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, se mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta su procesamiento.



Figura 20. Material Biológico.
Fuente: Elaboración propia.

4.3 Reactivos

Para la realización de esta investigación se utilizaron una serie de reactivos de la marca Sigma-Aldrich, LiChrosolv HOLC, J.T. Baker y Fermont como se puede ver en el cuadro 7.

Cuadro 7. Reactivos para el desarrollo experimental.

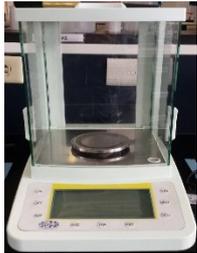
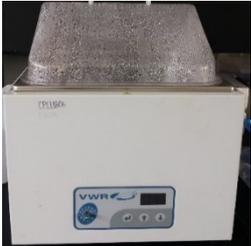
Reactivo	Características físicas y químicas	Marca.
Folin Ciocalteu.	Mezcla de ácido fosfotungstico y fosfomolibdico (color amarillo)	SIGMA-ALDRICH
Metanol	Formula: CH ₃ OH Peso molecular: 32.04 g/mol	LiChrosolv HOLC
Agua destilada	Formula: H ₂ O Peso molecular: 18.02 g/mol	J.T. Baker
Carbonato de sodio al 20%	Formula: Na ₂ CO ₃ Peso molecular: 105.99 g/mol	SIGMA-ALDRICH
Ácido Gálico	Ácido 3,4,5 trihidroxibenzoico Formula: C ₇ H ₆ O ₅ /C ₆ H ₂ (OH) ₃ COOH Peso molecular: 170.1 g/mol	FERMONT
Quercetina	Masa molar: 302,236 g/mol (fórmula molecular: C ₁₅ H ₁₀ O ₇).	SIGMA-ALDRICH
Catequina	Fórmula: C ₁₅ H ₁₄ O ₆ Masa molar: 290,26 g/mol	SIGMA-ALDRICH
Kaempferol	Fórmula: C ₁₅ H ₁₀ O ₆ Masa molar: 286,23 g/mol	SIGMA-ALDRICH
Miricetina	Fórmula: C ₁₅ H ₁₀ O ₈ Masa molar: 318,2351 g/mol	SIGMA-ALDRICH
DPPH	1,1-Difenil-2-picrilhidrazil Formula: C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆ Peso molecular: 394.32 g/mol	SIGMA-ALDRICH

Fuente: Elaboración Propia.

4.4 Equipos de laboratorio

Los equipos de laboratorio utilizados para el desarrollo de esta investigación se muestran en el cuadro 8.

Cuadro 8. Equipos de laboratorio para el desarrollo experimental.

Equipo	Marca y Modelo	Fotografía
Balanza analítica	(Marca: ROCA Modelo: FA2104C U.S.A)	
Espectrofotómetro	(Marca: Thermo Fisher Scientific Genesys Modelo: 10-S U.S.A)	
Baño maría	(Marca: VWR, Modelo CP111806 U.A.S)	
Centrifuga	(Modelo: Eppendorf Modelo: 5810R Alemania)	
Agitador de tubos vortex	(Marca: Fisher Pulse Vortex Mixer Modelo: E193273 U.A.S)	

Fuente: Elaboración Propia.

4.5 Análisis fisicoquímicos de la pulpa de chilacayote.

4.5.1 Determinación de pH

Para la determinación del pH se utilizó un potenciómetro digital (*Modelo, Termo ORION 3 STAR*) previamente calibrado con soluciones buffer 4.0, 7.0 y 10.0. La pulpa fue molida en una licuadora (*Marca Osterizer*) y posteriormente se filtró con una gasa farmacéutica para obtener el jugo de la pulpa. Una vez obtenido el jugo se colocaron 30 mL en vasos de precipitado (de 100 mL). La medición de pH se realizó de acuerdo al método 981.12 de la Association of Official Analytical Chemists; A.O.A.C. (2000); esta medición se realizó por triplicado.

4.5.2 Determinación de acidez titulable

La acidez titulable se determinó por triplicado por el método 981.12 *de la Association of Official Analytical Chemist; (A.O.A.C. 2000)*. La acidez se realizó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, en el cual se colocaron 10 mL de muestra de chilacayote (A, B y C) y se agregó 100 mL de agua destilada, se tituló con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N, usando como indicador 4 gotas de fenolftaleína. Posteriormente se tituló la muestra hasta observar un cambio a color rosa por un minuto. La acidez titulable es expresada como porcentaje de ácido cítrico y es calculada por medio de la siguiente formula:

$$g \text{ ac. Cítrico/L} = \frac{V + N + Meq}{mL \text{ de muestra}} * 100$$

Donde:

V= volumen de NaOH gastado

N= Normalidad de NaOH

Meq= peso en mililitro equivalente del ácido cítrico (0,064)

4.5.3 Determinación de grados Brix

La concentración de sólidos solubles totales (SST) se determinó de acuerdo a la Norma Mexicana NMX-F-103-1982. Alimentos, frutas y derivados. Determinación de grados Brix (°Brix). Foods, fruits and derivatives. Determination of degrees Brix. Normas Mexicanas. Dirección general de normas) y se expresaron como °Brix. Los SST se determinaron por triplicado con un refractómetro digital (Sugar/Brix Refractometer Super Scientific, Made in china) a 20 °C, para ello se colocó una gota de la muestra de chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*) en el refractómetro previamente calibrado con agua destilada y la lectura fue expresada en °Brix.

4.5.4 Determinación de color de chilacayote.

El color de los chilacayotes se determinó utilizando un colorimétrico Modelo: DP-400 (Konica Minolta Sensing, Inc. NJ, USA). Se obtuvieron los parámetros de color L^* , a^* y b^* , en la escala Hunter Lab (figura 12). El valor L^* representa la luminosidad del color en un rango de 0 (negro) a 100 (blanco); a^* representa la escala de rojo (positivo) al verde negativo y b^* la escala del amarillo (positivo) al azul (negativo) (Figura 21). El color se expresa en función de la luminosidad (L^*) y el croma (C) $[(a^2+b^2)^{1/2}]$. Las lecturas se realizaron por triplicado.

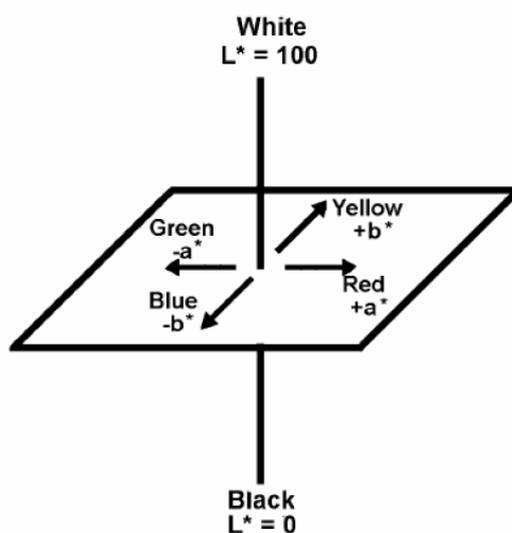


Figura 21. Escala de Hunter Lab
Fuente: Hunterlab. Inc., 2008

4.5.5 Preparación de muestra para retención de glucosa.

Para determinar la retención de glucosa en los extractos se utilizó el método de Chau *et al.* (2004). Se pesó 1 g de cada muestra en una balanza analítica (Electronic Balance Class, Modelo: FA2104C, U.S.A.); se añadieron 100 mL de solución de glucosa (100 mM/L) en un matraz Erlenmeyer de 250 mL previamente ajustada a pH de 2.0 a 4.0, para simular las condiciones durante el proceso de digestión y se mantuvieron en un Baño María (Marca: VWR, Modelo CP111806, U.S.A.) a 37 °C durante 6 h con agitación suave, después se centrifugaron a 3500 rpm por 15 min (Centrifuga Marca: Eppendorf, Modelo: 5810R, Alemania) y se determinó el contenido de glucosa en el sobrenadante mediante el método de DNS; Miller (1959) para azúcares reductores directos.

4.5.5.1 Preparación de disolución DNS

1) Se pesaron las siguientes cantidades

- 1 g de ácido 3,5- dinitrosalicílico
- 1 g de hidróxido de sodio
- 0.05 g de sulfito de sodio anhídrido
- 0.02 g de fenol (C₆H₅OH).

2) Se aforaron los reactivos a 100 mL con agua destilada

3) Se preparó una solución de glucosa diluyendo un gramo de glucosa anhidra en 10 mL de agua

4.5.5.2 Preparación de la curva de calibración.

Para la curva de calibración se preparó una solución stock de 1 mg/mL de glucosa como se muestra en el cuadro 9. Se procedió a medir la absorbancia en el espectrofotómetro (ThermoSpectronic, colorado USA) a 540 nm.

Cuadro 9. Concentración de la curva patrón para retención de glucosa.

Tubo	Concentración de AR (mg/mL)	Solución patrón DNS (mL)	H ₂ O (mL)
0	0	0	5
1	0.1	0.5	4.5
2	0.0	1.0	4.0
3	0.3	1.5	3.5
4	0.4	2.0	3.0
5	0.5	2.5	2.5
6	0.6	3.0	2.0
7	0.7	3.5	1.5
8	0.8	4.0	1.0
9	0.9	4.5	0.5
10	1.0	5.0	0

AR= Azúcares reductores. DNS= ácido 3,5- dinitrosalicílico.
Fuente: Elaboración propia.



Figura 22. Determinación de azúcares reductores (AR).
Fuente: Elaboración propia

Para determinar la capacidad de retención de glucosa en las muestras (Figura 22) se colocó 1 mL de extracto o de solución patrón, después se agregó 1 mL de reactivo DNS (ácido 3,5-Dinitrosalicílico), se calentó en un baño en ebullición por 5 min. Se enfrió por 10 min y se agregaron 10 mL de agua destilada, se dejó reposar durante 15 min, después se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (ThermoSpectronic, colorado USA) a 540 nm, para cada uno de los extractos se realizó el mismo procedimiento, los valores se expresaron en mg de glucosa/Litro de solución, las muestras se hicieron por triplicado (Figura 23).

4.5.5.2 Diagrama de proceso de retención de glucosa

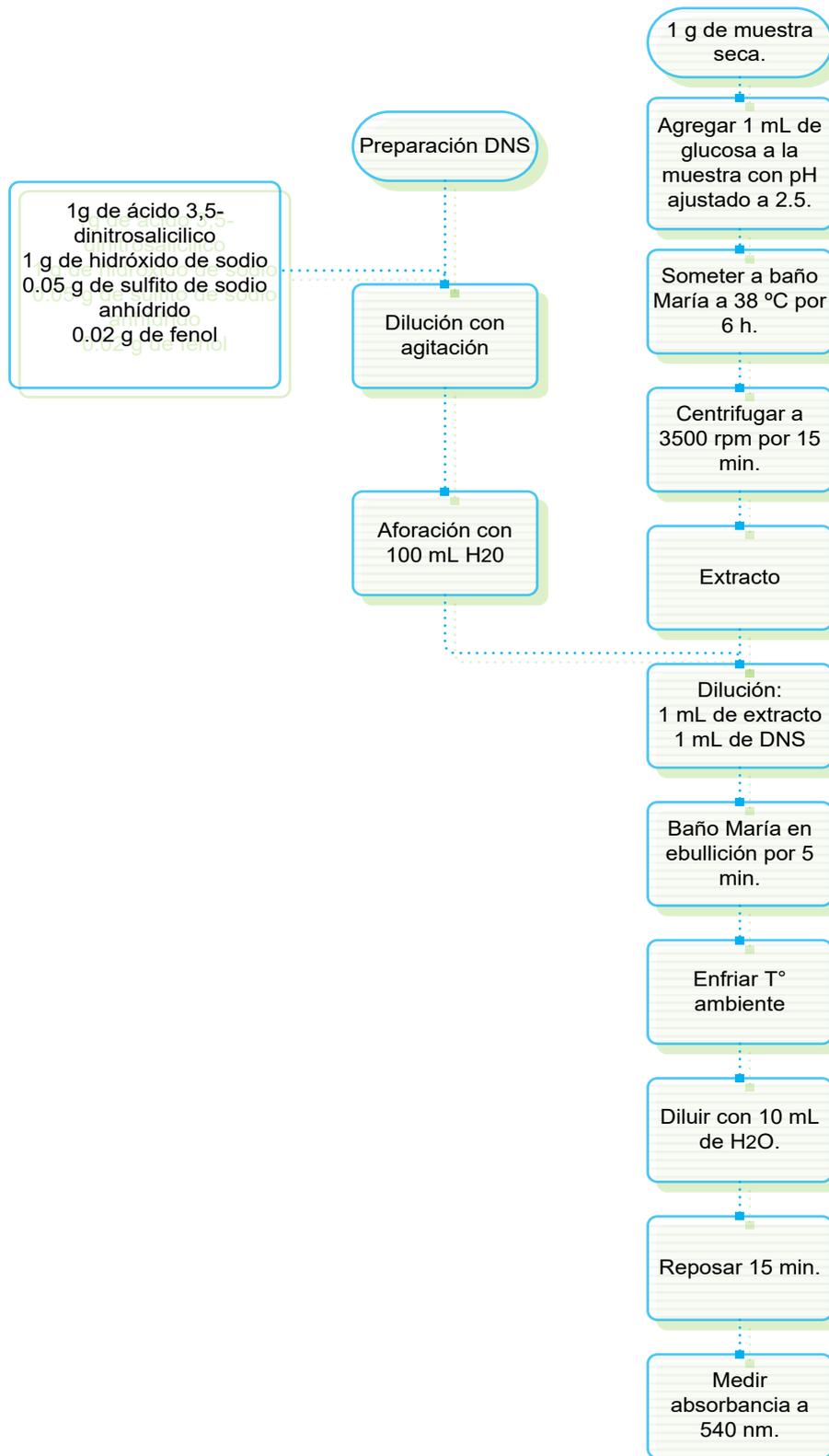


Figura 23. Diagrama de proceso para determinación de azúcares reductores (AR).

Fuente: Elaboración propia.

4.6 Obtención del extracto de chilacayote

El proceso de extracción de chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*) se llevó a cabo en el laboratorio de ciencia de los alimentos y extractos vegetales en el Colegio de Posgraduados Campus Córdoba. Se tomaron 3 chilacayotes de la misma variedad, con un código (A, B y C). Posteriormente se pelaron de forma manual, se retiraron las cáscaras, semillas e hilachas previamente pesadas. Se trabajó con etanol como solvente polar para la extracción del chilacayote en dos modalidades (Figura 24):

- Fruto fresco
- Fruto seco (deshidratado)

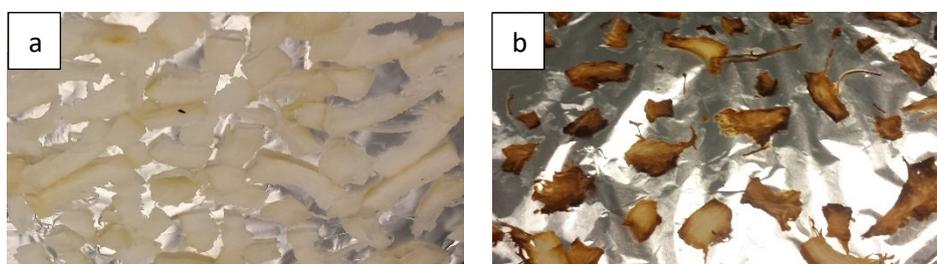


Figura 24. Chilacayote fresco (a) y deshidratado (b).
Fuente: Elaboración propia

4.6.1 Obtención de harina de pulpa de chilacayote.

Para la obtención de la harina, se pesó 1 kg de pulpa de chilacayote fresco en una balanza analítica (Electronic Balance Class, Modelo: FA2104C, U.S.A.). Enseguida se rebanó en rodajas de 6 mm de espesor, utilizando un Calibrador Vernier (Marca Mitutoyo serie 530, Modelo Estándar, México). Posteriormente se colocaron en charolas de aluminio y se introdujeron al horno de secado (Marca Felisa, México) a una temperatura de 40 °C durante un periodo de 48 h. Una vez transcurrido este tiempo, las muestras se sacaron del horno y se colocaron en un desecador (Marca Luzeren, México). Finalmente, las muestras secas se molieron en una licuadora (Marca: Osterizer, U.S.A.) y se tamizaron (Maya N.º 30 con abertura 0.600 mm).

4.6.2 Obtención del extracto a partir de pulpa seca.

Se pesó 1 g de harina de chilacayote y se colocó en un tubo de 15 mL, se vertió 10 mL de etanol (Merck, Alemania). Se agitó en un vortex (Marca: Fisher Pulse Vortex Mixer Modelo: E193273 U.S.A.). En seguida esta mezcla se puso en baño María (Marca: VWR, Modelo CP111806, U.S.A.) a 38 °C durante 2 h con agitación constante. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla se centrifugó a 3500 rpm por 15 min (Centrifuga Marca: Eppendorf, Modelo: 5810R, Alemania). Finalmente, las muestras centrifugadas se mantuvieron en el congelador a -20 °C hasta su análisis. Los análisis se realizaron por triplicado.

4.6.3 Obtención de extracto a partir de pulpa fresca.

Se pesaron 62.5 g de pulpa de chilacayote por triplicado, posteriormente se licuó con 75 mL de etanol (Merck, Alemania) en una licuadora (Marca: Osterizer, U.S.A.) durante 45 s, se vaciaron las muestras en matraces de Erlenmeyer. Después se colocaron en Baño María (Marca VWR, Modelo CP111806, U.S.A.) a 38 °C por 2 h en agitación constante y posteriormente se centrifugaron (Marca: Eppendorf, Modelo: 5810R, Alemania) a 3500 rpm por 15 min (Figura 25). Finalmente se guardaron las muestras en congelación a -20 °C, hasta su análisis. Los análisis se realizaron por triplicado.



Figura 25. Obtención de extracto fresco y seco de pulpa de chilacayote.
Fuente: Elaboración propia.

4.7 Análisis de compuestos bioactivos (fitoquímicos).

4.7.1 Determinación de capacidad antioxidantes por el método DPPH (2,2 difenil-1-picrihidrazil).

La actividad antioxidante se evaluó mediante el método de captura de radicales libres del 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich, Alemania) descrito por (Brand-Williams *et al.*, 1995).

Se tomó 1 mL de solución estándar o extracto etanólica, 0.5 mL de solución etanólica al 96%. Un mL de reactivo de DPPH al 0.2 Mm. Se dejaron reposar durante 220 min y se midió la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro (Marca: Thermo Fisher Scientific Genesys, Modelo: 10-S, U.S.A) (Figura 26). Los resultados fueron expresados en % de inhibición según Soler-Rivas *et al.* (2000). Todos los análisis se realizaron por triplicado. La actividad antiradicalaria fue calculada y expresada como el porcentaje de decoloración del DPPH empleando la siguiente ecuación:

$$\% DPPH = \left(\frac{abs_{DPPH_0} - abs_t}{abs_{DPPH_0}} \right) * 100$$

abs_{DPPH_0} = absorbancia de la solución de DPPH 0.1 mM (etanólica).

abs_t = es la absorbancia de las muestras al tiempo t.

4.7.2 Diagrama de ensayo de DPPH.

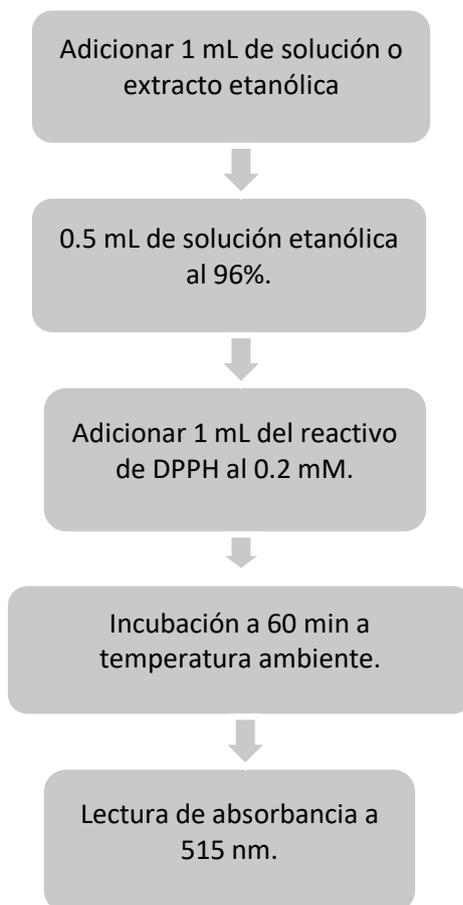


Figura 26. Diagrama de proceso para determinación de actividad antioxidante. Fuente: Elaboración propia.

4.7.3 Determinación de compuestos fenólicos totales (FT) por el método (espectrofotométrico Folin-Ciocalteu).

4.7.3.1 Preparación de la curva de calibrado de Folin-Ciocalteu.

Para construir la curva de calibración, se prepararon soluciones de ácido gálico (Figura 27), para ello se prepararon una serie de soluciones patrones con concentraciones de 0 a 0.5 mg/mL, usando el siguiente cuadro 10:

Cuadro 10. Concentración para la curva patrón para compuestos fenólicos totales (CFT), solución patrón (SP), ácido gálico (AG), agua destilada (H₂O), Folin-Ciocalteu (F-C).

Preparación de la solución patrón (SP) de AG.				Complejo coloreado de la solución patrón (SP) a 765 nm.			
Tubos	Conce ntmg/ ml	AG (μ L)	H ₂ O (μ L)	Volumen (S P)	F-C. mL	S Na ₂ CO ₃ al 20%	Aforar a 10 mL
1	0	0	5000				
2	0.025	50	4950				
3	0.05	100	4900				
4	0.1	200	4800	0.1	0.5	0.15	10
5	0.15	300	4700				
6	0.25	500	4500				
7	0.5	1000	4000				

Fuente: Elaboración Propia.



Figura 27. Curva patrón de ácido gálico (AG) para cuantificación de compuestos fenólicos totales (CFT).

Fuente: Elaboración propia.

4.7.3.2 Determinación de compuestos fenoles totales (CFT)

Para la determinación de fenoles totales (FT) se utilizó el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu de Prior *et al.* (2005), el cual consiste en una mezcla de ácido fosfotungstico y fosfomolibdico (color amarillo) que, en presencia de un exceso de este reactivo, los fenoles reducen a los ácidos anteriores a óxidos de tungsteno y molibdeno a color azul. En un matraz aforado de 10 mL se colocó 0.1 mL de extracto de pulpa (fresca y seca, respectivamente), 6 mL de agua destilada (Hycel, México), 0.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Alemania), 0.15 mL de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20% (p/v) (Sigma-Aldrich, Alemania) y se enrazaron con agua destilada, se dejaron reposar durante 2 h, se midió las absorbancias en un espectrofotómetro (Marca: Thermo Fisher Scientific Genesys, Modelo: 10-S, U.S.A) a 765 nm. Se realizó una curva de calibrado con ácido gálico (Fermont, México) y los resultados se expresaron en mg EAG/100 g m.s.f. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

4.7.4 Cuantificación de flavonoides (quercetina, catequina, miricetina, kaempferol y ácido gálico) por el método ($\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$ espectrofotométrico).

4.7.4.1 Preparación de curva de calibrado para flavonoides

Se preparó una solución stock de 1 mg/mL para Quercetina, Catequina y Ácido gálico para su posterior utilización. Para la preparación de la curva de calibración se utilizó una solución de quercetina (1 mg/mL) de la cual se tomaron volúmenes de 0 a 1000 μL en intervalos de 100 μL (ver cuadro 11) (Bedascarrasbure *et al.*, 2006).

Cuadro 11. Concentración de curva patrón para (Quercetina, Catequina y Ácido gálico).

Tubo	Concentración mg/mL	Concentración de solución stock μL de quercitina	Agua dest. μL HO₂
0	0	0	1000
1	0.1	100	900
2	0.2	200	800
3	0.3	300	700
4	0.4	400	600
5	0.5	500	500
6	0.6	600	400
7	0.7	700	300
8	0.8	800	200
9	0.9	900	100
10	1.0	1000	0

Fuente: Elaboración propia.

4.7.4.2 Preparación de curva de calibrado para kaempferol y miricetina.

Se preparó una solución stock de 0.5 mg/mL para Kaempferol y Miricetina para su posterior utilización. Para la preparación de la curva de calibración (Cuadro 12) se utilizó una solución de Kaempferol y Miricetina 0.5 mg/mL de la cual se tomaron volúmenes de 0 a 500 μ L en intervalos de 50 μ L (Bedascarrasbure *et al.*, 2006).

Cuadro 12. Concentración de curva patrón para Kaempferol y Miricetina

Tubo	Concentración 0.5 mg/mL	Concentración de solución stock μL de kaempferol	Agua destilada. μLHO₂
0	0	0	500
1	0.05	50	450
2	0.10	100	400
3	0.15	150	350
4	0.20	200	300
5	0.25	250	250
6	0.30	300	200
7	0.35	350	150
8	0.40	400	100
9	0.45	450	50
10	0.50	500	0

Fuente: Elaboración propia.

Como resultado de la realización de las curvas de calibrado para cada uno de los compuestos flavonoides en el cuadro 13 se presenta el concentrado de las rectas de calibrado.

Cuadro 13. Rectas de calibrado de flavonoides

	Ácido Gálico	Catequina	Quercetina	Miricetina	Kaempferol
Rango de concentraciones	0,1 mg/mL-1mg/mL	0,1mg/mL-1mg/mg	0,1mg/mL-1mg/mL	0,1 mg/mL-0,5mg/mL	0,1mg/mL-0,5mg/mL
Ecuación	$y=0,1612x+0,0075$	$y=0,0357x+0,00157$	$y=0,1228x-0,0007$	$y=3785x+0,0134$	$y=1878x-0,0007$
R²	0,997	0,995	0,9962	0,9889	0,9812
DE ordenada en el origen	0,05	0,11	0,03	0,06	0,02
DE pendiente	0,3	0,31	0,3	0,015	0,158

Fuente: Elaboración propia.

4.7.4.3 Concentración para cuantificación de catequina y ácido gálico.

Para determinar el contenido de flavonoides totales se utilizó el método espectrofotométrico de $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$, la formación de complejo flavonoide AlCl_3 en solución etanólica según Bedascarrasbure *et al.* (2006) con algunas modificaciones (Figura 28). Se utilizaron 300 μL de extracto o estándar y después se le adicionaron 200 μL de nitrito de sodio (NaNO_2) al 5%, se homogenizaron en vortex y se dejaron reposar por 5 min. Posteriormente se le adicionaron 200 μL de cloruro de aluminio (AlCl_3) al 10%, se homogeniza y se deja reaccionar por 5 min. Después se le adicionaron 500 μL de hidróxido de sodio (NaOH) al 0.1 N, finalmente se completó el volumen de cada referencia o muestra a 2.5 mL con agua destilada, la absorbancia fue medida a 510 nm. Los resultados fueron expresados en mg de (Ácido gálico y Catequina) en 100 g de muestra seca o fresca (mg /100 g m.s.f).

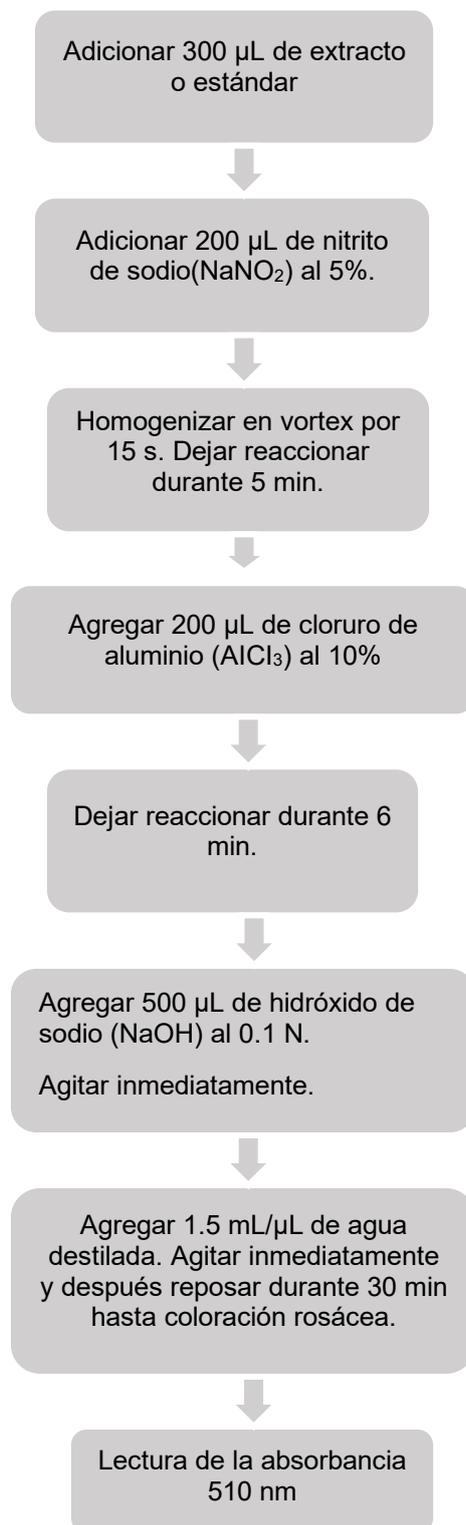


Figura 28. Diagrama de cuantificación de Catequina y Ácido Gálico.
Fuente: Elaboración propia.

4.7.4.4 Concentración para cuantificación de quercetina, miricetina y kaempferol.

Para cuantificar Quercetina, Miricetina y Kaempferol, como se muestra en la figura 29, se utilizaron 200 μL de extracto o estándar y después se le adicionaron 400 μL de nitrito de sodio (NaNO_2) al 5%, se homogenizaron en vortex por 15 s y se dejaron reposar por 5 min. Posteriormente se le adicionaron 400 μL de cloruro de aluminio (AlCl_3) al 10%, se homogenizaron y se dejaron reposar por 5 min. Después se le adicionaron 500 μL de hidróxido de sodio (NaOH) al 0.1 N. finalmente se completó el volumen de cada referencia o muestra a 2.5 mL con agua destilada, la absorbancia fue medida a 510 nm. Los resultados fueron expresados en mg de Quercetina, Miricetina y Kaempferol en 100 g de muestra seca o fresca (mg /100 g m.s.f).

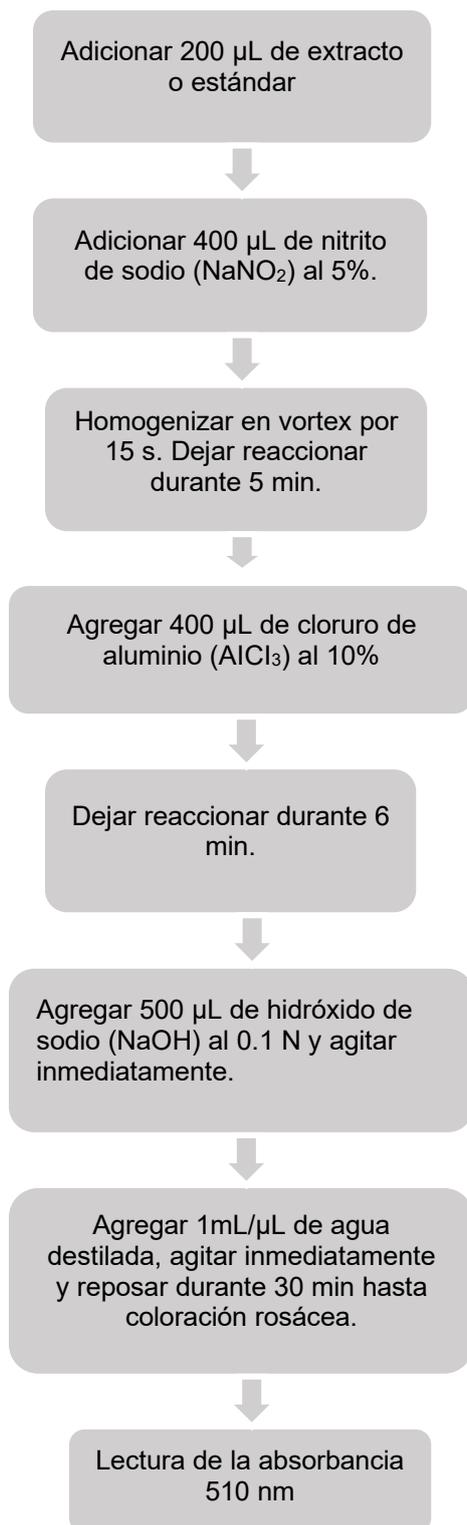


Figura 29. Diagrama para cuantificación de Quercetina, Miricetina y Kaempferol.

Fuente: Elaboración propia.

4.8 Diseño experimental

Para el análisis de datos se utilizó el paquete estadístico SAS 9.3 para Windows se realizó un diseño completamente al azar con un factor (Chilacayotes: A, B y C), con tres tratamientos (Fresco, Seco). Por consiguiente, se evaluó la presencia de fenoles totales, actividad antioxidante y glucosa presentes en los chilacayotes en los diferentes tratamientos. Para el análisis de datos se utilizó el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij} \quad i = 1, 2, \dots, t$$

Y_{ij} = variable de respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo del tratamiento.

μ = es la media general

α_i = Efecto del tratamiento i

ϵ_{ij} = error del experimento

Análisis de varianza para este modelo es:

Ho: F, fenoles = S fenoles

Ha: al menos un efecto de tratamiento es diferente.

4.9 Análisis estadístico

Con los datos de la concentración de compuestos fenólicos totales (FT), capacidad antioxidante (CA), azúcares reductores (AR) y flavonoides de la población de chilacayotes evaluadas se realizó un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias por el método Tukey ($p \leq 0,05$). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Los datos se analizaron con SAS, versión 9.3 para Windows en conjunto con Minitab 17.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización fisicoquímica de los chilacayotes

Entre las características importantes que pueden determinar la calidad interna de chilacayotes se encuentran aquellas que involucran la composición del fruto; como la concentración de solubles totales (°Brix), la acidez titulable (en % ácido cítrico), pH, color; además de otras características fisicoquímicas. En el cuadro 14 se presentan los resultados de la caracterización fisicoquímica de los chilacayotes (*Cucúrbita ficifolia*) evaluados.

Cuadro 14. Resultado de análisis fisicoquímica del chilacayote.

Chilacayote	SST (%)	pH	AT (% AC)	L*	a*	b*
A	4.7 ± 0.44 ^a	5.08 ± 0.02 ^a	0.22 ± 0.0 ^a	61.67	-17.52	29.95
B	4.43 ± 0.15 ^a	5.53 ± 0.31 ^a	0.23 ± 0.02 ^a	45.81	-17.16	25.89
C	4.57 ± 0.25 ^a	5.49 ± 0.42 ^a	0.24 ± 0.01 ^a	44.31	-15.48	22.88

Los valores representan la media ± desviación estándar (DE), n = 3. Letras iguales indican que no existe diferencia estadística ($P > 0.05$) entre los chilacayotes. SST: Contenido de sólidos solubles totales en °Brix; AT: Acidez titulable en porcentaje de ácido cítrico; L: Luminosidad de 0 negro a 100 blanco; a*: Escala de rojo positivo al verde negativo; b*: Escala de amarillo positivo a azul negativo.

Las características fisicoquímicas están estrechamente relacionadas con el grado de madurez de los frutos y con el grado de aceptación de los mismos, debido a esto son importantes para evaluar la calidad.

Evaluación de color (estado de madurez) (Cuadro 14), especifica la distribución de color de acuerdo al grado de maduración de chilacayotes estudiados. Los valores fueron expresados por medio de los parámetros de escala de Hunter L*, a* y b*. Es importante mencionar que el color es un factor determinante en la aceptabilidad de chilacayotes. Los valores de luminosidad (L*) de los tres chilacayotes van desde 44 a 62 y son indicativos que tiene una luminosidad media, los valores a* y b* muestran el color verde que caracteriza a los

chilacayotes, datos similares a los obtenidos por López-Camelo y Gómez (2004), en epicarpio de tomates durante la maduración.

El pH y la acidez titulable (AT) son parámetros indicadores del contenido de compuestos de carácter ácido que presentan las muestras, como es el caso de los ácidos orgánicos (Figura 14), los valores de pH de los tres chilacayotes evaluados de una población de forma aleatorio, muestran valores de (5.08 ± 0.02 a 5.53 ± 0.31), similar a los valores obtenidos (5.42 ± 0.12 a 5.69 ± 0.21) por Arévalo y Arias (2008), determinados en zambo (*Cucúrbita ficifolia* Bouché).

La concentración de sólidos solubles totales (SST) representa la concentración de sacarosa y fructosa u otros carbohidratos presentes en los frutos de chilacayote, esta cuantificación se relaciona con el contenido de azúcares y madurez óptima de los frutos. Los datos obtenidos están expresados en °Brix y muestran valores desde (4.4 ± 0.15 a 4.7 ± 0.44). Arévalo y Arias (2008) encontraron valores similares en fruto tierno (3.43 ± 0.11) y fruto maduro (5.28 ± 0.22).

Los valores obtenidos de acidez titulable en pulpa de chilacayote expresados como porcentaje de ácido cítrico (0.22 ± 0.0 a 0.24 ± 0.01) fue mayor al obtenido por Arévalo y Arias (2008), cuyos valores encontrados oscilaron entre 0.04 ± 0.06 y 0.08 ± 0.03 ; también demostraron valores significativos entre el estudio de pH y el contenido de sólidos solubles totales (SST). Estos estándares son principales, para determinar el contenido de ácidos orgánicos presentes en frutas y hortalizas, características importantes que determinan su calidad.

5.2 Determinación de compuestos bioactivos en chilacayotes.

5.2.1 Determinación de compuestos fenólicos totales (FT) por el método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu.

El método de Folin-Ciocalteu, cuyo fundamento está sustentado en una reacción de óxido-reducción, es el método más utilizado para medir la capacidad antioxidante en función del contenido de polifenoles totales en frutas y vegetales (Prior *et al.*, 2005), sin embargo hay que tener en cuenta que el reactivo Folin-

Ciocalteu, es capaz de reaccionar mediante una reacción redox con muchos otros compuestos que integran la muestra alimenticia, por eso la utilidad de este método para determinar el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) en los alimentos es esencial.

Para determinar el contenido de compuestos fenólicos total (CFT) de los extractos etanólicos de pulpa de chilacayote se partió de la ecuación obtenida de la curva de calibrado de ácido gálico ($y = 0.0012x - 0.0042$), la cual muestra una buena correlación lineal con una $R^2 = 0.9979$ como se puede observar en la figura 30.

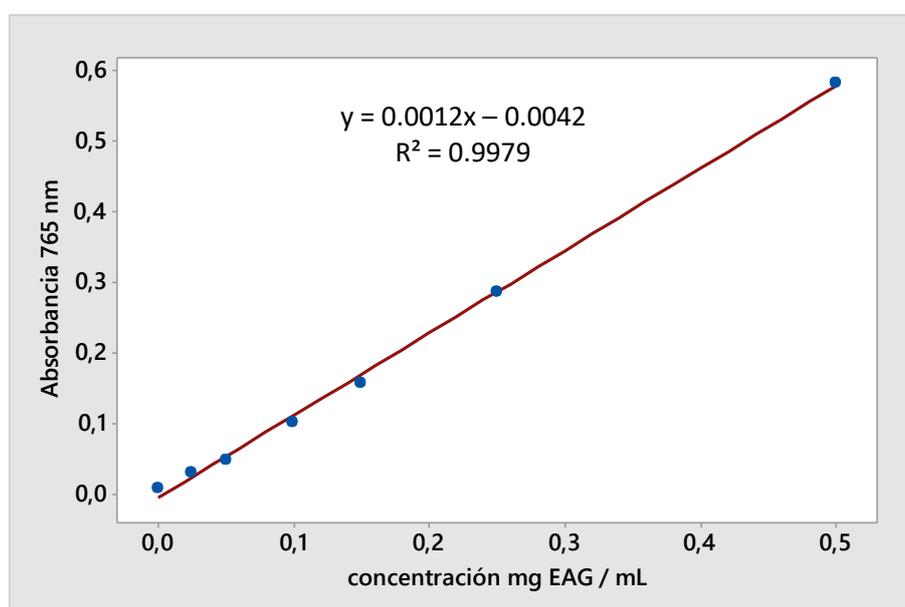


Figura 30. Curva de calibración de ácido gálico para compuestos fenólicos totales (CFT) expresado en (mg EAG / mL).

Una vez obtenida la curva de ácido gálico (AG) para compuestos fenólicos totales (CFT) se sustituyeron las absorbancias y los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 15 expresados en mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 gramos de muestra (mg EAG / mL).

5.2.2 Determinación de la capacidad antioxidante total por el método DPPH (radical 2,2 difenil-1-picrihidraxil).

Este método desarrollado por Brand-Williams (1995) se basa en la habilidad de atrapar radicales libres presentes en el medio. La molécula DPPH se caracteriza por ser un radical libre estable, que en disolución etanólica presenta un color violeta intenso con una absorbancia a 515 nm. Cuando la solución DPPH se mezcla con una sustancia que puede donar un átomo de hidrogeno (antioxidante), reduce al radical DPPH, con la perdida de color violeta, el cual es estequiométrico con respecto al número de electrones que capture, tornándose de violeta a un amarillo pálido (Molyneux, 2004).

Para cuantificar el porcentaje de inhibición se preparó una recta de calibrado de Eq. Trolox, aforando con etanol como estándar, debido a su analogía con las propiedades antioxidantes. De esta forma, se cuantificó el porcentaje de inhibición y la capacidad antioxidante total (CAT) en miligramos equivalentes de Trolox (Figura 31).

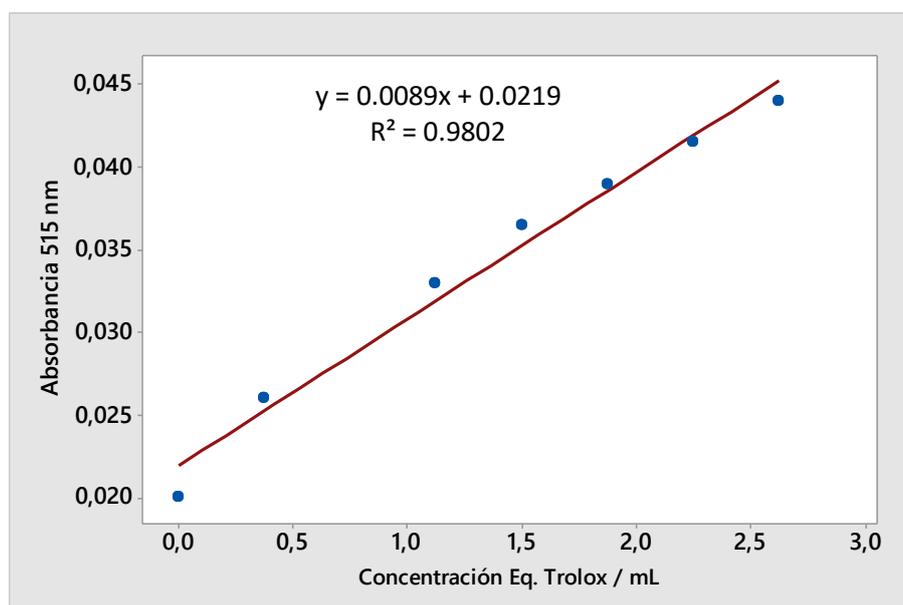


Figura 31. Curva de calibración de Trolox expresada en Eq. Trolox / mL.

Una vez realizada la recta de calibrado en Eq. Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) por el método DPPH (2, 2-difenil-

1picrihidracil) se sustituyeron las absorbancias y los resultados obtenidos se expresaron en equivalentes de Trolox / mililitro de solución (Eq. Trolox / mL sol.).

5.2.3 Determinación de flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana. El **ácido gálico** (AG), es un ácido fenólico presente en frutas y vegetales como: uva, granada, nueces, plátano, fresa, arándano, cascara de manzana, mango, acelga, brócoli, espinacas (Taitzoglou *et al.*, 2001).

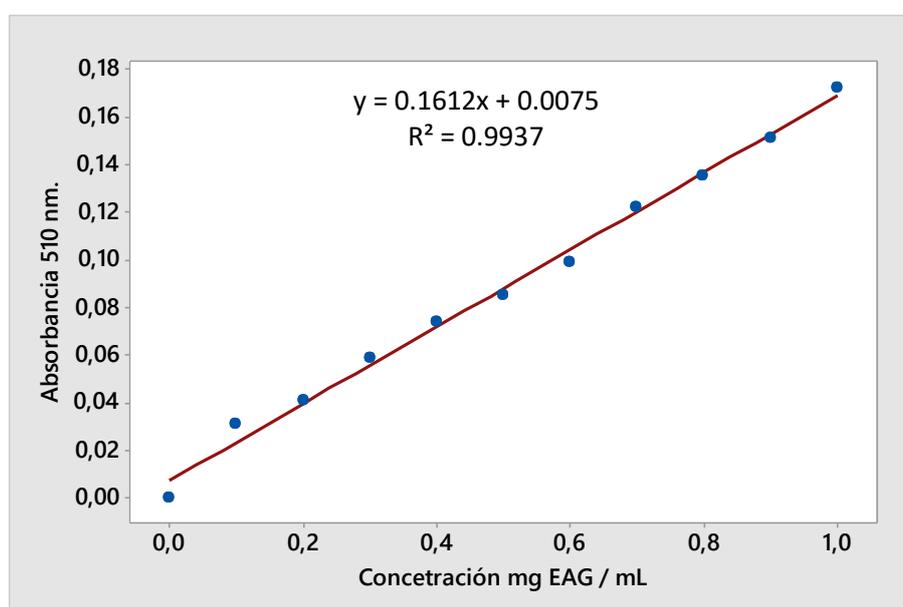


Figura 32. Curva de calibración de ácido gálico para flavonoides expresada en mg EAG / mL sol.

En la figura 32 se presenta la curva de ácido gálico (AG), que se utilizó para la cuantificación de flavonoides totales, expresada en mg EAG / mL sol. presentes en los extractos de pulpa de chilacayote, empleando el método espectrofotométrico ($\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$) (Figura 33). Los resultados se obtuvieron a partir de la curva de calibración de ácido gálico (AG), $y = 0.1612x + 0.0075$ (Figura 32), el cual presenta una buena correlación lineal con una $R^2 = 0.9937$. Posteriormente se sustituyeron las absorbancias y los resultados se especifican en el cuadro 16.



Figura 33. Lectura de absorbancia de ácido gálico(AG).

Para la determinación del flavonoide **quercetina** se empleó el método colorimétrico ($\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$), a partir de una curva de calibración de quercetina, la cual tiene una capacidad antioxidante de 4.7 mM, que es cinco veces mayor que la vitamina E y C; También presenta una solubilidad similar a la vitamina E, según lo reportado por Sartor *et al.*, 2002.

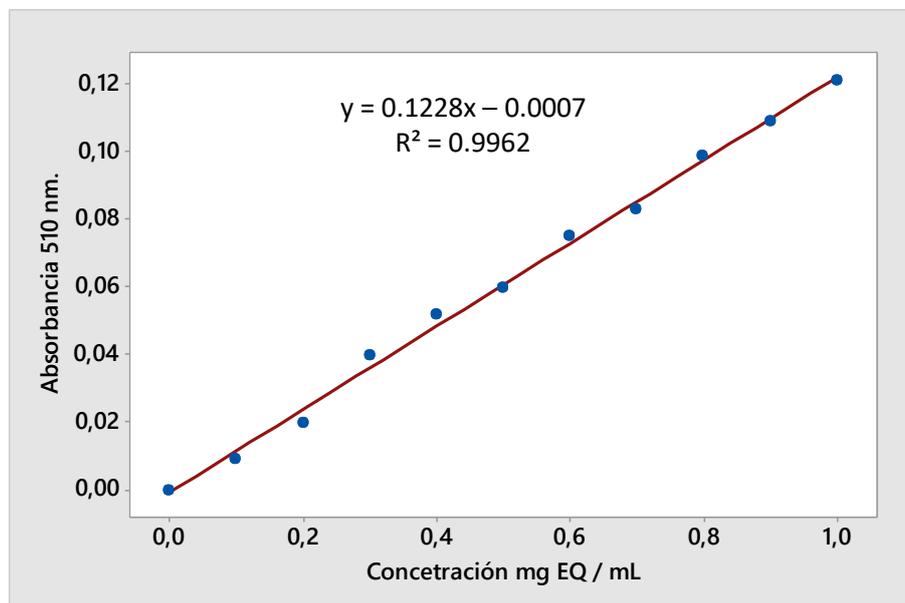


Figura 34. Curva de calibración de quercetina para flavonoides expresada en solución (mg EQ / mL sol.).

En la figura 34 se presenta la recta de calibrado de Quercetina que se utilizó para la cuantificación de flavonoides totales, expresada en mg EQ / mL sol. presentes

en los extractos de pulpa de chilacayote, empleando el método colorimétrico ($\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$) (Figura 35). Los datos se calcularon a partir de la ecuación obtenida de la curva de calibración de quercetina, $y = 0.1228x - 0.0007$ (Figura 34), la cual presentó una buena correlación lineal con una $R^2 = 0.9962$. Posteriormente se sustituyeron las absorbancias y los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de quercetina / mililitros de solución (mg EQ / mL sol.) como se detalla en el cuadro 16.



Figura 35. Lectura de absorbancia de quercetina.

La recta de calibrado de **catequina** (Figura 36) que se utilizó para la cuantificación de flavonoides totales, expresada en catequina presente en los extractos de pulpa de chilacayote, empleando el método colorimétrico ($\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$) medidos a 510 nm en un espectrofotómetro (Marca: Thermo Fisher Scientific Genesys, Modelo: 10-S, U.S.A).

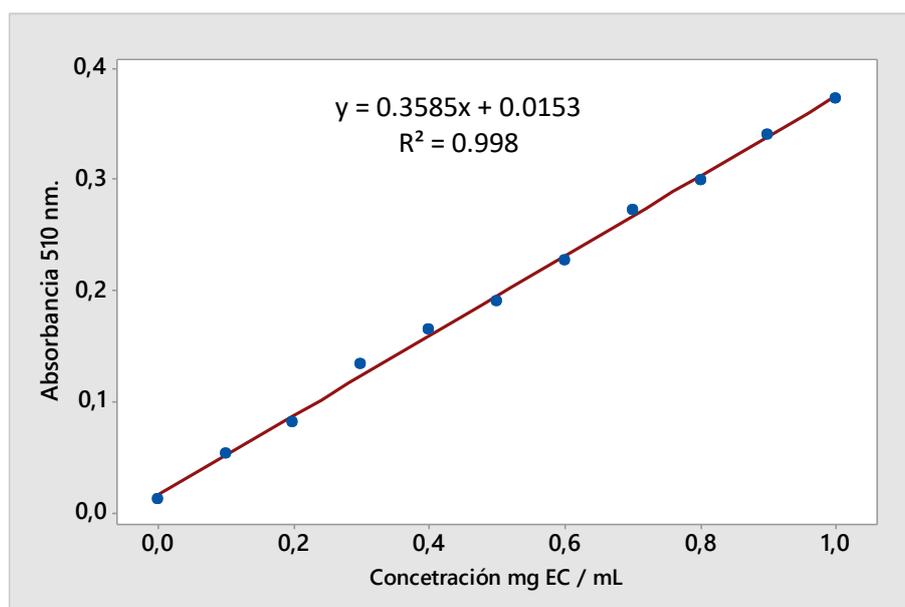


Figura 36. Curva de calibración de catequina expresada en mg EC / mL sol.

Una vez realizada la curva de calibración, se efectuaron los cálculos a partir de la ecuación obtenida de la curva de catequina, $y = 0.3585x + 0.0153$ (Figura 36), con una correlación lineal $R^2 = 0.998$. Posteriormente se sustituyeron las absorbancias y los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de catequina / mililitro de solución (mg EC / mL sol.) como se detalla en el cuadro 16.

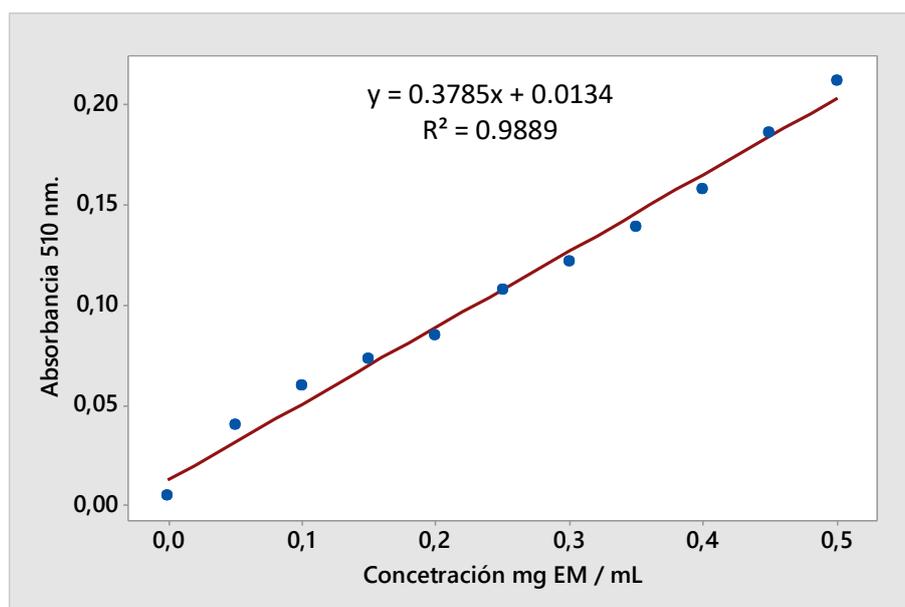


Figura 37. Curva de calibración de miricetina expresada en mg EM / mL sol.

En la figura 37 se modeló la recta de calibrado de **miricetina** que se utilizó para la cuantificación de flavonoides totales (FT), expresada en miricetina presentes en los extractos de pulpa de chilacayote, empleando el método colorimétrico ($\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$) a 510 nm en un espectrofotómetro (Marca: Thermo Fisher Scientific Genesys, Modelo: 10-S, U.S.A). Los cálculos se efectuaron a partir de la ecuación obtenida de la curva de calibración de quercetina, $y = 0.3785x + 0.0134$ (Figura 37), la cual presenta una buena correlación lineal con una $R^2 = 0.9889$. Posteriormente se sustituyeron las absorbancias y los resultados se especifican en el cuadro 16.

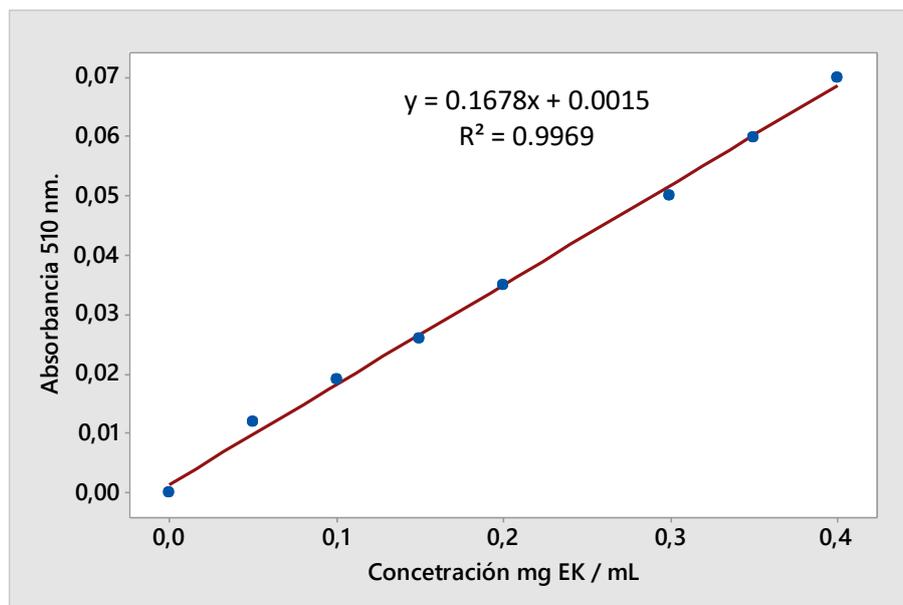


Figura 38. Curva de calibración de kaempferol expresada en mg EK / mL sol.

En la figura 38 se muestra la curva de **Kaempferol** que se utilizó para la cuantificación de flavonoides totales (FT), expresada en kaempferol presentes en los extractos de pulpa de chilacayote, empleando el método colorimétrico ($\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$) medidos a 510 nm en un espectrofotómetro (Marca: Thermo Fisher Scientific Genesys, Modelo: 10-S, U.S.A). Se realizaron los cálculos a partir de la ecuación obtenida de la recta de calibrado de quercetina, $y = 0.1678x + 0.0015$ (Figura 38), la cual presentó una correlación lineal $R^2 = 0.9969$. Posteriormente se sustituyeron las absorbancias y los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de kaempferol / mililitros de solución (mg EK / mL sol.) como se observa en el cuadro 16.

5.2.4 Azúcares reductores

En la figura 39 se modela la recta de calibrado con altos coeficientes de correlación para la curva patrón de glucosa utilizando el método DNS. Martínez-Flórez *et al.* (2002) afirmaron que el chilacayote contiene el azúcar D-quirositol, el cual nivela los efectos de insulina; sin embargo, este compuesto únicamente presenta acción cuando se administra conjuntamente con flavonoides del mismo fruto o verdura. Verde *et al.* (2012) indicaron que el consumo de chilacayote produce efectos antiinflamatorios, antioxidantes y antivirales. Xia y Wang (2006), afirmó que en el extracto acuoso del chilacayote

se encuentra presente el compuesto D-qui-ro-inositol (DQI) mediador de los efectos de insulina.

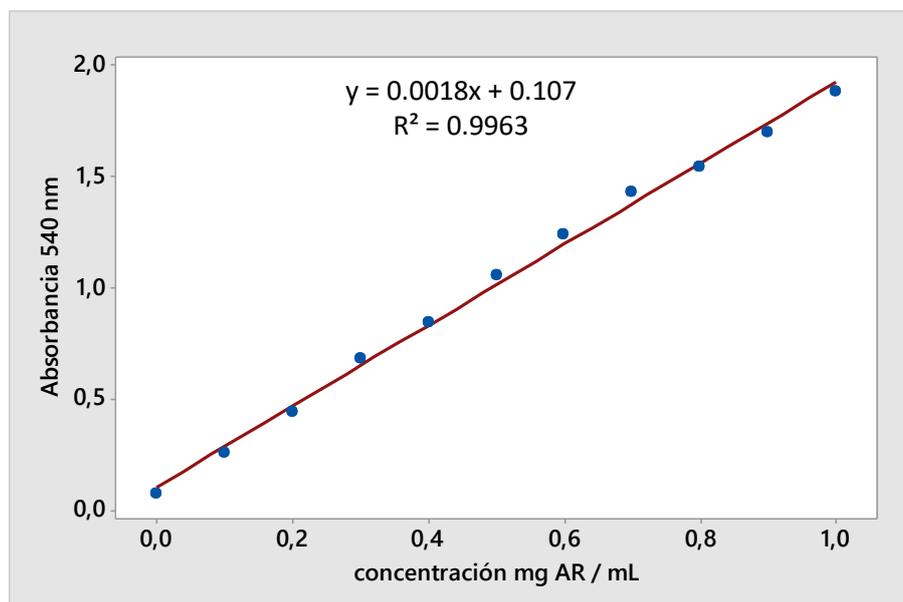


Figura 39. Curva de calibración tipo glucosa (AR) expresada en mg AR / mL sol.

En la figura 39 se presenta la curva de calibración de glucosa que se utilizó para la cuantificación de azúcares reductores (AR), expresada en miligramos de glucosa / mililitro de solución (mg AR / mL sol.) presentes en los extractos de pulpa de chilacayote, empleando el método DNS (Acido 3,5-dinitrosalicílico) medido a 540 nm en un espectrofotómetro (Marca: Thermo Fisher Scientific Genesys, Modelo: 10-S, U.S.A) (ver figura 40). Se realizaron cálculos a partir de la ecuación obtenida de la curva de calibración de glucosa, $y = 0.0018x + 0.107$ (Figura 39), la cual presentó una buena correlación lineal ($R^2 = 0.9963$). Posteriormente se sustituyeron las absorbancias y los resultados se detallan en el cuadro 15.

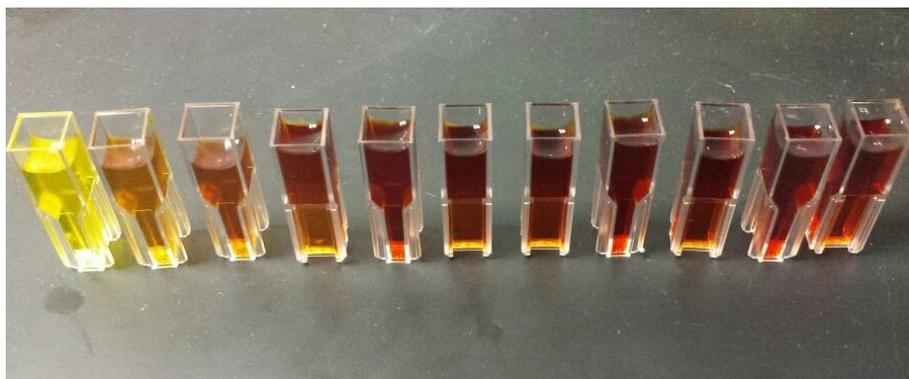


Figura 40. Lectura de azúcares reductores (AR) en extracto de chilacayote.

5.2.5 Evaluación de compuestos bioactivos de acuerdo a la población estudiada.

Los compuestos fenólicos son constituyentes muy importantes en las frutas y vegetales debido a su habilidad para secuestrar radicales libres; habilidad que está relacionada con la presencia en la molécula del grupo hidroxilo. Los flavonoides son sustancias producidas como metabolitos secundarios en frutas o vegetales, donde ejercen diversas funciones como antifúngicos, bactericidas, quelantes de metales, protectores de radiación ultravioleta, colorantes y controladores de las auxinas reguladoras de crecimiento y de la diferenciación de frutas y vegetales (Martínez-Flórez *et al.*, 2002).

Cuadro 15. Contenido de compuestos bioactivos en chilacayote.

TRT.	CAT (DPPH)		CFT	AR
	% inhibición	mg Eq. Trolox / g p	mg EAG / 100 g p	mg G / 100 g p
FRESCO	76.95 ± 1.67 ^a	4,72 ± 0.04 ^a	72.26 ± 2.39 ^a	74,10 ± 2.00 ^a
SECO	92.64 ± 0.077 ^b	5.54 ± 0.09 ^b	296.51 ± 4.2 ^b	254,47 ± 12.52 ^b

*Los valores representan la media ± su desviación estándar (DE). Letras iguales indican que no existe diferencia estadística ($P > 0.05$) entre los tratamientos evaluados. Capacidad antioxidante total (CAT), Azúcares reductores (AR), Compuestos fenólicos totales (CFT), Equivalentes de ácido gálico (EAG).

En el cuadro 15 se presentan los resultados del contenido de **compuestos fenólicos totales (CFT)** de acuerdo a los tratamientos. La pulpa seca presento (296.51 ± 4.2 mg EAG / 100 g m). Posteriormente en pulpa fresca presenta un total de (72.26 ± 2.39 mg EAG / 100 g m). Estos resultados son similares a los obtenidos por López *et al.* (2011) en extracto etanólico de pulpa deshidratada del chilacayote (*Cucúrbita ficifolia* Bouché) (217.15 mg ácido gálico / g de chilacayote). Muñoz *et al.* (2014) afirmó que el contenido de fenoles totales (FT) en Zápalo loche (*Cucurbita moschata* Duchesne) en fresco fue de 103.869 mg AG / 100 g m, en muestra sancochada de 48.100 mg AG / 100 g m y el menor contenido fenólico es en fruto frito (43.800 mg AG / 100 g m). En relación a las propiedades funcionales, Plata (2012) determinó compuestos fenólicos en *Cucurbita ficifolia* Bouché, utilizando como solvente el metanol en dos modalidades fruto seco y fruto fresco, obteniendo 175.50 ± 6.74 mg EAG / L de extracto y $123.76 \pm 76 \pm 804$ mg EAG / L de extracto, respectivamente. El estudio de compuestos fenólicos totales (CFT), así como lo menciona Kroon y Williamson (2005) demuestran que una dieta rica en frutas y vegetales está asociada con un bajo riesgo de contraer enfermedades crónicas (algunos tipos de cáncer) y cardiovasculares, atribuyendo este efecto protector a la presencia de compuestos bioactivos, entre los cuales destacan los polifenoles.

La **capacidad antioxidante total (CAT)** evaluada en los tratamientos de fruto seco y fresco se muestra en el cuadro 15. El fruto seco presentó mayor porcentaje de inhibición de DPPH seguida de fruto fresco con un total de 92.64 ± 0.077 y 76.95 ± 1.67 , respectivamente y en equivalentes de Trolox fue de 5.54 ± 0.09 y 4.72 ± 0.04 mg Eq. Trolox / g p, respectivamente. En relación a las propiedades funcionales, Negrillo y Yapias (2014) determinaron que la cantidad de la capacidad antioxidante en Zapallo Loche (*Cucúrbita moschata* Duchesne) sancochado, fue destacado por presentar mayor porcentaje de inhibición del DPPH de los radicales libres en un 95%, dando su mayor capacidad antioxidante total (CAT) en la muestra, resultados similares fueron obtenidos por Salazar *et al.* (2009) en la elaboración de extractos de flor de Jamaica en la evaluación de agentes antioxidantes en mM Eq. Trolox. En relación con las propiedades funcionales, Peña-Varela (2006) en el estudio de frambuesa, obtienen valores un poco más bajos, por lo que se demuestra que el chilacayote es una fuente

importante de antioxidantes debido a su contenido de compuestos polifenólicos. Según Ishige *et al.* (2008) concluye que la capacidad antioxidante del extracto de chilacayote capta radicales libres causantes del estrés oxidativo, se atribuye a su vez a un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades circulatorias neurológicas y cancerígenas.

Los contenidos de glucosa en los extractos de chilacayotes evaluados de acuerdo a los tratamientos del fruto se pueden observar en el cuadro 15. Fruto seco contiene 254.47 ± 12.52 mg G / 100 g p, seguida del fruto fresco con valor de 74.10 ± 2.00 mg G / 100 g p. Bagnis y Martínez (2006) encontraron valores más altos en fruto en base seco (1000 mg G / 100 b s) y más bajos en fruto base fresco (50 mg G / 100 b s) determinados en el estudio de efectos de hipoglucémico de chilacayote para el control de la diabetes. En relación a las propiedades funcionales Ruiz-Roso (como se citó en Garibay y San Martín, 2006) encontraron mayor contenido de glucosa en chilacayote en base seca con un total de 1500 mg G / 100 b s y demostraron que la capacidad de retención de glucosa es mayor a un pH 4.0 que un pH 2.0. En el estudio de extracto acuoso de guarumbo, jugos de nopal y chilacayote, se sugiere que existen compuestos en estas muestras que reaccionan con el grupo carbonilo libre de glucosa.

Mayor contenido de flavonoides totales (FT): Ácido gálico, Quercetina, Catequina, Miricetina, y Kaempferol (Cuadro 16) fueron encontrados en fruto seco. Valores similares de miricetina (0.88 ± 0.22 mg AG / 100 m s), kaempferol (2.25 ± 0.07 mg AG / 100 m s), quercetina (2.75 ± 0.25 mg AG / 100 m s), catequina (11.5 ± 0.08 mg AG / 100 m s) y ácido gálico (33.25 ± 0.16 mg AG / 100 m s) fue reportado por Plata (2012) y Salah *et al.*, (2010) al evaluar extractos metanólicos y etanólicos, quienes concluyeron que existe una mejor extracción de polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante con extracto etanólica.

En relación a las propiedades funcionales, Kevers *et al.* (2007) determinaron que los compuestos fenólicos de diferentes verduras, comparando sus datos con el presente estudio tiene menor concentración que los valores determinados por plata (2012) en el estudio de pepino y brócoli pero a diferencia de esto se

encontró una pequeña cantidad de miricetina en el chilacayote (0.88% p / p) lo que le da una composición más completa de compuestos fenólicos, confirmando con ello que con el chilacayote, es posible elaborar un producto nutracéutico deshidratado que retengan los compuestos bioactivos.

Cuadro 16. Contenido de flavonoides en chilacayotes.

TRT.	AG (mg Eq. / 100 g p)	Q (mg Eq. / 100 g p)	C (mg Eq. / 100 g p)	M (mg Eq. / 100 g p)	K (mg Eq. / 100 g p)
FRESCO	4.07 ± 0.08 ^a	0.85 ± 0.02	2.76 ± 0.06	0.11±0.00	0.51 ± 0.01
SECO	29.67 ± 1.22 ^b	5.05 ± 0.1	12.31 ± 0.41	0.49±0.01	2.32 ± 0.05

*Los valores representan la media ± su desviación estándar (DE). Letras iguales indican que no existe diferencia estadística (P > 0.05) entre la población de chilacayotes evaluadas. mg Eq / 100 g p: Miligramos de equivalentes / gramos de pulpa. *Acido gálico*: (AG), *quercetina*: (Q), *catequina*: (C), *miricetina*: (M) y *kaempferol*: (K) en extractos etanólicos de chilacayote.

VI. CONCLUSIÓN

El contenido de compuestos fenólicos totales (FT) en chilacayotes (*Cucurbita ficifolia*) fresca y deshidratada no presentan diferencia estadística significativa, sin embargo, mayor contenido (296,51 mg EAG / 100 g. p. s.) fue encontrado en pulpa seca (deshidratada). La capacidad antioxidante de chilacayote (*Cucurbita ficifolia*) posee altos porcentajes de inhibición de DPPH y concentración de equivalentes de trolox (5,54 mg Trolox / g p s). Se caracterizaron 5 flavonoides: ácido gálico, catequina, quercetina, kaempferol, y miricetina que al ser comparados con otros frutos y verduras se concluye que el consumo de chilacayote es recomendable ya que posee componentes nutraceuticos.

El análisis de retención de glucosa en chilacayotes; en pulpa seca presentó mayor contenido (254,47 mg de glucosa / 100 g p s). El chilacayote es un fruto que contiene azúcar D-quirositol, el cual nivela los efectos de insulina, este compuesto únicamente presenta acción cuando se administra conjuntamente con los compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y flavonoides del mismo fruto.

Los resultados obtenidos en compuestos bioactivos en extracto seco, sugieren que es viable proponer un producto nutraceutico a base de extracto seco de chilacayote, debido a que se conservan dichos compuestos.

VII. RECOMENDACIÓN

Incluir en la dieta, productos derivados del chilacayote por su alto contenido en compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y flavonoides que son benéficos para la nutrición, salud y prevención de enfermedades cardiovasculares. Además, el chilacayote contiene el azúcar D-quirositol el cual nivela los efectos de insulina.

Promover el consumo del chilacayote a nivel regional y nacional, dando a conocer el contenido de compuestos bioactivos, benéficos para la salud.

IV. BIBLIOGRAFÍA

- Abeyasinghe D. C. S., Wijeratne M. N. K., & Dharmadasa R. M. (2014). Cucurbitaceae in different experimental models. (*J Ethnopharmacology*) 82(2-3):185-189.
- Aguilar C. N., Rodríguez-Herrera R., Gutiérrez Sánchez G., Augur C., Favela-Torres E., Prado-Barragán L. A., Ramírez-Coronel A., & Contreras-Esquivel, J.C. (2007). Microbial tannases: advances and perspectives. (*Applied Microbiology and Biotechnology*), 76 (1): 47-59.
- Agustí M. (2008). Fruticultura. *Revista internacional de cítricos*. Madrid: Mundi-Prensa. ISSN 1131-5660. pp 5-12.
- Allende A., Marin A., Buendía B., Tomas-Barberán F., & Gil-Muñoz M. I. (2007). Impacto of combined postharvest (UV-C light, gaseous O₃, superatmospheric O₂) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. (*Postharvest biology and technology*) 46(3): 201-211.
- Andrade-Cetto A, Heinrich M. (2005). Antioxidante en frutos de frambuesa (*Rubus idaeus* L) con diferente grado. Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. (*J Ethnopharmacology*) 99: 325-348.
- AOAC. (2000). Official methods of analysis of AOAC. International 17th edition; Gaithersburg, MD, USA Association of Analytical Communities. intl. 2000-2200.
- Aponte L. G., Pérez A. F., Rodríguez Á. F., & Vásquez N. L. (2011). Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. (*Revista peruana*) 19 (2): 59-63.
- Arévalo J. F. M., & Arias G. B. P. (2008). Caracterización fisicoquímica del zambo (*Cucurbita ficifolia* B.) y elaboración de productos a partir de la pulpa. (tesis de pregrado) Escuela Politécnica Nacional Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria.
- Aron M. P., & Kennedy A. J. (2008). Review. Flavan-3ols: nature, occurrence and biological activity. *Mol. (Nutr. Food Sci.)* 52: 97-104.

- Bedascarrasbure E., Maldonado L., Álvarez A., & Rodríguez E. (2010). Contenido de Fenoles y Flavonoides del Propóleo Argentino. (*Molecular Aspects of Medicine*) 23(3): 369- 372.
- Bentham F. (2011). Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, (*Science Publishers Ltd*). Vol. 11, No. 4.
- Boots A., Haenen G., & Bast A. (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. (*Eur J Pharm*) 585: 325–337.
- Brand-Williams W., Cuvelier M., & Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity (*LWT-Food Science and Technology*) 28 (1): 25-30.
- Calderón JV., & Maldonado M. (2008). Contaminación e intoxicación por plomo. Ed. Trillas. pp 194.
- Calderón A., Wright B., Hurts J., & Breemen R. (2009). Screening antioxidants using LC-MS: Case study with cocoa. (*J Agric Food Chem*) 57: 5693-5699.
- Castro-López A. E., Ortega-Regules & Lozada-Ramírez J. D. (2015). Modificaciones enzimáticas de compuestos fenólicos. (*Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla*). pp 5-14.
- Cerón G. L., Legaria S. J., Villanueva V., C. & Sahagún C., J. (2010). Diversidad genética en cuatro especies mexicanas de calabaza (*Cucurbita* spp.). Revista Fitotecnia Mexicana 33(3): 189-196. <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/33-3/1a.pdf>.
- Chang L. Y., Slot J. W., Geuze H. J., & Crapo J. D. (1998). Molecular immunocytochemistry of the CuZn superoxide dismutase in rat hepatocytes. (*J Cell Biol*) 107: 2169–2179.
- Chau D., Gabary S., & Martinez E. (2004). Hypoglycemic effects determined by in vitro methods. (*Lebensm-Wiss u.-Technol*) 37: 331-335.
- Chew, B. P. (1995). Antioxidant Vitamins Affect Food Animal Immunity and Health. (*J. of Nutrit.*) 125 (6): 1804-1808.
- Christian, K. R., & Jackson, J. C. (2009). Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. (*Journal of Food Composition and Analysis*) 22(7-8): 663-667.

- Coronado H. M., Vega L. S.; Gutiérrez T. R.; Vázquez F. M., & Radilla V. C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. (*Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, México. J. Child Nutr.*). pp 206-212.
- Cowan, M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. (*Clinical Microbiological Reviews*) 12(4): 564 – 582.
- Dauchet L., Amouyel P., & Dallongeville J. (2009). Fruits, vegetables and coronary heart disease. (*Nature Reviews. Cardiology*). 6(9): 599-608.
- Delgado, C. (2013). Elaboración de turrón evaluando tres niveles de chocolate en polvo y en tableta, con la adición de semillas de sambo en la planta de frutas y hortalizas de la Universidad Estatal de Bolívar. (tesis de grado) *Universidad de Bolívar, Guaranda-Ecuador*.
- Devalarajas S., Jain S., & Yadav H. (2011). Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. (*Food Research international*) 44(7): 1856-1856.
- Duarte Elfreide A, & Castañeda J. (2003). *Estudio Fitoquímico y de la actividad antioxidante inmunomoduladora de las fracciones activas obtenidas del extracto etanólicos de la corteza de Curatela Americana* (Tesis de grado) Universidad Nacional Departamento de Farmacia, Bogotá-Colombia.
- Escamilla Jiménez C. I., Cuevas Martínez E. Y., Guevara Fonseca J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. (*Rev Fac Med UNAM*) 52(2): 73-75.
- Escobar M., Hernández H. Y., & Barragán B. E. (2010). Extracción de compuestos fenólicos de cáscaras de cítricos producidos en México. (tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional de México, México D.F.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (2007). Composición fisicoquímica del chilacayote. Cultivos anuales. <http://www.fao.org/publications>.
- Ferrándiz M. L. & Alcaraz M. J. (1991). Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. (*Agents Actions*) 32: 283-286.
- Fraga C.S.; Galleano M.; Verstraeten S.V., & Oteiza, P. I. (2010). Basic biochemical mechanisms from oxidative stress by three distinct mechanisms. (*Mol Aspects Med.*) 31(6): 435-445.

- García M. C. (2008). Producción de biodiesel mediante fermentación en estado sólido de compuestos lignocelulósicos derivados del bagazo de remolacha. (*Corpoica, Ciencia y Tecnología*) 9: 66-72.
- Garibay B. C., & Martínez S. M., (2006). Estudio del efecto hipoglucémico de algunas plantas utilizadas en México para el control de la diabetes. (*Revista Salud Pública y nutricional*) edición especial No. 11.
- Gómez J., & Navas S. (2007). Recolección y Caracterización morfológica y molecular de accesiones de Sambo (*Cucúrbita Ficifolia*) en el cantón Cotacachi. (tesis de grado) Universidad Tecnológica Equinoccial Cotacachi, Ecuador.
- González D. M., & Yáñez Y. M. (2012). Diseño y construcción de un extractor sólido-líquido para la obtención de aceite de semillas de sambo y zapallo. (tesis de grado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba-Ecuador.
- González-Laredo R. F., Reyes-Navarrete M. G., Preza Y., Lerma A. M., Rosales-Castro M., Morales-Castro J., Gallegos-Infante J. A., & Rocha-Guzmán N. E. (2010). Evaluación del efecto antioxidante y quimio protector de extractos fenólicos de semillas de manzana. (tesis de doctoral). Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona.
- Harman D. A. (1997). A theory based on free radical and radiation chemistry. (*Journal of Gerontology*) 11: 298-300.
- Hertog M. G. L., Hollman P. C. H., & Katan M. B. (1996). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. (*Journal Agric Food Chem*) 41: 2379-2383.
- Hocman, G. (1988). Chemoprevention of cáncer: phenolic antioxidants (BHT, BHA). Int. (*Journal Biochem*) 20(7): 639-651.
- Hollman P. C., de Vries J. H., Van Leeuwen S. D., Mengelers M. J., & Katan M. B. (1995). Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. (*Am Journal Clin Nutr.*) 62: 1276-82
- Howard L. A., Wong A. D., Perry A. K., & Klein B. P. (2001). b-Carotene and ascorbic acid retention in fresh and processed vegetables. (*Journal of food science*) 64(5): 929–936. <http://www.colpos.mx/wb/index.php/inicio-consultas-cp-cordoba/ubicacion-cp-cordoba>

- Hunter Associates Laboratory, Inc. (2008). Technical Service Department Applications note. (*Hunter L, a, b color scale*) 8(7): 1-4.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geográfica). (2012). Anuario estadístico de Oaxaca. México.
- Ishige K., Shubert D., & Sagara Y. (2008). Flavonoids Project neuronal cells. Involvement of thromboxane A2 in the endothelium-dependent contractions induced by myricetin in rat isolated aorta. (*Br Journal Pharmacol*) 127: 1539-1544.
- Kalff, J., & Robinson, R. (1925). A synthesis of myricetin and of a galangin monomethyl ether occurring in galanga root. (*Journal Chem. Soc. Trans*) 127: 181–184.
- Kevers, C. Falkowski, M., Tabart, J., Defraigne, J.-O., Dommes, J., & Pincemail J. (2007). Evolution of Antioxidant Capacity during Storage of Selected Fruits and Vegetables. (*Journal of Agricultural and Food Chemistry*) 55: 8596-8603.
- Lampe, J. (1999). Health effects of vegetables and fruit: accessing mechanism of action in human experimental studies. (*Am. Journal Clin. Nutr*) 70: 475–490.
- Liu Y., & Gutterman DD. (2004). Oxidative stress and potassium channel function. (*Journal Clin Exp Pharmacol Physiol*) 29: 305-311.
- López-Camelo A. F., Gómez P. A. (2004). Comparison of color index for tomato repining (*SciELO analitycs, horticultura Brasileira*) 22(3): 534-537.
- López, J. C., & Tamayo, L. E. (2013). Estudio del efecto de la glucosa en la elaboración de mermelada a partir de mandarina (*citrus reticulada*) y sambo (*Cucúrbita ficifolia*), en la planta de frutas y hortalizas de la Universidad Estatal de Bolívar. (Tesis de pregrado) Universidad Tecnológica Equinoccial: Ciencias Económicas y Negocios. Bolivar, Ecuador.
- Lyseng-Williamson K. A., & Perry C. M. (2003). Micronised Purified Flavonoid Fraction: A Review of its use in Chronic Venous Insufficiency, Venous ulcers and Hemorrhoids. (*Drugs.*) 63: 71-100.
- Martínez & Calvo, S. (2010). Modelo formativo-capacítate para el análisis de situación de salud (tesis doctoral). La Habana: Escuela Nacional de Salud Pública y Universidad de Granada, Cuba.

- Martínez. W., Alvin A. & Arrázola G. (2012). Evaluación de las propiedades antioxidantes de 2 extractos de plantas aromáticas Limoncillo (*Cymbopogon citratus*) y Cúrcuma (*Curcuma longa*) y su aplicación en una matriz alimentaria. (*SciELO Información Tecnológica*) 23(2): 3-10.
- Martínez. (2008). Estudio del efecto hipoglucémico de algunas plantas utilizadas en México para el control de la diabetes. (*Revista salud pública y Nutrición edición especial*) 11: 1-6.
- Martínez-Flórez S. González-Gallego J. M. Culebras J. J., & Tuñón M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. (*Nutr. Hosp.*) 17(6): 271-278.
- Miller G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. (*Analytical Chemistry*) 31(3): 426-428.
- Molina S., Cordova-Vilchis J. F., Vazquez-Carrillo L., & Roman-Ramos R. (2006). Evaluation of the hypoglycemic effect of Cucurbita ficifolia Bouche. (*South African Journal of Botany*)116: 110-115.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. (*Journal. Sci. Technol*) 26: 211–219.
- Muñoz J. C., Alvarado-Ortiz L. T., Blanco B. B., Castañeda C. J., Ruiz Q. Á. & Alvarado Y. (1014). Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales (*Revista científica de América Latina*) 5(2): 26-11.
- Negrillo H., & Yapias C. P. M. (2014). Determinación de la cantidad de polifenoles y su actividad antioxidante en el zapallo Loche (*Cucúrbita mostacho*) fresco, sancochado y frito procedente del departamento de Lambayeque (tesis de grado) Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Perú.
- Nishitani, E., & Sagesaka Y.M. (2004). Simultaneous determination of catechins, caffeine and other phenolic compounds in tea using new HPLC method. (*Journal of Food Composition and Analysis*) 17: 675–685.
- Norma Mexicana NMX-F-103-1982. Alimentos. Frutas y Derivados. Determinación de grados Brix. Foods. Fruits and Derivatives. Determination of degrees Brix. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- Olmedilla B., & Granado F. (2007). Componentes bioactivos. Alimentos funcionales: aproximación a una nueva alimentación. (Guía de nutrición)

- Instituto de Nutrición y Trastornos alimentarios. (Dirección general de Salud Pública y alimentación). Madrid.
- Organización Mundial de Salud (OMS). (2013). Plan de acción mundial para la prevención y el control de las enfermedades. versión del 15 de marzo 2013.
- Ortega, D. (2013). Utilización de la pulpa de sambo (*Cucúrbita ficifolia*) en la elaboración de compotas como suplemento alimenticio infantil. (tesis de pregrado). Universidad Católica de Cuenca. Cuenca-Ecuador.
- Ozgo, S., Hermanek, J. & Gut, I. (2003). Different antioxidant effects of polyphenols on lipid peroxidation and hydroxyl radicals in the NADPH-, Fe-ascorbate- and Fe-microsomal systems. (*Biochem. Pharmacol*) 66: 1127–1137.
- Pauling L. (2016). The Discovery of the superoxide radical. (*Trends Bioch Sc*) 4: 270-271.
- Peña-Varela G. (2006). Contenido de antocianinas totales y actividad. (*Revista Chapingo serie de Horticultura*) 12(2): 159-163.
- Plata S. L. (2012). Extracción de compuestos fenólicos de interés hipoglucémico y antioxidante del chilacayote (*Cucúrbita ficifolia* Bouché). (tesis de posgrado en Biotecnología). Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. México.
- Prior R. L.; Wu X. & Schaich K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. (*Journal of Agricultural and Food Chemistry*) 53(10): 4290-4302.
- Quinteros, G. (2010). Caracterización física química y nutricional de tres morfotipos de sambo (*Cucúrbita Ficifolia*), cultivados en el cantón Cotacachi. (tesis de pregrado) Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito-Ecuador.
- Ramos F., Muños A. & Alvarado C. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. (*Revista Sociedad Química de Perú*) 73(3): 142-149.
- Rice-Evans A., Packer L. (2006). Los flavonoids: propiedades y acciones antioxidantes. (*Revista nutrition Hospitalaria*) 17(6): 271-278.
- Rivera F., Costa G., Abin A., Urbanavicius J., Arruti C. & Casanova G. (2008). Reduction of ischemic brain damage and increase of glutathione by a

- liposomal preparation of quercetin in permanent focal ischemia in rats. (*Revista Journal Neurotox Res*) 13: 105-114.
- Saeed Arayne M., Najma S., Agha Zeeshan M. M., Hashim Z. & Farhan-Ahmed S. (2007). Composición fisicoquímica del chilacayote (*Cucúrbita ficifolia*) (*Revista Pharm. Sci.*) 20: 261-268.
- Salah N., Miller N. J., Paganga G., Tiburg L. & Bolwell G. P. (2010). Rice Evans C. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. (*Arch Biochem Biophys.*) 32(2): 339-346.
- Salazar C., González, F. T., Vergara-Balderas, J. A., Guerrero-Beltrán. (2009). Evaluación de agentes antioxidantes de la flor de Jamaica microencapsulados. (*Revista Ingeniería de alimentos*) 3(2): 14-15.
- Sartor L., Pezzato E., Dell Aica I., Caniato R., Biggin S. & Garbisa, S. (2002). Inhibition of matrix-proteases by polyphenols: chemical insights for anti-inflammatory and anti-invasion drug design. (*Revista Biochem. Pharmacol*) 64: 229–237.
- Sebastián M. (2003). Antioxidantes Biomoleculares En Nutrición Animal–Calidad De La Carne Con Bioflavonoides. II Seminario internacional sobre producción, Mercado y Cualidades de Carne. Florianópolis SC. Brasil.
- Shah A. M. & Channon K. M. (2004). Free radicals and redox signalling in cardiovascular disease. (*Journal Heart*) 90(5): 486-487.
- Sharma S., Wyatt G. P. & Steele, V. E. (1997). A carcinogen DNA binding assay as a biomarker screen for identifying potential chemo-preventive agents. (*Methods in Cell Science*) 19: 45-48.
- Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera (SIAP). (2012). México <https://www.gob.mx/siap>.
- Soler-Rivas C.; Espin J. C. & Wichers H. J. (2000). An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. (*Phytochemical Amal*) 11: 330-338.
- Sudheesh, P. S., Jie K. & Xu H. S., (2002). Random amplified polymorphic DNA-PCR typing of *Vibrio parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* isolated from cultured shrimps. (*Revist Aquaculture*) 207: 11-17.
- Taitzoglou I. A., Tsantarliotou M., Zervos I., Kouretas, D. & Kokolis, N. A. (2001). Inhibition of human and ovine acrosomal enzymes by tannic acid in vitro. (*The Journal of the society Reproduction and fertility*) 121: 131-137.

- Tomas-Barberán F. A. & Clifford M. N. (2000). Dietary hydroxybenzoic acid derivatives: Nature, occurrence and Dietary burden. (*Journal sci Food Agric*) 80: 1024-1032.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. (*Chem. Biol. Interact*) 160: 1–40.
- Venereo Gutiérrez, J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidante. (*Rev. Cubana Med Mil*) 31(2): 126-133.
- Verde J. R. C., Cruz F. S., López A. V., & Espitia L. J. (2011). Estudio de la capacidad antioxidante del chilacayote (*Cucúrbita ficifolia* Bouché). UAM-Iztapalapa, Dpto. de Biotecnología, XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina 09340 México, D.F.
- Villanueva-Tiburcio J. E, Condenzo-Hoyos L. A. & Asquiere E. R. (2010). Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubi* McVaugh). (*Revista Ciencia e Technol. Alim*) 30: 151-160.
- Vuong, Q., Tan, S. P., Stathopoulos, C. E., & Roach, P. D. (2010). Improved extraction of green tea components from teabags using the microwave oven. (*Journal of Food Composition and Analysis*) 27(1): 95-101.
- Winkel-Shirley B. (2002). Flavonoid biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology. (*Revist Plant Physiol*) 126: 485-493.
- Xia T. & Wang Q. (2006). D-chiro-inositol found in *Cucurbita ficifolia* (Cucurbitaceae) fruit extracts plays the hypoglycaemic role in streptozocin-diabetic rats. (*Journal Pharm Pharmacol*) 58: 1527-1532.
- Yamamoto Y & Oue E. (2006). Antihypertensive effect of quercetin in rats fed with a high-fat high-sucrose diet. (*Revist Biosci Biotechnol Biochem*) 70(4): 933-939.

V. ANEXOS

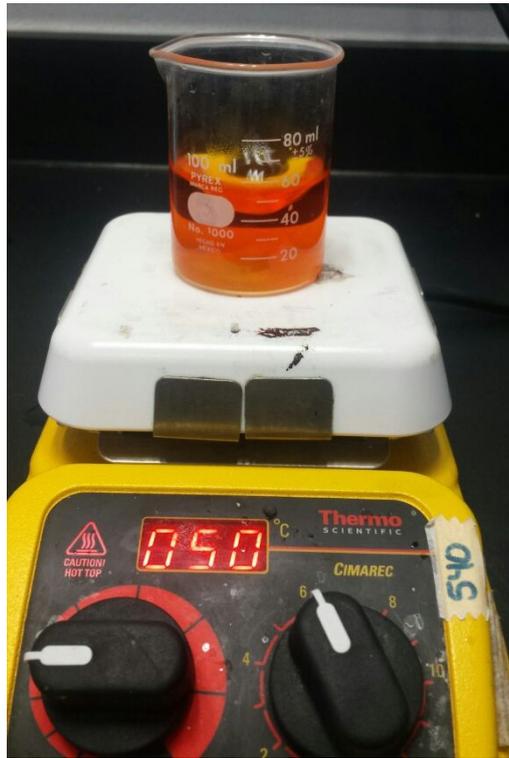


Figura 41. Preparación del DNS.

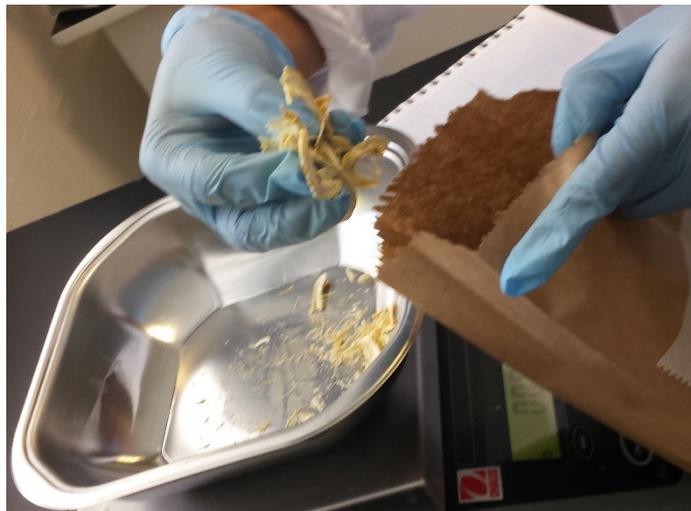


Figura 42. Peso de Chilacayote deshidratado.