

**SECRETARIA DE EDUCACIÓN SUPERIOR
TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ**



INFORME TÉCNICO DE RESIDENCIA PROFESIONAL

INGENIERÍA BIOQUÍMICA

PRESENTA:

WENDY YAMIN SOLIS HERNANDEZ

NOMBRE DEL PROYECTO:

**“DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTES EN PLANTAS COMESTIBLES NO
CONVENCIONALES DE LAS REGIONES RURALES DE CHIAPAS”**

PERIODO DE REALIZACIÓN:

Enero-Junio 2016

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	4
2. JUSTIFICACIÓN	6
3. OBJETIVOS	7
3.1. Objetivo general	7
3.2. Objetivos específicos	7
4. CARACTERIZACIÓN DEL AREA DE ESTUDIO	8
4.1. Nombre	8
4.2. Domicilio y ubicación	8
4.2.1. Laboratorio de alimentos del Instituto Tecnológico de Tuxtla	8
4.2.2. Laboratorio de calidad del agua	8
4.3. Misión del laboratorio de calidad del agua.	9
4.4. Visión del laboratorio de calidad del agua.	9
4.5. Misión del instituto Tecnológico de Tuxtla	9
4.6. Visión del Instituto Tecnológico de Tuxtla	9
5. PROBLEMAS A RESOLVER	10
6. ALCANCES Y LIMITACIONES.	10
6.1. Alcances	10
6.2. Limitaciones	10
7. FUNDAMENTO TEÓRICO	11
7.1. Oxígeno y radicales libres	11
7.2. Características de los antioxidantes	12
7.3. Tipos de antioxidantes en los alimentos	13
7.4. Chapaya o Chapay	14
7.5. Pacaya o Tepejilote	15
7.6. Hierba mora	16
7.7. Metodología para evaluar la actividad antioxidante	18
7.7.1. Método ABTS	18

7.7.2 Método FRAP	19
7.7.3 Método ORAC	19
7.7.4 Método del DPPH	19
8. PROCEDIMIENTO Y DESCRIPCION DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS	21
8.1. Preparación de las muestras	21
8.2. Curva de calibración y determinación de antioxidantes.	21
8.2.1. Preparación de disoluciones	21
8.2.2 Generación del radical ABTS	22
8.2.3 Metodología del ABTS	23
8.2.3.1. Procedimiento para la curva de calibración con Trolox	23
8.2.3.2. determinación de antioxidantes en las muestras	24
8.2.3.3. Fórmulas para la determinación de antioxidantes	24
8.3. Análisis bromatológicos	25
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
9.1. Curva de calibración de ABTS.	26
9.2. Resultados de actividad antioxidante en las muestras.	27
9.3. Resultados de los análisis bromatológicos	29
10. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	32
10.1 Conclusión	32
10.2. Recomendaciones	33
11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	34
12. ANEXOS	37
Anexo A. Reactivos	37

Anexo B. Metodología de análisis bromatológicos.	38
Anexo C. Cálculos	41
Anexo D. Imágenes	45

1. INTRODUCCION

Chiapas es un Estado rico en biodiversidad, se considera que en él habitan 50 por ciento de toda la flora y fauna conocida en el país. El territorio del estado de Chiapas cuenta con una gran variedad de especies vegetales dado que en dicho territorio existe vegetación tropical, de montaña, de terrenos planos, de lomeríos y de terrenos con altitudes de hasta 3 mil metros sobre el nivel del mar, entre las que destacan las maderas finas y otros tipos de vegetación (Orozco, 2013).

En la República Mexicana el Estado de Chiapas se caracteriza por ser uno de los Estados con mayor diversidad florística y étnica, se conoce que existen aproximadamente 135 alimentos de origen vegetal no convencionales pero actualmente se considera que puede ser superior a 200 el número de plantas silvestres comestibles que son aprovechadas mayormente por las poblaciones étnicas o son usadas para comercializarlas (Chávez, Roldan, Sotelo, Ballinas & López, 2009).

Por tanto, el conocimiento tradicional en relación al uso de las especies comestibles por los grupos indígenas es diverso, la mayoría de estas plantas son compradas en los mercados y en las calles del Estado, es decir, las plantas comestibles contribuyen a la economía familiar debido a su bajo costo en la obtención y la facilidad en la disponibilidad en las diferentes épocas del año (Caballero, 2011).

Lo relevante en este contexto es de acuerdo a Caballero (2011), la alimentación de las poblaciones indígenas de México. Lo cual sigue siendo un tema de interés, ya que está relacionada con los aspectos de nutrición, salud y desarrollo adecuado de los individuos. En un estudio realizado por Bertran (2006) se revisan las concepciones convencionales acerca de la alimentación de los indígenas y sugiere que no hay tal monotonía de la alimentación de estos grupos cuando la disponibilidad de alimentos es amplia.

Y si bien el maíz (*Zea mays*), el frijol (*Phaseolus vulgaris*) y el chile (*Capsicum spp.*) son los principales componentes de la dieta mesoamericana, los recursos vegetales en los que se incluyen a las plantas comestibles no convencionales desempeñan una función básica en la alimentación de éstas comunidades a partir de prácticas agrícolas y de recolección de gran arraigo.

Se estima que en México existen cerca de 7,000 especies de plantas útiles de las cuales la población rural mexicana, especialmente la indígena, reconoce y utiliza alrededor de 1,000 especies de plantas comestibles cultivadas y no cultivadas (Caballero, 2011).

Las plantas comestibles no convencionales aportan a la dieta básica indígena diversidad en sabores, olores y texturas, así como algunas vitaminas y minerales útiles en su alimentación (Basurto & Martínez, 1998). Y es aquí donde se sitúa la siguiente investigación, para determinar si aparte de todos los aportes nutricionales mencionados en las líneas anteriores también algunas de estas plantas tienen propiedades antioxidantes.

Lo cual es relevante ya que diferentes estudios científicos, de cultivos celulares y en animales indican que los antioxidantes pueden ralentizar o prevenir el desarrollo de algunas enfermedades, como el cáncer o las enfermedades cardiovasculares y otras degenerativas, como el alzhéimer o el propio envejecimiento (Díaz, 2002). Lo que es importante debido a que actualmente estas enfermedades son la principal causa de muerte entre la población.

Por tanto, en este trabajo se investigó el contenido de antioxidantes de tres especies vegetales comestibles no convencionales empleadas en la alimentación en Chiapas. Las cuales son Pacaya (*Chamaedorea tepejilote*), Chapaya (*Astrocaryum mexicanum*) y Hierba mora (*Solanum nigrum* L), ya que estas forman parte de la alimentación de las comunidades rurales del estado, que se obtienen de forma económica por ser plantas silvestres.

2. JUSTIFICACION

En la actualidad, en diferentes partes del mundo van sumándose el número de personas que presentan algún tipo de enfermedades cardiovasculares, degenerativas, alzhéimer o la más agresiva el cáncer. Esta última es de las más relevantes y de la que no hay cura confiable y permanente. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2015), el cáncer es una de las primeras causas de muerte a nivel mundial; en 2012 se le atribuyeron 8,2 millones de muertes.

Aproximadamente 30% de las muertes por cáncer se deben a cinco factores de riesgo comportamentales y alimentarios (índice de masa corporal elevado, consumo insuficiente de frutas y verduras, falta de actividad física y consumo de tabaco y alcohol) y, por lo tanto, pueden prevenirse, es decir, se pueden evitar (OMS, 2015).

Probablemente una de las mejores defensas contra este tipo de enfermedades es la prevención, que radica muchas veces en el cambio de los hábitos alimenticios o en la adición de agentes a la dieta humana que puedan reducir el riesgo de padecer alguna de estas enfermedades. Como lo enuncia la OMS, cuando escribe que 30% de los diferentes tumores cancerosos se pueden prevenir con un modo de vida sano.

Partiendo de este hecho es de suma importancia modificar los hábitos alimenticios que se llevan a cabo en la vida cotidiana de las personas y consumir en mayor cantidad alimentos que tengan un elevado valor nutricional y proporcionen agentes que pueden prevenir varios tipos de enfermedades.

Sobre todo si son alimentos que están al alcance y que no implican una inversión grande ya que proceden de zonas rurales donde contribuyen a las dietas de las poblaciones locales y en el caso de algunas comunidades esos alimentos desempeñan un papel importante en la nutrición.

Esto adquiere mayor relevancia cuando se ha evidenciado que algunos de estos alimentos no convencionales y sus constituyentes son fuente de antioxidantes; los cuales como se mencionó anteriormente, tienen la capacidad de capturar especies reactivas de oxígeno (Oliveira, 2014) y pueden ralentizar o prevenir el desarrollo de algunas enfermedades, como el cáncer o las enfermedades cardiovasculares y otras degenerativas, como el alzhéimer o el propio envejecimiento (Díaz, 2002).

En los últimos años el interés por los antioxidantes naturales se ha incrementado dramáticamente, debido principalmente a las siguientes razones: (1) la baja seguridad que ofrece el consumo de antioxidantes sintéticos, (2) la eficacia antioxidante de una variedad de agentes fotoquímicos, y (3) la idea generalizada de que el consumo de ciertos agentes fotoquímicos pueden afectar de manera positiva la patología de las enfermedades crónicas y el proceso de envejecimiento; además,(4) la creencia de que los compuestos naturales son

innatamente más seguros que los compuestos sintéticos y por consiguiente son comercialmente más aceptados (Oliveira, 2014).

Ante el estrés oxidativo el organismo responde con la defensa antioxidante, pero en determinadas ocasiones puede ser insuficiente, desencadenando diferentes procesos fisiológicos y fisiopatológicos. En la actualidad son muchos los procesos relacionados con la producción de radicales libres como son: mutagénesis, transformación celular, cáncer, arteriosclerosis, infarto de miocardio, diabetes, enfermedades inflamatorias, trastornos del sistema nervioso central, envejecimiento celular, etc.

Resulta pues, de interés evaluar la actividad antioxidante de tres de las plantas comestibles no convencionales del estado de Chiapas estas son la Pacaya (*Chamaedorea tepejilote*), la Chapaya (*Astrocaryum mexicanum*) y la Hierba mora (*Solanum nigrum* L).

Esta elección es debido a que son plantas que forman parte de la alimentación de las personas del estado principalmente de las comunidades rurales, por tanto es relevante saber el contenido de antioxidantes y ciertas propiedades bromatológicas presentes en esas especies comestibles no convencionales disponibles en el estado de Chiapas y así conocer nuevos agentes con propiedades antioxidantes que sean accesibles, naturales (no sintéticos) y que son recursos originarios de Chiapas.

3. OBJETIVOS

3.1. General

Determinar la actividad antioxidante y la composición bromatológica en tres plantas no convencionales que son utilizadas como alimentos en las regiones rurales del estado de Chiapas, como son la Chapaya, la Pacaya y la Hierba Mora.

3.2. Específicos

Establecer una metodología para preparación de las muestras

Adaptar y aplicar las técnicas para determinación de antioxidantes en plantas.

Determinar la composición bromatológica de cada planta en estudio.

4. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DONDE SE DESARROLLÓ EL PROYECTO

Para esta investigación fue necesario trabajar en dos laboratorios para llevar a cabo la determinación de antioxidantes y la composición bromatológica.

4.1 Nombre

- Laboratorio de Alimentos del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez (ITTG).
- Laboratorio de calidad del agua de la Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH).

4.2. Domicilio y ubicación

4.2.1. Laboratorio de alimentos- INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GTZ.

- El laboratorio de alimentos se encuentra en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez ubicado en la Carretera Panamericana. Km 1080, Terán, 29050, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

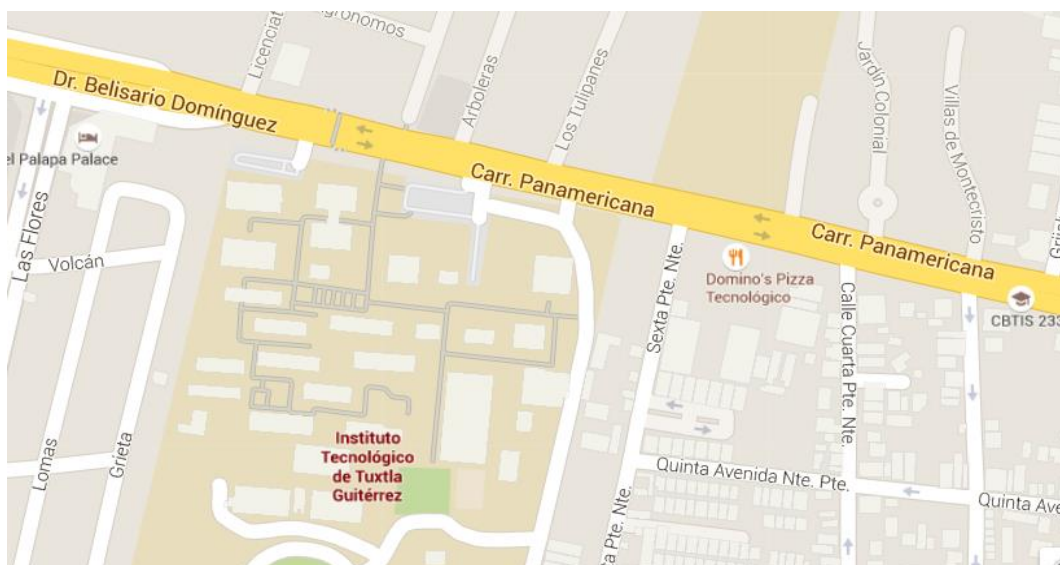


Figura 1. Ubicación geográfica del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Google INEGI 2016.

4.2.2. Laboratorio de calidad del agua-UNACH

- Este laboratorio se encuentra ubicado en la facultad de ingeniería civil de la Universidad Autónoma de Chiapas en Boulevard Belisario Domínguez Km 1081 s/n, Loma Bonita, 29050, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

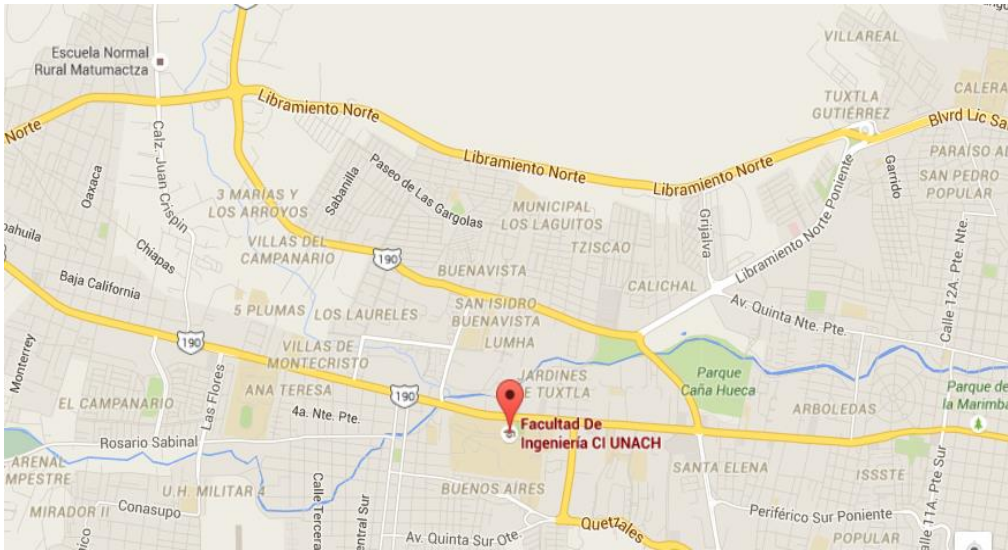


Figura 2. Ubicación geográfica de la Universidad Autónoma de Chiapas. Google INEGI 2016.

4.3. Misión del laboratorio de calidad del agua

Somos un laboratorio que sirve de plataforma académica, técnica y científica en el desarrollo educativo y de proyectos de investigación en el área de calidad del agua de la universidad, que presta sus servicios al sector externo con resultados confiables sobre la calidad de los cuerpos de agua, así como las fuentes de contaminación con el objeto de dotar con elementos de juicio a los usuarios que les permita llevar a cabo las medidas necesarias para preservar y mejorar la calidad del agua y ecosistemas acuáticos.

El laboratorio realiza análisis de parámetros físicos-químicos y microbiológicos en diversos tipos de muestras orientados al área de calidad del agua, siguiendo procedimientos normalizados a nivel internacional o propios validados en el laboratorio, generando resultados confiables con alta calidad.

4.4. Visión del laboratorio de calidad del agua

Ser un laboratorio con alto grado de excelencia en el desarrollo analítico sobre la calidad del agua, que cumpla con los requerimientos técnicos, proporcionando resultados confiables a través de una mejora continua.

4.5. Misión del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez

Formar de manera integral profesionistas de excelencia en el campo de la ciencia y la tecnología con actitud emprendedora, respeto al medio ambiente y apego a los valores éticos

4.6. Visión del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez

Ser una institución de excelencia en la educación superior tecnológica del sureste, comprometida con el desarrollo socioeconómico sustentable de la región

5. PROBLEMAS A RESOLVER

Debido al amplio reconocimiento científico de que un consumo mayor de alimentos ricos en antioxidantes redundaría en claros beneficios para la salud de la población, se pretende encontrar antioxidantes naturales en plantas comestibles no convencionales, debido a la importancia de conocer nuevos agentes con propiedades antioxidantes de origen natural y no sintéticos, así también a la facilidad de acceso a los recursos naturales propios.

Este trabajo tiene como finalidad conocer el valor agregado de las plantas comestibles no convencionales del estado de Chiapas, principalmente para poder aprovecharlos como alimentos, además de dar a conocer sus propiedades funcionales antioxidantes a la población.

En la actualidad, la demanda de antioxidantes cada vez es mayor ya que la gente busca fortalecerse con alimentos enriquecidos con antioxidantes para poder prevenir ciertas enfermedades.

También se podrá conocer si las plantas que son parte de la alimentación de las zonas rurales de Chiapas son benéficas para quienes las consumen, y si el contenido en antioxidantes es el mínimo recomendado por las organizaciones internacionales de salud como la FAO que hasta el 2004 pedía que fuera aproximadamente de 15 mg al día lo cual se define como el equivalente de 22 UI de vitamina E natural o 33 UI de vitamina E sintética.

6. ALCANCES Y LIMITACIONES

6.1 Alcances

En este proyecto se evaluaron las propiedades antioxidantes y bromatológicas de las plantas no convencionales que son parte fundamental de la alimentación de algunas regiones del estado de Chiapas.

6.2 Limitaciones

Las siguientes limitaciones restringieron la investigación durante su curso:

1.- Poca disposición del equipo necesario

Para la preparación de las muestras era necesario contar con centrifuga de altas revoluciones y el hecho de no contar con esta, fue un factor que retrasó el proceso de investigación.

2.- Sensibilidad de las muestras a la luz

Dado que las muestras para determinación de antioxidantes son muy sensibles a la luz y tienden a degradarse a la falta de oscuridad, fue necesario adaptar horarios en los que no hubiera demasiada luz del día.

7. FUNDAMENTO TEÓRICO

7.1 Oxígeno y radicales libres

El oxígeno está asociado a las condiciones de vida aerobia, representa la fuerza motriz para el mantenimiento del metabolismo y viabilidad celular al mismo tiempo que involucra un peligro potencial debido a las características paramagnéticas de este gas, responsable de la formación de intermediarios parcialmente reducidos y dotados de una reactividad alta conocidas como especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés). Lo cierto es que todos los seres vivos que consumen oxígeno para generar energía, liberan radicales libres (Troncoso, 2007).

A bajas concentraciones los radicales libres son necesarios para el buen funcionamiento celular pudiendo actuar como segundos mensajeros estimulando la proliferación celular y/o actuando como mediadores para la activación de las células. Sin embargo, un exceso de los mismos puede acumularse hasta niveles tóxicos dando como resultado que se produzcan diversas acciones sobre el metabolismo, que pueden dar origen al daño celular (Agudo, 2010).

En los orbitales, los electrones giran en pares con un espín particular, esto se conoce como máxima estabilidad natural; por tanto, si hay electrones desapareados en un orbital, se generan especies moleculares altamente reactivas que tienden a robar un electrón de cualquier otro átomo para compensar su deficiencia electrónica. El oxígeno forma principalmente radicales libres, ya que él tiene dos electrones desapareados.

En el organismo, estos radicales libres, pueden tener un origen endógeno o exógeno.

Entre las fuentes endógenas destacan:

- La cadena respiratoria, donde la reducción monovalente de la molécula de oxígeno da lugar a la formación de la mayoría de las especies reactivas de oxígeno (ROS).
- Las células fagocitarias (neutrófilos, monocitos o macrófagos), utilizan el sistema de la NADPH oxidasa generando directamente al ión superóxido ($O_2^{\bullet -}$). Por otra parte, como mecanismo de defensa, dichas células también generan óxido de nitrógeno (NO^{\bullet}), por acción de la óxido-nítricosintasa sobre la arginina intracelular. La combinación del $O_2^{\bullet -}$ con el NO^{\bullet} da lugar a la formación del peroxinitrito ($ONOO^-$) capaz de inducir peroxidación lipídica en las lipoproteínas.
- La autooxidación de compuestos de carbono tales como aminoácidos, proteínas, lípidos, glucósidos y ácidos nucleicos dan lugar también a la formación de estos radicales.
- La activación catalítica de diversas enzimas del metabolismo intermediario como la hipoxantina, xantina oxidasa, aldehído oxidasa, mono amino oxidasa y ciclooxigenasa, lipoxigenasa, son fuentes representativas de esta producción (Trejo, 2008).

Las fuentes exógenas de radicales libres pueden ser:

- Ambientales. Radiación electromagnética, luz solar, ozono, tabaco, etc.
- Farmacológicas. Xenobióticos, drogas, etc.

- Nutricionales. Contaminantes, aditivos, pesticidas, etc. (Trejo, 2008).

Entre las especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes más comunes y de mayor importancia biológica están el radical hidroxilo, el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno, este último que, a pesar de no tener electrones desapareados, ya que no es propiamente un radical libre, se encuentra estrechamente relacionado con la generación de radicales hidroxilo, el cual reacciona rápidamente con casi todo tipo de moléculas en los seres vivos, tales como lípidos, proteínas y el ácido desoxirribonucleico (ADN).

Los radicales libres están íntimamente relacionados con la salud, ya que los compuestos generados en este proceso de oxidación de biomoléculas se han relacionado con una gran cantidad de enfermedades, fundamentalmente procesos degenerativos, como la enfermedad cardiovascular, ciertos tipos de cáncer (debido a las mutaciones que producen en el ADN y a que favorecen la proliferación celular al alterar factores de transcripción), patologías asociadas a un deterioro del sistema cognitivo como el Alzheimer, etc. (Tovar, 2013).

Cabe mencionar que los radicales libres no son completamente dañinos, ya que el propio organismo los fabrica en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus. Los radicales libres producidos por el cuerpo para llevar a cabo determinadas funciones son neutralizados fácilmente por el sistema antioxidante propio de cada organismo.

El problema para las células se produce cuando se da un exceso sostenido de radicales libres en nuestro sistema, a través de los años, situación en la cual el sistema antioxidante requiere de los antioxidantes de la dieta (Oliveira, 2014).

Cuando un antioxidante logra entrar al cuerpo, principalmente por medio de los alimentos, desacelera o hasta evita la oxidación de otras moléculas.

En el organismo se produce un equilibrio entre oxidantes/antioxidantes, cuando este equilibrio se rompe a favor de los oxidantes se produce un estrés oxidativo el cual está implicado en muchos procesos fisiopatológicos. Por tanto, es de vital importancia el consumo de alimentos que contengan antioxidantes naturales y de esta manera se pueda mantener el equilibrio entre oxidantes/antioxidantes o incluso esté a favor de los antioxidantes. Además, si se tiene en cuenta que durante la vida se produce un equilibrio entre oxidantes y antioxidantes, y a medida que el individuo envejece dicho balance está a favor de los oxidantes, es de vital importancia un consumo de alimentos ricos en antioxidantes naturales para contrarrestarlos (Martínez, 2007).

7.2. Características de los Antioxidantes

Las principales características de un compuesto o sistema antioxidante son, la prevención o detección de una cadena de propagación oxidativa, mediante la estabilización del radical generado y la regeneración del antioxidante radicalario ayudando así a reducir el daño oxidativo en el cuerpo humano

Los antioxidantes pueden actuar:

- Previniendo la formación de ROS.
- Interceptando el ataque de ROS.
- Secuestrando los metabolitos reactivos y convirtiéndolos en moléculas menos reactivas.
- Facilitando la reparación del daño causado por ROS.
- Manteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes.
- Amplificando la resistencia de las dianas biológicas sensibles al ataque de ROS.

Según el modo de acción, los antioxidantes se clasifican en primarios, secundarios ó terciarios:

- Primarios: Impiden la formación de radicales libres, frenan la reacción en cadena de los radicales libres, especialmente de las especies reactivas del oxígeno (ROS) o son quelantes de metales de transición. Se comportan como captadores de estos ROS.
- Secundarios: Interrumpen la reacción de propagación de los radicales libres o desplazan las especies reactivas del oxígeno (ácido ascórbico, carotenoides, glutatión y la mayoría de las enzimas antioxidantes).
- Terciarios: Reparar el daño causado a las moléculas por los radicales libres o eliminan aquéllas que se han estropeado (Agudo, 2010).

7.3 Tipos de antioxidantes en los alimentos

De acuerdo a Gutiérrez (2007), existen tres grupos de antioxidantes importantes que son: las vitaminas C y E y los carotenoides que se pueden obtener en los alimentos.

La vitamina C: Esta vitamina (también llamada ácido ascórbico) atrapa a los radicales libres en la sangre (corazón y las arterias) y otros líquidos, como los de los pulmones o los ojos. Se ha demostrado que la vitamina C detiene a los radicales libres antes que otros compuestos antioxidantes.

Igualmente, muchos estudios han descubierto que el consumo de vitamina C reduce no sólo el riesgo de sufrir enfermedades cardíacas al impedir que los radicales libres intervengan en la acumulación del colesterol LDL o malo en las paredes de las arterias sino que también puede estar relacionada con un menor riesgo de sufrir cáncer de estómago.

El ácido ascórbico o vitamina C es uno de los antioxidantes hidrosolubles que se encuentra en mayor concentración en el plasma de la sangre humana, actúa modificando las moléculas de superóxido y de otras formas reactivas de oxígeno, a los cuales cede un electrón para estabilizarlos, protegiendo de esta manera a los lípidos del daño oxidativo (ecoagricultor, s/f).

La vitamina E: Mientras que la vitamina C trabaja en los líquidos del cuerpo, la vitamina E (también conocida como alfa tocoferol) se adentra en los tejidos adiposos (grasa) del cuerpo con el fin de protegerlo contra la invasión de los radicales libres.

En el organismo, este antioxidante, soluble en grasa, ayuda a evitar que el colesterol LDL o malo se oxide y produzca arterosclerosis. Algunos estudios han demostrado que las personas que consumen abundante vitamina E tienen menos probabilidades de morir de derrame cerebral, enfermedades cardíacas y enfermedades pulmonares que las personas con el menor consumo.

El betacaroteno: Es liposoluble y dentro del organismo se convierte en vitamina A, potente antioxidante presente en vegetales verdes (espinaca, acelga) y amarillos (zanahoria y ajo entre otros). Es un pigmento de naturaleza carotenoide entre amarillo y anaranjado que se transforma en vitamina A en el cuerpo. Según estudios, los carotenoides presentes en las frutas y las verduras, como el licopeno, la luteína y la zeaxantina, prometen reducir el riesgo de sufrir enfermedades cardíacas y otras afecciones.

Por otro lado, se sabe que el beta-caroteno puede mejorar el sistema inmunológico, por lo que consumir vegetales ricos en este pigmento, puede ser muy importante para aquellas personas con problemas relacionados con las defensas. Su carácter de potenciador de vitamina A, le hace un elemento muy beneficioso para la vista, la formación de los huesos y de los glóbulos rojos.

Las frutas y las hojas de las plantas son fuente de una gran diversidad de compuestos con notables propiedades antioxidantes, que son de particular importancia para el ser humano ya que constituyen un elemento protector frente al efecto nocivo de los radicales libres. Los antioxidantes derivados de las plantas desde el punto de vista fitoquímico pueden ser taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavones, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas los cuales debido a sus propiedades redox pueden actuar como donadores de hidrógenos y de esta manera prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas (Martínez, 2007).

Por esta razón es que resulta importante determinar la capacidad antioxidante de algunas de las plantas comestibles no convencionales propias del estado de Chiapas. De las cuales se desconocen su valor nutricional, lo cual deriva a la poca importancia que reciben una amplia variedad de plantas que pueden contribuir en parte a la solución de la problemática alimentaria del país y representar una oportunidad de consumir una dieta saludable.

7.4. Chapaya ó Chapay

Su nombre científico es *Astrocaryum mexicanum*, es una especie perteneciente a la familia de las palmeras (Arecaceae). Tiene una altura de 1,5 a 3 m, aunque en México pueden llegar hasta a los 6 metros, con espinas de hasta 6 cm de largo agrupadas en discos. Los perfiles (hojas jóvenes) son simples, los gnomófilos (hojas maduras), son pinnadas de hasta 1,6 m con

de 15 a 35 pares de pinnas de 40-100 cm de largo. Las inflorescencias son de color amarillo muy pálido de 15-30 cm de largo, espinosas, con flores femeninas en la base, y flores masculinas agrupadas sus frutos son globosos de 4 cm de largo, marrones y cubiertos por muchas espinas pequeñas, el endosperma es comestible. Las semillas tardan 2 meses en germinar.

Es muy abundante en ciertas partes de las selvas altas siempre verde de la región norte y centro del estado. Su nombre común es Chapaya, Tzitzún, chapay o chichón. Es muy decorativa, aunque es recomendable ubicarla en sitios poco transitados por sus espinas (Gispert, Rodríguez & González, 2002).

El término chapaya(a) puede ser usado para referirse a la palma completa, o bien, sólo a la inflorescencia, ya que en algunos casos se dice que “chapaya(a) es la flor de la palma también llamada chichón.

La parte comestible son las inflorescencias las cuales comúnmente son cocinados con huevo, asados y guisados con tomates. En algunos lugares también se usa como sustituto de carne en platillos que se preparan en la época de cuaresma (Centurión, Cázares & Espinosa, 2003).

Las siguientes imágenes son fotografías de esta inflorescencia, en la figura 3 se puede observar la forma espinosa de la cascara y en la figura 4 puede apreciarse la inflorescencia de esta planta.



Figura 3. Chapaya con cascara



Figura 4. Chapaya sin cascara

7.5. Pacaya ó Tepejilote

Planta silvestre que se reproduce en las partes altas del Estado, nace en la serranía y que por muchos años se ha convertido en el principal alimento de los nativos de esta región y que poco a poco se ha encontrado la forma de prepararlo para su consumo.

Son palmas que se encuentran en colonias, con tallos cortos horizontales en o a nivel del suelo, formando grupos densos o abiertos, hasta de 6 m de alto y 2–6 cm de diámetro, con entrenudos de 5–30 cm de largo. Las hojas 4–6 cm, son erecto-patentes, pinnadas de 1–2 m de largo, vaina tubular, de 20–60 cm de largo, con una extensión alargada triangular opuesta a la inserción del pecíolo, formando lobos auriculados a cada lado del pecíolo, pecíolo de hasta 35 cm de largo, abaxialmente con una banda pálida que se extiende hasta la

vaina. Inflorescencias infrafoliares, solitarias, con pedúnculo de 20–45 cm de largo, erecto en flor.

Del tepejilote cuyo nombre científico es (*Chamaedorea tepejilote Liebm*) se conocen entre 45 y 50 variedades en México, por lo que se considera el país con mayor diversidad de especies de este género. Oaxaca y Chiapas son los estados donde se concentran la mayor parte de las especies mexicanas del género (Montejo, 2012).

A lo largo de su distribución en México se le conoce con varios nombres como: tepejilote, pacaya, guaya, chi ib, caña verde, ixquil, quib, chimp, bojon, aula-te, chem-chem, ternero pacaya grande y elote de monte.

El nombre tepejilote deriva de una voz náhuatl y que significa “espiga de monte”, tal vez porque sus inflorescencias asemejan espigas de maíz y son comestibles; la inflorescencia del tepejilote ha sido desde mucho tiempo alimento tradicional de las comunidades indígenas de Mesoamérica. En la región de estudio, el tepejilote constituye una opción alimentaria en los meses de noviembre a enero que es cuando la planta produce una vaina que ya alcanzando la madurez se abre en forma de espiga para posteriormente producir semillas.

La inflorescencia del tepejilote se consume tierno, porque al alcanzar la madurez adquiere un sabor amargo, en los tiempos ancestrales este producto tropical era consumido sólo asado en las brasas y poco a poco se ha ido buscando la forma de prepararlo para darle un valor agregado; por lo que se puede encontrar en escabeche, capeado, en salsa de tomate, guisado con huevos, encurtido con vinagre, etc. (Fajardo, 2010).

En las siguientes figuras se observan las inflorescencias de la pacaya



Figura 5. Mazorca de pacaya o tepejilote



Figura 6. Parte comestible del tepejilote

7.6. La hierba mora

La hierba mora *Solanum nigrum L* pertenece a la familia de las solanáceas. Suele considerarse una mala hierba por su persistencia crece en forma silvestre. Puede llegar a medir hasta 60 cm de altura. Sus hojas son ovales o rómbicas, enteras o finamente lobuladas, de peciolo corto. Las flores agrupadas en cimas penduculadas; blancas de hasta 1.5 cm de diámetro y con las anteras muy destacadas formando un cono amarillo. Los frutos en baya de

hasta 1cm de diámetro, verdes o negros. Habita en climas cálido, semicálido, seco y templado entre los 10 los 800msnm y entre los 2000 y 3900 msnm. Hierba silvestre, crece en terrenos de cultivo abandonados, a orillas de caminos y arroyos, asociada a vegetación perturbada de bosques tropicales caducifolios, subcaducifolio, subperennifolio y perennifolio, matorral xerófilo subtropical, pastizal y bosques mesófilo de montaña, mixto de encino-pino y de junípero (Sánchez, 2009).

- Uso medicinal de la hierba mora

El uso medicinal más generalizado de la hierba mora es para resolver problemas de tipo dermatológico en niños, manchas, sarna y tiña; de igual importancia es su utilidad para curar o tratar diversos desajustes gástricos como bilis, cirrosis, derrame de bilis, estreñimiento, problemas del hígado e infecciones estomacales, entre otras. Se recomienda con frecuencia para sanar granos, erisipela y dolor de estómago.

Una horchata hecha con el fruto de esta planta y jugo de limón se toma contra la calentura o el "empacho de comida", el cual produce "dolor de estómago y diarrea muy fuerte" también se usa para el dolor de estómago, que "es ocasionado por un coraje o por comer demasiado.

De acuerdo a Romero (2012) los componentes activos de la hierba mora son:

- Alcaloides: solanina, solasonina, solanigrina, asparagina.
- Taninos
- Ácido cítrico
- Nitratos

- Toxicidad de la hierba mora

Esta planta contiene algunos componentes muy tóxicos en las hojas y el fruto por lo que se debe usar con precaución. No deben consumir esta hierba las mujeres embarazadas porque puede provocar un aborto así como tampoco mujeres en periodo de lactancia y niños pequeños. Una sobredosis con hierba mora genera vómitos, fiebre, dolor de estómago, vértigo, parálisis y en los casos más graves problemas cardíacos que pueden ocasionar la muerte.

- Propiedades alimentarias

Se considera una planta comestible, sus hojas se consumen como alimento ya que después de una hora de cocción pierden sus propiedades tóxicas. Para su consumo se utilizan las hojas jóvenes como verduras en sopas, guisos, hervidas con sal y tomates, como plato principal o como complemento de otros alimentos (Sánchez, 2009).



Figura 7. Hierba Mora

7.7. Metodología para evaluar la actividad antioxidante

El creciente interés por los posibles efectos benéficos de los antioxidantes ha hecho que se desarrollen una gran cantidad de métodos para determinar la capacidad antioxidante de extractos de alimentos. Sin embargo, la realidad es que no existe ningún método en la actualidad que reúna las características que debería reunir un procedimiento estandarizado. Esto se debe a varias razones; en primer lugar, los antioxidantes pueden ejercer su acción mediante mecanismos muy diversos pueden suprimir la generación de los primeros radicales que inician el daño oxidativo, capturar radicales libres, quelar metales, formar complejos, reducir algunos compuestos, inducir la actividad de sistemas biológicos antioxidantes y en un mismo alimento puede haber mezclas de diferentes antioxidantes con distintos mecanismos de acción y entre los que, además, se pueden establecer reacciones sinérgicas (Pérez, 2007).

Las medidas de la actividad antirradicalaria se pueden realizar mediante dos estrategias distintas, en función de la información que se desea obtener:

1.- Determinación directa: El radical se emplea como un factor de cuantificación (produce una señal analítica). La adición del antioxidante, antes o después de la generación del radical, provoca una disminución de la señal. En el ensayo de post-adición se forma el radical en ausencia de la muestra y así, cuando se añade la sustancia antioxidante se produce un descenso en la señal debido a la disminución de la concentración del radical. En ensayos de inhibición, la muestra se añade a los sustratos de oxidación antes que sea generado el radical, La reacción comienza con la adición del oxidante ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolína) - 6 - sulfónico).

2.- Determinación indirecta: La presencia de radicales libres produce la pérdida o aparición de un reactivo, y por tanto, en presencia de un antioxidante se provoca el aumento o disminución de la señal (métodos, ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno), FRAP (ferric reducing/antioxidant power), etc) (Oliveira, 2014).

7.7.1 Método del ABTS•+ (ácido 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico)

Este método está basado en la capacidad de los antioxidantes para capturar el radical catiónico ABTS•+ el cual se genera a partir de su precursor el Ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS). El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde-azulado, estable y con un espectro de absorción en el UV-visible.

La ventaja de este ensayo es que puede realizarse tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, eligiendo el disolvente apropiado en cada caso.

Existen varios métodos de generación del radical ABTS•+:

- Enzimáticamente (mioglobina, peroxidasa de rábano).
- Químicamente (Dióxido de manganeso, persulfato potásico, radicales peroxilo).
- Electroquímicamente (Agudo, 2010).

7.7.2 Análisis del poder reductor férrico/antioxidante (FRAP)

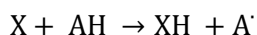
En este método se determina la capacidad antioxidante de forma indirecta. Se basa en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el Fe³⁺ a Fe²⁺ este último que tiene menor poder antioxidante. El complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido al complejo ferroso coloreado.

Se trata de un método espectrofotométrico ya que se mide la absorbancia del Fe²⁺. Así, cuanto más antioxidante es la sustancia objeto de estudio, mayor es la reducción y mayor la concentración de Fe²⁺ y más alta la señal de absorbancia. El complejo va a poder ser reducido por productos con potenciales redox menores a 0,7 V (potencial redox del Fe³⁺ -TPTZ(2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina)).

Debido a que el potencial redox del Fe³⁺-TPTZ es comparable con el del ABTS se pueden analizar compuestos similares con ambos métodos aunque las condiciones de la reacción sean distintas. El mecanismo del FRAP es de transferencia de electrones, a diferencia de otros métodos donde se produce captura de radicales libres, según esto, el FRAP puede ser útil, en combinación con otros métodos, en la determinación de la capacidad antioxidante de productos que contengan distintos tipos de antioxidantes (Martínez, 2007).

7.7.3 Método ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno).

El fundamento del método ORAC se basa en la habilidad que tienen los compuestos antioxidantes para bloquear radicales libres por donación de un átomo de hidrógeno:



En este método, el radical artificial AAPH (2,2'-Azobis-(2-aminopropano)-dihidrocloruro) oxida a la fluoresceína de forma que esta pierde su fluorescencia. De esta forma, las sustancias antioxidantes presentes en el extracto obtenido a partir del alimento disminuirían dicha pérdida de fluorescencia (Martínez, 2007).

7.7.4 Método del DPPH• (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil)

La reducción del DPPH• se monitorea por la disminución en la absorbancia a una longitud de onda característica. En su forma de radical libre, el DPPH• absorbe a 515 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece. En consecuencia, la desaparición del DPPH• proporciona un índice para estimar la capacidad del compuesto de prueba para atrapar radicales.

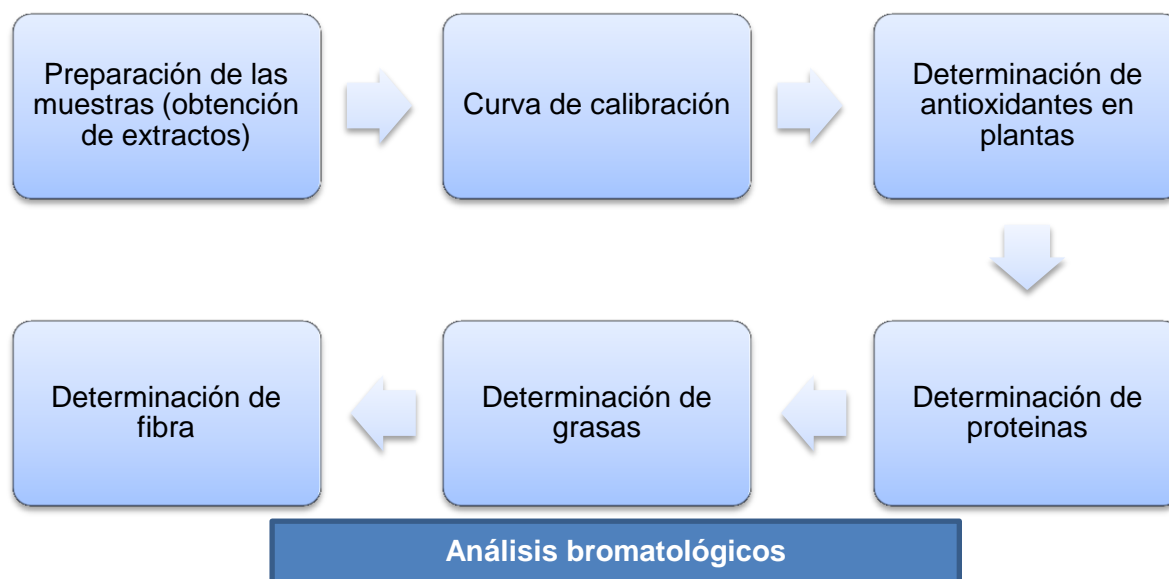
En el presente trabajo, se ha realizado análisis por el método ABTS•+ generando el radical mediante reacción química utilizando persulfato de potasio.

La oxidación con persulfato potásico se lleva a cabo a temperatura ambiente, en ausencia de luz, en un tiempo de 12 a 16 h.

El persulfato potásico y el ABTS reaccionan estequiométricamente produciendo un cromoforo azul verdoso con absorbancias máximas a longitudes de onda de 415, 645, 734 y 815 nm (Martínez, 2007).

8. PROCEDIMIENTO Y DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS

Se llevó a cabo una serie de actividades para realizar las diferentes determinaciones necesarias para el cumplimiento de los objetivos de esta investigación. De forma general se contemplan tres momentos relevantes, el primero es la preparación de las muestras de la chapaya, pacaya y hierba mora, para obtener los extractos de cada una de ellas. Un segundo momento que es la realización de la curva de calibración con un oxidante que en este caso es al ABTS●+ y un antioxidante que es el Trolox para este método. Un tercer momento es la determinación de la capacidad antioxidante de las muestras, así como el análisis de la composición bromatológica. A continuación, se sintetizan en un diagrama estas actividades y posteriormente se describen los procedimientos que se realizaron para cada apartado.



8.1. Preparación de la muestra para obtener su extracto

La extracción de antioxidantes se realizó sobre muestras de polvo seco del material vegetal (Pérez y Saura, 2007). La preparación de la muestra para la obtención del extracto se llevó a cabo de acuerdo al método propuesto por Trejo (2008). La metodología es la siguiente:

- 1.- La muestra se secó en horno a una temperatura de 55-60°C.
- 2.- Se trituró el material seco usando un mortero, teniendo cuidado de no calentar la muestra.
- 3.- Se pesaron 0.5 gr de muestra seca en un tubo para centrifuga.
- 4.- Se agregaron 2 ml de metanol al 80%.

- 5.- Se agitó en vortex durante un minuto.
- 6.- Se centrifugó a 1500 rpm durante 15 minutos.
- 7.- Se recuperó el sobrenadante y se transfirió a otro tubo.
- 8.- Se agregó a la muestra sedimentada 500 µl de metanol al 100%.
- 9.- Se agitó en vortex durante 1 minuto.
- 10.- Se centrifugó a 1500 rpm durante 15 minutos.
- 11.-Se recuperó el sobrenadante y se transfirió al tubo con el sobrenadante obtenido en la primera centrifugación.
- 12.- Proteger de la luz y mantener a 4° hasta su análisis.

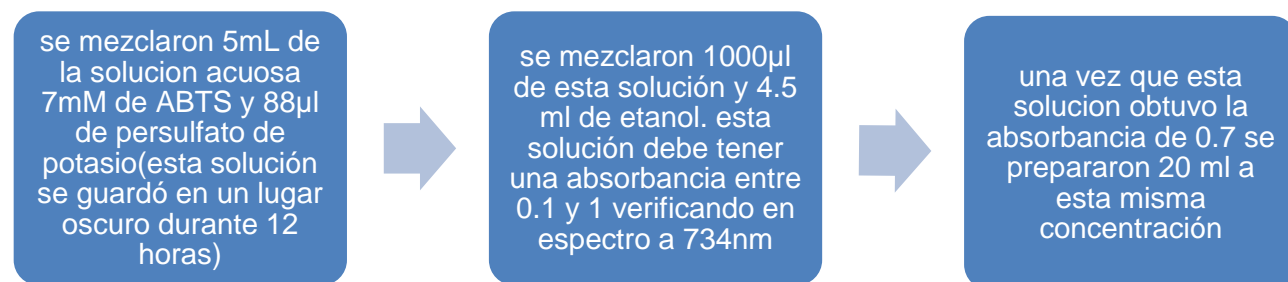
8.2. Curva de calibración y determinación de antioxidantes

La preparación de la curva de calibración y la determinación de antioxidantes se llevó a cabo de acuerdo al método propuesto por Trejo (2008). La metodología es la siguiente:

8.2.1. Preparación de disoluciones

- Solución estándar de Trolox 1 mM (ácido - 6 -hidroxi - 2 , 5 , 7 , 8 tetrametilcromano - 2- carboxílico).
- Solución acuosa 7 mM de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico).
- Solución acuosa 140 mM de persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$).
- Generación del radical ABTS.

8.2.2 Generación del radical ABTS



8.2.3. Metodología del abts•+ (ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico).

El método ABTS consiste en la generación del radical $ABTS^{+\bullet}$, por la reacción entre el ABTS y el persulfato de potasio para producir un cromóforo azul verdoso con absorciones máximas a longitudes de onda de 415, 645, 734 y 815 nm. En presencia de antioxidantes se produce una disminución de la absorbancia del radical $ABTS^{+\bullet}$; los resultados suelen ser expresados como $\mu\text{mol Trolox/g}$ material analizado.

En este método es necesario realizar una curva de calibración con Trolox (ácido-6-hidroxi-2, 5, 7, 8 tetrametilcromano-2- carboxílico) esto sirve para verificar la linealidad entre la curva de calibración y las lecturas de las muestras.

8.2.3.1 Procedimiento para la curva de calibración con Trolox (ácido-6-hidroxi-2, 5, 7, 8 tetrametilcromano-2- carboxílico)

1. Se debe preparar una solución estándar de Trolox 1 mM con metanol (solución T). Esta debe protegerse de la luz y es estable durante 6 meses a -20°C .
2. Para preparar las concentraciones deseadas se tomó un volumen de la solución **T** y se añadió metanol de acuerdo a la siguiente tabla:

Cuadro 1

Concentraciones de Trolox para la curva de calibración

CONCENTRACION TROLOX (μM)	μL de la solución T	μL de METANOL 80%
50	50	950
100	100	900
200	200	800
300	300	700
400	400	600
500	500	500
600	600	400
700	700	300
800	800	200

3. Las diferentes concentraciones se prepararon en tubos de ensayo forrados con papel aluminio para evitar el contacto con la luz.
4. Una vez preparada cada concentración se tomaron $160\mu\text{l}$ de cada una de estas y se pasaron a otro tubo de ensayo debidamente forrado.
- 5.- Se adicionaron $1840\mu\text{l}$ de la solución B de ABTS para ajustar a 2ml.
- 6.- Se agitaron y se dejó reposar cada tubo durante 7 minutos

7.- Se leyó en espectrofotómetro a 734nm.

Con esta técnica se pueden obtener los porcentajes de inhibición para cada muestra, estos se obtienen al comparar los cambios de la absorbancia del control (solvente +ABTS) con respecto a los cambios de la absorbancia del control o desaparición del color azul característico del reactivo de ABTS al reaccionar con una muestra, significa que la muestra tiene capacidad de inhibir al oxidante. Este cambio de coloración se indica por una disminución en la absorbancia de la muestra a 734nm.

8.2.3.2. Determinación de antioxidantes en los extractos de las muestras

La determinación de antioxidantes en las muestras, se llevó a cabo con los extractos obtenidos de cada planta en estudio (ver punto 8.1), se tomaron 160µl de muestra y se mezclaron con 1840 µl del radical ABTS. Se dejaron reposar por 7 minutos, posteriormente se leyó la absorbancia en espectrofotómetro a 734 nm. A partir de los datos de absorbancia obtenidos se realizaron los cálculos para determinar la actividad antioxidante de cada muestra.

8.2.3.3. Formulas para obtener la capacidad antioxidante

% inhibición = [(Abs control – Abs muestra)/Abs control]* 100

- $TE_{CELDA} = (\%inhibición-b)/m$

Dónde:

TE_{CELDA} es la actividad antioxidante equivalente a trolox en el volumen total de la celda

b es la ordenada al origen

m es la pendiente

- $TE_{EXTRACTO\ DILUIDO} = (TE_{CELDA} \times VOL_{CELDA}) / VOL_{EXTRACTO\ LÍQUIDO}$

Dónde:

$TE_{EXTRACTO\ DILUIDO}$ es la actividad antioxidante equivalente a trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, 97%) del extracto diluido

TE_{CELDA} es la actividad antioxidante equivalente a Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, 97%) en el volumen total de la celda VOL_{CELDA} (µL) es el volumen total en la celda

$VOL_{EXTRACTO\ LÍQUIDO}$ (µL) es el volumen de extracto diluido añadido a la celda.

- $TE_{EXTRACTO} = TE_{EXTRACTO\ DILUIDO} \times FD$

Dónde:

TE_{EXTRACTO} es la actividad antioxidante equivalente al trolox(6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, 97%) del extracto en metanol obtenido a partir del fruto fresco

TE_{EXTRACTO DILUIDO} es la actividad antioxidante equivalente a Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, 97%) del extracto diluido

FD es el factor de dilución (Volumen final/Volumen de extracto en metanol)

- **µmoles equivalentes a trolox = (TE_{EXTRACTO} x VOL_{EXTRACTO}) / (1000000 X M_{MUESTRA})**

Dónde:

TE_{EXTRACTO} es la actividad antioxidante equivalente al Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, 97%) del extracto en metanol obtenido a partir de la muestra seca

VOL_{EXTRACTO} (µL) es el volumen total del extracto en metanol obtenido a partir de la muestra seca

M_{MUESTRA} es el peso de la muestra a partir de la cual se obtuvo el extracto en metanol.

8.3 Análisis bromatológicos

Se realizaron análisis bromatológico con cada muestra, el cual consistió en la determinación de proteínas por el método de micro kjeldahl según la NMX-F-068S-1980, se llevó a cabo también la determinación de fibra cruda por el método de Kennedy modificado y además se determinó el contenido de grasas en cada planta, siguiendo la metodología que indica la NMX-F-89-S-1978. Las metodologías mencionadas se describen paso a paso en el anexo B.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Curva de calibración de ABTS

Cuadro 2

Datos obtenidos para la curva de calibración

Concentración de Trolox μM	Absorbancia	%inhibición	$\mu\text{moles eq. A Trolox/g de muestra}$
50	0.480	30.90	0.987
100	0.484	31.28	1.231
200	0.443	54.15	15.929
300	0.277	56.57	17.484
400	0.231	61.55	20.685
500	0.129	62.96	21.591
600	0.155	74.96	29.303
700	0.008	81.60	33.570
800	0.018	94.25	41.700

Los datos que aparecen en la tabla anterior fueron calculados a partir de las lecturas en el espectrofotómetro, tomando en cuenta la lectura del control (0.783nm) es posible calcular el % de inhibición de cada concentración y con respecto a eso se procede a calcular la actividad antioxidante reportada en μmoles equivalentes a Trolox/g de muestra (ver cálculos en anexo C).

Como puede observarse en el cuadro 2, a mayor concentración de Trolox, la absorbancia disminuye y el porcentaje de inhibición es mayor. Esto se debe a que el Trolox funciona como antioxidante y al encontrarse una mayor concentración de este, el oxidante (ABTS) es inhibido y el color azul característico de este reactivo disminuye acorde a las concentraciones.



Figura 8. Diferentes concentraciones para la curva de calibración

Curva de calibración de ABTS

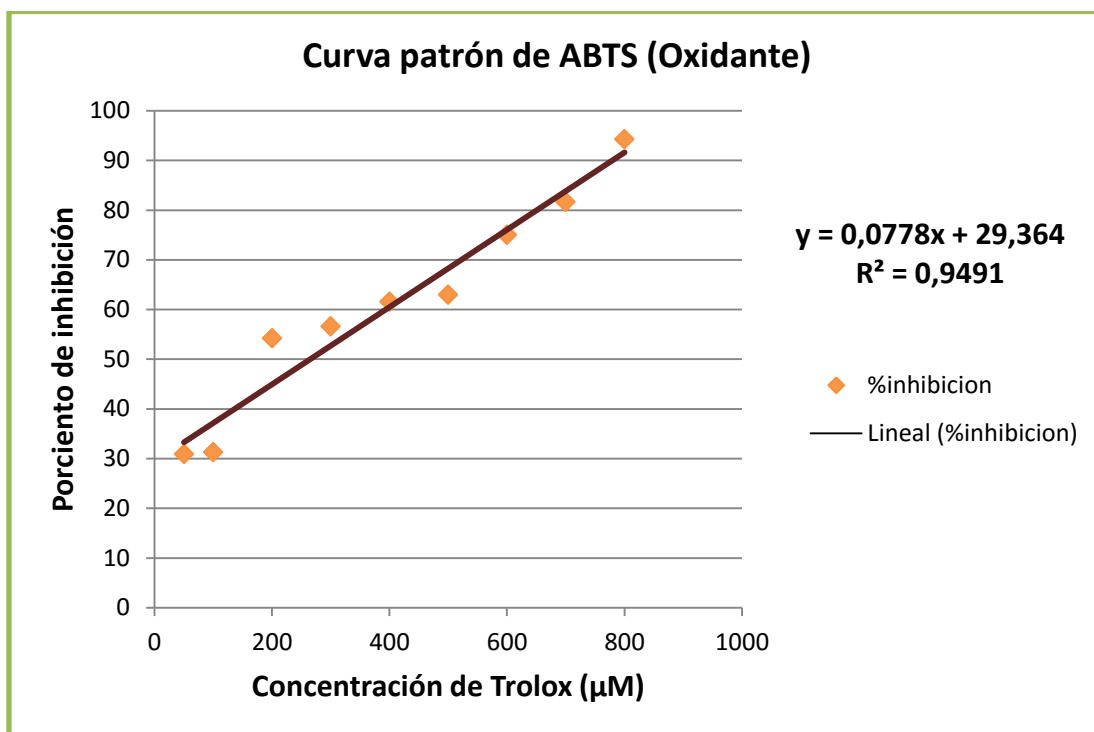


Figura 9. Curva patrón de ABTS

Con los datos obtenidos de la absorbancia se determinó el % de inhibición y se graficó contra la concentración de la solución estándar de Trolox. Se hace un ajuste lineal (Trejo, 2008).

En la curva de calibración de la figura 9 se observa el incremento del porcentaje de inhibición, según van aumentando las concentraciones de Trolox, como se mencionó anteriormente esta reacción se debe a que hay mayor concentración de antioxidante (Trolox) y este es capaz de inhibir la oxidación del ABTS. Los datos obtenidos del ajuste lineal son los que se usan para realizar los cálculos siguientes (ver anexo C).

En este caso la ecuación es:

$$Y = 0.0778x + 29.364$$

9.2 Resultados de actividad antioxidante en las muestras

Cuadro 3

Resultados de actividad antioxidante en las muestras

Muestra	%inhibición	μmoles equivalentes a Trolox/g de muestra
Hierba mora	76.37	30.21
Chapaya	47.13	11.42
Pacaya	50.19	13.38

Como puede observarse, en los resultados obtenidos de las muestras, tanto el porcentaje de inhibición como la actividad antioxidante expresada en μ moles equivalentes a Trolox/g de muestra, presentan una actividad antioxidante frente al radical ABTS, la planta con mayor actividad antioxidante es la hierba mora la cual tiene un porcentaje de inhibición del 76.37 % y una actividad antioxidante de 30.21 μ moles equivalentes a Trolox/g de muestra. Le sigue la pacaya, con un porcentaje de inhibición del 50.19% y capacidad antioxidante de 13.38 μ moles equivalentes a Trolox/g de muestra. La capacidad antioxidante más baja se observa en la Chapaya teniendo 11.42 μ moles equivalentes a Trolox/g de muestra y un % de inhibición de 47.12%. No se encontró datos de referencia de estas plantas ya que no se reporta ningún estudio previo de estas.

Sin embargo, se puede comparar la actividad antioxidante de estas plantas con otros alimentos que se consumen en la región. Se encontró que la hierbamora tiene mayor actividad antioxidante que la hierbabuena y la Chapaya presenta una mayor actividad antioxidante que espinaca como puede observarse en el cuadro 4.

Cuadro 4
Comparación de actividad antioxidante con otros alimentos

Alimento	μ moles equivalentes a Trolox/g de muestra
Hierba mora	30.21
Chapaya	11.42
Pacaya	13.38
Hierbabuena	27.22
Espinaca	9.11

En la siguiente grafica puede observarse la actividad antioxidante en que se encuentra cada muestra en comparación con las que se mencionaron.

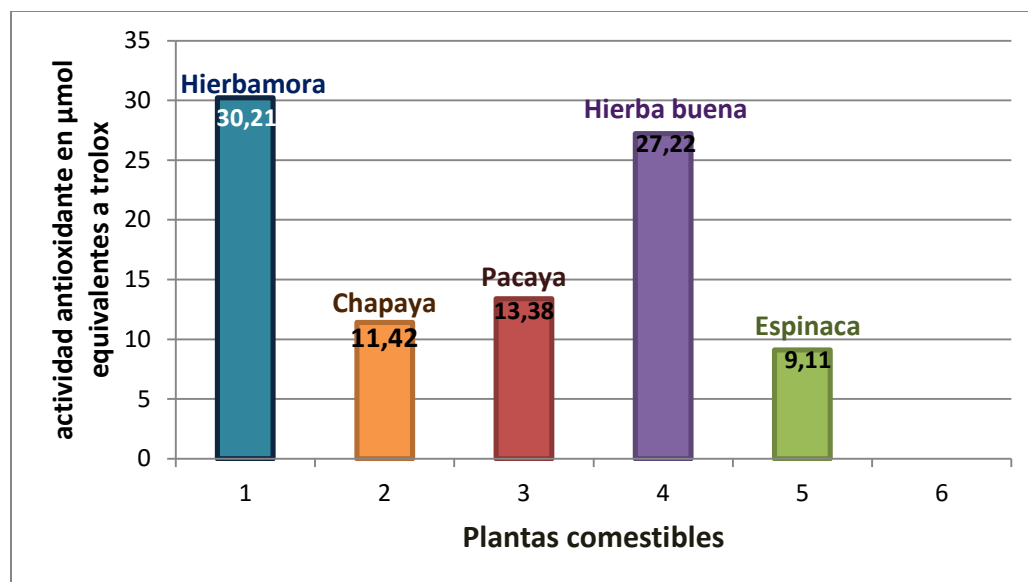


Figura 10. Capacidad antioxidante de las muestras comparadas con otras plantas

9.3 Resultados de análisis bromatológico (Proteína, fibra cruda y grasa).

La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos en los análisis bromatológicos realizados a cada muestra.

Cuadro 5
Resultados de los análisis bromatológicos

Muestra	% proteínas	% Fibra cruda	% Grasas
Hierba mora	7.00	8.27	5.3
Pacaya	8.75	6.71	3.94
Chapaya	6.41	11.31	4.97

Se realizaron análisis bromatológicos para conocer las cantidades de proteínas, fibra y grasas de cada una de las muestras; puede observarse que las tres muestras tienen gran contenido de fibra cruda y además que son portadores de considerables cantidades de proteínas.

La planta con mayor aporte de proteínas es la pacaya con un 8.75%, seguida de la hierba mora con el 7% y la Chapaya con 6.41%.

Al comparar con otros alimentos puede observarse que estas plantas comestibles tienen mayor aporte proteico que la espinaca y el brócoli, plantas que son consideradas como las de mayor aporte proteico (Gottau, 2013).

Cuadro 6
Comparación con otras plantas comestibles en % de proteínas

ALIMENTO	% de proteínas
Hierba mora	7
Pacaya	8.75
Chapaya	6.41
Espinaca	2.62
Brócoli	3.6

Es importante también, mencionar que estas plantas no convencionales tienen la capacidad de aportar a la dieta, considerables cantidades de fibra, ubicándose en primer lugar la Chapaya, esta contiene 11.31% de fibra cruda, en seguida se encuentra la hierba mora conteniendo 8.27% y la pacaya con un contenido de 6.71%.

En la siguiente tabla se hace una comparación entre el contenido de fibra de las plantas no convencionales analizadas y algunas especies conocidas, como las espinacas que contienen 6.3%, las acelgas con 5.6% y el coliflor con un contenido de 2.1% según lo indica la OMS. Como puede observarse al comparar con otras especies vegetales, la Chapaya es la que tiene un mayor porcentaje de fibra cruda encontrándose por encima de las espinacas que se consideran las de mayor aporte.

Cuadro 7

Comparación del contenido de fibra de las muestras con otras plantas comestibles

ALIMENTO	% FIBRA
Hierba Mora	8.2
Pacaya	6.7
Chapaya	11.3
Espinaca	6.3
Acelgas	5.6
Coliflor	2.1

Los resultados obtenidos del contenido de grasas son: para la hierba mora 5.3%, para la pacaya 3.94 y para la Chapaya 4.97. Estos resultados fueron comparados con el contenido de grasas que contienen la soya, la espinaca, el garbanzo, el cilantro y el apio según la FAO, esta comparación puede observarse en el siguiente cuadro.

Cuadro 8

Comparación del contenido de grasas de las muestras con otras plantas comestibles

ALIMENTO	%GRASAS
Hierba Mora	5.3
Pacaya	3.94
Chapaya	4.97
Espinaca	0.30
Cilantro	1.00
Apio	0.2
Garbanzo	6.2
Soya	20.0

Se observa que la cantidad de grasas en las plantas, es considerable, sin embargo tendría que conocerse que tipo de grasas contienen. Comparando con la ingesta de grasa en los alimentos que se consumen con mayor frecuencia, la que estas plantas aportan no son tan significativas.

Haciendo un resumen gráfico de las tres plantas se muestran los resultados.

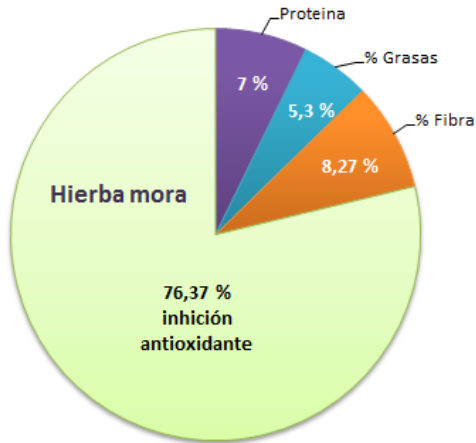


Figura 11. contenido de la Hierba mora

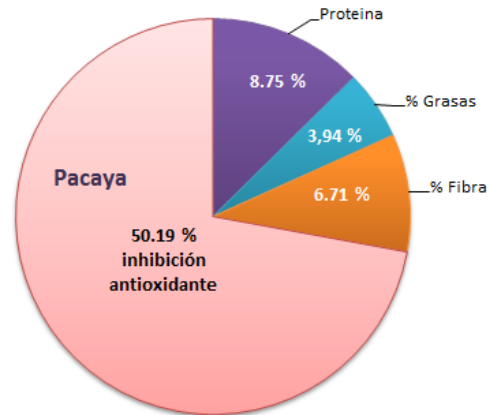


Figura 12. Contenido de la Pacaya

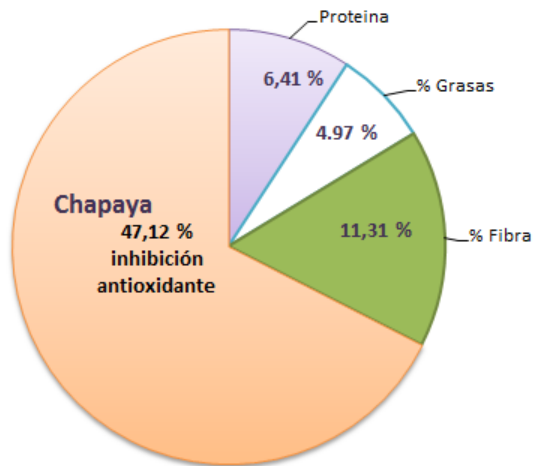


Figura 13. Contenido de la Chapaya

10. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

10.1. Conclusión

En base a los resultados obtenidos se concluye que:

Las tres plantas en estudio tienen una considerable capacidad antioxidante además de tener altas cantidades de proteínas y fibra, esto da un valor agregado al consumo de dichas plantas, ya que al compararlas con otros alimentos estas tienen mayor actividad antioxidante además de una cantidad relevante de proteínas y fibra.

La actividad antioxidante la hierba mora es la de mayor contenido con 34.51 $\mu\text{m eq. A Trolox/g}$ de muestra, seguida de la pacaya con 13.38 $51\mu\text{m eq. A Trolox/g}$ de muestra y en tercer lugar se encuentra la Chapaya con una actividad antioxidante de 11.42 $\mu\text{m eq. A Trolox/g}$ de muestra.

El consumo de estas plantas puede contribuir significativamente al aporte de la capacidad antioxidante de la dieta. En el caso de la hierba mora, aporta entre un 40 - 50 %, usando como referencia el consumo diario recomendado por la FAO que es aproximadamente 15 mg al día lo cual se define como el equivalente de 22 UI de vitamina E. La pacaya 22 % y la Chapaya 19%.

Estas plantas aportan a la dieta de quienes las consumen, importantes cantidades de fibra; la Chapaya contiene 11.31% de fibra cruda, en seguida se encuentra la hierba mora conteniendo 8.27% y la pacaya con un contenido de 6.71%.

Tienen un aporte proteico considerable comenzando con la pacaya, esta contiene un 8.75% de proteínas, seguida de la hierba mora con el 7% y la Chapaya con 6.41%. Y aunque el contenido proteico de estos alimentos no se encuentra en el rango recomendado por la FAO y la OMS que es entre 10 y 15%, si contribuyen con una cantidad significativa de proteínas a la dieta.

Estas plantas no convencionales pueden llegar a contribuir significativamente al aporte de grasas de la ingesta recomendada por la FAO-OMS que es entre 15-30% de la ingesta diaria: la hierba mora con 17%, la pacaya aporta el 13% y la Chapaya el 16%.

El consumo frecuente de estas plantas en una dieta junto a otros alimentos vegetales puede mejorar la salud del organismo frente al estrés oxidativo asociado al envejecimiento y puede prevenir otras enfermedades asociadas a ello.

10.2 recomendaciones

- * Dar talleres a la población para informar acerca de la importancia de consumir antioxidantes.
- * Informar a la población de las propiedades de cada planta comestible no convencional estudiada.
- * Promover el consumo de estas plantas indicando los beneficios que aportan.
- * Se sugiere la elaboración de productos elaborados a partir de estas plantas, pues se considera que serían productos innovadores ya que no se encuentran registros de que existan en el mercado.
- * Debido a la cantidad de grasas determinadas en estas plantas, se sugiere hacer un análisis detallado para conocer el tipo de grasas que contienen.

11..REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abundez, A. (2013). Nutrición y Salud-alimentos antioxidantes. Extraído en abril de 2016 desde <http://www.nutricionysalud.net/alimentos-antioxidantes.html>.

Agudo, M. L. (2010). Técnicas para la determinación de compuestos antioxidante en alimentos. *Revista de la Educación en Extremadura*, p.27

Basurto, F., M. Martínez, G. (1998). Los quelites en la Sierra Norte de Puebla .México: inventario y formas de preparación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 62:49-62.

Bertran, M. (2006). *Cambio alimentario e identidad de los indígenas mexicanos*. Programa México Nación Multicultural. UNAM. México. 117 pp.

Caballero, R.(2011). Los recursos vegetales en la alimentación de mujeres tsotsiles de la Selva El Ocote, Chiapas, México. *Lacandonia*.

Calixto, S. (sin fecha). Como proteger tu salud con la alimentación. Recuperado el 23 de julio de 2016 desde <https://books.google.com.mx/books?id=pua96y06GsIC&pg=PA64&lpg=PA64&dq=capacidad+antioxidante+en+micromoles&source>

Cayman chemical. (2008). Extraído el febrero de 2016 desde <https://www.caymanchem.com/product/10011659>.

Centurión, H. D., Cázares, C. J., Espinosa, M. J. (2003). Aprovechamiento alimentario de inflorescencias en la región sierra del estado de tabasco. *Revista polibotanica*, 91.

Chávez, Q. E., Roldán, T. J., Sotelo, B., Ballinas, D. J., y López, J. Z. (2009). Plantas comestibles no convencionales en Chiapas. Tuxtla Gutiérrez. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición*. Recuperado el 26 de enero de 2016 desde http://www.respyn.uanl.mx/x/2/comunicaciones/comunicaciónplantas_comestibles_chiapas.htm

Chuquimia, F. (2008) Determinación de la capacidad antioxidante y la cuantificación de compuestos fenólicos y flavonoidicos de cuatro especies vegetales de la región andina de Bolivia. *Revista boliviana de química*. Recuperado el 18 de julio de 2016 desde <http://www.scielo.org.bo/pdf/rbq/v25n1/v25n1a13.pdf>

Díaz Soto, L. (2002). Daño Oxidativo, Radicales Libres y Antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*. Recuperado en mayo de 2016 de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009

Ecoagricultor. s/f. recuperado en junio de 2016 de <http://www.ecoagricultor.com>

Fajardo G. (2010,8 de noviembre) Frutas y frutos de mi tierra. Recuperado el 8 de febrero de 2016 desde <http://frutasyfrutosdemitierra.blogspot.mx/2010/11/la-pacaya.html>.

Gispert Cruells, M., Rodríguez González, H. & González Esquinca, A. (2002). *Los diversos y floridos árboles de los parques de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas*. (1ª ed.) Chiapas.

Google INEGI. (2016). Recuperado en julio de 2016 desde <https://www.google.com.mx/maps/@16.6221653,-93.1729554,4.25z>

Gottau, G. (2013). Cinco hortalizas con más proteínas que hidratos. Recuperado el 23 de julio de 2016 desde <http://www.vitonica.com/alimentos/cinco-hortalizas-con-mas-proteinas-que-hidratos>

Gutiérrez, Z. A. (2007). Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista cubana de salud pública*. 33(1).

Heras, I. y Arrazola, G. (2013). Optimización del Proceso de Extracción de Antocianinas y Evaluación de la Capacidad Antioxidante de Berenjena. *Solana*.

Hernández, B. (2012). Análisis a cárnicos. Recuperado en mayo de 2016 desde <http://analisisaproductoscarnicos.blogspot.mx/2012/05/determinacion-de-grasas.html>

Landa, M. (2004). Antioxidantes. *Eroski consumer* Extraído en junio de 2016 desde http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/aprender_a_comer_bien/complementos_dieteticos/2004/06/23/104746.php.

Martínez, J.(2007). *Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de heliocarpus terebinthinaceus* (Tesis de licenciatura). Universidad Tecnológica de la mixteca. Huajuapán de León, Oaxaca.

Martínez, M. (2010). Nutrición animal prácticas de laboratorio. Recuperado el 25 de abril del 2016 desde

Montejo, O. (2012). Incorporación de la inflorescencia comestible de palma (*Arecaceae: Chamaedorea tepejilote Liebm.*) en un cereal para desayuno. *Lacandonia*.

Morillas, R. y Delgado, A. (2012). Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes orígenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales (*Nutrición química y dietética hospitalaria*). Extraído el 4 de junio de 2016 desde http://www.nutricion.org/publicaciones/revista_2012_32_2/ANALISIS-NUTRICIONAL.pdf

NMX-F-089-S-1978. Determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en alimentos. Dirección General de Normas, 1978.

NMX-F-090-S-1970. Determinación de fibra cruda en alimentos. Dirección general de Normas. 1978.

NMX-F-068-S-1980 ALIMENTOS. Determinación de proteínas. Dirección General de Normas, 1980.

Oliveira Gisela. (2014). *Capacidad Antioxidante de Averrhoa Carambola I. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres* (Tesis de maestría). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.

Organización de las naciones unidas para la cultura y la alimentación (FAO). (1991). *silvicultura y seguridad alimentaria*. Roma.

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2015). Recuperado en julio de 2016 desde <http://www.who.int/cancer/prevention/es/>

Orozco, Z. M. (2013). "Patrimonio cultural y natural de Chiapas", ediciones Larousse.

Pérez, J. (2007). *Efecto de fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos* (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Madrid.

Restrepo, D., Narváez, C. y Restrepo, L. (2009). *Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia*. Recuperado el 28 de mayo de 2016 desde <http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n6/30.pdf>.

Romero G. (2012). "*recopilación bibliográfica de Solanum nigrum L. (Hierba mora)*". (Tesis de licenciatura). Universidad veracruzana. Orizaba Veracruz.

Sánchez, J. (2009), Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Recuperados en abril de 2016 desde <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7697>.

Santiago, F. (2011). Determinación de proteínas por el método kjeldahl. Recuperado el 10 de abril de 2016 desde <http://www.grupo-selecta.com/notasdeaplicaciones/analisis-alimentarios-y-de-aguas-nutritional-and-water-analysis/determinacion-de-proteinas-por-el-metodo-de-kjeldahl-kjeldahl-method-for-protein-determination/>

Tapia, N. (2011). *Algunas características anatómicas y químicas de la hoja y de la madera de Litsea glaucescens kunth (Lauraceae)*. Recuperado en junio de 2016 desde <http://www1.incol.edu.mx/myb/resumeness/20.3/mb203125137.pdf>

Tardio, J. y Morales, R. (2002). *Alimentos silvestres de Madrid*. España: ediciones la librería.

Tovar, J. (2013). *Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregion cafetera* (tesis de licenciatura) escuela de tecnología química. Pereira.

Trejo, A. (2008). *Taller multidisciplinario de procesos tecnológicos de frutos y hortalizas*. Universidad Nacional Autónoma de México.

Troncoso, L. (2007). *Efecto antioxidante y hepatoprotector del Petroselinum sativum (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol* (Tesis doctoral). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú

Youngson, R. (1994). *Antioxidantes y Radicales Libres*. España: edaf.

12.- ANEXOS

ANEXO A. REACTIVOS

- Trolox

Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) es un análogo de la vitamina E soluble en agua. Es un antioxidante como la vitamina E y se utiliza en aplicaciones biológicas o bioquímicas para reducir el estrés oxidativo o daño.

La capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC) es una medida de la fuerza antioxidante basado en Trolox, medido en unidades llamadas Trolox equivalentes (TE), por ejemplo micromolTE/100 g. Debido a las dificultades para medir componentes antioxidantes individuales de una mezcla compleja (como los arándanos o los tomates), Trolox equivalencia se utiliza como referencia para la capacidad antioxidante de una mezcla de este tipo. (cayman chemical, 2008).

- Solución acuosa de ABTS

Llamado así por el reactivo 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico). Es uno de los métodos más rápidos, simples operacionalmente y más reproducibles consiste en la generación del radical ABTS⁺., por la reacción entre el ABTS y el persulfato de potasio para producir un cromóforo azul verdoso con absorciones máximas a longitudes de onda de 415, 645, 734 y 815 nm. En presencia de antioxidantes se produce una disminución de la absorbancia del radical ABTS⁺.; los resultados suelen ser expresados como $\mu\text{mol Trolox/g}$ material analizado.(Restrepo, Narváez y Restrepo, 2009).

- Solución acuosa de persulfato de potasio

Sal magnésica del ácido peroxicarboxílico. Compuesto oxidante del grupo de los perácidos.

Soluble en agua (80 g/L a 20°C) y en alcoholes. Normalmente se presenta en forma hidratada, principalmente hexahidratada. El componente activo es el ácido monoperftálico, que está incorporado al preparado de una forma estable.

Es un oxidante fuerte, reacciona con bases y combustibles, reacciona violentamente con metales y con cloratos y percloratos en presencia de agua. Al mezclarse con el ABTS produce un cromoforo azul verdoso.

Se utiliza como aditivo alimentario, en blanqueo y eliminación de aprestos en la industria textil, como antiséptico y agente oxidante, en la manufactura de jabones y productos farmacéuticos, así como en la purificación de sulfato de amonio.

ANEXO B. METODOLOGIA DE LOS ANALISIS BROMATOLOGICOS

Determinación de Nitrógeno proteico por el método de micro kjeldahl

Se pesan 0.15 gramos de muestra seca en papel arroz libre de nitrógeno, se dobla el papel cuidadosamente evitando que se caiga la muestra y se coloca en el matraz de Kjeldahl (seco). Se adiciona 0.5 gramos de muestra catalizadora, 3ml de ácido sulfúrico concentrado y aproximadamente 0.3 gramos de sulfato de potasio para elevar el punto de ebullición del ácido sulfúrico. Se coloca el matraz en la parrilla de digestión; calentando al principio a baja temperatura hasta alcanzar ebullición homogénea, en seguida se aumenta la temperatura; debe girarse el matraz ocasionalmente. Si se agota el ácido y no se ha digerido totalmente la muestra, se adiciona más ácido (en frío), y se continúa calentando hasta su oxidación completa, en este momento la mezcla toma un color incoloro o azul o verde claro. Terminada la digestión, se enfría el matraz en la campana para extracción de gases. Se vacía la muestra digerida a un matraz de destilación de 500 ml, lavar el matraz de micro kjeldahl con pequeñas porciones de agua destilada y vaciar las aguas del lavado al matraz de destilación, agregar a este matraz aproximadamente 200 ml de agua destilada; un mililitro de sulfuro de sodio al 10% y lentamente adicionar 15ml de hidróxido de sodio al 40%. Se adapta el matraz a un sistema de destilación, a la salida del refrigerante se adapta a una manguera con un tubo termina el cual se coloca dentro de un matraz Erlenmeyer que contiene 10 ml de solución de ácido bórico al 4% y unas gotas de indicador de rojo de metilo con azul de metilo. El matraz de destilación se agita con movimiento circular, mezclando su contenido lentamente y se calienta (el contenido de destilación pasa de color verdoso a pardo o negro). Las primeras gotas del destilado deben virar el color del indicador de violeta a verde de lo contrario se enfría y se agrega más hidróxido de sodio al 40%. La destilación se detiene hasta que unas gotas del destilado no den alcalinidad con el papel tornasol.

Se retira el matraz receptor, apagando la fuente de calor, se lava el refrigerante con agua destilada, vaciándola sobre el destilado y este se titula con una solución de ácido clorhídrico 0.1 N (NMX-F-068-S-1980)

Calcular

$$\% \text{ de Nitrogeno} = \frac{\text{ml de HCl} \times N \times 0.014 \times 100}{\text{muestra en gramos}}$$

Para expresar el contenido en proteínas de la muestra analizada es necesario multiplicar la cantidad de nitrógeno por un factor variable según el tipo de muestra analizada, y que para frutas, verduras y hortalizas de 6,25 (Morillas y Delgado, 2012).

$$\% \text{ de Proteinas} = \% \text{ de Nitrogeno} \times \text{Factor}$$

Determinación de fibra cruda (método de Kennedy modificado)

Se coloca en un matraz balón de fondo plano, aproximadamente 1-2 g de muestra seca y desengrasada y 150 ml de ácido sulfúrico 1.25%. se coloca el refrigerante en posición de reflujo y se calienta el matraz con una parrilla con control de temperatura, para que la ebullición sea suave durante 30 minutos. Dejar en reposo durante un minuto y después de vierte el contenido del matraz en un embudo Buchner provisto de placa perforada. Se le ajusta con tela de algodón, al que previamente se pasó agua caliente. Una vez filtrada la muestra se realizan varios lavados con agua hirviendo hasta eliminar el ácido de la muestra. Se vierte la muestra de nuevo al matraz sin solución y se adiciona 150 ml de NaOH al 3.25%. Se coloca el refrigerante en posición de reflujo y se calienta durante 30 minutos, se deja reposar la muestra durante 1 minuto. Posteriormente, verter la muestra en el embudo Buchner provisto de papel filtro (a peso constante). Realizar lavados con agua caliente hasta eliminar el ácido de la muestra, lavar con 50 ml de alcohol y con 50 ml de éter. Se pasa el papel filtro a una capsula de porcelana (a peso constante). Secar a 100-110 °C hasta peso constante, pesar por diferencia de pesos se determina el residuo en el papel filtro, posteriormente se calcina el papel con la muestra y el peso de las cenizas se resta del peso el residuo del papel filtro para conocer el peso de la fibra.

Incinerar, primero en el mechero y después en la mufla a 540-500°C, llevar a peso constante, enfriar y pesar.

Cálculos:

$$\% \text{ Fibra Cruda} = \frac{(a - b) \times 100}{m}$$

Dónde:

a= peso del crisol con el residuo a peso constante, en g, menos el peso del papel filtro libre de ceniza.

b= peso del crisol con el residuo calcinado, en gramos.

m= peso de la muestra seca en gramos.

Determinación de extracto etéreo (NMX-F-89-S-1978)

- 1.- se coloca en el cartucho de asbesto una cama de algodón, más otro pequeño que servirá para tapan la muestra, llevarlo a peso constante en una estufa a 100-110°C.
- 2.- una vez el cartucho a peso constante se adiciona la muestra deshidratada (1-2 g) y se tapa el cartucho con la cama de algodón.
- 3.- se coloca el cartucho en el equipo armado en posición de reflujo (equipo soxhlet).
- 4.- adicionando 150 ml de éter al matraz y se enciende la parrilla
- 5.- se debe mantener el reflujo hasta completar la extracción de grasa, aproximadamente de 4 a 5 horas dependiendo del contenido de grasa de la muestra.
- 6.- retirar el cartucho ya sin grasa colocarlo en un vaso de precipitados de 100 ml y colocarlo en la campana de extracción de gases para que se evapore todo el solvente; cuando ya no tenga olor a éter, llevarlo a la estufa para alcanzar el peso constante a 100-110°C. enfriar en el desecador y pesar.

Cálculos:

$$\% \text{ extracto etereo} = \frac{(a - b) \times 100}{m}$$

Dónde:

a= Peso del cartucho con la muestra desengrasada.

b= Peso del cartucho vacío a peso constante.

m= Peso de la muestra seca en gramos.

ANEXO C. CALCULOS DE LOS ANALISIS REALIZADOS

- Proteínas

$$\% \text{nitrogeno} = \frac{\text{ml de HCl} \times N \times 0.014 \times 100}{\text{muestra en gramos}}$$

$$\% \text{ de proteínas} = \% \text{nitrogeno} \times \text{factor}$$

$$\% \text{nitrogeno en la chapaya} = \frac{1.1 \times 0.1 \times 0.014 \times 100}{0.15} = 1.026$$

$$\% \text{ de proteínas en la chapaya} = 1.026 \times 6.25 = 6.4125\%$$

$$\% \text{nitrogeno en la hierba mora} = \frac{1.2 \times 0.1 \times 0.014 \times 100}{0.15} = 1.12$$

$$\% \text{ de proteínas en la hierba mora} = 1.12 \times 6.25 = 7\%$$

$$\% \text{nitrogeno en la pacaya} = \frac{1.6 \times 0.1 \times 0.014 \times 100}{0.15} = 1.4$$

$$\% \text{ de proteínas en la pacaya} = 1.4 \times 6.25 = 8.75\%$$

- Fibra cruda

Formula:

$$\% \text{fibra cruda} = \frac{(a - b) \times 100}{m}$$

$$\% \text{ de fibra cruda en la hierba mora} = \frac{(20.7263 - 20.5608) \times 100}{2} = 8.27\%$$

$$\% \text{ fibra cruda en la pacaya} = \frac{(9.7308 - 9.5965) \times 100}{2} = 6.715\%$$

$$\% \text{ fibra cruda en la chapaya} = \frac{(12.6895 - 12.4632) \times 100}{2} = 11.315\%$$

- Extracto etéreo

Formula:

$$\% \text{ extracto etereo} = \frac{(a - b) \times 100}{m}$$

$$\% \text{ extracto etereo de la pacaya} = \frac{(5.2907 - 5.2118) \times 100}{2} = 3.94\%$$

$$\% \text{ extracto etereo de la hierba mora} = \frac{(6.6937 - 6.5877) \times 100}{2} = 5.3\%$$

$$\% \text{ extracto etereo de la chapaya} = \frac{(5.8034 - 5.7040) \times 100}{2} = 4.97\%$$

- Actividad antioxidante de las muestras

$$\% \text{ inhibición} = [(\text{Abs control} - \text{Abs muestra}) / \text{Abs control}] \times 100$$

$$\% \text{ inhibición} = [(0.783 - 0.185) / 0.783] \times 100 = 76.37 \%$$

- $TE_{\text{CELDA}} = (\% \text{inhibición} - b) / m$

Los datos obtenidos de la curva son:

$$m = 0.0778$$

$$b = 29.364$$

- Hierba mora

$$TE_{celda} = \frac{76.37 - 29.364}{0.0778} = 604.19$$

$$TE_{extracto\ diluido} = \frac{604.19 \times 2000\mu l}{160\mu l} = 7,552.37$$

$$TE_{extracto} = 7,552.37 \times 12.5 = 94404.625$$

$\mu\text{moles equivalentes a trolox} = (TE_{EXTRACTO} \times VOL_{EXTRACTO}) / (1000000 \times M_{MUESTRA})$

$$\frac{\mu\text{moles eq. a trlox}}{g\ de\ muestra} = \frac{94404.625 \times 160}{1000000 \times 0.5} = 30.21$$

- Chapaya

% inhibición = [(Abs control – Abs muestra)/Abs control]* 100

% inhibición = [(0.783 – 0.414)/0.783]* 100 = 47.12 %

$$TE_{celda} = \frac{47.12 - 29.364}{0.0778} = 228.226$$

$$TE_{extracto\ diluido} = \frac{228.226 \times 2000\mu l}{160\mu l} = 2852.8277$$

$$TE_{extracto} = 2852.8277 \times 12.5 = 35660.3470$$

$$\frac{\mu\text{moles eq. a trlox}}{g\ de\ muestra} = \frac{35660.3470 \times 160}{1000000 \times 0.5} = 11.42$$

° Pacaya

$$\% \text{ inhibición} = [(\text{Abs control} - \text{Abs muestra})/\text{Abs control}] * 100$$

$$\% \text{ inhibición} = [(0.783 - 0.390)/0.783] * 100 = 50.191 \%$$

$$TE_{\text{celda}} = \frac{50.191 - 29.364}{0.0778} = 267.6992$$

$$TE_{\text{extracto diluido}} = \frac{267.6992 \times 2000 \mu\text{l}}{160 \mu\text{l}} = 3346.2403$$

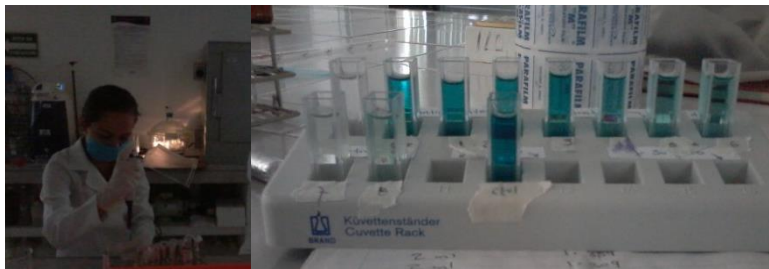
$$TE_{\text{extracto}} = 3346.2403 \times 12.5 = 41828.0045$$

$$\frac{\mu\text{moles eq. a trlox}}{\text{g de muestra}} = \frac{41828.0045 \times 160}{1000000 \times 0.5} = 13.3849$$

ANEXO. D. IMÁGENES



Secado de las muestras



Curva de calibración



Lectura de absorbancia de las muestras



Determinación de proteínas



Fibra cruda



Extracto etéreo