



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

“Elicitación de uchuva (*Physalis peruviana* L.) con ácido salicílico: composición fitoquímica, capacidades antioxidantes y propiedades antidiabéticas *in vivo*”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

I.B.Q. Hugo Esteban Bravo Alonso

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Co-dirigido por:

Dra. Marely Graciela Figueroa Pérez

Santiago de Querétaro, Qro., a enero de 2023.



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de
Información



Elicitación de uchuva (*Physalis peruviana* L.) con ácido salicílico: composición fitoquímica, capacidades antioxidantes y propiedades antidiabéticas in vivo

por

Hugo Esteban Bravo Alonso

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](#).

Clave RI: FQMAC-300230-0123-123



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad De Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Elicitación de uchuva (*Physalis peruviana* L.) con ácido salicílico: composición fitoquímica, capacidades antioxidantes y propiedades antidiabéticas *in vivo*”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de:
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

I.B.Q. Hugo Esteban Bravo Alonso

Dirigido Por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Co dirigido por:

Dra. Marely Graciela Figueroa Pérez

Sinodales

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Presidente

Firma

Dra. Marely Graciela Figueroa Pérez

Secretario

Firma

Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez

Vocal

Firma

Dra. Minerva Ramos Gómez

Suplente

Firma

Dra. Ma. Estela Vázquez Barrios

Suplente

Firma

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Director de la Facultad de Química

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Enero de 2023

DEDICATORIAS

A mi madre Ma. de los Ángeles en homenaje póstumo, por ser mi guía espiritual, por llenarme de bendiciones, amor y cariño, darme la fe necesaria para poder continuar.

A mi padre Héctor Hugo y mi hermano Leonardo Sebastián por ser mi ejemplo de vida, su gran apoyo incondicional, brindarme mucho amor y cariño que nunca me hicieron falta a pesar de la distancia, y enseñarme a luchar por mis sueños.

A Alma Cristina por ser mi soporte emocional, mi confidente, por enseñarme a nunca rendirme, soportar mis momentos de estrés y cambios de humor repentinos, pero, sobre todo, por creer en mí aun cuando ya no creía en mí. Agradezco todas esas palabras de apoyo que jamás olvidaré.

A mis compañeros y amigos Alexandro, Ana, Fernando, Haiku, Joel, Alejandro, Mariana, Yuridia, Alejandra, Dulce, Karen, Berenice, Guadalupe, que forman parte indispensable de mi vida en Querétaro, por su gran compañía, apoyo y enseñanzas durante estos dos años.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindarme el apoyo económico necesario para este proyecto de investigación.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al Programa de Posgrado de Alimentos por la oportunidad de poder realizar mis estudios, en conjunto con la preparación y los conocimientos brindados durante este proyecto de investigación.

A la Dra. Rosalía Reynoso Camacho por aceptarme en su laboratorio, por su guía y dirección, además de sus aportaciones para mi crecimiento tanto en el ámbito profesional como personal.

A la Dra. Marely Graciela Figueroa Pérez por su orientación y aportaciones para la mejora de este proyecto.

A los miembros de mi comité evaluador: Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez, Dra. Minerva Ramos Gómez y la Dra. Ma. Estela Vázquez Barrios, por cada una de sus observaciones y recomendaciones aportadas para la mejora de este proyecto.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que incluí los detalles metodológicos necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.



Hugo Esteban Bravo Alonso

RESUMEN

Se utiliza en la medicina tradicional el fruto de uchuva (*Physalis peruviana* L.) para el control de glucosa. Sin embargo, algunos estudios no han demostrado ningún efecto significativo de la fruta para controlar esta enfermedad. Por ello, la elicitación podría incrementar o modificar los compuestos bioactivos del fruto para mejorar sus beneficios a salud. El objetivo de este proyecto fue evaluar en frutos (*Physalis peruviana*) el efecto de la elicitación con diferentes concentraciones de ácido salicílico (AS mM) sobre la composición fitoquímica, capacidades antioxidantes, así como sus propiedades antidiabéticas. El fruto se elicó semanalmente de manera foliar con AS (0, 0.25, 0.5, 1.0 y 2.0 mM) durante la floración y formación del fruto, se recolectó 12 semanas después de su formación y se secó para su análisis. Los compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides totales disminuyeron un 26, 29 y 42 %, respectivamente, durante la elicitación. Los compuestos fenólicos no extraíbles aumentaron un 14 % y los fitoesteroles totales 2.7 veces. El perfil de compuestos bioactivos se determinó utilizando un sistema UPLC-PDA-ESI-QqQ. Incrementaron los ácidos hidroxicinámicos con AS 1.0 y 2.0 mM en un 35 – 45 %, y los ácidos hidroxibenzoicos con AS 0.25 mM (15 %). La elicitación no modificó la concentración de los flavonoides identificados. Para las capacidades antioxidantes, el fruto AS 1.0 mM incrementó un 15 % por Q-ABTS respecto al fruto control. por DPPH, los frutos AS 0.25, 0.5 y 2.0 mM presentaron una capacidad antioxidante menor hasta un 25.5 % respecto al fruto control, para Q-DPPH, los frutos AS 0.25 y 2.0 mM disminuyeron hasta un 14.6 % respecto al fruto control. Para el estudio *in vivo*, se alimentaron ratas Wistar durante 13 semanas con dieta hipercalórica (DAGF) y suplementadas al 10 % con fruto control (DAGF + C), frutos elicitados AS 1.0 mM (DAGF + AS 1.0 mM) y AS 2.0 mM (DAGF + AS 2.0 mM). Los tratamientos no influyeron en el peso corporal, ni en los triglicéridos y glucosa séricos. La elicitación con AS de uchuva modificó el contenido de compuestos bioactivos del fruto, aunque no mostró beneficios a la salud, teniendo un efecto similar al fruto control.

(Palabras clave: *Physalis peruviana*, ácido salicílico, diabetes, fitoquímicos, capacidad antioxidante)

ABSTRACT

The fruit of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) is used in traditional medicine for glucose control. However, some studies have not proven any significant effects of the fruit to control against this disease. Therefore, elicitation could increase or modify the bioactive compounds of the fruit to improve its health benefits. The objective of this project was to assess in fruits (*Physalis peruviana*) the elicitation effect with different concentrations of salicylic acid (AS mM) on the phytochemical composition, antioxidant capacities, as well as its antidiabetic properties. The fruit was elicited weekly foliar with AS (0, 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0 mM) during flowering and fruit formation. The fruit was collected 12 weeks after its formation and dried for analysis. Total phenolic, flavonoid and carotenoid compounds decreased by 26, 29 and 42 %, respectively, during elicitation. Non-extractable phenolic compounds increase 14% and total phytosterols 2.7 times. The profile of bioactive compounds is prolonged using a UPLC-PDA-ESI-QqQ system. They increased hydroxycinnamic acids with 1.0 and 2.0 mM AS by 35-45%, and hydroxybenzoic acids with 0.25 mM AS (15%). Elicitation did not change the concentration of the identified flavonoids. For antioxidant capacities, the AS 1.0 mM fruit increased by 15 % by Q-ABTS with respect to the fruit control. by DPPH, the AS 0.25, 0.5 and 2.0 mM fruits presented a lower antioxidant capacity up to 25.5 % compared to the control fruit, for Q-DPPH, AS 0.25 and 2.0 mM fruits decreased up to 14.6 % respect to the fruit control. For the *in vivo* study, Wistar rats were fed for 13 weeks with a hypercaloric diet (DAGF) and supplemented at 10 % with fruit control (DAGF + C), 1.0 mM AS elicited fruits (DAGF + 1.0 mM AS) and 2.0 mM AS. (DAGF + AS 2.0 mM). Treatments did not influence body weight, or serum glucose and triglyceride levels. The elicitation of the cape gooseberry fruit with AS modified the content of bioactive compounds, although it did not show health benefits, having a similar effect to the control of the fruit.

(Key words: *Physalis peruviana*, salicylic acid, diabetes, phytochemicals, antioxidant capacity)

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
ÍNDICE DE CUADROS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	X
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Insulina y resistencia a la insulina	3
2.2 Hipertrigliceridemia.....	4
2.3 Medicina tradicional y alimentación.....	5
2.4 Generalidades de <i>Physalis peruviana</i>	5
2.5 Cultivo de <i>Physalis peruviana</i>	6
2.6 Composición proximal de <i>Physalis peruviana</i>	6
2.7 Composición fitoquímica de <i>Physalis peruviana</i>	7
2.8 Beneficios a la salud de <i>Physalis peruviana</i>	8
2.9 Aplicación de estrés salino en el fruto de <i>Physalis peruviana</i>	9
2.10 Mecanismo de la elicitación con ácido salicílico.....	11
2.11 Efectos de la elicitación de plantas con ácido salicílico.....	12
3. JUSTIFICACIÓN	14
4. OBJETIVOS	15
4.1 Objetivo general	15
4.2 Objetivos particulares.....	15
5. MATERIALES Y MÉTODOS	16
5.1 Materiales.....	16
5.1.1 Material vegetal	16

5.1.2	Material biológico.....	17
5.2	Metodología	17
5.2.1	Medición de color en frutos deshidratados	17
5.2.2	Cuantificación de compuestos fitoquímicos.....	18
5.2.2.1	Extracción de compuestos fenólicos totales en fruto	18
5.2.2.2	Cuantificación de compuestos fenólicos totales	18
5.2.2.3	Cuantificación de flavonoides totales.....	19
5.2.2.4	Cuantificación de compuestos fenólicos no extraíbles	19
5.2.2.5	Cuantificación de carotenoides.....	19
5.2.2.6	Cuantificación de fitoesteroles	20
5.2.3	Identificación de compuestos bioactivos.....	21
5.3	Determinación de las capacidades antioxidantes e inhibición enzimática ...	22
5.3.1	Determinación de la capacidad antioxidante mediante el ensayo de ABTS	22
5.3.2	Determinación de la capacidad antioxidante mediante el ensayo de DPPH	23
5.3.3	Determinación de la capacidad antioxidante mediante el ensayo de Q-ABTS	24
5.3.4	Determinación de la capacidad antioxidante mediante el ensayo de Q-DPPH	25
5.3.5	Ensayo de la inhibición de la lipasa pancreática	25
5.4	Estudios del efecto antidiabético.....	26
5.4.1	Grupos experimentales.....	26
5.4.2	Determinación de lípidos totales en heces	27
5.4.3	Sacrificio y recolección de muestras.....	28
5.4.4	Determinación de glucosa y triglicéridos en suero.....	29

5.5	Análisis estadístico.....	29
6.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	30
6.1	Medición de color en frutos deshidratados.....	30
6.2	Composición fitoquímica de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> elicitados con ácido salicílico.....	31
6.3	Determinación de carotenoides totales	34
6.4	Determinación de fitoesteroles totales	35
6.5	Identificación de compuestos bioactivos en el fruto de <i>Physalis peruviana</i> elicitado con ácido salicílico.....	37
6.6	Medición de la capacidad antioxidante en extractos del fruto seco de <i>Physalis peruviana</i> elicitado con ácido salicílico.....	44
6.7	Ensayo de inhibición de la lipasa pancreática.....	48
6.8	Evaluación <i>in vivo</i> del fruto de <i>Physalis peruviana</i> elicitado suplementado en dieta alta en grasa y fructosa.....	50
6.8.1	Peso corporal.....	50
6.8.2	Efecto de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> elicitados con ácido salicílico sobre los triglicéridos en suero de ratas obesas	51
6.8.3	Determinación de lípidos totales en heces de ratas obesas suplementadas con fruto de <i>Physalis peruviana</i> elicitado con ácido salicílico.....	52
6.8.4	Efecto de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> elicitado con ácido salicílico sobre la glicemia en suero de ratas	53
7.	CONCLUSIONES	55
8.	PERSPECTIVAS.....	56
9.	REFERENCIAS.....	57
10.	ANEXOS	69
10.1	Anexo I: Lista de chequeo para protocolos que involucren animales de experimentación:	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Análisis proximal del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L.	7
Cuadro 2. Grupos de estudio para la evaluación in vivo de los frutos de <i>Physalis peruviana</i>	27
Cuadro 3. Contenido nutrimental de las dietas utilizadas en el estudio <i>in vivo</i>	27
Cuadro 4. Parámetros de color en el fruto seco de <i>Physalis peruviana</i> elicitado con ácido salicílico.	31
Cuadro 5. Contenido de compuestos fenólicos en el fruto seco de <i>Physalis peruviana</i> elicitado con ácido salicílico.....	33
Cuadro 6. Contenido de carotenoides totales en fruto seco de <i>Physalis peruviana</i> elicitado con ácido salicílico a diferentes concentraciones.....	34
Cuadro 7. Contenido de fitoesteroles totales en el fruto seco de <i>Physalis peruviana</i>	36
Cuadro 8. Compuestos fitoquímicos cuantificados mediante UPLC-PDA-ESI-QqQ en extractos del fruto seco de <i>Physalis peruviana</i> elicitado a diferentes concentraciones de ácido salicílico.	39
Cuadro 9. Identificación de compuestos fitoquímicos mediante UPLC-PDA-ESI-QqQ en extractos del fruto seco de <i>Physalis peruviana</i> elicitado a diferentes concentraciones de ácido salicílico.	42
Cuadro 10. Coeficientes de correlación Pearson para las capacidades antioxidantes en frutos deshidratados de <i>Physalis peruviana</i> elicitados con diferentes concentraciones de ácido salicílico.	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fruto de <i>Physalis peruviana</i>	6
Figura 2. Mecanismo molecular de elicitación con ácido salicílico en plantas.....	12
Figura 3. Metodología de la elicitación.	16
Figura 4. Síntesis de fitoesteroles inducida por la elicitación con ácido salicílico en <i>Whitania somnifera</i>	¡Error! Marcador no definido.
Figura 5. Capacidad antioxidante determinada por los métodos de ABTS y Q-ABTS en los extractos metanólicos del fruto de <i>Physalis peruviana</i> elicitado con ácido salicílico.....	46
Figura 6. Capacidad antioxidante determinada por el método del radical DPPH y Q-DPPH en los extractos metanólicos del fruto de <i>Physalis peruviana</i> elicitado con ácido salicílico.	47
Figura 7. Porcentaje de inhibición de la actividad enzimática de la lipasa pancreática <i>in vitro</i> del extracto del fruto de <i>Physalis peruviana</i> elicitado con ácido salicílico..	49
Figura 8. Peso corporal de ratas tratadas con una dieta hipercalórica y suplementada con fruto de <i>Physalis peruviana</i>	51
Figura 9. Concentración de triglicéridos en suero ratas tratadas con una dieta hipercalórica y suplementada con fruto de <i>Physalis peruviana</i>	52
Figura 10. Contenido de lípidos totales en heces de ratas tratadas con una dieta hipercalórica y suplementada con fruto elicitado de <i>Physalis peruviana</i>	53
Figura 11. Concentración de glucosa en suero de ratas tratadas con una dieta hipercalórica y suplementada con fruto de <i>Physalis peruviana</i>	54

1. INTRODUCCIÓN

La resistencia a la insulina es un estado patológico en el cual los tejidos dependientes de insulina presentan una menor respuesta metabólica, provocando un incremento de los niveles basales de glucosa y triglicéridos, lo cual incrementa el riesgo de padecer complicaciones cardiovasculares (Petersen & Shulman, 2018; Karanchi *et al.*, 2022). Por lo tanto, es necesario controlar estas alteraciones metabólicas.

Se ha reportado que el consumo del fruto de uchuva por humanos jóvenes adultos sanos, a los cuales se les realizó una curva de tolerancia a la glucosa, se presentó una disminución de la glicemia (Rodríguez-Ulloa & Rodríguez-Ulloa, 2007). Adicionalmente, los extractos metanólicos del fruto y el fruto completo evaluados en animales diabéticos y obesos produjeron una disminución de los niveles séricos de glucosa, un aumento en los niveles de insulina en sangre y glucógeno hepático, además mejoró la captación de glucosa en músculo esquelético de ratones obesos (El-Mehiri *et al.*, 2012; Sathyadevi *et al.*, 2016; Pino-de la Fuente *et al.*, 2020; Ezzat *et al.*, 2021). También se ha reportado que los extractos del fruto inhiben la actividad de diferentes enzimas gastrointestinales *in vitro* como la glucosidasa y la amilasa (Rey *et al.*, 2015). Además, los niveles de triglicéridos séricos disminuyeron en ratones inyectados con tritón y tratados con extractos acuosos del fruto (Campos-Florián *et al.*, 2011). Estos beneficios se han atribuido a los ácidos fenólicos, tales como el ácido gálico, flavonoides como la rutina, la quercetina, el kaempferol y carotenoides como el β -caroteno (Ramadan, 2020).

Por otro lado, en estudios previos realizados por nuestro laboratorio, se observó que las decocciones del fruto no mostraron los beneficios anteriormente mencionados; el fruto tampoco mejoró la captación de glucosa en preadipocitos 3T3-L1, que son células insulino-dependientes; los extractos metanólicos de los frutos mostraron poca inhibición de la actividad de la enzima α -amilasa *in vitro*, blanco importante para disminuir la hidrólisis del almidón proveniente de la dieta. Además, estos extractos no disminuyeron la glucosa en una curva de tolerancia al almidón en ratas sanas, siendo similar al grupo que fue tratado solamente con almidón (González-Buenrostro, 2020).

Por lo tanto, para mejorar el perfil fitoquímico y los beneficios del consumo de componentes de plantas, se ha propuesto la inducción de estrés en las mismas mediante el uso de elicitores, y con esta estrategia se han incrementar los compuestos bioactivos (Shakya et al., 2019).

En un estudio previo realizado por nuestro laboratorio, la planta de uchuva fue sometida a estrés salino. Y con el fruto recolectado se preparó una decocción, la cual no presentó un mayor efecto en la captación de glucosa en preadipocitos 3T3-L1, comparado con el fruto control, pero sí mejoró la inhibición de la actividad de α -amilasa *in vitro*. Sin embargo, al realizar una curva de tolerancia al almidón en ratas sanas, la administración del fruto elicitado no disminuyó el pico hiperglucémico en las ratas en comparación con el almidón (González-Buenrostro, 2020; Mora-Garduño, 2022).

Por ello, se propuso la elicitación con otro compuesto como alternativa para inducir una mayor respuesta en el perfil de compuestos fitoquímicos, tal como el ácido salicílico (AS). El AS es una fitohormona presente en las plantas que está involucrada en una respuesta de resistencia sistémica adquirida por el estrés, además, su aplicación incrementa el rendimiento agronómico (Ali, 2020).

Hasta ahora, no se han realizado estudios de la elicitación de uchuva con ácido salicílico, solo hay estudios en frutos de la familia de la uchuva como el jitomate, donde el AS se aplicó en etapa postcosecha sumergiendo el fruto de tomate en una solución al 1.0 mM, y se observó un incremento del contenido de los compuestos fenólicos y licopeno (Kant, 2016). Por lo tanto, el objetivo de este proyecto fue evaluar la elicitación con diferentes concentraciones de ácido salicílico en el fruto de uchuva y evaluar su composición fitoquímica, capacidad antioxidante, así como sus propiedades antidiabéticas.

2. ANTECEDENTES

2.1 Insulina y resistencia a la insulina

La insulina es una hormona peptídica que se sintetiza por las células- β del páncreas (Petersen & Shulman, 2018). El principal efecto fisiológico de esta hormona en la regulación de la utilización de nutrientes y el metabolismo intermedio se produce en el estado postprandial cuando los aumentos variables de glucosa plasmática desencadenan la secreción de insulina (Barazzoni *et al.*, 2018).

Bajo condiciones fisiológicas de ingesta, el aumento de glucosa posprandial en sangre induce la producción y secreción de insulina, la cual debe unirse a su receptor para producir la translocación del transportador de glucosa GLUT4 y permitir la absorción de la glucosa en células diana, como las del músculo y tejido adiposo blanco (Petersen & Shulman, 2018; Berbudi *et al.*, 2020).

Esto provoca la disminución de los niveles de glucosa en sangre y su posterior metabolismo para el almacenamiento o producción de energía dependiendo de las necesidades del individuo. Sin embargo, la resistencia a la insulina se origina cuando existe un excedente de lípidos en los tejidos, provocando una desregulación en la translocación de GLUT4 hacia la membrana (Petersen & Shulman, 2018; Berbudi *et al.*, 2020). Por lo tanto, la resistencia provoca una menor captación de glucosa en tejido adiposo y músculo e induce una mayor actividad gluconeogénica hepática, generando niveles elevados de glucosa (Petersen & Shulman, 2018).

Esta hiperglicemia provoca una mayor demanda de insulina para las células- β pancreáticas que, con el tiempo, estas células ya no son capaces de producir la misma cantidad de esta hormona, resultando también en un estado de hipoinsulinemia (Petersen & Shulman, 2018). Por otro lado, la resistencia a la insulina provoca una elevación de los niveles de triglicéridos, generando un estado de hipertrigliceridemia (Petersen & Shulman, 2020).

2.2 Hipertrigliceridemia

De acuerdo con la ENSANUT, la prevalencia de triglicéridos elevados diagnosticada en adultos mayores a 20 años en México fue del 51.4 % en 2021 (ENSANUT, 2022).

La hipertrigliceridemia es uno de los padecimientos más comunes que está relacionado con la presencia de obesidad, síndrome metabólico y diabetes mellitus. En el caso de la diabetes tipo 2, hasta el 50% de los pacientes con este padecimiento presentan hipertrigliceridemia (Parhofer & Laufs, 2019).

En la ingesta, los triglicéridos dietarios son hidrolizados en el duodeno por acción de la lipasa pancreática, formando un glicerol y ácidos grasos libres, los cuales se transportan en forma de quilomicrones, incrementando los niveles de triglicéridos en torrente sanguíneo. El remanente de quilomicron se transporta al hígado y se incorpora junto con los triglicéridos *de novo*, los cuales aumentan por el alto consumo de carbohidratos. Adicionalmente, en la resistencia a insulina se incrementa la lipólisis en el tejido adiposo, en donde dichos ácidos grasos liberados son transportados al hígado y se reesterifican para sintetizar triglicéridos; además, en el hígado se presenta una disminución de la β -oxidación, lo que incrementa las VLDL y, por lo tanto, el riesgo de problemas cardiovasculares (Basu & Goldberg, 2020; Petersen & Shulman, 2020; Pirahanchi & Sharma, 2021; Karanchi *et al.*, 2022).

Por lo tanto, en un estado de resistencia a insulina, además de tratar la hiperglicemia, se debe controlar la hiperlipidemia. El fármaco más utilizado para el control de la hipertrigliceridemia es la tetrahidrolipstatina, más conocido por su nombre comercial, el Orlistat[®]. Este fármaco tiene un efecto de inhibición competitiva sobre la lipasa pancreática, disminuyendo la hidrólisis de los triglicéridos dietarios y la absorción de la grasa hasta en un 30 %, lo que incrementa la excreción de grasas no digeridas en las heces (Kumar & Chauhan, 2021; Katimbwa *et al.*, 2022).

El Orlistat[®] forma enlaces covalentes con los residuos de serina del sitio activo de la lipasa pancreática; sin embargo, el consumo a largo plazo de este fármaco puede tener efectos secundarios graves como hepatotoxicidad, esteatorrea, lesión renal

aguda y pancreatitis aguda (Nwobodo, 2015; Bansal & Al Khalili, 2022). Por ello, existe una necesidad de encontrar alternativas en la medicina tradicional para el tratamiento y prevención de las complicaciones relacionadas con la resistencia a la insulina.

2.3 Medicina tradicional y alimentación

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), alrededor del 88 % de la población mundial utiliza la medicina tradicional para la atención primaria de la salud. La medicina tradicional es el conjunto de conocimientos, habilidades (capacidad de emplear el conocimiento empírico) y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencias de diferentes culturas, sean o no explicables y utilizadas para el mantenimiento de la salud y para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales (World Health Organization, 2022).

De manera conjunta, la alimentación tiene un papel fundamental para el control de enfermedades. Sin embargo, a pesar de que muchos alimentos han sido utilizados y recomendados por sus beneficios a la salud, algunos de estos no han sido evaluados científicamente o existen pocos reportes. Entra las alternativas recomendadas por sus propiedades antidiabéticas está el fruto de uchuva o *Physalis peruviana* (Bazalar-Pereda *et al.*, 2018).

2.4 Generalidades de *Physalis peruviana*

La uchuva (*Physalis peruviana* Linnaleus) es una planta herbácea originaria de los Andes Peruanos, que crece y se cultiva a 800 – 3000 m sobre el nivel del mar, y pertenece a la familia de las Solanaceas (Fischer *et al.*, 2011; Ramadan, 2020).

La uchuva tiene la forma de un arbusto abovedado que puede crecer hasta 1 m y requiere una temperatura óptima de 13 a 18 °C y una humedad relativa del 70 al 80 %. Las flores tienen forma de campana y son de color amarillo con manchas violáceas, pero la característica más distintiva es el cáliz fructífero color amarillo que se agranda para cubrir la fruta y cuelga hacia abajo como una linterna, su tiempo de maduración es de 60 a 80 días (**Figura 1**).

Una sola planta produce aproximadamente 300 frutos por cosecha, y cada fruto pesa entre 4 – 5 g. El fruto tiene forma globosa parecida a la del tomate de cáscara, y su sabor se describe como agridulce, este es de color naranja-amarillo cuando madura. Este fruto es climatérico, es decir, puede seguir madurando después de ser cosechado (Mayorga *et al.*, 2001; Fischer *et al.*, 2011; Valdenegro *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2019).



Figura 1. Fruto de *Physalis peruviana* (Singh *et al.*, 2019).

2.5 Cultivo de *Physalis peruviana*

El cultivo y producción de la uchuva se ha extendido en los últimos años en varios países latinoamericanos, entre ellos México, debido a que presenta buenas perspectivas e interés en los mercados internacionales que se derivan de su capacidad para adaptarse a diferentes tipos de suelo; arenosos, fértiles y bien drenados. El interés también radica en sus características nutricionales y propiedades medicinales que presenta el fruto (Ramadan & Mörsel, 2007; Fischer *et al.*, 2011; Fischer *et al.*, 2014).

Los diversos usos de la uchuva se basan en el conocimiento ancestral de varias culturas andinas, por lo que su fruto se ha utilizado como antiespasmódico, diurético, antiséptico, sedante, analgésico, y por sus fitoquímicos bioactivos. El fruto de uchuva parece ser una materia prima muy interesante para el desarrollo de nuevos productos alimenticios y bebidas funcionales (Ramadan, 2020).

2.6 Composición proximal de *Physalis peruviana*

El análisis proximal del fruto de *P. peruviana* se presenta en el **Cuadro 1**. Este muestra un gran contenido de humedad (77.3–85.5 %), una baja concentración de

grasas (<0.1–3.2 %), y con un contenido de carbohidratos de 11.9–19.6 % (Puente *et al.*, 2019).

Cuadro 1. Análisis proximal del fruto de *Physalis peruviana* L.

Componente	Repo de Carrasco & Encina (2008)	Rodriguez <i>et al.</i> (2009)	Ramadan (2011)	Briones-Labarca <i>et al.</i> (2013)	Yıldız <i>et al.</i> (2015)	Cortés - Díaz <i>et al.</i> (2015)
Humedad (%)	78.9	81.0	78.9	77.3	–	85.5
Ceniza (%)	1.0	0.8	1.0	1.9	3.0	0.8
Proteína (%)	1.9	1.9	0.1–0.3	2.0	1.7	1.5
Grasas (%)	<0.1	3.2	0.2	0.9	0.2	0.5
Carbohidratos (%)	17.3	13.2	19.6	12.2	13.9	11.9
pH	3.4	–	–	3.8	6.1	–
Energía total (kcal/100 g)	76.8	88.7	–	–	–	58.0

2.7 Composición fitoquímica de *Physalis peruviana*

Estudios recientes han demostrado que el fruto de uchuva contiene compuestos fenólicos totales (6.24 mg eq. de ácido gálico/g base seca), flavonoides totales (0.44 mg eq. de rutina/g base seca) y proantocianidinas extraíbles (0.44 mg eq. de proantocianidinas/g base seca), además, también presenta carotenoides (14.71 mg eq. de β -caroteno/100 g base seca) (González-Buenrostro, 2020).

Otro estudio reportó que la uchuva contiene ácidos fenólicos como el ácido ferúlico, el ácido gálico, el ácido cafeico, el ácido clorogénico y el ácido *p*-cumárico.

Los flavonoides reportados incluyen el kaempferol, la rutina, la miricetina, la quercetina, la catequina y la epicatequina (Olivares-Tenorio *et al.*, 2016); así como fitoesteroles como el β -sitoesterol, el campesterol, el ergosterol, el estigmasterol y el lanosterol (Ramadan, 2020).

2.8 Beneficios a la salud de *Physalis peruviana*

Rodríguez-Ulloa & Rodríguez-Ulloa (2007) reportaron que el consumo de 25 g del fruto fresco de uchuva reduce los niveles de glucosa en sangre a los 90 y 120 minutos en una curva de tolerancia a la glucosa realizada en adultos jóvenes sanos.

El-Mehiry *et al.* (2012) evaluaron el efecto del consumo de extractos metanólicos del fruto (500 mg/kg de peso corporal vía oral), y la suplementación del fruto completo (10%), y la suplementación del fruto completo (10 %) en la dieta de ratas con diabetes tipo 1 inducidas con estreptozotocina, observando una disminución de los niveles séricos de glucosa y un aumento de los niveles de insulina en sangre y glucógeno en hígado con ambos tratamientos.

Sathyadevi *et al.* (2016) reportaron un efecto similar con extractos acuosos del fruto a dosis de 200 mg/kg durante 30 días en ratas con diabetes tipo 2 inducida con estreptozotocina y dieta alta en grasa y fructosa. Mientras que, Pino-de la Fuente *et al.* (2020) reportaron que el consumo del fruto de uchuva (300 mg/kg/día durante 8 semanas), mejoró la resistencia a la insulina y la captación de glucosa *ex vivo* en músculo esquelético de ratones obesos.

Se ha reportado que los extractos etanólicos del fruto inhiben la actividad enzimática de diferentes enzimas gastrointestinales *in vitro*, mostrando inhibición no competitiva para la α -amilasa de *Saccharomyces cerevisiae*, e inhibición competitiva para la α -glucosidasa y maltasa intestinal de rata (Rey *et al.*, 2015). Estas inhibiciones fueron confirmadas por Ezzat *et al.* (2021), quienes reportaron que un extracto de acetato de etilo del fruto aumentó la inhibición de las enzimas α -amilasa, β -glucosidasa y lipasa. En la evaluación de dicho extracto, las ratas utilizadas en el modelo *in vivo* presentaron una disminución de los niveles de glucosa en sangre en un modelo de diabetes tipo 1 inducido con estreptozotocina (dosis de 50 mg/kg). Finalmente, el consumo del fruto seco (0.02 g por vía oral por cada 100 g de peso corporal en una

única administración) produjo una disminución de los triglicéridos séricos hasta en un 18.4 % en ratones inyectados por vía intraperitoneal con tritón, el cual fue utilizado para inducir un estado de hiperlipidemia (Campos-Florian *et al.*, 2011).

Por lo tanto, todos los reportes anteriormente mencionados demuestran que el consumo del fruto, el jugo y los extractos del fruto de uchuva disminuye los niveles de glucosa y triglicéridos en suero. En estudios previos realizados por nuestro grupo de trabajo, se evaluaron decocciones al 3% p/v de un fruto de uchuva cultivado en Sinaloa (México), sin embargo, en este estudio no se observó una mayor captación de glucosa en los preadipocitos 3T3-L1 tratados con decocciones del fruto. Se mostró poca inhibición de la α -amilasa *in vitro* de un extracto de compuestos fenólicos (11 %), y no disminuyó la glucosa en ratas en un curva de tolerancia al almidón (González-Buenrostro, 2020). Por lo tanto, las decocciones del fruto no mostraron los beneficios reportados por otros autores. Por lo anterior, en este proyecto se planteó utilizar técnicas para mejorar el perfil fitoquímico del fruto de uchuva con la finalidad de incrementar sus beneficios a la salud.

2.9 Aplicación de estrés salino en el fruto de *Physalis peruviana*

Las plantas realizan la biosíntesis de metabolitos secundarios como mecanismo de defensa para contrarrestar el estrés provocado por herbívoros, patógenos, sequía, estrés salino Y la exposición a la radiación ultravioleta, entre otras señales (Shakya *et al.*, 2019).

Los metabolitos secundarios no son necesarios para el crecimiento y desarrollo de la planta; no obstante, estos compuestos han adquirido relevancia para la elaboración de productos farmacéuticos, nutracéuticos, aditivos alimentarios y agroquímicos. Por lo cual, se han empleado diferentes estrategias enfocadas en inducir señales de estrés controladas para estimular y aumentar la producción y acumulación de metabolitos secundarios en plantas, proceso conocido como elicitación (Ali, 2020).

El estrés salino es un tipo de elicitador abiótico, en el cual la planta se somete a concentraciones elevadas de NaCl, provocando que se incremente la capacidad

antioxidante de las hojas y el contenido de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT) (Alves *et al.*, 2017).

En un estudio en el cual la planta de uchuva se trató con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva a 10, 20, 30 y 40 mM durante 90 días, se presentó un menor rendimiento de la planta, como crecimiento del arbusto y número de frutos. En las hojas se observaron incrementos del 103 % de compuestos fenólicos totales, 25 % de flavonoides y 34 % de polifenoles hidrolizables (HPP), mientras que, el contenido de proantocianidinas no extraíbles disminuyó hasta en un 42 %. En el fruto no se observaron efectos en el contenido de compuestos fenólicos totales, mientras que, se presentó un aumento del 20 % de flavonoides, 39 % de las proantocianidinas extraíbles (EPA) y 19 % de proantocianidinas no extraíbles (NEPA). En este estudio se observaron incrementos del contenido de compuestos bioactivos, sin embargo, se presentaron efectos agronómicos negativos (González-Buenrostro, 2020).

Se realizaron estudios con decocciones de los frutos elicitados con NaCl 40 mM (en dosis de 0.25 mg/mL) en preadipocitos 3T3-L1 durante una hora, y no se observó un incremento en la captación de glucosa, aunque sí mejoró la inhibición de la actividad de α -amilasa *in vitro*. Sin embargo, al realizar una curva de tolerancia al almidón en ratas sanas, la administración del fruto elicitado no disminuyó el pico hiperglucémico de los animales con respecto al grupo tratado solamente con almidón (González-Buenrostro, 2020, Mora-Garduño, 2022).

Debido a los efectos agronómicos negativos producidos con la elicitación de la uchuva mediante estrés salino, así como los a pocos beneficios a la salud observados es importante identificar otras alternativas de elicitores para inducir una mejor respuesta en el perfil de compuestos fitoquímicos, siendo el ácido salicílico una opción como elicitor debido a que este ácido fenólico, además de mejorar el contenido de compuestos bioactivos, mejora el rendimiento en las plantas (Ali, 2020).

2.10 Mecanismo de la elicitación con ácido salicílico

El ácido salicílico (AS) es un compuesto fenólico endógeno en plantas y desempeña un papel importante en las etapas de crecimiento y desarrollo vegetal (Ali, 2020). El ácido salicílico estimula la expresión de genes de defensa contra el estrés, lo cual genera una respuesta de resistencia sistémica adquirida (SAR por sus siglas en inglés) (Kumar, 2014).

Con relación a la inducción de metabolitos en plantas, el mecanismo inicia con la aplicación foliar de la solución con ácido salicílico sobre la planta para su difusión a través de la cutícula. Una vez en la planta, el ácido salicílico se transporta a través del floema y se une a su receptor, el cual está presente en la membrana plasmática, provocando una cascada de señalización como respuesta al estrés (Pokotylo *et al.*, 2019; Shakya *et al.*, 2019). La unión del ácido salicílico a su receptor activa las proteínas G, las cuales a su vez promueven la salida de iones de potasio y cloro, y la entrada de iones de calcio e hidrógeno, lo cual provoca una acidificación citoplasmática que es esencial para la producción de especies reactivas de oxígeno (**Figura 2**) (Pokotylo *et al.*, 2019; Shakya *et al.*, 2019).

La afluencia de iones de calcio se considera la señal más importante para esta cascada debido a su participación en diferentes procesos fisiológicos y celulares por la activación de quinasas dependientes de calcio, e incluso es responsable de la generación de especies reactivas de oxígeno activando proteínas quinasas dependientes del calcio. También, el ácido salicílico activa a NADPH oxidasa para la generación de especies reactivas de oxígeno (Shakya *et al.*, 2019).

Por otro lado, las proteínas G activan a las fosfolipasas PLA, PLC y PLD, las cuales hidrolizan a fosfolípidos de membrana como IP₂, estimulando los niveles de cAMP, IP₃ y DAG, liberando las reservas de iones de calcio intracelulares que activan a las quinasas PKA y PKC. Estas proteínas quinasas fosforilan a las MAPK, que, junto con la generación de especies reactivas de oxígeno y el aumento de los iones de calcio, activan genes de respuesta de reprogramación transcripcional para la producción de metabolitos secundarios (**Figura 2**) (Shakya *et al.*, 2019).

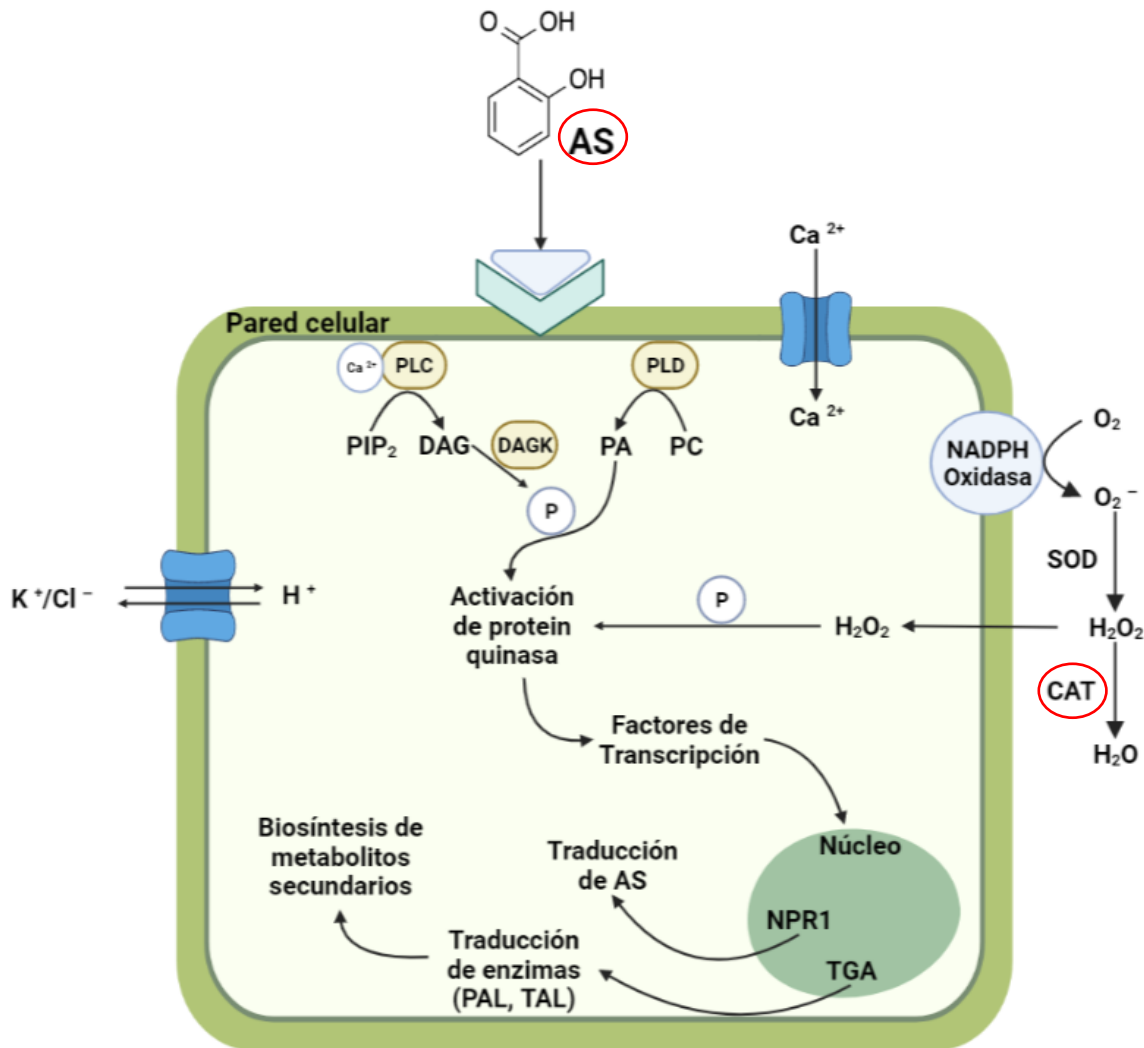


Figura 2. Mecanismo molecular de elicitación con ácido salicílico en plantas. AS: ácido salicílico. PLC: fosfolipasa C, PLD: fosfolipasa D, PC: fosfatidilcolina, DAG: diacilglicerol, DAGK: diacilglicerol quinasa, SOD: superóxido dismutasa, CAT: catalasa (Adaptado de Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011; Ramírez-Estrada *et al.*, 2016; Shakya *et al.*, 2019).

2.11 Efectos de la elicitación de plantas con ácido salicílico

En estudios con frutos de mango que fueron tratados con solución de ácido salicílico 2.0 mM durante su pre cosecha, poscosecha y combinación de pre y poscosecha y almacenados a 13 °C durante 20 días, se reportó que la combinación incrementó el contenido de los compuestos fenólicos totales y las capacidades antioxidantes (Win & Setha, 2022).

Se ha reportado que la aplicación de ácido salicílico en durazno a la concentración de 2 y 4 mM como tratamiento precosecha, así como tratamiento postcosecha, en los cuales los frutos se sumergieron en una solución 2 mM, se presentó una mejora de la vida de anaquel y un incremento en el contenido de vitamina C y compuestos fenólicos (Salyari *et al.*, 2022).

Respecto a estudios con frutos de la familia Solanaceae como la planta de tomate (*Solanum lycopersicum*), éstas fueron tratadas en las partes aéreas con solución de AS 0.5 mM, 30 días después del trasplante, tratados 4 veces con intervalos de 7 días. Los tratamientos con AS aumentaron ligeramente los contenidos de licopeno y β -caroteno en extractos hexánicos, y de compuestos fenólicos totales y flavonoides en extractos metanólicos en comparación con el control. Sin embargo, no se observaron incrementos en las capacidades antioxidantes medidas por ABTS, DPPH y FRAP de los extractos metanólicos (Baek *et al.*, 2021).

Otro estudio, las plantas de tomates fueron tratadas de manera foliar con diferentes dosis de AS (0, 0.25, 0.05, 0.075, 0.1 y 0.125 mM) cada 15 días después del trasplante, con siete aplicaciones del elicitor a lo largo del ciclo de vida de las plantas. Los resultados mostraron que el AS aumentó la firmeza y el rendimiento (mayor peso y número de frutos por planta) y disminuyó la pérdida de peso en comparación con los valores del fruto control. El tratamiento 0.25 mM de AS aumentó significativamente el contenido de los compuestos fenólicos, flavonoides totales, licopeno y vitamina C en un 40.1, 166.7, 16.9 y 31.5 %, respectivamente, comparados con el fruto control. Estos efectos se atribuyeron a la capacidad bioestimulante del ácido salicílico (Sariñana-Aldaco *et al.*, 2020).

3. JUSTIFICACIÓN

En un estado de resistencia a la insulina existe un incremento de los niveles basales de glucosa y triglicéridos en sangre, los cuales aumentan el riesgo de complicaciones a la salud.

Se ha reportado que diversas plantas utilizadas en la medicina tradicional son ricas en compuestos fitoquímicos que tienen beneficios a la salud, como es el caso del fruto de uchuva, el cual ha cobrado gran relevancia en los últimos años.

El consumo del fruto de uchuva ha demostrado control de la glucosa, la insulina y los triglicéridos en estudios *in vivo* y clínicos. Sin embargo, estudios realizados por nuestro grupo de trabajo con decocciones de fruto mostraron poca capacidad para transportar la glucosa en preadipocitos 3T3-L1. En animales sanos, los cuales fueron sometidos a una curva de tolerancia al almidón, en conjunto con la decocción del fruto de uchuva, no se observó ningún efecto antihiper glucémico.

Una estrategia para mejorar los beneficios de las plantas es el incremento del contenido fitoquímico de éstas, empleando herramientas como la elicitación con AS. Este ácido ha sido utilizado ampliamente, ya que, además de favorecer el crecimiento de las plantas, es capaz de inducir la síntesis de fitoquímicos como los compuestos fenólicos, los carotenoides y los fitoesteroles. Estudios previos realizados en tomates de la familia de la Solanaceae, las plantas fueron asperjados de manera foliar con AS durante la etapa de precosecha en los frutos se observó un incremento en el contenido de carotenoides y compuestos fenólicos. Sin embargo, hasta el momento, no se han reportado estudios con la fruta de uchuva elicitada con AS.

Por lo tanto, en este proyecto se planteó evaluar el efecto de la elicitación del fruto de uchuva durante la etapa precosecha sobre los cambios en el contenido y perfil de compuestos bioactivos y determinar la capacidad de los frutos elicitados para controlar los niveles de glucosa y triglicéridos en torrente sanguíneo de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la elicitación del fruto de *Physalis peruviana* con ácido salicílico sobre la composición fitoquímica y sus propiedades antioxidantes y antidiabéticas.

4.2 Objetivos particulares

- Evaluar del efecto de la elicitación del fruto de *Physalis peruviana* con ácido salicílico sobre su composición fitoquímica.
- Determinar las capacidades antioxidantes del fruto de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico.
- Evaluar los efectos hipolipidémicos e hipoglucémicos del fruto elicitado con ácido salicílico en ratas alimentadas con una dieta obesogénica

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Material vegetal

Las semillas de uchuva se adquirieron en la casa comercial Saxflax® (Alemania). Estas fueron cultivadas en Universidad Tecnológica de Culiacán (Sinaloa, México) en condiciones de invernadero. Para la germinación, las semillas se colocaron en charolas de poliestireno con 200 cavidades y se utilizó agua y Peat moss Sunshine Mix 3® como sustrato. A los 17 días de la siembra, las semillas germinaron y se trasplantaron a suelo con nutrientes y riego con agua 25 días después de la germinación en 5 surcos divididos en 3 partes iguales, separados 10 m entre cada surco.

Después de 105 días del trasplante a suelo, la elicitación comenzó durante la floración y la formación del fruto. Se aplicó de manera foliar diferentes concentraciones de ácido salicílico (0, 0.25, 0.5, 1.0 y 2.0 mM), utilizando 100 mL del elicitor por planta una vez por semana. A los 84 días de la formación del fruto se detuvo la elicitación y se procedió a la recolección de los frutos (**Figura 3**), retirando el cálize, estos se secaron a 70 °C sin ventilación durante 48 h, y se molieron. Se realizaron 3 repeticiones de cada tratamiento al azar, con 21 plantas por surco (7 por tratamiento).

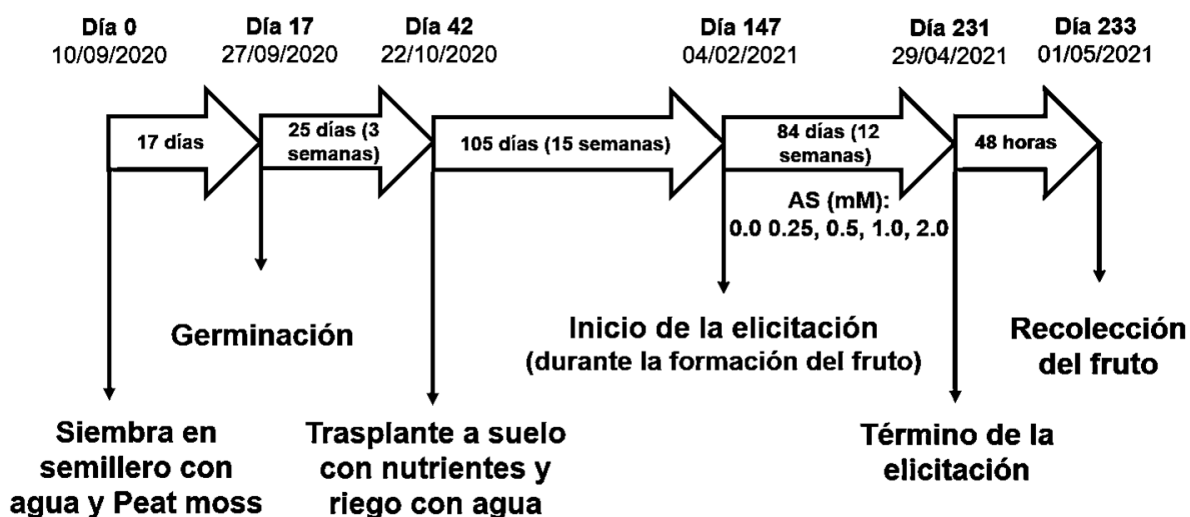


Figura 3. Metodología de la elicitación.

5.1.2 Material biológico

Para el estudio *in vivo*, se trabajó con 35 ratas Wistar macho adultas de 10 semanas de edad con pesos promedio de 530-550 g, los cuales fueron donados por el Instituto de Neurobiología (UNAM, Juriquilla, Querétaro, México). El desarrollo del estudio con los animales se llevó a cabo de acuerdo con el Anexo I, y aprobado por el comité de bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro con número JPQ-OFIC.204/2021), y con base en los lineamientos para experimentos con animales de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999).

Previo a la experimentación, los animales permanecieron una semana de adaptación en el bioterio del Posgrado de Alimentos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro. Se colocaron dos animales por jaula de 452 cm² y 20 cm de altura. Las jaulas contaron con un clip a prueba de escape, condiciones del ambiente controladas con humedad (50 ± 10 %), temperatura (25 ± 3 °C), ciclos de fotoperiodo (12:12 h luz/oscuridad), y ventilación de aire constante (12 cambios por hora).

La elaboración de las dietas se realizó de acuerdo con las buenas prácticas de manufactura, tomando en cuenta la edad de los animales a utilizar en el experimento y utilizando dieta estándar (Rodent Diet 5001, LabDiet®). Asimismo, los animales se etiquetaron para su identificación marcando la cola mediante diferentes colorantes no tóxicos para las ratas, y se monitoreó la conducta de los animales.

Para garantizar las condiciones de higiene, se realizó limpieza diariamente de los bebederos, comedores, pisos y charolas de recolección de orina y heces; se realizó la limpieza de las jaulas cada tercer día y se monitoreó el comportamiento de los animales.

5.2 Metodología

5.2.1 Medición de color en frutos deshidratados

La medición de color de los frutos deshidratados después de la molienda se realizó mediante un colorímetro Konica Minolta® CM5100-W, bajo condiciones del iluminante y observador respectivas de D65 y 10°. La medición se realizó colocando

la muestra en una caja Petri con superficie y laterales blancos, ubicando el lente sobre la muestra. Para la medición del color se calibró el equipo utilizando una placa de color blanco. Para la adquisición de las coordenadas L^* , a^* , b^* se utilizó el software Espectra Magic NX CM 5100 W®.

5.2.2 Cuantificación de compuestos fitoquímicos

5.2.2.1 Extracción de compuestos fenólicos totales en fruto

Los extractos de fruto deshidratado se obtuvieron mediante la metodología descrita por Hassan *et al.* (2011). Se mezclaron 0.5 g de fruto deshidratado con 20 mL de una solución metanol/agua acidificado a pH 2 (50:50, v/v). Las mezclas se agitaron a 1500 g durante 1 h a temperatura ambiente y posteriormente se centrifugaron por 10 min a 4000 g a 4 °C y se recuperó el sobrenadante.

Posteriormente, a los residuos se adicionaron 20 mL de una solución acetona/agua (70:30, v/v), se agitaron por una 1 h a temperatura ambiente y para recuperar el sobrenadante se centrifugaron a 4000 g por 10 min y 4 °C. Los sobrenadantes (metanol/agua 50:50 p/v y acetona/agua 70:30 v/v) se mezclaron para determinar el contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales y capacidades antioxidantes utilizando las técnica de ABTS y DPPH (Hassan *et al.*, 2011).

5.2.2.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales

La cuantificación de compuestos fenólicos totales se realizó mediante el método de Folin Coicalteu descrito por Singleton *et al.* (1999) con algunas modificaciones. Se mezcló una alícuota de 6 µL de cada extracto, y se ajustó el volumen a 50 µL con agua destilada, y se adicionaron 125 µL del reactivo de Folin Coicalteu 1 N y 625 µL de solución de carbonato de sodio al 20 % (p/v) en agua.

Posteriormente, las muestras se agitaron por 30 min, protegidas de la luz. Transcurrido el tiempo se midió la absorbancia a 765 nm y se realizó la cuantificación utilizando una curva de calibración de ácido gálico de 0.002-0.011 mg equivalentes de ácido gálico/mL de reacción. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por g de muestra seca (Singleton *et al.*, 1999).

5.2.2.3 Cuantificación de flavonoides totales

Para la determinación de flavonoides totales se utilizó el método colorimétrico descrito por Oomah *et al.* (2005), con algunas modificaciones. De cada extracto se tomaron 50 µL de muestra y se llevó a 230 µL con agua destilada. Después, se adicionaron 20 µL de una solución de 2-aminoetil difenilborato al 1 % (p/v) disuelto en metanol y la reacción se midió a 404 nm. Los resultados se calcularon utilizando una curva estándar de rutina de 10-56 µg equivalentes de rutina/mL de reacción, y los resultados se expresaron como mg equivalentes de rutina/g de muestra seca (Oomah *et al.*, 2005).

5.2.2.4 Cuantificación de compuestos fenólicos no extraíbles

Para realizar esta técnica se usó el residuo del fruto deshidratado obtenido en la sección 5.2.2.1. Esta metodología fue descrita por Zurita *et al.* (2012). Primero se pesaron 300 mg del residuo de la extracción descrita en el punto (5.2.2.1), que fue secado en horno a 45 °C sin ventilación durante 12 horas, en seguida se mezcló con 4 mL de una solución de HCl/n-butanol (5:95 v/v) con 0.7 g de FeCl₃ por litro de solución, para realizar la hidrólisis de la muestra a 100 °C durante 1 h.

La mezcla se centrifugó a 3500 g durante 10 min a temperatura ambiente y después se recuperó el sobrenadante. Posteriormente, se realizaron dos lavados con 2 mL de la solución de hidrólisis HCL/butanol/FeCl₃ y el volumen se aforó a 10 mL con esta solución (Zurita *et al.*, 2012).

Finalmente, se leyeron las absorbancias a 450 nm y 555 nm. Los resultados se calcularon utilizando una curva de proantocianidinas reportada por Zurita *et al.* (2012), y se expresaron como mg equivalentes de proantocianidinas no extraíbles/g muestra seca.

5.2.2.5 Cuantificación de carotenoides

Para esta determinación se utilizó la metodología reportada por Olives *et al.* (2006). Se pesaron 0.5 g de fruto molido en tubos Falcon de 50 mL y se mezclaron con 20 mL de una solución de hexano:acetona:etanol (50:25:25 v/v/v) y agitación constante por 30 min. Después, se adicionaron 3 mL de agua y se dejó reposar la

mezcla hasta la separación de fases, se centrifugó por 10 min a 4000 g y se recuperó la fase orgánica (fase superior), colocando la muestra en tubos Falcon limpios y protegidos de la luz. El proceso de extracción se repitió 1 vez más y se mezclaron las fases. La absorbancia de las muestras se midió a 446 nm (Olives *et al.*, 2006).

La concentración de β -caroteno se calculó de acuerdo con la ley de Lambert-Beer con la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración de } \beta\text{-caroteno} = \frac{(ABS)(PM)(\text{factor de dilución})}{(\varepsilon)(\text{distancia})}$$

Donde:

ABS = Absorbancia de 446 nm

PM = Peso molecular (536.8726 g/mol)

ε = Coeficiente de extinción molar para β -caroteno en hexano (139200 L/mol*cm)

Distancia = 1 cm

Los resultados se expresaron como mg eq. de β -caroteno/g de muestra seca.

5.2.2.6 Cuantificación de fitoesteroles

Para esta determinación se utilizó el método colorimétrico con base en la reacción enzimática de β -sitosterol descrito por Pinheiro-do Prado *et al.* (2013) con algunas modificaciones.

Se pesaron 250 mg de fruto seco en tubos de vidrio y las muestras se saponificaron a 80 °C durante 1 h con 5 mL de una solución de KOH 0.5 M en metanol. La fracción no saponificada se separó agregando 1 mL de agua y 2 mL de hexano, posteriormente se centrifugaron los tubos a 2739 g durante 5 min. Se tomaron alícuotas de 0.6 mL de la fase superior de hexano y se transfirieron en tubos Eppendorf con un flujo de aire constante y una temperatura de 45 °C para la evaporación del

disolvente (Pinheiro-do Prado *et al.*, 2013), en un equipo SpeedVac Concentrator™ Savant™ SC210A (ThermoFischer, EE.UU).

El material no saponificado se resuspendió en 80 µL de isopropanol, el pellet resuspendido se mezcló en un vórtex, se adicionaron 300 µL del reactivo enzimático Colesterol-LQ (Spinreact®, España), incubándose la muestra a 35 °C durante 15 min. Después del periodo de incubación, la intensidad del color se midió a 500 nm. Se utilizó una curva de calibración empleando un estándar comercial de β-sitosterol (Sigma-Aldrich®, México). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de β-sitosterol/g de muestra seca (Pinheiro-do Prado *et al.*, 2013).

5.2.3 Identificación de compuestos bioactivos

5.2.3.1 Identificación de compuestos fenólicos extraíbles

Una mezcla de 10 mg de frutos secos con 1 mL de acetona/agua (85:15 v/v) se homogeneizó durante 1 min. Luego, se sonicó durante 15 s con 45 s de retraso y finalmente se repitió tres veces. Los sobrenadantes se mezclaron, secaron en un Labconco CentriVap® (EE.UU), se suspendieron en 100 µL de metanol (grado HPLC) y se filtraron en una membrana de nailon (0.45 µm). Posteriormente, las muestras se almacenaron a -20 °C hasta el análisis químico.

El perfil de ácidos fenólicos, flavonoides y fitoesteroles se determinó mediante cromatografía líquida de ultra-alta resolución (UPLC) (Waters Corp., Milford, MA, EE.UU), acoplado a un arreglo PDA-ESI-QqQ (detector de diodos-ionización por electropulverización-triple cuadrupolo) (Xevo TQ-S, Waters Corp., Wexford). La columna utilizada para separar los compuestos fue una columna Aquity BEH C18, 2.1 × 150 mm, 1.7 µm (Agilent), operada a 30 °C.

Para compuestos fenólicos, el perfil de elución incluyó dos solventes: agua Milli Q acidificada con 7.5 mM de ácido fórmico (99.9:0.1 v/v H₂O:HCOOH) (Solvente A) y acetonitrilo CH₃CN (Solvente B): el gradiente de elución fue: 0 min 3% B, 1.88 min 9 % B, 5.66 min 16 % B, 16.90 min 50 % B, 19.62 min 3 % B, y 20.0 min 3 % B, para la estabilización de la columna a un caudal de 210 µL/min.

Para fitoesteroles, el perfil de elución incluyó dos solventes: 7.5 mM H₂O/HCOOH (Disolvente A) y metanol/CH₃OH (Disolvente B): el gradiente de elución fue 0 min 85 % B, 2.0 min 90 % B, 8.0 min 100 % B, 9.0 min 85 % B, y 12 min 85% B. La ionización se realizó utilizando como cosolvente metanol con 0.1% de ácido fórmico (v/v) a un flujo de 5 µL/min con el uso de un solvente isocrático (Waters Corp., Wexford).

La ionización por electropulverización (ESI), en condiciones negativas, fue la siguiente: voltaje capilar 2.5 kV, temperatura de desolvatación 400 °C, temperatura de la fuente 150 °C, flujo de gas de desolvatación 800 L/h y flujo de gas de cono 150 L/h, flujo de gas de colisión de 0.13 mL/min, energía de colisión en modo MS 5.0 y energía de colisión en modo MS/MS 20.0 (Díaz-Rivas *et al.*, 2018).

Para la identificación y cuantificación de compuestos fenólicos y fitoesteroles, se utilizó una mezcla de estándar (20 ng/µL) y β-sitosterol respectivamente, para monitorear el tiempo de retención y los valores m/z y las transiciones MS/MS. Se registró el modo de monitoreo de reacciones múltiples para muestras y estándares. El procesamiento de datos y el control del espectrómetro de masas de triple cuadrupolo UPLC y Tandem Xevo TQ-S se realizaron con el software MassLinx Versión 4.1 (Waters Corp.)

5.3 Determinación de las capacidades antioxidantes e inhibición enzimática

5.3.1 Determinación de la capacidad antioxidante mediante el ensayo de ABTS

Para esta técnica se utilizó la metodología descrita por Re *et al.* (1999) con algunas modificaciones, la cual consiste en la formación del radical ABTS^{•+} (2,2'-azinobis(-3 etilbensotiazolin-6-ácido sulfónico)). Para ello, se mezclaron, 88 µL de una disolución de persulfato de potasio (140 mM) con 5 mL de una disolución de ABTS (7 mM), que se dejó reposar por 12 h en obscuridad a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó en etanol hasta obtener una absorbancia de 0.70 ± 0.02 a 734 nm. Posteriormente, se tomaron 6 µL del extracto obtenido en el punto (5.2.2.1), y se aforó a 20 µL con agua destilada, que se mezclaron con 230 µL del radical ABTS^{•+}.

Se prepararon dos blancos; el blanco 1 se preparó con 20 µL de etanol y 230 µL de agua y el blanco 2 se preparó con 20 µL de agua y 230 µL de etanol. Se utilizaron dos controles: el control 1 se preparó mezclando 20 µL de etanol con 230 µL de radical diluido, mientras que, el control 2 se preparó mezclando 20 µL de agua con 230 µL del radical ABTS^{•+}. Los blancos y los controles se agitaron por 6 min y se midió la absorbancia a 734 nm. El porcentaje de inhibición se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(Abs\ c - Abs\ b) - (Abs\ m - Abs\ b)}{Abs\ c - Abs\ b} * 100$$

Donde:

Abs c = absorbancia promedio de los controles 1 y 2

Abs b = absorbancia promedio de los blancos 1 y 2

Abs m = absorbancia de la muestra

Por último, se realizó una curva estándar de Trolox de 25-600 µM equivalentes de Trolox/mL de reacción para interpolar los datos, que se expresaron como mM equivalentes de Trolox/g de muestra seca.

5.3.2 Determinación de la capacidad antioxidante mediante el ensayo de DPPH

Esta técnica se realizó con base en la metodología descrita por Brand-Williams *et al.* (1995) con algunas modificaciones. Este ensayo consiste en la disminución de la absorbancia a 517 nm por la reducción del radical DPPH[•] (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), debido a la acción de los antioxidantes.

Para formar el radical DPPH[•], se mezclaron 8 mg de DPPH con 100 mL de metanol, agitando la mezcla para ajustar la absorbancia de 0.75-0.78 a 517 nm. Se utilizaron 10-20 µL del extracto obtenido en el punto (5.2.2.1), y se ajustaron a 20 µL con agua destilada, y se mezclaron con 200 µL del radical DPPH[•].

Para preparar el control, se mezclaron 20 µL de metanol con 200 µL del radical DPPH[•], y el blanco se preparó mezclando 200 µL de agua destilada con 20 µL de

metanol. Posteriormente, la reacción se agitó por 6 min y se midió la absorbancia a 517 nm (Brand-Williams *et al.*, 1995).

El porcentaje de inhibición del radical DPPH^{*} se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(Abs\ c - Abs\ b) - (Abs\ m - Abs\ b)}{Abs\ c - Abs\ b} * 100$$

Donde:

Abs c = absorbancia promedio del control

Abs b = absorbancia promedio del blanco

Abs m = absorbancia de la muestra

Se empleó una curva estándar de Trolox de 50-800 μ M equivalentes de Trolox/mL de reacción para interpolar los resultados, que se expresaron como mM equivalentes de Trolox por g de muestra seca (Brand-Williams *et al.* 1995).

5.3.3 Determinación de la capacidad antioxidante mediante el ensayo de Q-ABTS

Esta técnica se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Del Pino-García *et al.* (2015). La solución patrón del radical ABTS^{•+} se diluyó con etanol hasta una absorbancia de 0.70 ± 0.02 a 734 nm. Se pesó 1 mg del fruto seco de uchuva en tubos de ensayo protegidos de la luz y se adicionó 10 mL de la solución ajustada de ABTS^{•+}.

Después de 30 min de incubación con agitación continua se midió la absorbancia de las muestras a 734 nm y se restó de la absorbancia de la solución de trabajo de ABTS^{•+}. Se realizó una curva de calibración de Trolox como estándar y los resultados se expresaron como μ mol equivalentes de Trolox/g de muestra seca.

5.3.4 Determinación de la capacidad antioxidante mediante el ensayo de Q-DPPH

Esta técnica se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Del Pino-García *et al.* (2015). Se preparó una solución patrón del radical DPPH[•] en metanol puro, y se diluyó hasta una absorbancia a 517 nm de 0.70 ± 0.02 .

Posteriormente, se pesaron 5 mg del fruto seco de uchuva en tubos de ensayo cubiertos de la luz, y se les adicionó 10 mL de solución ajustada de DPPH[•]. Las muestras se agitaron por 30 min a temperatura ambiente y la absorbancia se leyó a 517 nm. Se realizó una curva de calibración de Trolox como estándar y los resultados se expresaron como μmol equivalentes de Trolox/g de muestra seca.

5.3.5 Ensayo de la inhibición de la lipasa pancreática

Este ensayo se realizó mediante la técnica de Bustanji *et al.* (2011), con algunas modificaciones. Se preparó una solución de 10 mg/mL de la enzima lipasa pancreática porcina (Sigma-Aldrich[®]) en solución amortiguadora de Tris-HCl (2.5 mM, pH 7.4 con 2.5 mM NaCl), para dar una concentración de 5 mg/mL (200 unidades/mL), y se mezcló usando un agitador durante 15 min. La solución se centrifugó a 1600 g por 5 min a temperatura ambiente, y se recuperó el sobrenadante.

El control positivo se preparó disolviendo una cápsula de Orlistat[®] de 120 mg (fármaco inhibidor de la lipasa pancreática) en 12 mL de DMSO (dimetilsulfóxido 99 %), y se centrifugó a 1600 g durante 5 min a temperatura ambiente y se recuperó el sobrenadante. En seguida, se preparó el sustrato disolviendo *p*-nitrofenil laurato (0.08 % p/v) en solución de acetato de sodio 5 mM ajustado a pH 5.0 con HCl y 1 % de tritón X-100 mM. La mezcla se sometió a ebullición para clarificar la solución (Bustanji *et al.*, 2011).

En una microplaca de 96 pozos se mezclaron 80 μL de la solución Tris 100 mM (pH 8.2), 30 μL de la solución de lipasa pancreática (10 mg/mL), 90 μL de la solución *p*-nitrofenil laurato, y 10 μL de extractos metanólicos obtenidos en la sección 5.2.2.1 (Bustanji *et al.*, 2011).

El control negativo se preparó (100% de actividad enzimática) utilizando 10 µL de agua Milli-Q® en sustitución de los extractos metanólicos. Para la preparación del control para la enzima se sustituyó la solución de la enzima y el extracto por 40 µL de agua Milli-Q®.

Para preparar el control del sustrato se sustituyó la solución de p-nitrofenil laurato y el extracto metanólico por 100 µL de agua Milli-Q®, y el control positivo se preparó sustituyendo el extracto metanólico por 10 µL de la solución de Orlistat® (10 mg/mL). Por último, los blancos de la muestra se prepararon sustituyendo la enzima por 30 µL de agua Milli-Q®.

La reacción se incubó a 37 °C por 2 h y se leyó la absorbancia a 400 nm (Bustanji *et al.*, 2011). Los resultados se reportaron como porcentaje de inhibición de lipasa pancreática mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(Abs\ o - \bar{X}\ \Lambda) - (Abs\ m - Abs\ bm)}{Abs\ cs} \cdot 100$$

Donde:

Abs o = absorbancia del control con 100% de la actividad enzimática

Abs ce = absorbancia del control enzima

Abs cs = absorbancia del control sustrato

Abs m = absorbancia de la muestra

Abs bm = absorbancia del blanco de la muestra

5.4 Estudios del efecto antidiabético

5.4.1 Grupos experimentales

Para el modelo experimental, las ratas se clasificaron en 5 grupos de 7 animales aleatoriamente: a) Control sano (Dieta estándar o STD), b) Control obeso (DAGF), c) DAGF + Control, d) DAGF + AS 1.0 mM, e) DAGF + AS 2.0 mM (**Cuadro 2**). El

tratamiento se llevó a cabo durante ocho semanas (agua y alimento *ad libitum*). En el **Cuadro 3**, se muestra la composición de las dietas estándar y DAGF.

Cuadro 2. Grupos de estudio para la evaluación *in vivo* de los frutos de *Physalis peruviana*.

Grupo	Dieta
Grupo STD	Estándar ¹
Grupo DAGF	Alta en grasa y fructosa ²
Grupo DAGF + Control	Alta en grasa y fructosa + 10 % fruto control
Grupo DAGF + AS 1.0 mM	Alta en grasa y fructosa + 10 % fruto AS 1.0 mM
Grupo DAGF + AS 2.0 mM	Alta en grasa y fructosa + 10% fruto AS 2.0 mM

¹Dieta estándar (Laboratory Rodent Lab 5001*, LabDiet®), ²Dieta alta en grasa y fructosa (60 % de dieta estándar, 20 % de grasas, 20 % de grasas y vitaminas y minerales 1 g x 3 kg de alimento).

Cuadro 3. Contenido nutrimental de las dietas utilizadas en el estudio *in vivo*.

Nutrientes	Dieta estándar	Dieta alta en grasas y fructosa
Proteínas	23 %	14 %
Carbohidratos	63.5 %	40 %
- Fructosa	0 %	35 %
Lípidos	4.5 %	40 %
- Saturados	1 %	38 %
- Colesterol	0 %	2 %
Vitaminas	1 %	3 %
Minerales	8 %	3 %

Se registró semanalmente el peso corporal de las ratas y el consumo de alimento y, una semana antes del sacrificio, se colocaron los animales en jaulas metabólicas para la recolección de las heces.

5.4.2 Determinación de lípidos totales en heces

La cuantificación de lípidos totales se realizó mediante la técnica descrita por Coronado-Cáceres *et al.* (2020), con algunas modificaciones. Las muestras de heces

se recolectaron 24 horas previas al sacrificio, se secaron a 70 °C en campana de extracción, se molieron y se tamizaron.

Se pesaron 200 mg de heces en tubos Falcon de 15 mL y se adicionaron 2 mL de solución salina normal por tubo y se agitaron durante 1 min. En seguida, se adicionaron 2 mL de una solución de cloroformo:metanol (2:1, v/v), y la mezcla se agitó durante 1 min. La suspensión se centrifugó a 1000 g durante 10 min a temperatura ambiente hasta formar dos fases, donde la fase líquida inferior (la cual contenía los lípidos extraídos) se recuperó en tubos Eppendorf de 2 mL previamente pesados utilizando una aguja de 22 G½. Las muestras se evaporaron al vacío y el contenido de lípidos totales se cuantificó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Lípidos totales en heces} = \left(\frac{PF - PI}{PM} \right) * 100$$

Donde:

PF = Peso inicial del tubo (g)

PI = Peso inicial del tubo (g)

PM = Peso de la muestra (g)

5.4.3 Sacrificio y recolección de muestras

Los animales, con ayuno de 12 h, fueron anestesiados con pentobarbital sódico (0.4 mL por kg de peso corporal) por vía intraperitoneal, y se sacrificaron por decapitación con guillotina para recolectar su sangre en tubos Vacutainer. La sangre recolectada se centrifugó a 3000 g a 4 °C durante 10 min, y el suero obtenido se almacenó a -70 °C hasta la realización de los análisis correspondientes.

Los desechos se manejaron de la siguiente manera; el material punzocortante (jeringas utilizadas) se colocó en un recipiente rígido rojo de polipropileno resistente a fracturas especial para objetos punzocortantes. El recipiente se rotuló como “residuos peligrosos punzocortantes biológico-infecciosos”.

Se designó un lugar adecuado para el almacenamiento temporal, con temperatura de -20 °C para estos residuos por un periodo máximo de 15 días hasta su recolección por la empresa Servicios Especializados en Residuos S.A. de C.V., la cual

garantizó el debido tratamiento de los residuos para evitar la proliferación de microorganismos patógenos. Además, el material quirúrgico utilizado se remojó durante 12 h en cloro, se lavó y se esterilizó para su almacenamiento (NOM-087-ECOL-SSA1-2002).

5.4.4 Determinación de glucosa y triglicéridos en suero

La glucosa y los triglicéridos se cuantificaron en el suero de las ratas utilizando kits enzimáticos (Spinreact®, España).

5.5 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, los datos se expresaron como la media \pm la desviación estándar. La evaluación de los datos estadísticos se determinó mediante un análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de confianza del 95 %, mientras que, para el caso de las comparaciones en los modelos biológicos fue del 90%. Se realizó la prueba de Tukey para la comparación de medias; asimismo, se utilizó la prueba t de Student para la comparación entre dos medias. Los resultados se analizaron con el paquete estadístico R versión 4.1.0

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1 Medición de color en frutos deshidratados

El proceso de elicitación modifica el perfil de compuestos bioactivos, incluyendo algunos pigmentos asociados al color. En el caso del fruto de uchuva, el color se debe principalmente a los carotenoides, como la β -criptoxantina, la luteína, el α -caroteno y el β -caroteno (Nawirska-Olszańska *et al.*, 2017). Por ello, para determinar de manera indirecta las modificaciones de estos compuestos en el fruto de uchuva elicitado con ácido salicílico, se realizó la determinación de parámetros de color.

En la colorimetría, los parámetros de color más importantes son las coordenadas del espacio CIE $L^*a^*b^*$. La luminosidad es representada como coordenada L^* , que va desde valores positivos (que indican más luminosidad) hasta valores negativos (que indican oscuridad). La coordenada a^* expresa cambios de color donde los valores negativos indican tonalidades verdosas y los valores positivos indican tonalidades rojizas, y la coordenada b^* expresa cambios de color donde los valores negativos indican tonalidades azuladas y los valores positivos tonalidades amarillas (Macdougall, 2010).

Otro espacio de color importante en la colorimetría es el valor de C^* que representa croma o saturación, y puede definirse como la fuerza o dominancia del tono. En el borde exterior del círculo se encuentran los tonos intensamente saturados. Hacia el centro del círculo de colores, no domina ningún tono y se vuelven cada vez menos saturados. El valor de h significa hue⁰ o ángulo de tono, el cual se expresa en grados y comienza en el eje $+a^*$, donde 0° es una tonalidad roja ($+a^*$), 90° es una tonalidad amarilla ($+b^*$), 180° es una tonalidad verde ($-a^*$), y 270° es una tonalidad azul ($-b^*$) (Macdougall, 2010).

Con relación a los resultados, se observó una mayor luminosidad en el fruto control, mientras que, en los frutos elicitados se presentaron valores menores hasta en un 12.8 %; resultados similares fueron observados para a^* hasta en un 47.5 %, y para b^* en un 65.3 %. Estos resultados impactaron en el cálculo de cromaticidad (C) y en el de tonalidad (h), los cuales también fueron menores comparados con los del fruto

control, hasta en un 63 y 26.7 %, respectivamente. Todos los valores de color en el fruto seco no mostraron un efecto dosis dependiente (**Cuadro 4**).

En un estudio realizado por Nawirska-Olszańska *et al.* (2017), se reportó que las coordenadas de color del fruto de uchuva secado a 70 °C y circulación de aire con flujo de 1.5 m·s⁻¹ durante 5 horas, fueron L* M= 40.66 ± 0.54, a* = 6.15 ± 0.7, y b* = 19.41 ± 0.71. Al comparar estos valores con los encontrados en nuestro estudio, donde nuestros frutos fueron secados a 70 °C durante 48 h sin flujo de ventilación, se puede observar cierta similitud en las coordenadas L* y a*, sin embargo, el valor de b* fue mayor al obtenido por estos autores, lo que sugiere una mayor tonalidad amarilla de sus frutos.

Cuadro 4. Parámetros de color en el fruto seco de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico.

Tratamiento (AS mM)	L*	a*	b*	C	h ^o
Control	42.81 ± 0.29 ^a	8.30 ± 0.48 ^a	10.75 ± 0.34 ^a	13.58 ± 0.56 ^a	52.34 ± 0.72 ^a
0.25	37.49 ± 0.22 ^d	3.95 ± 0.22 ^e	3.12 ± 0.20 ^e	5.03 ± 0.24 ^e	38.33 ± 1.90 ^b
0.5	39.22 ± 0.42 ^b	5.88 ± 0.29 ^b	5.90 ± 0.19 ^b	8.34 ± 0.07 ^b	45.11 ± 2.30 ^c
1.0	37.32 ± 0.29 ^d	4.48 ± 0.02 ^d	3.73 ± 0.21 ^d	5.83 ± 0.14 ^d	39.70 ± 1.53 ^b
2.0	38.00 ± 0.19 ^c	5.21 ± 0.20 ^c	4.85 ± 0.24 ^c	7.12 ± 0.31 ^c	42.94 ± 0.38 ^c

Los datos representan la media ± la desviación estándar, (n=3). Letras diferentes para los datos en una misma fila muestran una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medida por Tukey. L*: luminosidad (0 = negro, 100 = blanco), a*: ejes (+ 60 = rojo, - 60 = verde), b*: ejes (+ 60 = amarillo, - 60 = azul), C: croma (0 = opaco, 100 = brillante), h^o: hue (0° - 180° presenta cambios de tono, donde 0° = rojo y 90° = amarillo). Frutos secados a 50 °C durante 48 h sin flujo de ventilación.

6.2 Composición fitoquímica de los frutos de *Physalis peruviana* elicitados con ácido salicílico

Los compuestos fenólicos pueden encontrarse en frutas, legumbres, verduras, té, vino, y café, en forma de glucósidos o agliconas, unidos a pared o libres; estos tienen estructuras poliméricas o monoméricas. En las plantas, estos compuestos se

clasifican en ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, estilbenos, y lignanos (Alara *et al.*, 2021).

Al cuantificar al cuantificar los compuestos fenólicos totales se determinó que los frutos elicitados con ácido salicílico 0.5 mM y 1.0 mM presentaron la misma concentración con respecto al fruto control, mientras que, contrario a lo esperado, hubo una disminución de hasta un 26 % de dichos compuestos en el fruto elicitado con 2.0 mM (**Cuadro 5**).

De acuerdo con Yıldız *et al.*, (2015) el fruto de uchuva contiene 1.45 mg eq. de ácido gálico/g de compuestos fenólicos totales. En los resultados que obtuvieron en nuestro estudio se encontró que el contenido de compuestos fenólicos totales fue hasta 2.55 mg eq. de ácido gálico/g, siendo 1.75 veces mayor a lo ya reportado.

En la determinación de los flavonoides totales también se obtuvieron resultados no esperados. Los frutos elicitados con ácido salicílico presentaron concentraciones similares en estos compuestos. Sin embargo, el fruto control mostró mayor contenido de estos compuestos en un 29 % con respecto a los frutos elicitados (**Cuadro 5**).

Se ha reportado en el fruto de uchuva un contenido de flavonoides de 4.05 – 5.26 mg/g (Rop *et al.*, 2012). El resultado más importante obtenido en nuestro estudio fue para el fruto control (1.39 mg/g), siendo hasta 66 % menor a lo ya reportado.

En un estudio realizado por Vithana *et al.* (2018) se encontró que la elicitación del fruto de mango con ácido salicílico disminuyó el contenido de compuestos fenólicos totales. Esto pudiera estar relacionado a que los compuestos fenólicos solubles se desvían a la síntesis de compuestos fenólicos no solubles por la ruta de los fenilpropanoides, para formar lignanos, lignina y cutina y, con ellos, fortalecer la estructura del fruto, disminuyendo de esta manera su concentración (Maceda *et al.*, 2021). Estos compuestos insolubles son conocidos como compuestos fenólicos no extraíbles (NEPP). A diferencia de los compuestos fenólicos extraíbles, los NEPP permanecen en los residuos de las extracciones y solo pueden ser liberados por tratamientos como hidrólisis, ya sea química o enzimática (Plumb *et al.*, 2020). Para determinar el efecto de la elicitación sobre los NEPP se cuantificaron las proantocianidinas no extraíbles.

Los frutos elicitados con AS 0.25 y 2.0 mM mostraron una menor concentración de compuestos fenólicos no extraíbles, mientras que, el fruto elicitado con 1.0 mM presentó una mayor concentración de estos compuestos hasta en un 14.63 % (**Cuadro 5**). En nuestro estudio, el contenido de NEPP en el fruto de uchuva fue mayor hasta un 55.2 % comparado con lo reportado por González-Buenrostro (2020), el cual fue de 2.12 mg/g.

De acuerdo con lo anterior, la disminución de compuestos fenólicos solubles favorece la formación de compuestos fenólicos insolubles, sin embargo, esto no es acorde a lo encontrado en este estudio, ya que la disminución de solubles más importante se detectó en los frutos elicitados con 0.25 y 2.0 mM y no se observó en estos una mayor concentración de compuestos fenólicos insolubles. Por lo tanto, dicha disminución podría asociarse a una menor síntesis de compuestos o a que estos podrían utilizarse en otras vías de defensa para el fruto (INTAGRI, 2017).

Cuadro 5. Contenido de compuestos fenólicos en el fruto seco de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico.

Compuesto	Tratamiento (AS mM)				
	Control	0.25	0.5	1.0	2.0
Compuestos fenólicos totales ¹	2.49 ± 0.33 ^{ab}	1.89 ± 0.20 ^c	2.13 ± 0.08 ^{bc}	2.55 ± 0.24 ^a	1.61 ± 0.19 ^c
Flavonoides totales ²	1.39 ± 0.11 ^a	1.11 ± 0.04 ^b	1.09 ± 0.04 ^b	1.22 ± 0.05 ^{ab}	0.99 ± 0.04 ^b
NEPP ³	2.87 ± 0.13 ^b	1.93 ± 0.09 ^d	2.73 ± 0.14 ^{bc}	3.29 ± 0.11 ^a	2.54 ± 0.11 ^c

Los datos representan la media ± la desviación estándar, (n=3). Letras diferentes para los datos en una misma fila muestran una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medida por Tukey. ¹Compuestos fenólicos totales reportados como mg eq. de ácido gálico/g base seca. ²Flavonoides totales reportados como mg eq. de rutina/g base seca. ³NEPP reportados como mg eq. de proantocianidinas no extraíbles/g base seca. NEPP: Compuestos fenólicos no extraíbles.

6.3 Determinación de carotenoides totales

Los carotenoides son pigmentos naturales derivados de los isoprenoides presentes en frutos y hortalizas. Estos compuestos producen coloraciones amarillas, naranjas, rojas o púrpuras y su importancia biológica se debe a que presentan actividad antioxidante en el organismo y pueden mejorar la resistencia a la insulina (Roohbakhsh *et al.*, 2017; Eggersdorfer & Wiss, 2018). Los principales carotenoides en el fruto de uchuva son la luteína (fruto inmaduro) y el β -caroteno (fruto maduro), encontrándose principalmente en la pulpa del fruto (Ramadan, 2020).

Para el fruto de uchuva elicitado con ácido salicílico se presentó un menor contenido de carotenoides totales al aumentar la concentración del elicitor hasta 1.0 mM el cual exhibió 38 % menos contenido comparado con el fruto control.

Se ha reportado en el fruto de uchuva maduro un contenido de carotenoides de 33.2 mg/100 g (Etzbach *et al.*, 2018). En nuestro estudio, el mayor contenido de estos compuestos se determinó en el fruto control (18.76 mg/100 g), lo cual es aproximadamente 1.76 veces menor a lo anteriormente reportado.

Cuadro 6. Contenido de carotenoides totales en fruto seco de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico a diferentes concentraciones.

Compuesto	Tratamiento (AS mM)				
	Control	0.25	0.5	1.0	2.0
Carotenoides totales ¹	18.76 \pm 0.94 ^a	15.62 \pm 0.53 ^b	13.39 \pm 0.54 ^{ab}	11.63 \pm 0.50 ^c	12.67 \pm 0.94 ^{bc}

Los datos representan la media \pm la desviación estándar, (n=3). Letras diferentes para los datos en una misma fila muestran una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medida por Tukey. ¹Carotenoides totales reportados como mg eq. de β -caroteno/100 g base seca.

La disminución de estos compuestos por efecto de la aplicación exógena del ácido salicílico podría estar relacionado con la producción de etileno. Se ha reportado que la elicitación con ácido salicílico tiene un efecto inhibitorio de los genes de la ACC oxidasa (ACO), enzima encargada de la síntesis de etileno (Pérez-Llorca *et al.*, 2019). El etileno es una molécula asociada con la maduración de frutos; incrementa su

concentración conforme madura el fruto. A su vez, el contenido de carotenoides está ligado con la maduración del fruto (Kant *et al.*, 2016).

Se ha reportado que el fruto tomate (*Solanum lycopersicon* L.) cosechado y posteriormente elicitado con ácido salicílico, presentó una disminución en el contenido de los carotenoides debido a una menor síntesis del etileno (Kant *et al.*, 2016; Pérez-Llorca *et al.*, 2019). De manera similar, se sugiere que en el fruto de uchuva se podría presentar este efecto debido a que este fruto pertenece a la misma familia del tomate, lo cual indicaría que la aplicación foliar de ácido salicílico en el fruto pudo haber retardado su estado de madurez, por ende, tener un menor contenido de carotenoides.

6.4 Determinación de fitoesteroles totales

Los fitoesteroles son compuestos similares en síntesis y estructura al colesterol. Se ha reportado que tienen efectos benéficos a la salud, ejercen un efecto antioxidante en el organismo, disminuyen la dislipidemia, y, además, tienen un efecto positivo en la señalización de la insulina (Puente *et al.*, 2011; Mo *et al.*, 2013; Vezza *et al.*, 2020).

Estos compuestos pueden encontrarse en los frutos de manera libre o en forma de ésteres con ácidos grasos, glucósidos o esterilglucósidos acilados. El aceite extraído de la pulpa y piel del fruto de uchuva presenta un contenido de fitoesteroles de hasta 55.6 mg/g (Ramadan & Mörsel, 2003; Mo *et al.*, 2013).

En nuestro estudio se reportó un incremento del contenido de estos compuestos al aumentar la concentración del elicitor, hasta 2.7 veces en el fruto elicitado con el tratamiento AS 2.0 mM comparado al fruto control (**Cuadro 7**).

Se ha reportado un contenido de 55.6 mg/g de fitoesteroles totales en el aceite del fruto de uchuva (Ramadan & Mörsel, 2007). No obstante, en el estudio ya reportado se concentró el aceite del fruto y se cuantificó mediante cromatografía de gases, mientras que, la técnica usada en nuestro estudio para la cuantificación de fitoesteroles fue una prueba colorimétrica, siendo esta prueba colorimétrica menos específica que la cromatografía de gases.

Cuadro 7. Contenido de fitoesteroles totales en el fruto seco de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico a diferentes concentraciones.

Compuesto	Tratamiento (AS mM)				
	Control	0.25	0.5	1.0	2.0
Fitoesteroles totales ¹	23.02 ± 2.49 ^c	21.43 ± 2.00 ^c	23.57 ± 2.18 ^c	44.32 ± 2.11 ^b	63.08 ± 6.78 ^a

Los datos representan la media ± la desviación estándar, (n=3). Letras diferentes para los datos en una misma fila muestran una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medida por Tukey. ¹Fitoesteroles totales reportados como mg eq. de β -sitosterol/100 g base seca.

Se ha reportado que disminuye la síntesis de carotenoides con la elicitación con ácido salicílico y el etileno por la inhibición de la enzima geranylgeranyl pirofosfato sintasa, enzima clave para la síntesis de carotenoides (**Figura 4**). La inhibición de esta enzima provoca la acumulación de dimetilalil pirofosfato y este compuesto puede salir del plástido al citoplasma, disminuyendo la síntesis de carotenoides para favorecer la síntesis de fitoesteroles (Ali, 2021; Srivastava *et al.*, 2022).

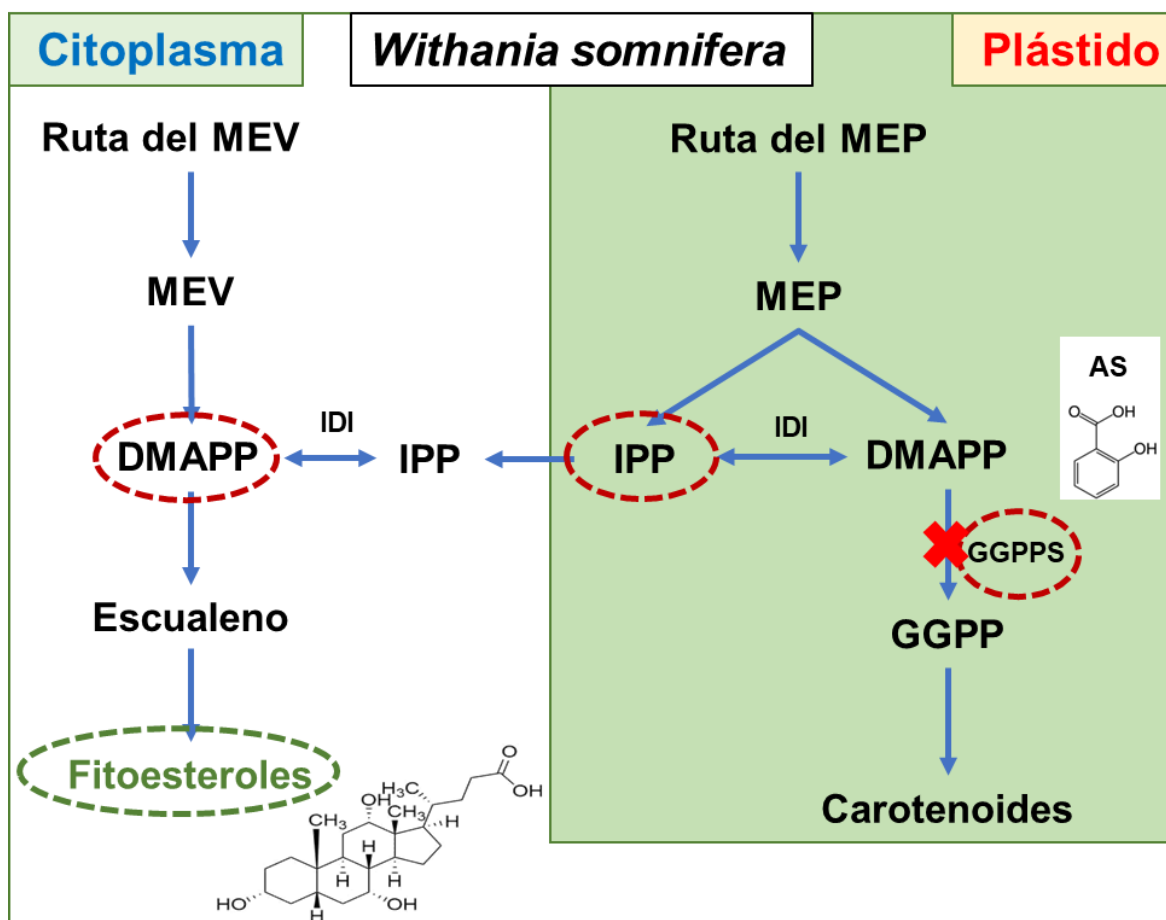


Figura 4. Síntesis de fitoesteroides inducida por la elicitación con ácido salicílico en *Whitania somnifera*. AS: ácido salicílico. IPP: Inositol pirofosfato. DMAPP: Dimetilalil pirofosfato. IDI: Isopentenil difosfato isomerasa. MEV: Mevalonato. MEP: 2-C-metil-D-eritriol-4-fosfato (adaptado de Srivastava *et al.*, 2022).

6.5 Identificación de compuestos bioactivos en el fruto de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico

Se realizó la identificación del perfil fitoquímico de los extractos metanólicos de los frutos de uchuva elicitados con ácido salicílico para identificar cambios en los compuestos fenólicos extraíbles debidos a la elicitación con ácido salicílico.

En la identificación de compuestos se encontraron 5 ácidos hidroxicinámicos, 8 ácidos hidroxibenzoicos, 2 flavan-3-oles, 3 flavanoles, 1 flavanona y 3 flavonas (Cuadro 8).

De los ácidos hidroxibenzoicos, el ácido shikímico fue el ácido fenólico más abundante en todos los frutos, y de los ácidos hidroxicinámicos, el ácido quínico fue el que se tuvo un mayor contenido en todos los frutos. Otros autores han reportado que el ácido gálico es el compuesto mayoritario del fruto de uchuva, seguido de ácido 4-hidroxibenzoico, naringenina y ácido benzoico (El-Beltaji *et al.*, 2019).

La elicitación con ácido salicílico produjo un incremento de ácidos hidroxicinámicos de un 35–45 %, siendo más importante este efecto para los frutos elicitados con 1.0 mM y 2.0 mM. Mientras que, para los ácidos hidroxibenzoicos, el incremento solamente se observó en frutos elicitados con la concentración de 0.25 mM (15 %). Contrario a lo esperado, para frutos elicitados con 2.0 mM de ácido salicílico, se observó una disminución del 16 % del contenido de estos compuestos. Además, la elicitación no modificó ninguno de los flavonoides identificados.

Cuadro 8. Compuestos fitoquímicos cuantificados mediante UPLC-PDA-ESI-QqQ en extractos del fruto seco de *Physalis peruviana* elicitado a diferentes concentraciones de ácido salicílico.

Compuesto	TR (min)	Ion precursor	Transiciones	Tratamiento (AS mM) / Concentración (mg/100 mL)				
				Control	0.25	0.5	1	2
Ácidos hidroxicinámicos								
Ácido quínico	0.62	191.2	93.06 > 85.06	21.22 ± 2.34 ^a	27.88 ± 3.29 ^a	26.85 ± 4.99 ^a	26.48 ± 6.34 ^a	27.37 ± 3.36 ^a
Ácido cafeico	4.79	179.19	135.08 > 89.09	DLD	2.34 ± 0.00 ^a	2.33 ± 0.00 ^a	2.33 ± 0.00 ^a	2.33 ± 0.00 ^a
Ácido ferúlico	6.38	193.24	178.07 > 134.04	2.63 ± 0.01 ^a	2.64 ± 0.02 ^a	DLD	2.70 ± 0.03 ^a	2.65 ± 0.02 ^a
Ácido sinápico	6.33	223.24	164.06 > 149.04	DLD	DLD	3.25 ± 0.01 ^a	3.57 ± 0.17 ^a	3.40 ± 0.08 ^a
Ácido <i>trans</i> -cinámico	7.1	147.17	103.08 > 77.07	1.56 ± 0.09 ^a	1.65 ± 0.05 ^a	1.65 ± 0.06 ^a	1.60 ± 0.15 ^a	1.65 ± 0.03 ^a
Totales				25.41 ± 2.43^b	34.51 ± 3.36^{ab}	34.03 ± 5.06^{ab}	36.88 ± 6.69^a	37.4 ± 3.49^a
Ácidos hidroxibenzoicos								
Ácido shikímico	0.64	173.18	111.07 > 93.06	109.06 ± 36.94 ^b	126.10 ± 9.72 ^a	107.53 ± 16.72 ^b	107.08 ± 11.82 ^b	86.13 ± 7.82 ^c
Ácido gálico	1.49	169.15	125.15 > 79.07	1.37 ± 0.00 ^a	1.37 ± 0.00 ^a	1.37 ± 0.00 ^a	1.37 ± 0.01 ^a	DLD
Ácido protocatecoico	2.69	153.15	109.50 > 91.04	4.65 ± 0.02 ^a	4.72 ± 0.01 ^a	4.68 ± 0.04 ^a	DLD	DLD
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	3.71	153.15	108.92 > 81.09	2.57 ± 0.01 ^a	2.57 ± 0.01 ^a	2.55 ± 0.01 ^a	2.55 ± 0.00 ^a	DLD
Ácido 4-hidroxibenzoico	3.87	137.04	93.05 > 65.09	1.85 ± 0.00 ^a	1.84 ± 0.00 ^a	1.85 ± 0.00 ^a	1.99 ± 0.11 ^a	2.02 ± 0.06 ^a
2,4,6-trihidroxibenzaldeído	5.78	153.15	153.52 > 83.04	2.05 ± 0.01 ^a	2.05 ± 0.01 ^a	2.05 ± 0.01 ^a	2.05 ± 0.01 ^a	2.06 ± 0.01 ^a
Ácido benzoico	6.99	121.1	77.1	2.89 ± 0.06 ^b	2.95 ± 0.15 ^b	3.00 ± 0.14 ^b	12.48 ± 1.90 ^a	11.03 ± 0.81 ^a
Ácido 2-hidroxibenzoico	7.11	137.04	93.05 > 65.09	ND	2.58 ± 0.00 ^a	2.57 ± 0.00 ^a	2.70 ± 0.09 ^a	2.68 ± 0.06 ^a
Totales				124.94 ± 37.04^a	144.18 ± 9.09^a	125.6 ± 16.92^a	130.2 ± 13.94^a	103.92 ± 8.76^a

Cuadro 8. Continuación.

Compuesto	TR (min)	Ion precursor	Transiciones	Tratamiento (AS mM) / Concentración (mg/100 mL)				
				Control	0.25	0.5	1	2
Flavan-3-oles								
Galocatequina galato	6.67	457.37	331 > 287	2.23 ± 0.02 ^a	2.26 ± 0.01 ^a	2.23 ± 0.04 ^a	2.29 ± 0.06 ^a	2.25 ± 0.03 ^a
Procianidina B1/B2	3.95	577.44	407.21 > 289.18	2.16 ± 0.07 ^a	2.16 ± 0.03 ^a	2.19 ± 0.08 ^a	2.14 ± 0.03 ^a	2.23 ± 0.15 ^a
Totales				4.39 ± 0.09^a	4.42 ± 0.04^a	4.42 ± 0.12^a	4.43 ± 0.09^a	4.48 ± 0.18^a
Flavonoles								
Kaempferol	9.91	285.22	185 > 151	1.42 ± 0.74 ^a	1.80 ± 0.30 ^a	3.06 ± 1.33 ^a	2.17 ± 0.35 ^a	2.71 ± 1.22 ^a
Quercetina	8.87	301.2	179 > 151	0.09 ± 0.01 ^a	0.10 ± 0.02 ^a	0.13 ± 0.02 ^a	0.10 ± 0.02 ^a	0.10 ± 0.03 ^a
Rutina	6.52	609.28	300.24 > 271.13	0.52 ± 0.01 ^a	0.52 ± 0.01 ^a	0.51 ± 0.00 ^a	0.51 ± 0.00 ^a	0.51 ± 0.00 ^a
Totales				2.03 ± 0.76^a	2.42 ± 0.33^a	3.87 ± 1.35^a	2.78 ± 0.37^a	3.32 ± 0.25^a
Flavanonas								
Naringina	7.34	579.32	271.13 > 151.02	0.99 ± 0.00 ^a	0.99 ± 0.00 ^a	0.99 ± 0.01 ^a	0.99 ± 0.00 ^a	0.99 ± 0.00 ^a
Totales				0.99 ± 0.00^a	0.99 ± 0.00^a	0.99 ± 0.01^a	0.99 ± 0.00^a	0.99 ± 0.00^a
Flavonas								
Apigenina	9.66	269.27	148.5 > 117.04	0.86 ± 0.01 ^a	0.86 ± 0.01 ^a	0.86 ± 0.00 ^a	0.85 ± 0.02 ^a	0.86 ± 0.01 ^a
Acacetina	11.96	283.23	268.1 > 211.1	1.08 ± 0.00 ^a	1.08 ± 0.00 ^a	1.07 ± 0.00 ^a	1.07 ± 0.00 ^a	1.08 ± 0.00 ^a
Luteolina	8.81	285.21	151.05 > 133.04	0.09 ± 0.13 ^a	0.21 ± 0.07 ^a	0.22 ± 0.10 ^a	0.28 ± 0.07 ^a	0.33 ± 0.16 ^a
Totales				2.03 ± 0.14^a	2.15 ± 0.08^a	2.15 ± 0.10^a	2.2 ± 0.09^a	2.27 ± 0.17^a

Los datos representan 3 réplicas ± la desviación estándar. Letras diferentes para los datos en una misma fila muestran una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medida por Tukey. * significa que fue cuantificado con estándares comerciales. DLD: debajo del límite de detección. Aductos [M-H]-

Adicionalmente, se identificaron algunos compuestos que se reportaron como intensidad de señal (**Cuadro 9**). Para los ácidos hidroxibenzoicos, el ácido hidroxibenzoico hexósido fue el compuesto que presentó la mayor intensidad, el cual aumentó en los frutos elicitados con 0.5 y 1.0 mM comparado con el fruto control. Para los ácidos hidroxicinámicos, el compuesto con mayor intensidad fue el ácido cafeico hexósido, seguido de los ácidos cafeolquínicos II y III. Estos ácidos disminuyeron considerablemente con la elicitación con ácido salicílico, siendo mayor el efecto para estos dos ácidos particularmente con la concentración de 2.0 mM. Otro compuesto mayoritario fue el ácido sinápico hexóxido y, contrario al comportamiento anteriormente mencionado, este compuesto incrementó con la elicitación, principalmente en frutos elicitados con 0.5 mM. Para el caso de las flavonas e isoflavonas, estas aumentaron frutos elicitados con ácido salicílico 0.5 mM.

En un estudio de El-Beltagi *et al.* (2019) demostraron que el ácido gálico es el ácido mayoritariamente detectado en el fruto de uchuva, mientras que, en nuestro estudio los compuestos mayoritarios fueron el ácido quínico y shikímico, los cuales, además, no han sido previamente reportados en el fruto de uchuva.

Para el caso de los flavonoides, los encontrados en nuestro estudio se identificaron la naringenina, el kaempferol, la apigenina, la galocatequina galato, la quercetina y la rutina, y estos compuestos ya habían sido reportados previamente por otros autores (Olivares-Tenorio *et al.*, 2016; El-Beltagi *et al.*, 2019; Ezzat *et al.*, 2021). No obstante, la proantocianidina B1/B2, la naringina, la acacetina, la luteolina, la apigenina dihexósido y la genisteína dihexósido no han sido reportados.

Por otro lado, también se detectaron 5 fitoesteroles en los extractos de los frutos de uchuva. El estigmastanol y el ergosterol son los únicos que aumentaron en los frutos elicitados con con ácido salicílico, principalmente a la concentración de 2.0 mM (**Cuadro 9**). Sin embargo, el β -sitoesterol, el campesterol, y el estigmasterol no se modificaron por efecto de la elicitación. Se ha reportado previamente que el β -sitoesterol, el estigmasterol, el campesterol y el ergosterol, se encuentran en el fruto de uchuva, mientras que, el estigmastanol no ha sido previamente reportado.

Cuadro 9. Identificación de compuestos fitoquímicos mediante UPLC-PDA-ESI-QqQ en extractos del fruto seco de *Physalis peruviana* elicitado a diferentes concentraciones de ácido salicílico.

Compuesto	TR (min)	Ion precursor	Fragmentos	Tratamiento (AS mM) / Intensidad				
				Control	0.25	0.5	1	2
Ácidos hidroxibenzoicos								
Ácido hidroxibenzoico hexósido	1.82	299.07	137.024	137860 ± 20747	156000 ± 9721	175250 ± 19080	170000 ± 22315	138500 ± 7858
Ácido dihidroxibenzoico hexósido	2.11	315.07	153.01	32980 ± 6492	35225 ± 2629	35550 ± 4234	29625 ± 4307	33750 ± 5835
Ácidos hidroxicinámicos								
Ácido sinápico	6.38	223.06	208.14	12283 ± 4935	6025 ± 1018	7502 ± 2211	5247 ± 1368	6517 ± 1181
Ácido hexósido cumárico	4	325.09	119.05, 164.04	30160 ± 6351	14475 ± 1996	15100 ± 1581	9592 ± 1052	14125 ± 696
Ácido cumaroilquinico isómero I	0.87	337.09	163.04, 191.05	32700 ± 5909	18250 ± 2262	15575 ± 1887	16175 ± 1387	13247 ± 2225
Ácido cumaroilquinico isómero II	0.87	337.09	163.04, 191.05	36080 ± 6135	16925 ± 2809	16225 ± 1270	11277 ± 835	15575 ± 1553
Ácido cumaroil isómero III	0.86	337.09	163.04, 191.05	27390 ± 6335	13325 ± 2212	14750 ± 1554	12500 ± 1570	15425 ± 2414
Ácido cafeico hexósido	0.6	341.09	135.04, 179.06	98000 ± 452382	495500 ± 28338	540000 ± 23198	411250 ± 53166	461250 ± 108125
Ácido clorogénico	0.7	353.09	179.03	70120 ± 5739	60275 ± 8665	46450 ± 5725	44525 ± 5937	28050 ± 650
Ácido cafeoilquinico isómero II	0.66	353.09	179.03, 191.01	354000 ± 37862	302000 ± 11052	277250 ± 27308	242750 ± 23271	195750 ± 4346

Cuadro 9. Continuación.

Compuesto	TR (min)	Ion precursor	Fragmentos	Tratamiento (AS mM) / Intensidad				
				Control	0.25	0.5	1	2
Ácido cafeoilquinico isómero III	0.67	353.09	179.04, 191.06	386000 ± 49617	348750 ± 12092	268750 ± 29906	282750 ± 29474	201500 ± 9886
Ácido ferúlico hexósido	4.75	355.1	134.04, 193.07	71660 ± 10742	79750 ± 4987	72150 ± 8635	59825 ± 8933	58500 ± 8462
Ácido feruloilquinico isómero I	4.33	367.1	193.05	30460 ± 8616	23125 ± 3600	32650 ± 10787	14762 ± 4423	13800 ± 1077
Ácido feruloil isómero II	4.32	367.1	191.06, 193.05	37100 ± 6406	21100 ± 1775	19010 ± 5040	12550 ± 566	16575 ± 1092
Ácido sinápico hexósido	5.01	385.11	208.04, 223.04	125760 ± 17557	146500 ± 6551	212500 ± 12453	228000 ± 24943	223500 ± 12305
Flavona								
Apigenina dihexósido	4.03	593.15	269.06, 431.1	84100 ± 12303	98100 ± 2288	104875 ± 17209	88375 ± 7975	80900 ± 12941
Isoflavona								
Genisteina dihexósido	4	593.15	269.11, 431.18	85580 ± 31	121750 ± 166	117025 ± 209	85425 ± 12	95250 ± 800
Fitoesteroles								
Estigmasterol	2.14	411	109	14475 ± 2037	17775 ± 2034	16350 ± 2302	21425 ± 1533	22475 ± 1449
Estigmastanol	2.4	400	147.3	6227 ± 492	9592 ± 502	8325 ± 745	10200 ± 476	12147 ± 758
β-sitosterol	2.23	398	147	13010 ± 1991	11412 ± 2294	12172 ± 943	13160 ± 800	16500 ± 1116
Campesterol	2.28	383	147, 161.1	15600 ± 1466	19825 ± 1118	18400 ± 2281	18725 ± 1566	18950 ± 1687
Ergosterol	1.28	379	105	9312 ± 1390	13825 ± 917	16750 ± 1053	15025 ± 695	15475 ± 1645

Los datos son presentados como la media (intensidad de la señal) ± desviación estándar.

6.6 Medición de la capacidad antioxidante en extractos del fruto seco de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico

Determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos tiene su importancia en la prevención de reacciones de oxidación. Los polifenoles difieren en su estructura química y pueden tener diferente grado de solubilidad que varía por su peso molecular, grado de glicosilación acilación o esterificación. Por este motivo, se han implementado distintas técnicas para determinar la capacidad antioxidante de los alimentos, siendo los más comunes los que utilizan los radicales ABTS^{•+} y DPPH[•], y estos determinan la capacidad antioxidante de compuestos con diferente solubilidad (Del Pino-García *et al.*, 2015).

Estos dos radicales (ABTS^{•+} y DPPH[•]) pueden ser neutralizados mediante la reducción directa por la transferencia de electrones o por atrapamiento del radical por la transferencia de átomos de hidrógeno, donde un medio ácido facilita el mecanismo de transferencia de electrones. El ABTS^{•+} es soluble en solventes polares, mientras que, el DPPH[•] es soluble en solventes orgánicos (Cerretani & Bendini, 2010). Además, se deben considerar las capacidades antioxidantes asociadas a los residuos de las extracciones acuosas-orgánicas. Dichos compuestos antioxidantes no están disponibles en el intestino delgado.

Además, se deben considerar las capacidades antioxidantes asociadas a los residuos de las extracciones acuosas-orgánicas, cuyos compuestos no están disponibles en el intestino delgado como los compuestos fenólicos no extraíbles (NEPP). Sin embargo, estos compuestos pueden llegar intactos al colon o ser fermentados por la microbiota presente en el mismo, liberando así metabolitos que tienen capacidad antioxidante. Algunos productos de origen vegetal que contienen NEPP en sus residuos de extracción, constituyen una fracción relevante para la capacidad antioxidante de las muestras (Saura-Calixto & Goñi, 2006). Por lo tanto, se han desarrollado técnicas como la Quencher (Q-) que se basa en la interacción directa de la matriz sólida con los reactivos. Así, los antioxidantes solubles de la matriz atrapan el radical presente en el medio de la reacción de acuerdo con las reacciones líquido-líquido, mientras que, los componentes antioxidantes

incorporados a las partículas insolubles despliegan su capacidad antioxidante de las reacciones de superficie que ocurren en la interfase sólido-líquido (Del Pino-García *et al.*, 2015).

Con base en lo anteriormente planteado, se realizó en este estudio las técnicas antioxidantes de los compuestos extraíbles y de la matriz completa. Para el caso de la capacidad antioxidante del fruto de uchuva medida por ABTS se observó una disminución del 31 % para los frutos elicitados con ácido salicílico 0.25 mM con respecto al fruto control, mientras que, para los demás tratamientos no se observó diferencia estadística significativa. Para Q-ABTS, estas capacidades fueron hasta 20 veces más altas comparadas con ABTS, y el tratamiento con AS 1.0 mM incrementó en un 15 % la capacidad Q-ABTS del fruto elicitado respecto al fruto control, mientras que, el AS 2.0 mM disminuyó un 41 % (**Figura 5**). Estos resultados son mayores a lo descrito por Bazalar *et al.*, (2018) y Olivares-Tenorio *et al.*, (2016), esto podría estar relacionado a que estos autores realizaron esta capacidad antioxidante en la matriz alimentaria fresca.

El comportamiento de la capacidad antioxidante medida por ABTS no está relacionado con la concentración de los compuestos fenólicos totales ni a los flavonoides totales (**Cuadro 10**), ya que los frutos elicitados con 0.25 y 2.0 mM fueron los tratamientos que presentaron menor contenido de estos compuestos (**Cuadro 5**); sin embargo, los frutos elicitados con la concentración de 2.0 mM presentaron mayor antioxidante. El efecto antioxidante podría estar asociado a compuestos no determinados en este estudio.

Este incremento de la capacidad antioxidante evaluado por Q-ABTS en los frutos elicitados con ácido salicílico 1.0 mM podría asociarse a la elevada concentración de compuestos fenólicos no extraíbles determinados en estas muestras (3.29 mg/g). Mientras que, la disminución de Q-ABTS para los frutos elicitados con 2.0 mM podría también asociarse a estos compuestos, los cuales mostraron en menor concentración en este tratamiento (2.54 mg/g). No obstante, el fruto elicitado con ácido salicílico 0.25 mM presentó la menor concentración de estos

compuestos (1.93 mg/g), y la capacidad antioxidante fue similar a de los frutos elicitados con 0.5 mM (2.73 mg/g).

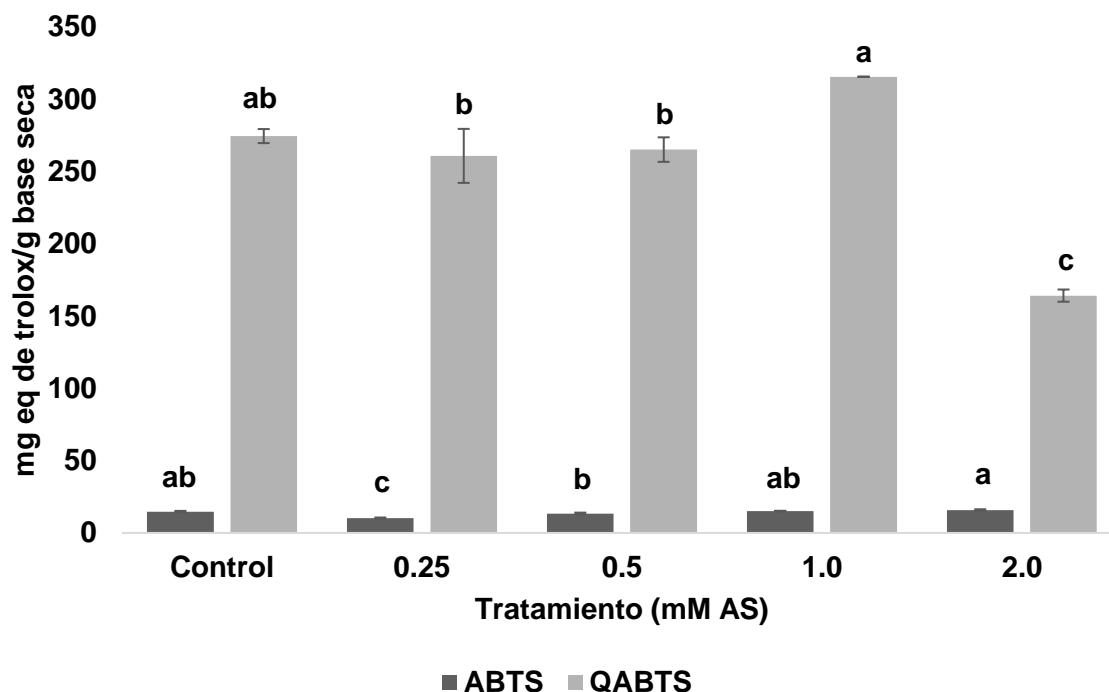


Figura 5. Capacidad antioxidante medida por ABTS⁺ y Q-ABTS en los extractos metanólicos del fruto de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico. Los datos representan 3 réplicas \pm la desviación estándar. Letras diferentes para los datos en una misma fila muestran una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medida por Tukey. ABTS⁺: ácido 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolina-6-sulfónico).

Por otro lado, las capacidades antioxidantes medidas por el método de DPPH de los frutos elicitados con 0.25, 0.5 y 2.0 mM fueron menores hasta en un 25.5 % respecto al fruto control. Esto podría estar relacionado a una menor cantidad de compuestos bioactivos hidrofóbicos en los frutos elicitados, tales como los carotenoides, los cuales disminuyeron en los frutos elicitados con ácido salicílico.

Asimismo, la evaluación de la capacidad antioxidante mediante Q-DPPH mostró una disminución de un 14.6 % para los frutos elicitados con ácido salicílico 0.25 mM y de un 13 % para los frutos elicitados con 2.0 mM con respecto al fruto control. Esta técnica permite determinar la capacidad antioxidante de la matriz completa; por lo que compuestos hidrofóbicos que puedan donar un protón puedan

verse afectados por la elicitación, como los polifenoles hidrolizables o fitoesteroles, entre otros.

Al realizar el análisis de correlación, se pudo determinar que existe una asociación de la capacidad antioxidante por Q-DPPH a los compuestos fenólicos totales ($p < 0.05$) (**Cuadro 10**), sin embargo, no hubo asociación de esta capacidad antioxidante con los NEPP, donde los frutos elicitados con 1.0 mM y los frutos control presentaron la mayor concentración de NEPP y esto no se reflejó en una mayor capacidad antioxidante (**Figura 6**). Esta falta de asociación puede deberse a que los NEPP podrían ser compuestos conformados por un número bajo de unidades fenólicas, las cuales son más hidrofílicas y menos reactivas con el medio utilizado para la técnica de DPPH, el metanol (Del Pino-García *et al.*, 2015).

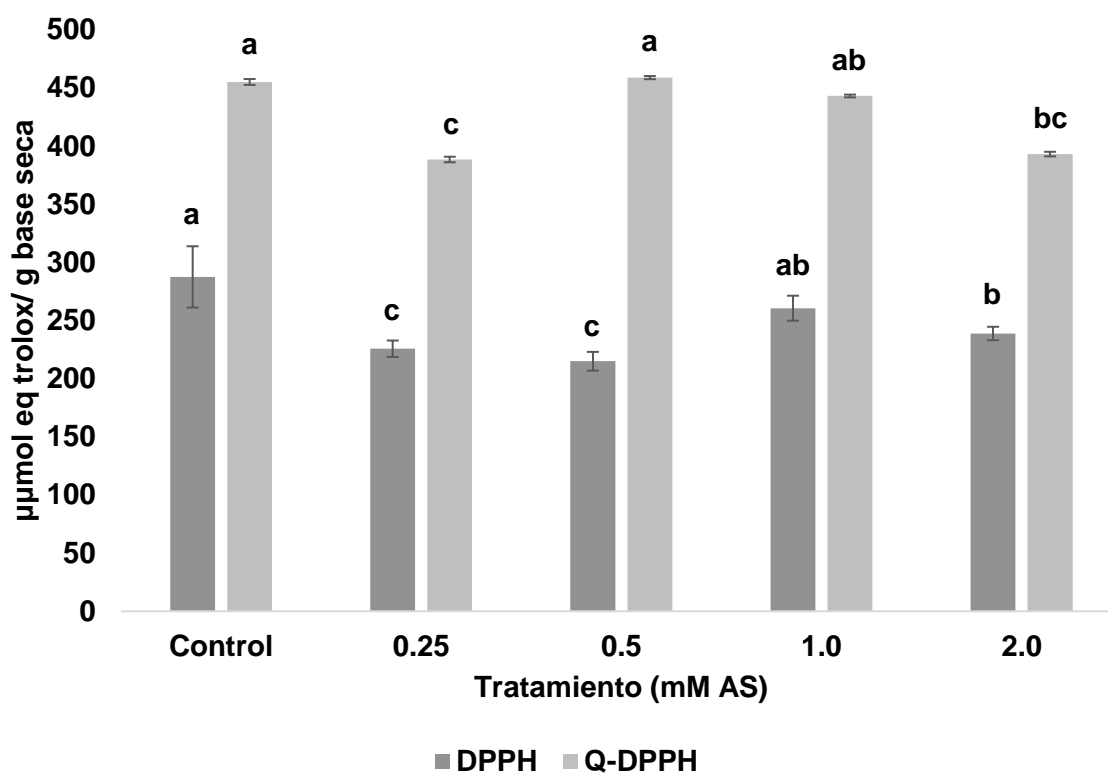


Figura 6. Capacidad antioxidante medida por DPPH y Q-DPPH en los extractos metanólicos del fruto de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico. Los datos representan 3 réplicas \pm la desviación estándar. Letras diferentes para los datos en una misma fila muestran una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medida por Tukey. DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo.

Cuadro 10. Coeficientes de correlación Pearson para las capacidades antioxidantes en frutos deshidratados de *Physalis peruviana* elicitados con diferentes concentraciones de ácido salicílico.

Determinación	ABTS	DPPH	Q-ABTS	Q-DPPH
Compuestos fenólicos totales	0.338	0.201	0.201	0.004*
Flavonoides totales	0.803	0.669	0.669	0.626
NEPP	0.2	0.553	0.553	0.298

Estos datos representan el coeficiente de correlación de Pearson. * indica una correlación estadísticamente significativa $\alpha=0.05$. NEPP: Compuestos fenólicos no extraíbles

6.7 Ensayo de inhibición de la lipasa pancreática

Posteriormente, se realizó la prueba de inhibición *in vitro* de la lipasa pancreática con los extractos metanólicos del fruto. En este ensayo no se encontró diferencia estadística significativa entre los extractos de los frutos elicitados 0.25, 0.5 y 1.0 mM, con respecto al del fruto control, mostrando una inhibición de hasta un 41 %, sin embargo, con el tratamiento 2.0 mM se observó un efecto contrario a lo esperado, ya que estos extractos presentaron una menor inhibición de la enzima en un 17 % comparado con el del fruto control (**Figura 7**).

En un estudio previo realizado por nuestro laboratorio (González-Buenrostro, 2020), se obtuvieron resultados parecidos a los presentados en nuestro estudio. El fruto de uchuva disminuyó la hidrólisis de los triglicéridos en el intestino comparando la inhibición ejercida por los extractos de los frutos elicitados con el fármaco Orlistat[®], el cual, como se esperaba, inhibió la actividad de esta enzima en un 49%.

Uno de los compuestos encontrados en el análisis cromatográfico que podría participar en la inhibición *in vitro* de la lipasa pancreática es el ácido ferúlico (**Cuadro 8**). Se ha reportado que este ácido fenólico es un inhibidor de la lipasa pancreática, y a concentración de 15 $\mu\text{g/mL}$ puede inhibir la actividad de esta enzima hasta casi un 60% (Salau *et al.*, 2021). Por ello, la prueba de inhibición de la lipasa pancreática observada en este estudio podría estar relacionada a este ácido fenólico.

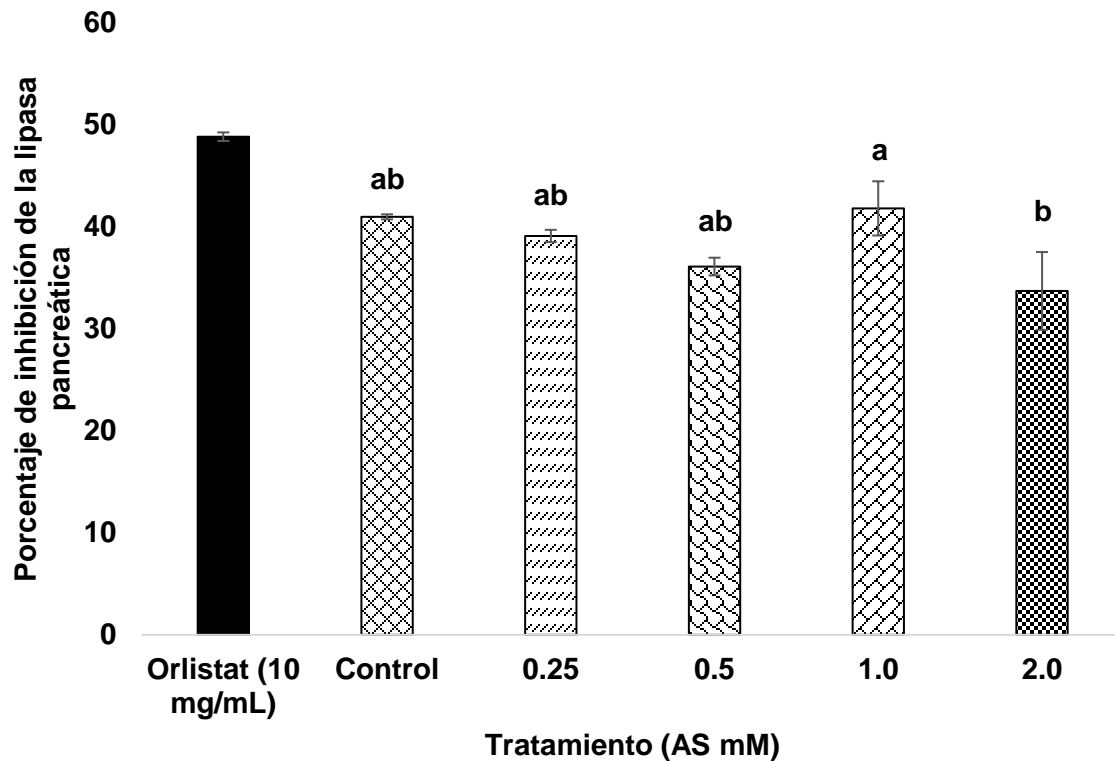


Figura 7. Porcentaje de inhibición de la actividad enzimática de la lipasa pancreática *in vitro* del extracto del fruto de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico. Los datos representan la media (% de inhibición de la actividad enzimática de la lipasa pancreática) \pm la desviación estándar, (n=3). Letras diferentes para los datos en una misma fila muestran una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medida por Tukey. Orlistat®: control positivo, fármaco utilizado para inhibir la actividad enzimática de la lipasa pancreática.

Se debe considerar que este ensayo *in vitro* es únicamente predictivo, debido a que este se realiza en un ambiente controlado (*in vitro*), en el cual, no se consideran todos los factores gastrointestinales relacionados con los procesos de biotransformación; no obstante, estas actividades deben ser confirmadas en estudios *in vivo* (Herrera *et al.*, 2019).

6.8 Evaluación *in vivo* del fruto de *Physalis peruviana* elicitado suplementado en dieta alta en grasa y fructosa

6.8.1 Peso corporal

Para determinar el efecto hipoglucémico e hipolipidémico del fruto de uchuva elicitado con ácido salicílico se alimentaron ratas con una dieta hipercalórica. Estas ratas se dividieron en 5 grupos: control sano, alimentado con dieta estándar (STD), control obeso, alimentado con dieta alta en grasa y fructosa (DAGF), y los tratamientos con DAGF suplementada con fruto control (DAGF + C), DAGF suplementada con fruto elicitado con AS 1.0 mM (DAGF + AS1.0 mM) y DAGF suplementada con fruto AS elicitado con 2.0 mM (DAGF + AS 2.0 mM), en concentración de 10 g de fruto por kg de animal. A cada grupo se le determinó el peso corporal por semana (**Figura 8**).

A la semana 13, se observó una diferencia estadística significativa del peso corporal entre el grupo STD y el grupo DAGF, hasta un 12 %. Contrario a lo esperado, en la semana 12 únicamente se pudo observar una disminución en el peso corporal hasta de un 5 % en el grupo DAGF + C; sin embargo, esta disminución no fue significativa estadísticamente.

Resultados similares fueron reportados por Pino-de la Fuente *et al.*, (2020), en un estudio con ratones alimentados *ad libitum* con dieta alta en grasas, encontraron una disminución del 7 % a las 8 semanas de tratamiento con esta dieta alta en fructosa suplementada con la pulpa de *Physalis peruviana*.

De los ácidos fenólicos cuantificados en el perfil fitoquímico, el ácido ferúlico se ha reportado que puede inferir en la regulación de la glucosa y los lípidos séricos por la regulación en la expresión de genes lipogénicos y gluconeogénicos en tejidos hepáticos (Naowaboot, *et al.*, 2016).

Otro ácido fenólico que podría tener efectos hipolipidémicos e hipoglucémicos es el ácido cafeico hexóxido. Si bien el ácido cafeico hexósido fue un ácido que no se pudo cuantificar, este ácido presentó una mayor intensidad de señal comparada con los demás compuestos identificados. Se ha reportado que el

ácido cafeico disminuye la obesidad e hiperlipidemia en ratones y se ha planteado que el mecanismo por el cual se observó este beneficio es por la disminución de la expresión de genes hepáticos ligados con la lipogénesis (Liao *et al.*, 2013).

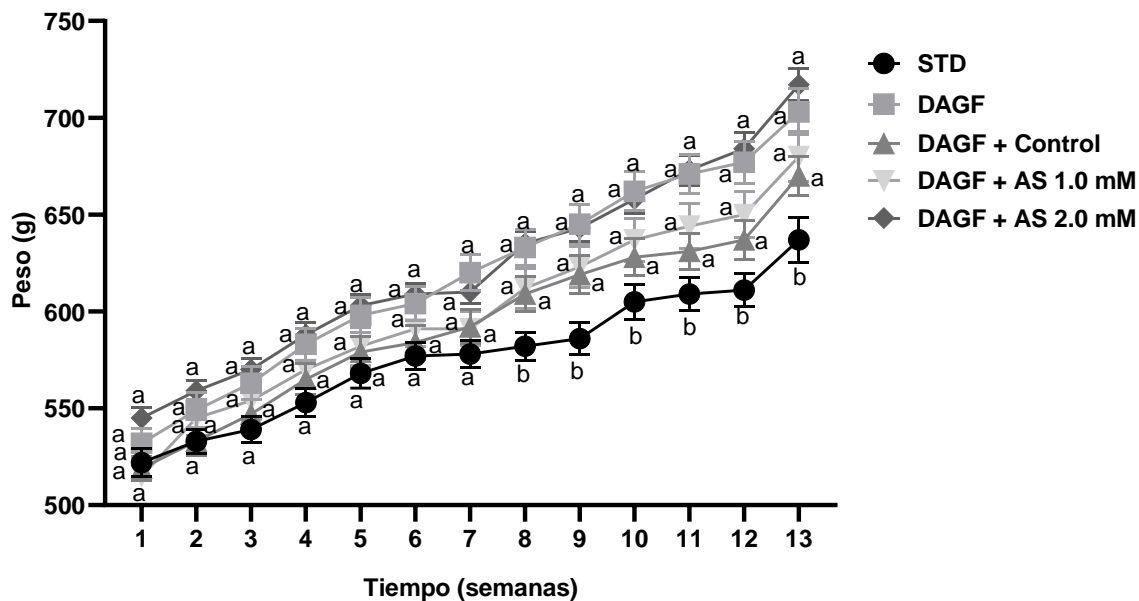


Figura 8. Peso corporal de las ratas alimentadas con dieta hipercalórica y suplementada con fruto de *Physalis peruviana*. Los datos representan la media \pm desviación estándar, (n = 7). Una letra distinta en los datos en la misma fila muestra una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medido por la prueba de Tukey. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa.

6.8.2 Efecto de los frutos de *Physalis peruviana* elicitados con ácido salicílico sobre los triglicéridos en suero de ratas obesas

Los animales del grupo DAGF presentaron un incremento del 68% en los niveles de triglicéridos comparado con los niveles en los animales del grupo STD. Mientras que, los grupos tratados con fruto elicitado presentaron concentraciones similares de triglicéridos a los del grupo obeso (**Figura 9**). Sin embargo, esta falta de efecto en los niveles de triglicéridos en suero no está asociado a la inhibición de la lipasa pancreática, ya que esta enzima fue inhibida en un 41 % (**Figura 7**), lo que podría sugerir una disminución en torrente sanguíneo de los niveles de triglicéridos. Por lo tanto, estos resultados sugieren que los compuestos bioactivos presentes en los extractos metanólicos que inhibieron esta enzima no se encuentran accesibles

en el fruto completo, posiblemente estos compuestos podrían quedar atrapados en la matriz.

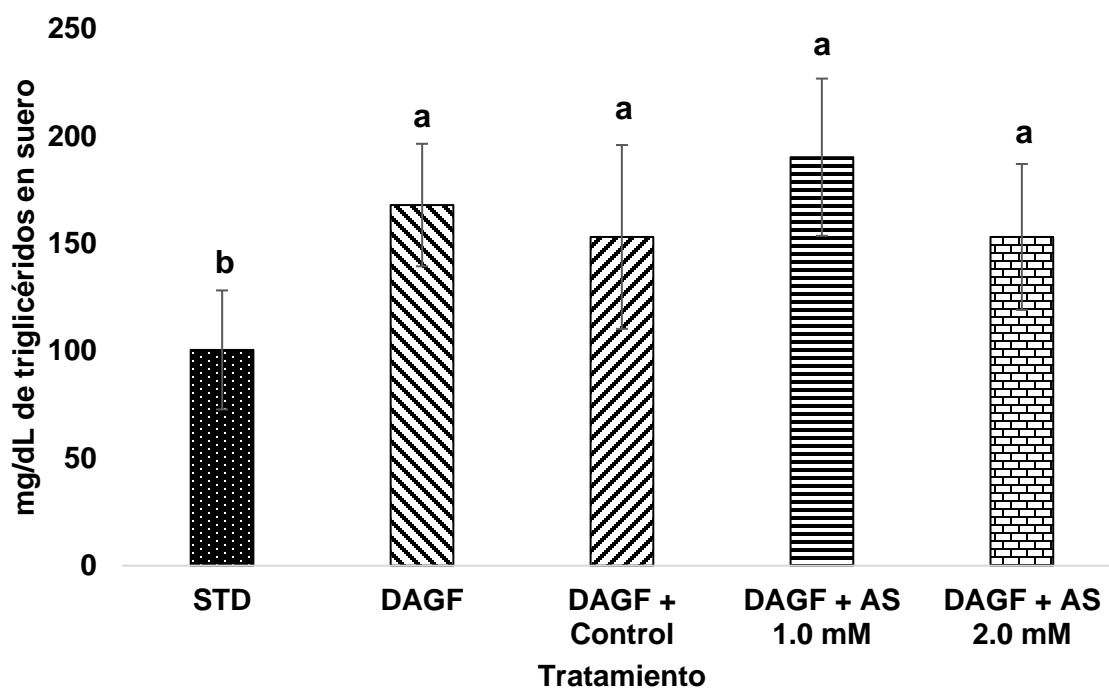


Figura 9. Concentración de triglicéridos en suero ratas tratadas con una dieta hipercalórica y suplementada con fruto de *Physalis peruviana*. Los datos representan la media \pm desviación estándar, ($n = 7$). Una letra distinta en los datos en la misma fila muestra una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medido por la prueba de Tukey. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa.

6.8.3 Determinación de lípidos totales en heces de ratas obesas suplementadas con fruto de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico

Se realizó la determinación de los lípidos totales en heces para complementar los observado en el punto 6.9, observándose un incremento del 70 % en el grupo DAGF comparado con el grupo STD; mientras que, no se observó una mayor excreción de estos lípidos en los animales tratados, dado que estos no presentaron diferencia estadística significativa respecto al grupo DAGF (**Figura 10**). Con esto, se comprobó que no hubo un efecto de inhibición de la lipasa pancreática.

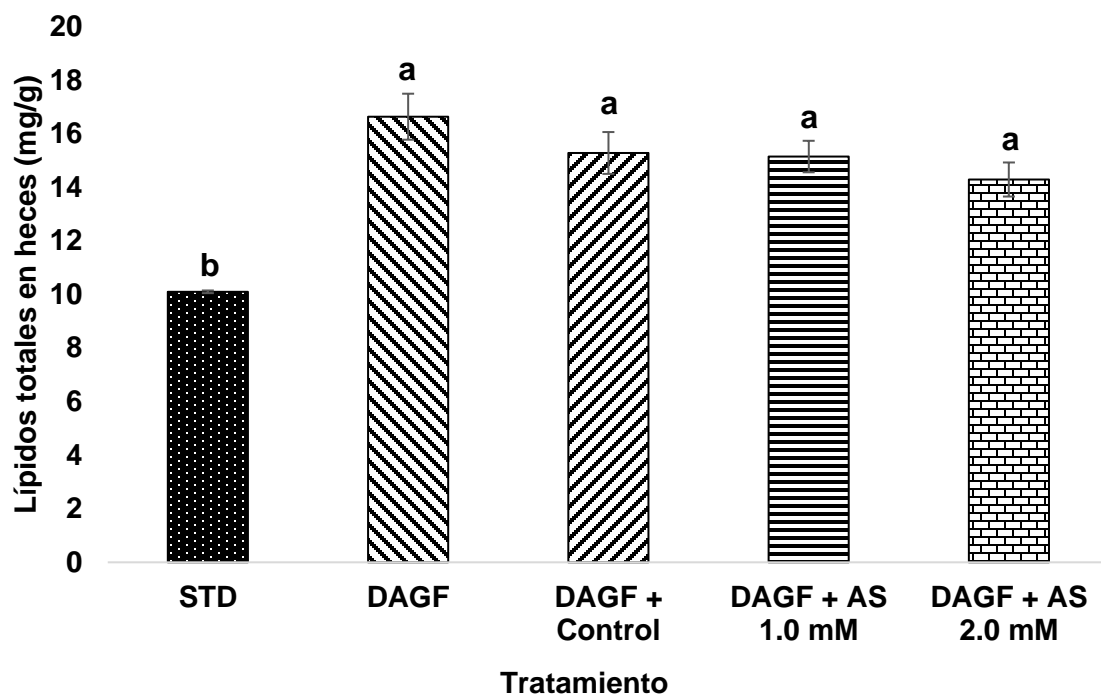


Figura 10. Contenido de lípidos totales en heces de ratas tratadas con una dieta hipercalórica y suplementada con fruto elicitado de *Physalis peruviana*. Los datos representan la media \pm desviación estándar, (n = 7). Una letra distinta en los datos en la misma fila muestra una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medido por la prueba de Tukey. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa.

6.8.4 Efecto de los frutos de *Physalis peruviana* elicitado con ácido salicílico sobre la glicemia en suero de ratas

Se observó un aumento del 66 % en la concentración de la glucosa en el suero de las ratas del grupo DAGF con respecto a la del grupo STD, mientras que, los animales con los tratamientos mostraron una disminución del 20 % con respecto al grupo DAGF; sin embargo, esta disminución no fue estadísticamente significativa (Figura 11).

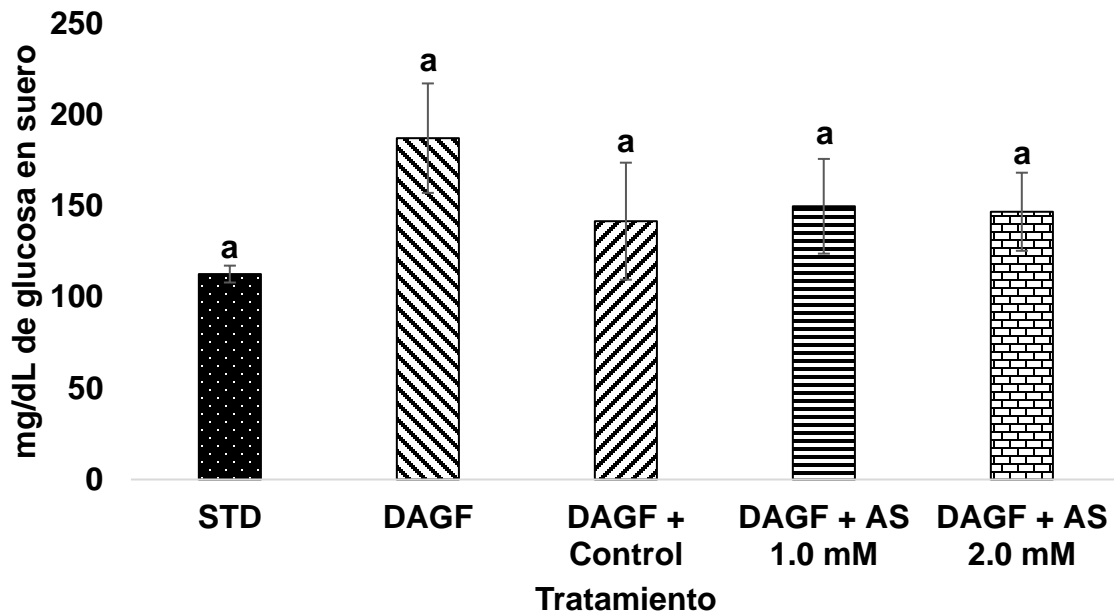


Figura 11. Concentración de la glucosa sérica de ratas tratadas con una dieta hipercalórica y suplementada con fruto de *Physalis peruviana*. Los datos representan la media \pm desviación estándar, ($n = 7$). Una letra distinta en los datos en la misma fila muestra una diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) medido por la prueba de Tukey. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa.

Los resultados presentados en este estudio son similares a lo reportado por Pino-de la Fuente *et al.*, (2020), quienes administraron pulpa de uchuva a ratones obesos y observaron una disminución estadística del 11.7 % en el grupo tratado con el fruto de uchuva respecto a su grupo obeso. Además, estos autores asocian este beneficio con un mejoramiento de la señalización de la insulina en el músculo. En ese estudio administraron 0.3 g de pulpa/kg; mientras que, nosotros evaluamos una concentración de 1 g/kg.

7. CONCLUSIONES

- La elicitación con ácido salicílico del fruto de uchuva a 1.0 mM en precosecha mantuvo el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, e incluso se presentó un ligero incremento para proantocianidinas no extraíbles y ácidos hidroxicinámicos. Sin embargo, para 0.25, 0.5 y 2.0 mM disminuyó la concentración de estos compuestos bioactivos. Por lo tanto, el ácido salicílico tiene efectos negativos en la producción de compuestos fenólicos en el fruto de uchuva durante precosecha.
- Los compuestos hidrofóbicos como los carotenoides disminuyeron con los frutos elicitados con ácido salicílico, mientras que, a las concentraciones de 1.0 y 2.0 mM se observó un incremento en los niveles de fitoesteroles, sugiriendo que el ácido salicílico regula la vía del mevalonato, común para ambos compuestos.
- Extractos metanólicos y matriz completa del fruto de uchuva elicitados con ácido salicílico presentaron una disminución de la capacidad antioxidante; (ABTS y DPPH) y (Q-ABTS y Q-DPPH), respectivamente, principalmente a la concentración de 2.0 mM, lo que demuestra, el menor contenido de compuestos bioactivos en estos tratamientos.
- La inhibición de la actividad de la lipasa pancreática *in vitro* de los extractos metanólicos de los frutos elicitados fue similar a la del Orlistat[®] y no fue mejorada por la elicitación del fruto de uchuva. Sin embargo, esta inhibición no se asocia a un efecto hipotrigliceridémico *in vivo*, lo que sugiere que los compuestos de dicha actividad no son accesibles.
- Las ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el fruto de uchuva elicitado con ácido salicílico no mostraron una menor ganancia de peso corporal, ni disminuyeron los niveles séricos de glucosa.
- El fruto de uchuva no presentó efectos hipoglucemiantes y la elicitación con ácido salicílico no mejoró sus beneficios.

8. PERSPECTIVAS

Para comprobar el estado de homeostasis de glucosa de los animales en futuros trabajos, se debe realizar la determinación de insulina de los animales utilizados para este proyecto y calcular el índice HOMA-IR, con esto podría demostrarse si los resultados son comparables a los reportados por Pino-de la Fuente *et al.* (2020).

9. REFERENCIAS

- Alara, O., Abdurahman, N., & Ukaegbu, C. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4(1), 200–214. DOI: 10.1016/j.crfs.2021.03.011
- Ali, B. (2020). Salicylic acid: An efficient elicitor of secondary metabolite production in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31(1), 101884. DOI: 10.1016/j.bcab.2020.101884
- Alves, L.S. R., Rodríguez, S. J. D., dos Santos, H. O., Pasqual, M., Braga, R. A., Reis, R. O., Ramos, J. D. (2017). Effects of silicon on antioxidant enzymes, CO₂, proline and biological activity of *in vitro*-grown cape gooseberry under salinity stress. *Australian Journal of Crop Science*, 11(4), 438-446. DOI: 10.21475/ajcs.17.11.04.335
- Baek, M., Choi, H., Yun Jae, L., Kang, H., Lee, O., Jeong, C., & Tilahun, S. (2021). Preharvest treatment of methyl jasmonate and salicylic acid increase the yield, antioxidant activity and GABA content of tomato. *Agronomy*, 11(1), 2293. 10.3390/agronomy11112293
- Bansal, A., & Kalili, A. (2022). Orlistat (pp. 1–6e). EE.UU: StatPearls Publishing. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542202/>
- Barazzoni, R., Gortan Cappellari, G., Ragni, M., & Nisoli, E. (2018). Insulin resistance in obesity: an overview of fundamental alterations. *Eating and Weight Disorders: EWD*, 23(2), 149–157. DOI: 10.1007/s40519-018-0481-6
- Basu, D., & Goldberg, I. (2020). Regulation of lipoprotein lipase-mediated lipolysis of triglycerides. *Current Opinion in Lipidology*, 31(3), 154–160. DOI: 10.1097/mol.0000000000000676
- Bazalar-Pereda, M., Nazareno, M., & Viturro, C. (2018). Nutritional and antioxidant properties of *Physalis peruviana* L. fruits from the Argentinean northern Andean region. *Plant Foods for Human Nutrition*. 74(1), 68–75. DOI: 10.1007/s11130-018-0702-1
- Berbudi, A., Rahmadika, N., Tjahjadi, A., & Ruslami, R. (2020). Type 2 diabetes and its impact on the immune system. *Current Diabetes Reviews*, 16(5), 442–449. DOI: 10.2174/1573399815666191024085838

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Briones-Labarca, V., Giovagnoli-Vicuña, C., Figueroa-Alvarez, P., Quispe-Fuentes, I., & Pérez-Won, M. (2013). Extraction of β -carotene, vitamin C and antioxidant compounds from *Physalis peruviana* (cape gooseberry) assisted by high hydrostatic pressure. *Food and Nutrition Sciences*, 4(8), 109–118. DOI: 10.4236/fns.2013.48A014
- Bustanji, Y., Al-Masri, I., & Mohammad, M. (2011). Pancreatic lipase inhibition activity of trilactone terpenes of Ginkgo biloba. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 26(1), 453–459. DOI: 10.3109/14756366.2010.525509
- Campos-Florián, J., Villa, D., Bermeo, M., & Vásquez, M. (2011). Effect of *Physalis peruviana* "tomatillo" fruit extract in *Mus musculus* var. Swis with induced hyperlipidemia. *Scientia Agropecuaria*. 2(2), 83–89. DOI: 10.17268/sci.agropecu.2011.02.03
- Cerretani, L., & Bendini, A. (2010). Rapid assays to evaluate the antioxidant capacity of phenols in virgin olive oil. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* (625–635). DOI: 10.1016/b978-0-12-374420-3.00067-x
- Coronado-Cáceres, L., Rabadán-Chávez, G., Mojica, L., Hernández-Ledesma, B., Quevedo-Corona, L., & Lugo-Cervantes, E. (2020). Cocoa (*Theobroma cacao* L.) seed proteins' anti-obesity potential through lipase inhibition using *in silico*, *in vitro* and *in vivo* models. *Foods*, 9(10), 1359. DOI: 10.3390/foods9101359
- Cortés-Díaz, G., Prieto, G., & Rozo-Nuñez, W. (2015). Bromatological and physicochemical characterization of *Physalis peruviana* L., and its potential as a nutraceutical food. *Ciencia en Desarrollo*. 20(1), 87–97. Recuperado el 1° de marzo de 2021, en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-74882015000100011&lng=en&nrm=iso&tlng=es

- Del Pino-García, R., García-Lomillo, J., Rivero-Pérez, M., González-San José, M., & Muñoz, P. (2015). Adaptation and validation of quick, easy, new, cheap, and reproducible (QUENCHER) antioxidant capacity assays in model products obtained from residual wine pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(31), 6922–6931. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b01644
- Díaz-Rivas, J., González-Laredo, R., Chávez-Simental, J., Montoya-Ayón, J., Moreno-Jiménez, M., Gallegos-Infante, J., & Rocha-Guzmán, N. (2018). Comprehensive characterization of extractable phenolic compounds by UPLC-PDA-ESI-QqQ of *Buddleja scordioides* plants elicited with salicylic acid. *Journal of Chemistry*, 2(1), 1–10. DOI: 10.1155/2018/4536970
- Eggersdorfer, M., & Wyss, A. (2018). Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 652(1), 18–26. DOI: 10.1016/j.abb.2018.06.001
- El-Beltagi, H., Mohamed, H., Safwat, G., Gamal, M., & Megahed, B. (2019). Chemical composition and biological activity of *Physalis peruviana* L. *Gesunde Pflanzen*, 71(1), 113-122. DOI: 10.1007/s10343-019-00456-8
- El-Mehiry, H., Helmy, H., & El-Ghany, M. (2012). Antidiabetic and antioxidative activity of physalis powder or extract with chromium in rats. *World Journal of Medical Sciences*, 7(1), 27–33. DOI: 10.5829/idosi.wjms.2012.7.1.335
- ENSANUT (2022). Sección de Nutrición. Recuperado el 22 de septiembre de 2022, de: <https://www.insp.mx/novedades-editoriales/encuesta-nacional-de-salud-y-nutricion-2021-sobre-covid-19-resultados-nacionales>
- Etzbach, L., Pfeiffer, A., Weber, F., & Schieber, A. (2018). Characterization of carotenoid profiles in goldenberry (*Physalis peruviana* L.) fruits at various ripening stages and in different plant tissues by HPLC-DAD-APCI-MSn. *Food Chemistry*, 245(1), 508–517. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.10.120
- Ezzat, S., Abdallah, H., Yassen, N., Radwan, R., Mostafa, E., Salama, M., & Salem, M. (2021). Phenolics from *Physalis peruviana* fruits ameliorate streptozotocin-induced diabetes and diabetic nephropathy in rats via induction of autophagy and apoptosis regression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 142(1), 111948. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111948

- Fischer, G., Herrera, A., & Almanza, P. (2011). Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). En: *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*, (pp. 374–397e). Woodhead Publishing. DOI: 10.1533/9780857092762.374
- González-Buenrostro, N. (2020). Uchuva (*Physalis peruviana* L.) cultivada bajo estrés salino y su efecto sobre el control de la glucosa. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio institucional – Universidad Autónoma de Querétaro.
- Hadjikinova, R., Stankov, S., Popova, V., Ivanova, T., Stoyanova, A., Mazova, N., Marudova, M., & Damyanova, S. (2019). Physicochemical and textural properties of reduced sugar jellies from *Physalis peruviana* L. fruit. *Ukrainian Food Journal*, 8(3), 560–570. DOI: 10.24263/2304-974X-2019-8-3-12
- Hassan, F., Ismail, A., Abdulhamid, A., & Azlan, A. (2011). Identification and quantification of phenolic compounds in bambangan (*Mangifera pajang* Kort.) peels and their free radical scavenging activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(17), 9102–9111. DOI: 10.1021/jf201270n
- Herrera, T., Navarro, J., Fornari, T., Reglero, G., Martín, D. (2019). Inhibitory effect of quinoa and fenugreek extracts on pancreatic lipase and α -amylase under *in vitro* traditional conditions or intestinal simulated conditions. *Food Chemistry*, 270(1), 509–517. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.07.145
- INTAGRI, (2017), La Inducción de Defensa en las Plantas a través de Elicitores, Serie Fitosanidad Número 92, *Artículos Técnicos de INTAGRI*. México. Recuperado el 30 de junio de 2022, de: <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/la-induccion-de-defensa-en-las-plantas-a-traves-de-elicitores>
- Kant, K., Arora, A., Singh, V., & Kumar, R. (2013). Effect of exogenous application of salicylic acid and oxalic acid on post-harvest shelf-life of tomato (*Solanum lycopersicon* L.). *Indian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 15–21. DOI:10.1007/s40502-013-0004-4

- Karanchi, H., Muppidi, V., & Wyne, K. (2022). Hypertriglyceridemia. (pp. 1–3e). EE.UU: StatPearls Publishing. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459368/>
- Katimbwa, D., Oh, J., Jang, C., & Lim, J. (2022). Orlistat, a competitive lipase inhibitor used as an antiobesity remedy, enhances inflammatory reactions in the intestine. *Applied Biological Chemistry*, 65(1), 1–10. DOI: 10.1186/s13765-022-00712-y
- Kumar D. (2014). Salicylic acid signaling in disease resistance. *Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology*, 228(1), 127–134. DOI: 10.1016/j.plantsci.2014.04.014
- Kumar, A., & Chauhan, S. (2021). Pancreatic lipase inhibitors: The road voyaged and successes. *Life Sciences*, 271(1), 119115. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.119115
- Liao, C., Ou, T., Wu, C., & Wang, C. (2013). Prevention of diet-induced hyperlipidemia and obesity by caffeic acid in C57BL/6 mice through regulation of hepatic lipogenesis gene expression. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 11082–11088. DOI: 10.1021/jf4026647
- Macdougall, D. (2010). Colour measurement of food: principles and practice. *Colour Measurement*, 312–342. DOI: 10.1533/9780857090195.2.312
- Mayorga, H., Knapp, H., Winterhalter, P., & Duque, C. (2001). Glycosidically bound flavor compounds of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 1904–1908. DOI: 10.1021/jf0011743
- Mo, S., Dong, L., Hurst, W., & van Breemen, R. (2013). Quantitative analysis of phytosterols in edible oils using APCI liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Lipids*, 48(9), 949–956. DOI: 10.1007/s11745-013-3813-3
- Mohamed, M. (2012). *Physalis peruviana* pomace suppresses high-cholesterol diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Grasas y Aceites*. 63. 411-422.
- Mora-Garduño (2022). Extractos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) sometida a estrés salino y su efecto sobre la inhibición de enzimas gastrointestinales.

[Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio institucional – Universidad Autónoma de Querétaro.

- Nawirska-Olszańska, A., Stępień, B., Biesiada, A., Kolniak-Ostek, J., & Oziembłowski, M. (2017). Rheological, chemical, and physical characteristics of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) after convective and microwave drying. *Foods* (Basel, Switzerland), 6(8), 60. DOI: 10.3390/foods6080060
- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Recuperado el 28 de mayo de 2021, de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf
- Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002: Protección ambiental - salud ambiental - residuos peligrosos biológico-infecciosos - clasificación y especificaciones de manejo. Recuperado el 28 de mayo de 2021, de: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=704675&fecha=17%2F02%2F2003#gsc.tab=0
- Nwobodo, N. (2015). Toxicity and safety concerns in orlistat therapy for obesity: A critical evaluation. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 5(47), 1.
- Olivares-Tenorio, M., Dekker, M., Verkerk, R., & van Boekel, M. (2016). Health-promoting compounds in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.): review from a supply chain perspective. *Trends in Food & Science and Technology*, 57(1), 83–92. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.09.009
- Olives, B., Hurtado, M., Mata, M., Ruiz, V., & Tejada, M. (2006). Application of a UV–vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 95(2), 328–336. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.02.028
- Oomah, B., Cardador-Martínez, A., & Loarca-Piña, G. (2005). Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 935-942. DOI: 10.1002/jsfa.2019

- Parhofer, K., & Laufs, U. (2019). The diagnosis and treatment of hypertriglyceridemia. *Deutsches Arzteblatt International*, 116(49), 825–832. DOI: 10.3238/arztebl.2019.0825
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiological Reviews*, 98(4), 2133–2223. DOI: 10.1152/physrev.00063.2017
- Pinheiro-do Prado, A., Manion, B., Seetharaman, K., Deschamps, F., Barrera-Arellano, D., & Block, J. (2013). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of the oil and the shell of pecan nuts [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]. *Industrial Crops and Products*, 45(1), 64–73. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.11.042
- Pino-de la Fuente, F., Nocetti, D., Sacristán, C., Ruiz, P., Guerrero, J., Jorquera, G., Uribe, E., Bucarey, J. L., Espinosa, A., & Puente, L. (2020). *Physalis peruviana* L. pulp prevents liver inflammation and insulin resistance in skeletal muscles of diet-induced obese mice. *Nutrients*, 12(3), 700. DOI: 10.3390/nu12030700
- Pirahanchi, Y., & Sharma, S. (2022). Biochemistry, Lipase. (pp. 1–3e). EE.UU: StatPearls Publishing. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537346/>.
- Plumb, J., Durazzo, A., Lucarini, M., Camilli, E., Turrini, A., Marletta, L., & Finglas, P. (2020). Extractable and non-extractable antioxidants composition in the eBASIS database: A key tool for dietary assessment in human health and disease research. *Nutrients*, 12(11), 3405. DOI: 10.3390/nu12113405
- Pokotylo, I., Kravets, V., & Ruelland, E. (2019). Salicylic acid binding proteins (SABPs): The hidden forefront of salicylic acid signalling. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4377. DOI: 10.3390/ijms20184377
- Puente, L., Nocetti, D., & Espinosa, A. (2019). *Physalis peruviana* Linnaeus, an update on its functional properties and beneficial effects in human health. *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products*, 447–463. DOI: 10.1007/978-3-030-31885-7_34

- Puente, L., Pinto-Muñoz, C., Castro, E., & Cortés, M. (2011). *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*, 44(7), 1733–1740. DOI: 10.1016/j.foodres.2010.09.034
- Ramadan, M. (2011). Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. *Food Research International*, 44(7), 1830–1836. DOI: 10.1016/j.foodres.2010.12.042
- Ramadan, M. (2020). Bioactive phytochemicals of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). En: Murthy, H., Bapat, V. (eds) *Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts*. Springer, Suiza. DOI: 10.1007/978-3-030-30182-8_3
- Ramadan, M., & Mörsel, J. (2003). Oil goldenberry (*Physalis peruviana* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 969–974. DOI: 10.1021/jf020778z
- Ramadan, M., & Mörsel, J. (2007). Impact of enzymatic treatment on chemical composition, physicochemical properties, and radical scavenging activity of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(1), 452–460. DOI: 10.1002/jsfa.2728
- Ramadan, M., & Mörsel, J. (2019). Goldenberry (*Physalis peruviana*) Oil. *Fruit Oils: Chemistry and Functionality*, 397–404. DOI: 10.1007/978-3-030-12473-1_19
- Ramírez-Estrada, K., Vidal-Limon, H., Hidalgo, D., Moyano, E., Golenioswki, M., Cusidó, R., & Palazon, J. (2016). Elicitation, an effective strategy for the biotechnological production of bioactive high-added value compounds in plant cell factories. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(2), 182. DOI: 10.3390/molecules21020182
- Rawat, G., Tripathi, P., Yadav, S., & Saxena, R. (2013). An interactive study of influential parameters for shikimic acid production using statistical approach, scale up and its inhibitory action on different lipases. *Bioresource Technology*, 144(1), 675–679. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.06.113

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9-10), 1231–1237. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3
- Reagan-Shaw, S., Nihal, M., & Ahmad, N. (2008). Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 22(3), 659–661. DOI: 10.1096/fj.07-9574LSF
- Repo de Carrasco, R., & Encina, C. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 74(2), 108–124. Recuperado el 7 de julio de 2022, de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2008000200004&lng=es&tlng=es
- Rey, D. Ospina, L., & Aragón, M. (2015). Inhibitory effects of an extract of fruits of *Physalis peruviana* on some intestinal carbohydrases. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 44(1): 72-89. DOI: 10.15446/rcciquifa.v44n1.54281.
- Rivas-San Vicente, M., & Plasencia, J. (2011). Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, 62(10), 3321–3338. DOI: 10.1093/jxb/err031
- Rodrigues, E., Rockenbach, I., Cataneo, C., Gonzaga, L., Chaves, E., & Fett, R. (2009). Minerals and essential fatty acids of the exotic fruit *Physalis peruviana* L. *Food Science and Technology*, 29(3), 642–645. DOI: 10.1590/S0101-20612009000300029
- Rodríguez-Ulloa, S., & Rodríguez-Ulloa, E. (2007). Efecto de la ingesta de *Physalis peruviana* (aguaymanto) sobre la glicemia postprandial en adultos jóvenes. *Revista Médica Vallejana*, 4(1), 43–53. DOI: 10.18050/revistamedicavallejana.v4i1.2222
- Roohbakhsh, A., Karimi, G., & Iranshahi, M. (2017). Carotenoids in the treatment of diabetes mellitus and its complications: A mechanistic review.

Biomedicine & Pharmacotherapy, 91(1), 31–42. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.04.057

- Rop, O., Mlcek, J., Jurikova, T., & Valsikova, M. (2012). Bioactive content and antioxidant capacity of Cape gooseberry fruit. *Central European Journal of Biology*. 7(4), 672-679. DOI: 10.2478/s11535-012-0063-y4
- Salau, V., Erukainure, O., Koorbanally, N., & Islam, M. (2021). Ferulic acid promotes muscle glucose uptake and modulate dysregulated redox balance and metabolic pathways in ferric-induced pancreatic oxidative injury. *Journal of Food Biochemistry*. 46(4), e13641. DOI: 10.1111/jfbc.13641
- Salyari, R., Seifi, E., Varasteh, F., & Alizadeh, M. (2022). Effects of pre-harvest salicylic acid treatment on the post-harvest quality of peach cultivar Robin. *Journal of Chemical Health Risks*, 12(3), 355-362. DOI: 10.22034/jchr.2021.1875114.1041
- Sariñana-Aldaco, O., Sánchez-Chávez, E., Troyo-Diéguez, E., Tapia-Vargas, L., Díaz-Pérez, J., Preciado-Rangel, P. (2020). Foliar aspersion of salicylic acid improves nutraceutical quality and fruit yield in tomato. *Agriculture*, 10(1), 482. DOI: 10.3390/agriculture10100482
- Sathyadevi, M., Suchithra, E., & Subramanian, S. (2016). *Physalis peruviana* Linn. fruit extract improves insulin sensitivity and ameliorates hyperglycemia in high-fat diet low dose STZ-induced type 2 diabetic rats. *Journal of Pharmacy Research*, 8(4), 625-632.
- Saura-Calixto, F., & Goñi, I. (2006). Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry*, 94(3), 442–447. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.11.033
- Schaich, K. M., Tian, X., & Xie, J. (2015). Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of functional foods*, 14(1), 111-125. DOI: 10.1016/j.jff.2015.01.043
- Shakya, P., Marslin, G., Siram, K., Beerhues, L., & Franklin, G. (2019). Elicitation as a tool to improve the profiles of high-value secondary metabolites

and pharmacological properties of *Hypericum perforatum*. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(1), 70–82. DOI: 10.1111/jphp.12743

- Singh, N., Singh, S., Maurya, P., Arya, M., Khan, F., Dwivedi, D., & Saraf, S. (2019). An updated review on *Physalis peruviana* fruit: cultivational, nutraceutical and pharmaceutical aspects. *Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR)* 10(2), 97-110. DOI: 10.56042/ijnpr.v10i2.20729
- Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299(1), 152-178. DOI: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- Srivastava, Y., Tripathi, S., Mishra, B., & Sangwan, N. (2022). Cloning and homologous characterization of geranylgeranyl pyrophosphate synthase (GGPPS) from *Withania somnifera* revealed alterations in metabolic flux towards gibberellic acid biosynthesis. *Planta*, 256(1), 4. DOI: 10.1007/s00425-022-03912-4
- Tugume, P., & Nyakoojo, C. (2019). Ethno-pharmacological survey of herbal remedies used in the treatment of paediatric diseases in Buhunga parish, Rukungiri District, Uganda. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 1-10. DOI: 10.1186/s12906-019-2763-6
- Valdenegro, M., Fuentes, L., Herrera, R., & Moya-León, M. (2012). Changes in antioxidant capacity during development and ripening of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) fruit and in response to 1-methylcyclopropene treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 67, 110-117. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2011.12.021
- Vezza, T., Canet, F., de Marañón, A., Bañuls, C., Rocha, M., & Víctor, V. (2020). Phytosterols: nutritional health players in the management of obesity and its related disorders. *Antioxidants*, 9(12), 1266. DOI: 10.3390/antiox9121266
- Vithana, M., Singh, Z., Johnson, S., & Gupta, R. (2018). Concentrations of health-promoting phytochemicals in ripe mango fruit triggered by postharvest

application of elicitors. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3). DOI: 10.1002/jsfa.9280

- Win, S. & Seta, S. (2022). Enhancement of anti-inflammatory and antioxidant activities of mango fruit by pre-and postharvest application of salicylic acid. *Horticulturae*. 8(1), 555. DOI: 10.3390/horticulturae8060555
- World Health Organization (2019). Recuperado el 22 de septiembre de 2022, de: <https://www.who.int/initiatives/who-global-centre-for-traditional-medicine/>
- Yıldız, G., İzli, N., Ünal, H., & Uylaşer, V. (2015). Physical and chemical characteristics of goldenberry fruit (*Physalis peruviana L.*). *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2320–2327. DOI: 10.1007/s13197-014-1280-3
- Zurita, J., Díaz-Rubio, M., & Saura-Calixto, F. (2012). Improved procedure to determine non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(8), 936–939. DOI: 10.3109/09637486.2012.681634

10. ANEXOS

10.1 Anexo I: Lista de chequeo para protocolos que involucren animales de experimentación:



LISTA DE CHEQUEO PARA PROTOCOLOS QUE INVOLUCREN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN
COMITÉ DE BIOÉTICA - FACULTAD DE QUÍMICA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO



Todos los proyectos de investigación científica que involucren el manejo de animales de experimentación deberán incluir la siguiente lista de chequeo revisada y firmada por parte del investigador responsable. La información aquí descrita deberá incluirse en el protocolo de investigación.

I. DATOS ADMINISTRATIVOS

Investigador responsable:	Dra. Rosalía Reynoso Camacho.
Título del proyecto:	"Elicitación de uchuva (<i>Physalis peruviana</i> L.) con ácido salicílico: composición fitoquímica y propiedades antiinflamatorias <i>in vivo</i> relacionadas con diabetes".
Co-investigadores:	Dra. Marely Graciela Figueroa Pérez.
Alumno(s):	Hugo Esteban Bravo Alonso.

II. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

	SI	NO	N/A
¿Los objetivos del estudio están claramente señalados?	x		
¿Se desprende claramente de los objetivos que el estudio es relevante para la salud humana o animal, el avance del conocimiento científico o el bien de la sociedad?	x		

III. CONSIDERACIONES DE MÉTODOS ALTERNATIVOS Y JUSTIFICACIÓN DEL USO DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

	SI	NO	N/A
¿Se ha descartado la existencia de estudios similares o duplicados que no justifiquen la realización del presente estudio?	x		
¿Se han descartado métodos alternativos al uso de animales de experimentación, como cultivos celulares y órganos aislados?	x		

IV. JUSTIFICACIÓN DEL TIPO Y NÚMERO DE ANIMALES A UTILIZAR

	SI	NO	N/A
¿Es adecuada la selección de la especie animal y se ajusta al modelo experimental que se va a desarrollar?	x		
¿Es justificado el número de animales que se va a utilizar?	x		
¿El tamaño y el número de grupos experimentales permite la obtención de resultados estadísticamente válidos?	x		
¿Se utilizarán animales genéticamente modificados?		x	



LISTA DE CHEQUEO PARA PROTOCOLOS QUE INVOLUCREN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

COMITÉ DE BIOÉTICA - FACULTAD DE QUÍMICA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO



¿Se realizarán modificaciones genéticas a los animales?		x	
---	--	---	--

V. PROCEDENCIA, DISEÑO EXPERIMENTAL Y PROCEDIMIENTOS A REALIZAR EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

	SI	NO	N/A
¿Se describe dónde se adquirirán los animales de experimentación?	x		
¿Se dispone de recintos adecuados para albergar y garantizar el bienestar de los animales de experimentación?	x		
¿Se describen las características de los sistemas de confinamiento (dimensiones, temperatura, humedad, número de animales por unidad de confinamiento, control de ruido, iluminación, entre otros)?	x		
¿Se describen los métodos de identificación de los animales?	x		
¿Se describe el tipo de alimento que será administrado a los animales?	x		
¿Se describen los tratamientos que se administrarán a los animales, especificando dosis, frecuencia y vía de administración?	x		
¿Se describen todos los procedimientos que se realizarán en los animales y su duración?	x		
¿Se describe la frecuencia en la que se realizará la limpieza de los confinamientos?	x		
¿Se realizarán procedimientos quirúrgicos a los animales?		x	
¿Se indica si el estudio contempla la restricción de movimiento, asilación, estimulación o privación de agua y/o alimento durante la experimentación, describiendo claramente el procedimiento y justificando su implementación?	x		
¿Se especifica qué grado de molestia se causará a los animales de investigación? Categoría A: involucra especies de invertebrados; B: causa poca o ninguna molestia o estrés; C: administración de productos inócuos; D: procedimientos quirúrgicos; E: administración de agentes peligrosos; F: generación de animales genéticamente modificados.	x		
¿Se contempla el uso de sedantes, analgésicos o anestésicos con el fin de minimizar el malestar de los animales, especificando las dosis y vías de administración?	x		
¿Se especifica la metodología para toma de muestra de sangre, incluyendo el volumen de la muestra, frecuencia de muestreo y lugar de punción?	x		



LISTA DE CHEQUEO PARA PROTOCOLOS QUE INVOLUCREN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

COMITÉ DE BIOÉTICA - FACULTAD DE QUÍMICA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO



VI. MÉTODO DE EUTANASIA

	SI	NO	N/A
¿Se especifican criterios de retiro o punto final del tratamiento o procedimiento en el momento oportuno?	x		
¿Se especifica el método de eutanasia que efectuará?, el cual debe ser adecuado a la especie y edad de los animales de experimentación.	x		
Si contempla el uso de agentes eutanásicos, ¿se ha descrito la dosis y vía de administración?	x		
¿Se realizará la recolección de órganos tras la eutanasia de los animales?	x		
¿Se llevará a cabo un adecuado manejo y eliminación de los cadáveres?	x		
¿Se describe qué tipos de residuos peligrosos biológico-infecciosos se generarán y como se desecharán cada uno?	x		

VII. ASPECTOS ÉTICOS

	SI	NO	N/A
¿El protocolo de investigación cumple las Normas Oficiales Mexicanas correspondientes al manejo de animales de experimentación?	x		
¿Se especifican las normas consultadas en el protocolo de investigación?	x		
¿El protocolo de investigación cumple con los tratados internacionales sobre cuidado y manejo de animales de laboratorio?	x		

VIII. CAPACITACIÓN

	SI	NO
¿El personal que manipulará los animales está calificado y posee experiencia en el cuidado y manejo de animales de experimentación? Se debe presentar constancia o certificado que avale dicha capacitación.	x	
¿El investigador responsable ha tomado un curso de capacitación en ética de la investigación? Se debe presentar constancia o certificado que avale dicha capacitación.	x	



**LISTA DE CHEQUEO PARA PROTOCOLOS QUE
INVOLUCREN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

**COMITÉ DE BIOÉTICA - FACULTAD DE QUÍMICA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**



He leído y llenado este formulario y me comprometo a cumplir y conducir mi protocolo de investigación de acuerdo a los principios éticos de carácter humanitario que se requieren en el uso de animales de laboratorio a nivel nacional e internacional. De igual forma me comprometo a educar al personal a mi cargo y exigirles el respeto de estos principios, así como los aspectos relativos al cuidado y uso de animales de laboratorio con lo que se manifiesta en las Normas Oficiales Mexicanas correspondientes.

Nombre y firma del investigador responsable

31/05/2021
Fecha
(dd/mm/aaaa)