



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

Caracterización fenólica y capacidad antioxidante del arilo de *Pithecellobium*
Insigne

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Licenciada en
Nutrición

Presenta

Ligia Roiz Cabrera

Querétaro, Qro. 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de
Información



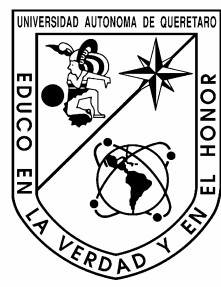
Caracterización fenólica y capacidad antioxidante del
arilo de *Pithecellobium Insigne*.

por

Ligia Roiz Cabrera

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

Clave RI: CNLIN-267530-0223-715



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

Caracterización fenólica y capacidad antioxidante del arilo de *Pithecellobium Insigne*

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Licenciada en Nutrición.

Presenta:

Ligia Roiz Cabrera

Dirigido por:

Dr. Jorge Luis Chávez Servín

Dr. Jorge Luis Chávez Servín

Director

Firma

Dr. Aarón Kuri García
Codirector

Firma

M. en C. Ángel Félix Vargas Madriz
Asesor

Firma

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez
Asesor

Firma

Dr. Carlos Saldaña Gutiérrez
Asesor

Firma

Centro Universitario Querétaro, Qro.

2023

México

Caracterización fenólica y capacidad antioxidante del *Pithecellobium Insigne*.

I. Resumen

Pithecellobium Insigne (*P. Insigne*) es un árbol perteneciente a la subfamilia de leguminosas “Mimosoideae”, una especie poco estudiada y conocida únicamente como cerca viva, de construcción y utilizada para leña en la región sur y centro-norte de México. Este árbol proporciona su fruto (arilo) en la temporada primavera/verano el cual es incorporado en la dieta humana. Actualmente la industria alimentaria y farmacéutica ha tenido mayor interés en el análisis de los compuestos fenólicos naturales debido a los efectos benéficos que estos tienen ante diferentes patologías. En el presente estudio se analizó el perfil fenólico del arilo mediante diferentes concentraciones de metanol y etanol (50% y 80%). Dentro de los resultados, la mayor cuantificación de compuestos polifenólicos se observó en el extracto etanólico al 50%, obteniendo 1127.54 ± 104.02 mg EAG / 100 g de compuestos fenólicos totales, 802.17 ± 34.57 mg EC / 100 g de flavonoides y 10.64 ± 0.91 mg EC / 100 g de taninos condensados. Asimismo, la mayor concentración de capacidad antioxidante se obtuvo mediante el método del radical 1,1 defenil-2-picrilhidrazil (DPPH) con $19,081.20 \pm 422.10$ µg ET /100 g en el extracto con etanol al 50%. Por otra parte, del extracto etanólico al 80% se obtuvo una menor cantidad de compuestos fenólicos (456.15 ± 289.14 mg EAG / 100 g). Sin embargo en el caso de flavonoides totales y taninos condensados el extracto metanólico al 80% fue el que demostró una menor cantidad de estos, siendo 427.58 ± 15.40 mg EC/ 100 g, 4.62 ± 0.42 mg EC/ 100 g respectivamente. La utilización del arilo de *P. Insigne* como producto alimenticio representaría una buena alternativa para el aprovechamiento de dichos biocompuestos al ser una especie endémica y por tanto un alimento seguro.

Palabras clave: *Pithecellobium Insigne*, leguminosa, arilo, capacidad antioxidante, compuestos fenólicos.

Summary

Pithecellobium Insigne (P. Insigne) is a tree of the subfamily of legumes "Mimosoideae", a non-studied specie which is known to be used as a living fence, for construction and for firewood in the south and north center region of Mexico. This tree provides its fruit (aryl) in the spring/summer season which makes it part of the human diet. Currently, the food and pharmaceutical industry has had greater interest in the analysis of natural phenolic compounds due to the beneficial effects they have on different pathologies. In the present study, the phenolic profile of the aryl was analyzed using different concentrations of methanol and ethanol (50% and 80%). In accordance to the results, the highest quantification of polyphenolic compounds was observed in the 50% ethanolic extract, obtaining 1127.54 ± 104.02 mg AGE / 100 g of total phenolic compounds, 802.17 ± 34.57 mg CE / 100 g of flavonoids and 10.64 ± 0.91 mg CE / 100 g of condensed tannins. Likewise, the highest concentration of antioxidant capacity was obtained by the radical method 1,1 dephenyl-2-pricrylhydrazyl (DPPH) with $19.081.20 \pm 422.10$ μ g TE /100 g in the extract with 50% ethanol. On the other hand, from the 80% ethanolic extract, a lower amount of phenolic compounds was observed (456.15 ± 289.14 mg AGE / 100 g). However, in the case of total flavonoids and condensed tannins, the 80% methanolic extract showed the least amount of these, with 427.58 ± 15.40 mg CE/ 100 g, 4.62 ± 0.42 mg CE/ 100 g, respectively. The aryl of P. Insigne as a food product might be a good alternative to consume these biocomposites as it is an endemic species and an available nourishment.

Keywords: *Pithecellobium Insigne*, legume, aryl, antioxidant capacity, phenolic compounds.

II. Agradecimientos

A toda mi familia, en especial a mis padres, por su apoyo incondicional a lo largo de toda la carrera.

Al Mtro. Ángel Félix Vargas, por todo el tiempo invertido e invaluable apoyo en el transcurso del trabajo de investigación.

Al Dr. [Jorge Luis Chávez Servín](#)

Al Mtro. Josué López y a todo el equipo del laboratorio de biología celular, por su compañerismo y gran apoyo en mi formación profesional.

I Resumen/summary.....	3
II Agradecimientos	4
III Índice.....	5
IV Índice de figuras y cuadros	6
V Introducción.....	7
VI Revisión literaria	8
VI.I Características del género <i>Pithecellobium</i> en diversas especies.....	8
VI. II Metabolismo de las plantas.....	16
VI. III Definición e importancia de compuestos fenólicos y Antioxidantes.....	17
VI.IV Métodos empleados para la caracterización y determinación de propiedades antioxidantes y compuestos fenólicos.....	21
VII Objetivos	23
VIII Materiales y Métodos.....	24
VIII. I Métodos de determinación del perfil fenólico.....	26
VIII. III Análisis estadístico.....	28
IX Resultados y discusión	28
X Conclusiones.....	34
XI Referencias	35
XII Apéndices	38

IV. Índices de figuras y cuadros.

Figura 1. Géneros de leguminosas de la subfamilia “Mimosoideae” distribuidos en México.

Figura 2. Especie *Pithecellobium dulce*.

Figura 3. Usos del Guamúchil.

Figura 4. Distribución del género *Pithecellobium dulce*.

Figura 5. Especie *Pithecellobium Clypearia*.

Figura 6. Distribución de *Pithecellobium Insigne* en México.

Figura 7. Especie *Pithecellobium Insigne*.

Figura 8. Clasificación de fenoles.

Tabla 1. Composición bromatológica de *Pithecellobium dulce*.

Tabla 2. Contenido de compuestos fenólicos en *Pithecellobium dulce*.

Tabla 3. Composición bromatológica del Arilo *P. dulce* (%).

Tabla 4. Compuestos fenólicos, flavonoides y taninos condensados en extractos hidroalcohólicos del arilo de *P. Insigne*.

Tabla 5. Capacidad antioxidante en extractos hidroalcohólicos del arilo de *P. Insigne*.

Cuadro 1. Antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

V. Introducción.

En los últimos años el interés por conocer las propiedades y beneficios de ciertas plantas “medicinales” ha incrementado, provocando el aumento de su consumo en humanos y la elaboración de remedios naturales que son favorables en acciones terapéuticas sobre organismos biológicos. Actualmente se conoce que los compuestos bioactivos que se encuentran en el reino vegetal tienen efectos benéficos sobre diferentes patologías (Bahrami, A., et al. 2019). Se han demostrado los efectos protectores de los compuestos fitoquímicos que conforman a distintas especies de leguminosas en enfermedades cardiovasculares, neurológicas, neoplásicas, nefropatías, respiratorias, entre otras. Esto ha traído un vasto impacto en la comunidad científica por lo que se han impulsado avances tecnológicos tanto en la creación de herramientas y métodos para su obtención como en la recaudación de información relevante para potenciar efectos benéficos en la salud de individuos, mejorando de esta manera el aprovechamiento de los recursos dentro de un ecosistema.

En este sentido, el objetivo de la presente investigación tiene como propósito contribuir al aporte de conocimientos sobre el perfil fenólico y la capacidad antioxidante de *Pithecellobium Insigne*, una leguminosa poco estudiada y que es consumida y utilizada etnobotánicamente en algunas regiones de México. Hasta el momento, su uso ha sido únicamente descrito como cerca viva, en la construcción y como leña (García, S. Lara, R. Grether, I. et al. 2015). Los posibles hallazgos podrían evitar la extinción de la especie al fomentar su consumo, además de proporcionar información sobre sus beneficios en la salud humana y de esta manera poder prevenir diversas afecciones. Este proyecto incluye un análisis sobre el por qué investigar estas importantes propiedades y características, las cuales servirán para futuras investigaciones.

VI. Revisión literaria.

VI.I Características del género *Pithecellobium* en diversas especies

En México, alrededor del 90% de la población hace uso de plantas medicinales como remedio tradicional para tratar diferentes enfermedades, y alrededor del 70% de los pacientes diagnosticados con cáncer emplean estos extractos herbales como terapia alternativa (Josabad, A. Villarreal, M.L. Salazar, L.A. et al. 2010). Nuestro país alberga un amplio ecosistema vegetal que incluye a la familia de las leguminosas o “Fabaceae” con cerca de 500 géneros y 15,000 especies abarcando tres subfamilias: Mimosoideae, Cesalpinioideae y Faboideae. El género *Pithecellobium*, con significado griego “arete de mono”, es una leguminosa perteneciente a la subfamilia Mimosoideae que cuenta con alrededor de entre 100 y 200 especies de pequeños árboles y arbustos distribuidos en algunas regiones del continente americano y asiático (Monroy, R. Colín, H. 2004).

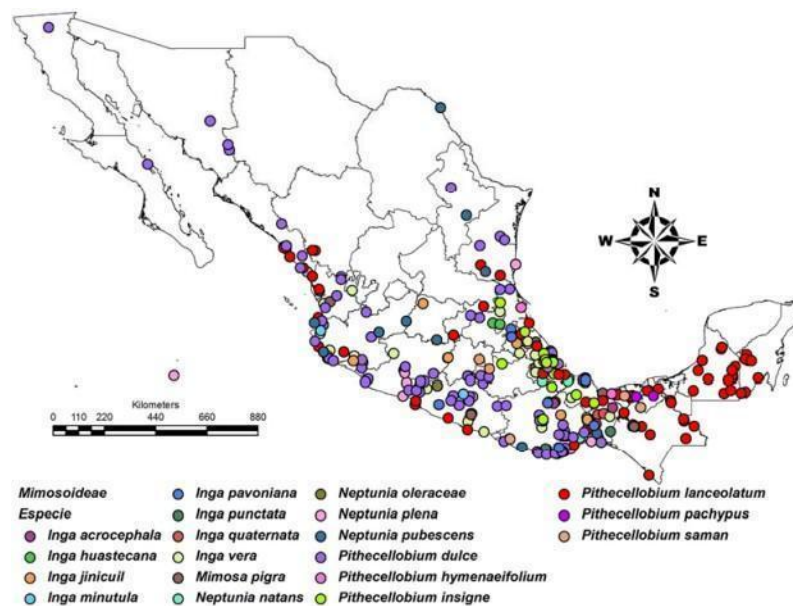


Figura 1. Géneros de leguminosas de la subfamilia “Mimosoideae” distribuidos en México (Lot, A. et al. 2015).

***Pithecellobium dulce* (P. Dulce).**

El árbol de *Pithecellobium Dulce*, también conocida localmente como “Guamúchil”, tiene un tamaño medio aproximado de entre 5 y 22 metros (m) de altura, estimándose

un crecimiento aproximado de 10 m en un periodo de 5 a 6 años en condiciones favorables. Este árbol se ubica principalmente en los trópicos americanos, extendiéndose desde el océano Pacífico en México y el sur de California, hasta el norte de Colombia y Venezuela, así mismo, fue introducido a las Filipinas en la historia del comercio colonial y poco después a la India, en donde fue descrito por primera vez y nombrado botánicamente en 1795 (Little, E.L., Jr. 1983). Ha sido naturalizado y ubicado también fuera de su área de distribución natural encontrándose en el sur de Florida, Cuba, Jamaica, Puerto Rico, St. Croix, Hawaii, y en el este de África, se ha reportado que es un árbol resistente al calor y la sequía, y se desarrolla de manera óptima en climas subtropicales y tropicales así como en regiones semiáridas (Monroy, R. Colín, H. 2004). La especie se considera algo susceptible al daño por las heladas, aunque la variabilidad al respecto es significativa. Se ha observado que el Guamúchil tolera diversos tipos de suelo, siendo estos de arcilla, rocosos, arenas, y/o con un nivel alto de agua subterránea, es común encontrarlo en bosques secos, espinosos, caducifolios o en matorrales y laderas (Francis, J.K. Lowel, C.A. 2000).



Figura 2. Fruto de la especie *Pithecellobium dulce*.

Esta leguminosa es ampliamente utilizada para la producción de leña, forraje y diversos productos. Su flor se reproduce en los primeros dos años de edad del árbol y ocurre normalmente entre los meses de diciembre y mayo, su fruto madura aproximadamente dentro de los próximos 3 a 4 meses tras la aparición de las flores, por lo que se suele percibir entre febrero y agosto dependiendo de la localidad

(Little, E.L., Jr. Wadsworth, F.W. 1964).

En México es común encontrar el fruto a la venta por sus arilos agridulces, los cuales son consumidos principalmente crudos, asados, en bebidas, o utilizados como producto medicinal. Por otro lado, en los estados de Veracruz y San Luis Potosí, ciertos productos del árbol son usados para aliviar el dolor de muelas, encías y úlceras bucales; así mismo, la corteza suele ser empleada para calmar la fiebre, la goma del tronco es conocida como fuente de mucílago soluble en agua, el aceite de la semilla usado para el consumo humano o para la producción de jabones por su alto contenido de ácido mirístico y palmítico, la costra residual como alimento para el ganado por su gran aporte de proteína, entre otros (Francis, J.K. Lowe, C.A. 2000). Su cultivo ayuda a controlar la erosión del suelo, mejora la filtración de agua a través de su sistema radicular extenso, permitiendo al árbol establecer una íntima relación con el suelo. Además, es fijador de nitrógeno atmosférico, se utiliza para delimitar predios, con función de rompevientos y mantiene la fertilidad de los suelos (Monroy, R. Colín, H. 2004).

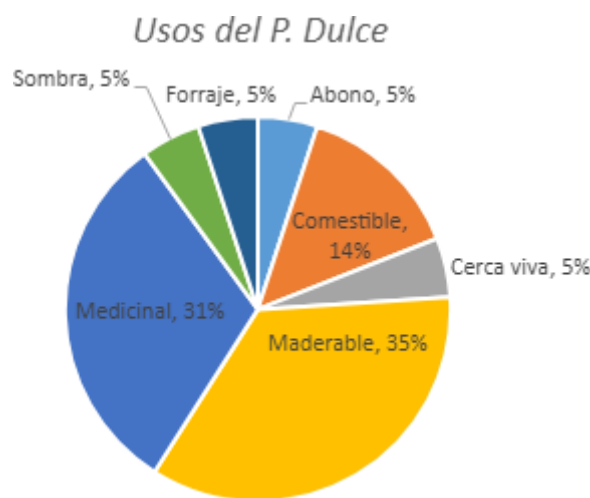


Figura 3. Usos del Guamúchil (Olivas, F. González, G.A. Wall, A. 2018).

Los arilos tienen un alto valor nutricional, son buena fuente de vitaminas y minerales, entre estas destaca el del ácido ascórbico, tiamina, riboflavina y aminoácidos esenciales como lisina, fenilalanina, triptófano y valina; de igual manera, destaca su contenido de potasio y de otros

minerales como sodio, fósforo, hierro y calcio como se puede apreciar en la tabla 1 y 2.

Tabla 1. Perfil nutrimental del fruto de <i>P. dulce</i> en 100 g	
Macronutriente (%)	
Agua	77.8
Proteína	11
Hidratos de Carbono	83.2
Fibra dietaria	5.8-6.1
Grasa	4
Energía	78 kcal
Micronutriente (mg)	
Vitamina A	15
Calcio	13
Vitamina C	133
Vitamina B1	0.24
Vitamina B2	0.1
Vitamina B6	0.6
Potasio	222
Sodio	19
Hierro	0.5
Fósforo	42

(Hernández, D.C. Ayala, M. Soto, S, et. al. 2021).

Tabla 2. Composición nutricional de la hoja de <i>P. dulce</i>	
Componente (%)	
Materia seca	29.33
Proteína bruta	18.25
Cenizas	9.76
Fibra detergente neutro	40.36
Fibra detergente ácido	29.95
Ácidos grasos saturados	28
Ácidos grasos monoinsaturados	5.62
Ácidos grasos poliinsaturados	66.38

Hojas de *P. dulce* peso fresco (Moreno, L. Valeria, A. et al. 2016).

Tabla 3. Composición bromatológica del Arilo <i>P. dulce</i> (%)
--

Humedad	84.7
Proteína	18.6
Extracto etéreo	1.4
Hidratos de Carbono	70.9
Cenizas totales	5.1
Fibra	3.9

(Vargas A.F., Kuri, A. Vargas, H. et al. 2020).

P. dulce es empleado como insecticida, es utilizado en la medicina alopática para la diabetes Mellitus por sus componentes bioactivos, así mismo, se ha reportado que la semilla tiene un potencial efecto contra la hiperlipidemia, en el manejo y control de úlceras pépticas, como nefroprotector previniendo el daño y muerte celular renal, sus taninos empleados en contra de la actividad de veneno, con un efecto antidiarreico, antibacteriano y antifúngico. Se ha destacado el potencial antioxidante de las hojas, semillas, fruto y corteza del *P. dulce* en contra de los radicales libres (Murugesan, S. Kumar, D. Arumugan, V. Anuf, R. 2019).

Diferentes estudios han reportado la composición y características fisicoquímicas del arilo de *P. dulce*. Megala, J. y Geetha A. 2010, reportaron el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante mediante extractos hidroalcohólicos, obteniendo 26.5 ± 1.3 mg EAG/g, y 0.025 ± 0.05 mg en un mililitro de ácido gálico respectivamente (Megala, J. Geetha, A. 2010); y de acuerdo a Bikash, P. y Pal, S. et al. 2012, el contenido de fenoles fue de 45.12 ± 1.08 mg, y 55.47 ± 1.57 mg de flavonoides ambos resultados en 1 gramo de materia fresca (Bikash, P. Pal, S. Manna, P. C.Sil, P. 2012). Sin embargo, se ha encontrado que su composición varía durante la maduración del fruto (Wall-Medrano, et al. 2016). Pío, J.F. et al. 2012, proponen que la mayoría de los cambios ocurren entre las dos primeras etapas de maduración al abrirse la vaina ya que su capacidad fotosintética disminuye (Pío, J.F. et al 2012).

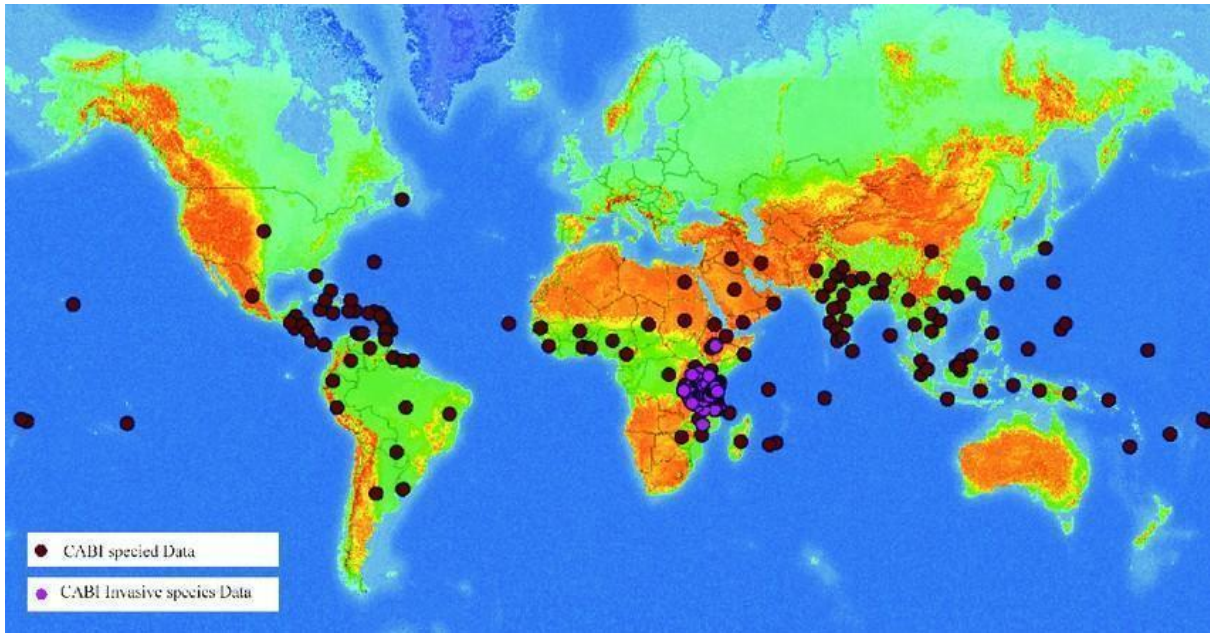


Figura 4. Distribución del género *Pithecellobium dulce*. (Murugesan, S. Kumar, D. Arumugan, V. Anuf, R. 2019).

Pithecellobium Clypearia

Asimismo, esta especie de la familia Fabaceae, ampliamente distribuida en varias provincias del Sur de China (Wang, YX. Zhou, L. Wang, J, et al 2018), ha sido reportada con actividad antiviral y antiinflamatoria. En un estudio, dos componentes antivirales (7-O-galloyltricetifavan y 7,4-di-O-galloyltricetifavan) de sus hojas fueron aislados mediante un extracto de metanol, y se observó la propiedad antiviral en contra del virus sincicial respiratorio (VSR), Influenza A, Coxsackie B3, y herpes tipo 1. Así mismo, neolignanos y otros componentes han mostrado considerables actividades de este tipo frente al óxido nítrico, así como propiedades antioxidantes (Liu, C. Huang, H. Zhou, Q. et al 2019).

Esta especie de *Pithecellobium* también se caracteriza por su alto contenido de flavonoides. Estudios fitoquímicos han reportado el aislamiento de diferentes compuestos fenólicos incluyendo epigallocatequina galato el cual ha sido un candidato prometedor para combatir la enfermedad de Alzheimer ya que se ha estudiado el potencial de los polifenoles, especialmente de flavonoides, como tratamiento de esta patología. Se encontraron 17 flavonoides y dos nuevos derivados de estos al evaluar los componentes de sus hojas y ramas (Wang, Y.X. Ren, Q. Yan, Z.Y. et al. 2017).



Figura 5. Especie *Pithecellobium Clypearia* (Wang, YX. Zhou, L. Wang, J, et al 2018).

***Pithecellobium Insigne* (*P. Insigne*)**

Por otro lado, el *Pithecellobium Insigne* perteneciente del grupo Spicatae del género con hojas bigeminadas y dos pares de folíolos, es un árbol de aproximadamente 8 metros de altura que suele crecer en regiones pantanosas, áreas cercanas a ríos, o laderas. Se distribuye ampliamente en nuestro país siendo principalmente reconocido en Campeche, Chiapas, Oaxaca, Querétaro, Puebla, San Luis Potosí, Tabasco, Tamaulipas y Veracruz, así como en Guatemala, Belice, y Honduras (García, S.L. 2013). Es conocido como “palo de humo”, “palo blanco”, “Guamuchil”, “Espino blanco”, o “Huamúchil hogador”. Suele florecer en los meses de marzo a julio y entre noviembre y diciembre; sus espigas cuentan con alrededor de 60 y 90 flores. Su fruto puede ser colectado de marzo a julio y de septiembre a noviembre, tienen un grosor aproximado de 52-71 cm. Se ha documentado su uso como cerca viva, en la construcción y como leña (García, S. Lara, R. Grether, I. et al. 2015). Sin embargo, no se han reportado datos suficientes sobre sus demás posibles propiedades. La figura 6 muestra la distribución geográfica del árbol *P. Insigne* en México así como la figura 7 el fruto del mismo.

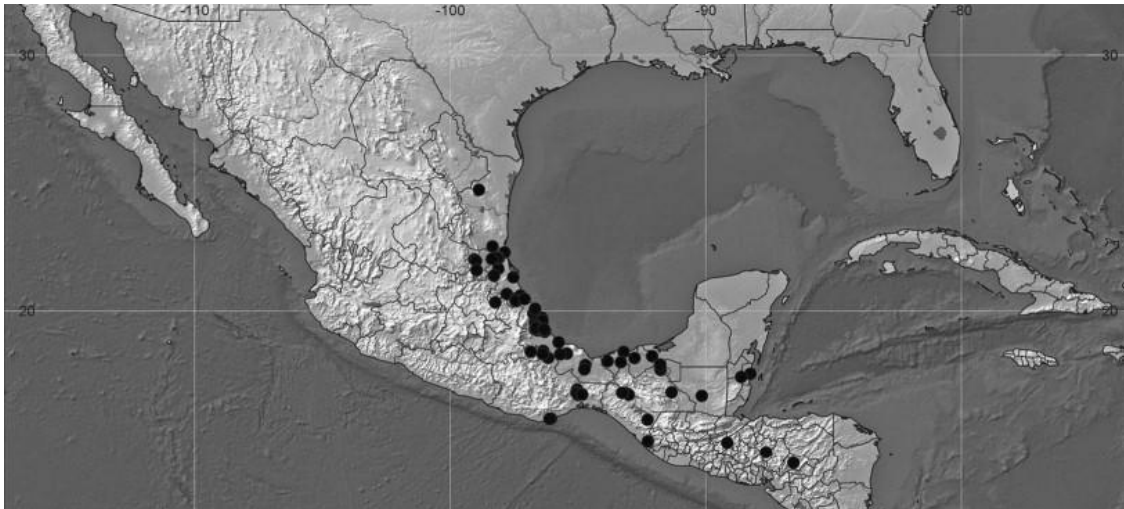


Figura 6. Distribución de *Pithecellobium Insigne* en México (García, S. Lara, R. Grether, I. et al. 2015).



Figura 7. Especie *Pithecellobium Insigne* (García, S.Lara, R. Grether, I. et al. 2015).

VI. II Metabolismo de las plantas

Las plantas sintetizan grandes cantidades de metabolitos, estos pueden ser primarios, los cuales se relacionan con las funciones vitales de la planta, y los secundarios en los que sus moléculas orgánicas son provenientes de los primarios y no se encuentran en todos los grupos de plantas ya que no se sintetizan de manera generalizada; estos se agrupan en 4 principales clases: terpenos, compuestos fenólicos, alcaloides y glucósidos, teniendo cada una de ellas una ruta de biosíntesis, por ejemplo para los terpenos, la ruta del ácido mevalónico, y la

deoxi-xilulosa; la ruta del ácido shikímico y la del ácido malónico para polifenoles (Martin, D.A. 2017). La ruta del ácido shikímico es responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de plantas (Ávalos, A. Pérez, E. 2009).

VI. III Definición e importancia de compuestos fenólicos y Antioxidantes.

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas (Nazario, O. Ordoñez, E. Mandujano, Y. et al. 2014). Los antioxidantes provenientes de la dieta se definen como sustancias que, siendo parte de un alimento, tiene la capacidad de prevenir algunos de los efectos adversos de especies reactivas sobre funciones fisiológicas normales del organismo. Los antioxidantes abarcan una variedad de familias de principios activos, entre los cuales destacan los “polifenoles” contemplando a los flavonoides como antocianidinas, catequinas, citroflavonoides, isoflavonoides, protoantocianidinas, entre otros (Coronado, M. Vega, S. Gutiérrez, R, et al. 2015). Las sustancias antioxidantes se pueden clasificar en dos sistemas, siendo el enzimático o endógeno y el no enzimático o exógeno. En el siguiente cuadro se muestran las funciones de los diferentes antioxidantes.

Cuadro 1. Antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (Zamora, J.D. 2007).

Antioxidante enzimático	Localización	Función fisiológica
Superóxido Dismutasa	Citoplasma y mitocondria	Dismuta radicales superóxido
Glutation Peróxidasa		Elimina el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos orgánicos
Catalasa		Elimina peróxido de hidrógeno

Antioxidantes no enzimático	Función fisiológica
Vitamina E	Principal antioxidante presente en la membrana celular
Vitamina C	Efecto eliminador de radicales. Recicla la vitamina E
Ácido úrico	Su efecto es eliminar los radicales hidroxilo

Glutation	Efectos en la defensa antioxidante celular
Ácido lipoico	Antioxidante eficaz y sustituto eficaz del glutacion
Bilirrubina	Producto del metabolismo del grupo hem de la hemoglobina. Efecto antioxidante a nivel extracelular
Carotenoides	Antioxidante de lípidos
Ubiquinonas	Derivado de quinonas lipídicas solubles cuyas formas reducidas tienen efectos eficaces como antioxidantes.

La importancia de los antioxidantes en el organismo radica en su función fisiológica, como lo señalan las tablas anteriores, ya que al saturarse estos sistemas debido a una sobreproducción de radicales o a la disminución en la capacidad de los sistemas endógenos antioxidantes podría conllevar a la muerte de células funcionales ya que, a pesar de su vida tan corta, los radicales libres poseen una potente reactividad por lo que su acumulación excesiva resulta perjudicial. Estos radicales libres son producidos principalmente por las células fagocíticas activadas, como monocitos, macrófagos y neutrófilos, así como otros compuestos oxidados, como el peróxido de hidrógeno, el anión superóxido, y el óxido nítrico. Así mismo, estos radicales pueden desarrollarse debido a la exposición a ciertos compuestos químicos, por el estrés oxidativo derivado del ejercicio físico intenso, contaminantes del aire, radiaciones ionizantes y no ionizantes, drogas, bacterias, o virus, entre otros. Estos compuestos pueden encontrarse ya sea en el interior como en el exterior de las células o incluso pueden encontrarse dispersos en el organismo, dañando el tejido conjuntivo, proteínas, enzimas, lípidos, membranas celulares, fibras de colágeno, ADN y ARN, entre otros. Es importante recalcar que pueden ejercer su acción también sobre los leucocitos lo que implicaría su activación anómala y por lo tanto la derivación a enfermedades degenerativas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, o cerebrovasculares (Zamora, J.D. 2007).

Cabe destacar que existen también algunos antioxidantes de origen sintético, los cuales, estudios corroboran que pudieran ocasionar daño al hígado e incluso enfermedades como el cáncer. Es por eso que se destaca la importancia del estudio de antioxidantes provenientes de origen natural (Bagchi, S. Jayaram, K. 2015).

Hoy día existe un gran interés por identificar y analizar los componentes de ciertas plantas “medicinales”, especialmente en los compuestos fenólicos, así como de los metabolitos secundarios como lo son los flavonoides, también conocidos como bioflavonoides; taninos, ligninas, antocianinas, y ácidos fenólicos. Estos comprenden diferentes formas como: agliconas, ésteres, glicósidos, y/o complejos ligados, los cuales poseen grandes acciones farmacológicas como actividades antibacterianas, antifúngicas, anticarcinogénicas, cardioprotectoras, antivirales y antialérgicas (González, R. M. Barragán, L. Peraza, A.L. et al. 2019). Por ejemplo, los flavonoides, forman un grupo de alrededor de 3 mil compuestos fenólicos con propiedades funcionales importantes al ser consumidos; estos metabolitos pueden encontrarse en todas las familias de plantas superiores y en casi todas las especies vegetales, es decir, en todas las frutas, verduras y hierbas aromáticas (Martin, D.A. 2017). Además, estos fenoles, junto con las antocianinas, han mostrado contar con una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, y a su vez proveer un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas, y neurológicas. Así mismo, se ha reportado que poseen actividades antiinflamatorias (Kuskoski, M. Asuero, A.G., Troncoso, A.M. et al 2005). Los polifenoles son los metabolitos secundarios más numerosos entre las especies vegetales, destacando al grupo de los flavonoides, como las catequinas (Nazario, O. Ordoñez, E. Mandujano, Y. et al. 2014).

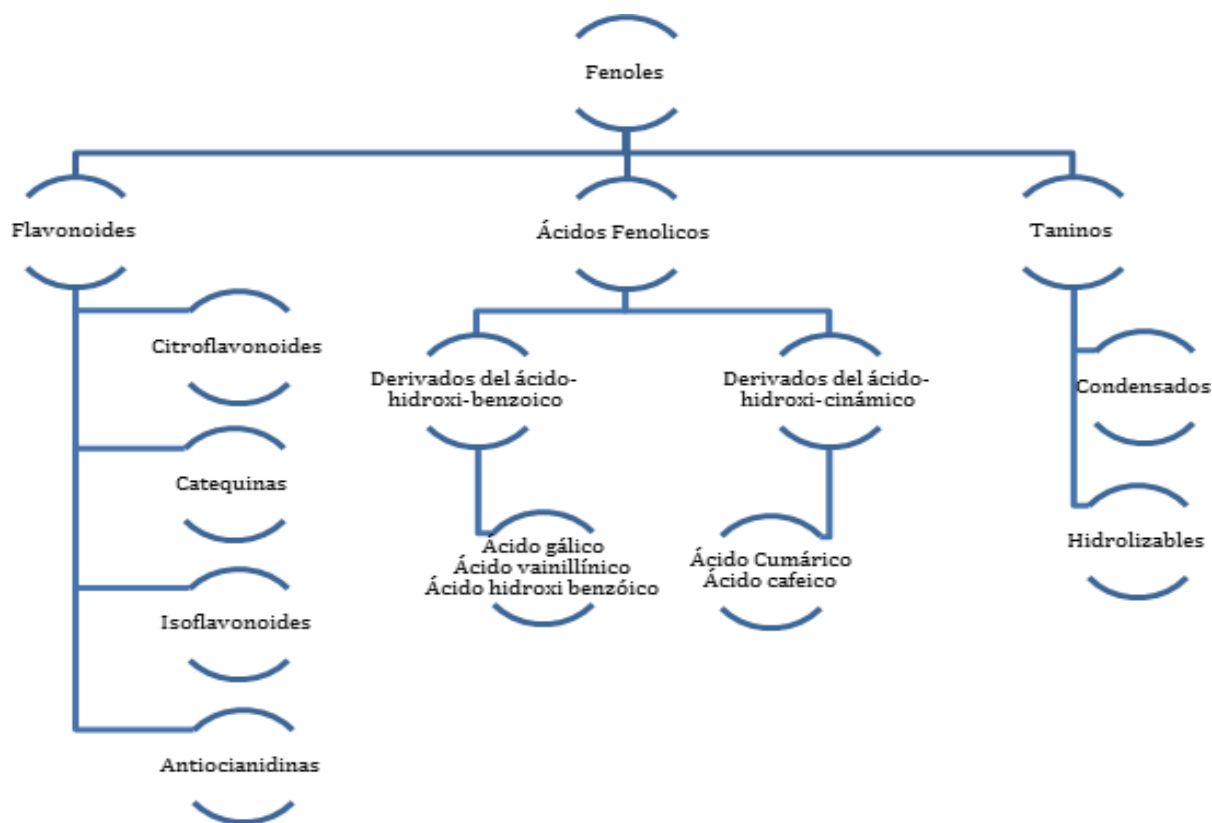


Figura 8. Clasificación de fenoles (Rui Hai Liu, 2013).

Grupo	Compuestos bioactivos
Ácidos hidroxibenzoicos	Ácido gálico, Ácido protocatéquico, Ácido vanílico, etc.
Ácidos hidroxicinámicos	Ácido cafeico, Ácido ferúlico, Ácido clorogénico, etc.
Flavonoles	Rutina, Quercetina, Kaempferol, Miricetina, etc.
Flavanoles	Catequina, Epicatequina, Galocatequina, etc.
Antocianidinas	Malvidina, Cianidina, Delfinidina, Petunidina, etc.
Taninos hidrolizados	Oligómeros de ácidos benzoicos y ácidos hidroxicinámicos.

Figura 9. (Maya, D.C. Zamora, R. 2019).

VI. IV Métodos empleados para la caracterización y determinación de propiedades antioxidantes y compuestos fenólicos

La extracción de ácidos fenólicos es realizada mediante disolventes acuosos-orgánicos, como el metanol y ácido acético, luego hidróxido de sodio, y finalmente con ácido clorhídrico concentrado; una vez estando los polifenoles solubles, se extraen los libres mediante hidrólisis ácida y básica. Normalmente se emplean solventes orgánicos para su extracción como lo son el metanol/acetona, etanol/agua, metanol/agua, acetato etílico, butanol entre otros solventes (González-González, R.M., et al. 2019).

Asimismo, para cuantificar los contenidos totales de polifenoles, utilizado el método Folin-Ciocalteu con su respectivo reactivo, una mezcla de ácido fosfotúngstico y fosfomolibdico, los fenoles reducen a los ácidos anteriores a óxidos de tungsteno y molibdeno a color azul (Prior et al., 2005; Mullen et al., 2007) en un pH básico permitiendo una cuantificación espectrofotométrica alrededor de 730 nm y tomando al ácido gálico como referencia para la curva de calibración (Martin, D.A. 2017). Este método colorimétrico permite analizar los compuestos orgánicos que presenten anillos aromáticos hidroxilados (fenoles, ácido fenólico, taninos, ligninas, ácidos húmicos, proteínas, etc.) y es considerado un mecanismo aprobado para la detección de la actividad antioxidante de los extractos de plantas (Espinoza, N.A. 2015).

Los taninos condensados se cuantifican de acuerdo con el ensayo de la “vainillina” ($C_8H_8O_3$). Este método es ampliamente utilizado para la cuantificación de proantocianidinas (taninos condensados) en soluciones ácidas (Deshpande, S.S. Cheryan, M. 1985). La vainillina protonada es un radical electrofílico débil que reacciona en medio ácido con el anillo del flavonoide en la posición 6 u 8, dando como resultado de la rápida deshidratación un producto color “rojo cereza” o rosa. La reacción se verifica entre la vainillina y los flavonoides como catequina (Ortiz Torres, H. 2011). La catequina es un monómero flavan-3-ol usado con frecuencia como estándar en análisis de vainillina, ya que este método se considera útil debido a su sensibilidad, especificidad, y simplicidad.

Existen métodos para evaluar la actividad antioxidante de un compuesto, mezcla o alimento ya sea *in vitro* o *in vivo*, basándose en la comprobación de que un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable, y en si este daño es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante, es decir, se evalúa la capacidad que tiene un posible antioxidante para neutralizar un radical (Coba, P. Mayacu, T. Vidari, G. 2010). La actividad antioxidante se relaciona con la presencia de polifenoles o compuestos fenólicos gracias a su capacidad de atrapar o inhibir la producción de radicales libres (Martin, D.A. 2017). Una de las estrategias más aplicadas “*in vitro*” consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical en la que se puede observar la pérdida de color de manera proporcional a la concentración. Estas determinaciones son importantes para darnos una idea aproximada de las situaciones *in vivo*, sin embargo, existen ciertos inconvenientes como podría ser la adaptabilidad en respuesta al aumento del estrés oxidativo. Los métodos más empleados son “ABTS” y “DPPH” (2, 2-difenil 1-picril hidrazilo), ambos presentan una buena estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias (Hernández, V.M. 2007).

El DPPH es un radical libre estable con una coloración morada que absorbe radiación a 517 nm, por lo que su concentración se puede determinar por métodos espectrofotométricos; esta coloración se irá tornando de color amarillo al reaccionar con una sustancia antioxidante, ya que se basa en la habilidad para atrapar radicales presentes en un medio, y la diferencia de absorbancias permitirá obtener el porcentaje de radicales libres (Castañeda, C.B. Ramos, Q.F. Iváñez, V.L. 2008). Puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS debe ser generado tras una reacción que puede ser química, mediante dióxido de manganeso, persulfato potasio, ABAP, enzimática (peroxidasa, mioglobulina), o electroquímica; con este método es posible medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que con el DPPH únicamente puede disolverse en medio orgánico (Kuskoski, M. Asuero, A.G., Troncoso, A.M. et al 2005); este método, desarrollado Blois, 1958, y posteriormente modificado por Brand-Williams et al 1995, se basa en la inhibición del radical libre DPPH mezclando el extracto de la muestra con la solución de dicho radical y se mide posteriormente la absorbancia (cantidad de radiación que absorbe la muestra

dependiendo de su

concentración) después de un periodo definido a 525 nm (Kedare, B. Singh, P. 2011).

La determinación de la Actividad Antioxidante "ABTS" (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio). Se basa en la capacidad para atrapar radicales presentes en el medio. El radical catiónico de ABTS, es un compuesto estable y soluble en metanol que se genera por su interacción con persulfato de potasio. Por lo tanto, se evalúa la capacidad antioxidante de la muestra en función de la habilidad para disminuir la concentración del radical (Re, R. Pellegrini, N. et a. 1999).

Por otro lado, el método de Poder antioxidante reductor férrico (FRAP) se fundamenta en la reducción del hierro férrico, presente en el reactivo, a la forma ferrosa por presencia de antioxidantes. Este método usa antioxidantes como reductores en una reacción tipo redox calorimétrica (Fuentes, M. Espinoza, N. 2015).

La importancia de conocer los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de la leguminosa *Pithecellobium Insigne* radica en el potencial de su uso como alimento y fuente de compuestos benéficos para la salud, así como en la necesidad de explorar nuevas fuentes de estos para mejorar la calidad de vida de la población y prevenir enfermedades relacionadas con el envejecimiento.

El objetivo de este trabajo es conocer los componentes bioactivos que conforman el arilo de esta fabacea, para así, aportar información sobre su perfil fenólico y actividad antioxidante para contribuir con futuras investigaciones al respecto o incluso al desarrollo de nuevos productos alimentarios y terapias naturales para la prevención y tratamiento de enfermedades.

VII. Objetivos

Objetivo general

- Determinar el perfil fenólico y la capacidad antioxidante del arilo de *Pithecellobium Insigne*.

Objetivos específicos

1. Analizar los componentes fenólicos por medio de los métodos colorimétricos por Folin-Ciocalteu, para determinar compuestos fenólicos totales, el método de tricloruro de aluminio para los flavonoides totales, y el ensayo de vainillina para la determinación de taninos.
2. Analizar la capacidad antioxidante por medio de los métodos de la inhibición del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), del poder antioxidante del hierro (FRAP), y la capacidad antioxidante de Trolox (TEAC).

VIII. Materiales y métodos

El diseño del presente trabajo es Transversal descriptivo.

I. Materiales

Micropipetas, puntas para micropipetas, minipipetas de plástico, espátulas, matraces de 100 y 10 ml, papel aluminio y paraffin, vasos de precipitado de 200, 50 y 10 ml, agitador magnético, tubos falcon, perrilla agitadora sin temperatura, placa para ELISA, placa de plástico de 96 pozos, extractos.

II. Equipos

Balanza analítica, Precisa, XT-120	Refrigerador, Revco, Legaci
Campana de extracción	Microscopio ZEISS, ICS KF2
Congelador, Cool, Lab.	Detector ELISA y Equipo de electroforesis
Centrífuga	Campana de flujo laminar
Espectrofotómetro ELISA	Vortex, Lab-line, 1190
Estufa, Cole-Parmer, 05015-50	Liofilizadora
Horno de secado, Rios-Rocha, HS-41	Refrigerador, American, ARV-300
HPLC Degasys, photodiode, Waters, SCH	
Refrigerador, Revco, Reliz 04A19	

III. Recolección y preparación de la muestra

La muestra se recolectó en el municipio de Tamasopo de San Luis Potosí, México. El lugar cuenta con un clima semicálido húmedo con una temperatura media anual de 23°C. La materia vegetal se llevó al laboratorio de Biología Celular que se encuentra en la Facultad de Ciencias Naturales en el Estado de Querétaro. Se realizó la limpieza de la muestra separando la parte del arilo del resto de la materia vegetal para secarlo por medio de liofilización ya que provoca cambios en la

estructura tisular del material vegetal, haciéndolo poroso y mejorando la eficiencia de extracción de compuestos fitoquímicos. Además, por tratarse de temperaturas muy bajas, conserva mejor los compuestos bioactivos (Vargas, A.F. 2020). Posteriormente la muestra se molió en un molino (Tomas Wiley Model 4 Scientific, USA) utilizando una criba de 0.5 mm de diámetro ya que, de acuerdo a Gonzalez, L. et al 2018, cuanto menor sea el tamaño del tamiz, menor es la partícula que pasa a través de él, obteniendo en este caso tamaños menores a 0.05 mm lo que permite una buena interacción con el solvente y ofrece una superficie de contacto adecuada para llevar a cabo la extracción.

IV. Extracción

Para la extracción de antioxidantes y compuestos fenólicos se mezclaron 5 gramos de muestra disueltos en solventes, etanol y metanol debido a su alta polaridad y afinidad a los compuestos de interés, diluidos en agua destilada al 50 y 80% durante 16 horas con el fin de homogeneizar. Después, ésta se colocó en un rotaevaporador y, mediante destilación y condensación, se obtuvo el extracto con sus respectivos compuestos fenólicos. Posteriormente, la muestra acuosa obtenida se congeló a -80°C para liofilizarla y finalmente analizar mediante los métodos colorimétricos correspondientes.

Este procedimiento se llevó a cabo bajo condiciones de poca luz, a temperatura ambiente (Vargas, A.F. Kuri, A. Chávez, J.L. et al. 2020), en los laboratorios de biología celular y de nutrición humana en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro, ubicada en la ciudad de Querétaro, Juriquilla.

VIII. I Métodos de determinación del perfil fenólico

I. Determinación del contenido de fenoles

Para la cuantificación de polifenoles totales, se realizó una curva estándar de calibración con ácido gálico de 12.5, 10.4, 8.3, 6.3, 4.2, 2.1, $1\mu\text{L}$, por triplicado; en cada tubo de ensayo se adicionaron $50\mu\text{L}$ de agua destilada, y una solución de 1:1 de agua destilada con $32\mu\text{L}$ de solución del reactivo de Folin-Ciocalteu, se dejaron reposar por 8 minutos, y finalmente se agregaron $156\mu\text{L}$ de Carbonato de sodio

(NaCO₃) al 20%; la placa se mantuvo 2 horas a temperatura ambiente bajo las condiciones de luz apropiadas (debido a varios compuestos susceptibles a esta) (Vargas, A.F. Kuri, A. et al. 2020), y se realizó la lectura de absorbancia contra un blanco de reactivos a 750 nm de longitud de onda (Singleton, V.L. Rossi, J.A. 1965).

II. Determinación del contenido de flavonoides

La cantidad de flavonoides se estimó mezclando extractos de catequina con 156 ml de agua destilada. A cada uno se le agregó 0.5 gr. de Nitrito de Sodio (NaNO₂) al 5% aforado con 10 ml de agua destilada dejándose 6 minutos en reposo. Posteriormente se adicionó 1 gr de tricloruro de aluminio (AlCl₃) al 10%, y se mantuvo en reposo a temperatura ambiente durante 5 minutos. En seguida se agregaron 63 µL de Hidróxido de Sodio (NaOH) aforado con 10 ml de agua destilada y se leyó su absorbancia a 510 nm. Las lecturas de esta variable se extrapolaron a una curva de calibración preparada con 0.10 mg de catequina en 10 ml de etanol (Espinoza, N.A. 2015).

III. Determinación de taninos condensados

Se agregaron 40 µl de muestra diluída en metanol al 80% en 9 pocillos, por cada dilución, de una placa de 96 pozos. Posteriormente se agregaron 200 µl del reactivo de vainillina y Hcl, previamente preparado con vainillina al 1% (0.5 gr) aforada con metanol en 50 ml y 20 ml de Hcl al 8% (1:1). Se incluyó un "blanco" con 40 µL de metanol más 200 µl de la solución 1:1 de vainillina con Hcl al 8%. Se dejó en reposo a temperatura ambiente y a luz baja durante 20 minutos y se leyó a una absorbancia de 492 nm. La concentración de taninos condensados se calculó comparando con la curva estándar de catequina (Espinoza, N.A. 2015).

VIII. II. Determinación de la capacidad antioxidante

I. Método del radical 1,1 defenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

Para la solución "DPPH" se agregaron 1.5 mg de DPPH aforados en 20 ml de metanol; se agitó durante 10 minutos y finalmente se aforó con agua destilada hasta

25 ml. Para la solución stock de Trolox se agregaron 2.5 mg de trolox aforando con metanol a 10 ml, obteniendo una concentración de 1mM. Para el blanco, se colocaron 20 µL de metanol y 200 µL de agua destilada. Para el “control”, se emplearon las mismas cantidades reemplazando el agua destilada por DPPH. Para el estándar trolox se colocaron de igual manera, 20 µL de trolox de cada concentración y 200 µL de DPPH, realizando una lectura a 520 nm (Fuentes, M. Espinoza, N. 2015).

II. Método de Poder antioxidante reductor férrico (FRAP)

Para la solución FRAP, se agregaron 10 ml de una solución amortiguadora, “buffer”, de acetato de sodio ($C_2H_3NaO_2$) y ácido acético glacial (CH_3COOH); 1 ml de cloruro Férrico ($FeCl_3$); y 1 ml del reactivo 2, 4, 6-tripidiril-s-triazine (TPTZ) previamente aforado con una solución de Hcl 40 MM.

En la placa se agregaron 20 µl de muestra y 175 µl de la solución FRAP, y se dejó reposar protegida de la luz por una hora; posteriormente se leyó a 595 nm (Fuentes, M. Espinoza, N. 2015).

III. Método de la capacidad antioxidante 2,2'-azinobis-(3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) (ABTS).

Para el análisis del equivalente de la actividad antioxidante Trolox (TEAC), se utilizó para la solución “A”, 5 µl de una solución stock de ABTS 1MM preparado con 0.01920 gr de ABTS aforado en 5 ml con agua destilada; y 88 µl de una solución acuosa stock 140 MM de persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$). Esta solución “A” se dejó reposar durante 12 horas previas a su uso. Posteriormente, se añadieron 22 ml de etanol y 0.5 ml de la solución A para obtener una absorbancia de 0.93 leída a 734 nm. Así mismo, se preparó una solución estándar de Trolox 1 MM con 2.5 mg de trolox aforado en 10 ml con metanol. Finalmente se colocaron en la placa 230 µl de la solución final de ABTS y 20 µl de muestra; para el blanco se añadieron 230 µl de etanol y 20 µl de metanol; y para el control se utilizaron 230 µl de ABTS y 20 µl de etanol. Se dejó reposar la placa durante una hora en condiciones de poca luz a

temperatura ambiente. Finalmente se leyó nuevamente a 734 nm (Vargas, A.F. Kuri, A. et al. 2020).

VIII. III Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron organizados y presentados por medio del programa GraphPad Prism para facilitar su interpretación. Se utilizó la prueba de análisis ANOVA de una sola vía y el método de Tukey.

IX. Resultados y discusión

En la presente Investigación se evaluó la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos de un extracto acuoso de arilo de *Pithecellobium Insigne* (5 gramos liofilizado) disuelto en dos solventes (metanol y etanol) en distintas concentraciones. La muestra se diluyó en un volumen total de 500 ml; 400 ml de solvente más 100 ml de agua destilada, y 250 ml de solvente más 250 ml de agua destilada para las concentraciones al 80% y 50% respectivamente.

Las condiciones de extracción que mostraron la mayor cantidad de flavonoides fueron iguales a las obtenidas en fenoles totales, posiblemente debido a que los flavonoides se encuentran químicamente clasificados dentro de los compuestos fenólicos.

En las siguientes tablas se plasman las diferencias obtenidas de acuerdo a cada extracto, siendo el más consistente el extracto de arilo en una concentración del 50% diluido en etanol en la mayoría de las técnicas; sin embargo, se percibe una mayor capacidad antioxidante en las concentraciones diluidas al 80%, siendo para la técnica FRAP como solvente metanol, y para ABTS el etanol.

Tabla 4. Compuestos fenólicos, flavonoides y taninos condensados en extractos hidroalcohólicos del arilo de *P. Insigne*.

Solvente	Fenoles mg EAG/100 g EL	Flavonoides mg EC/100 g EL	Taninos mg EC/100 g EL
E/A 80%	456.15 ± 289.14	483.69 ± 19.89	7.94 ± 0.76

M/A 80%	573.17 ± 179.03	427.58 ± 15.40	4.62 ± 0.42
E/A 50%	1127.54 ± 104.02	802.17 ± 34.57	10.64 ± 0.91
M/A 50%	768.20 ± 101.13	682.58 ± 37.85	7.65 ± 0.69

E: etanol; M: metanol; A: agua destilada; EAG: equivalentes de ácido gálico; EC: equivalentes de catequina; EL: extracto liofilizado; ± : desviación estándar.

De acuerdo a la cantidad obtenida de fenoles totales, no se observa similitud alguna en cuanto a solvente ni concentración, es decir, que independientemente del solvente y su concentración se obtuvieron distintas cantidades de fenoles en cada solución. Se puede apreciar una mayor cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos condensados en la disolución con etanol en una concentración al 50%, sin embargo, en el caso de los fenoles se obtuvo una menor cantidad en el respectivo solvente pero a una concentración mayor (80%); de igual manera, se obtuvieron menores cantidades de flavonoides y taninos condensados en la concentración de la solución al 80%, sin embargo, en el solvente con metanol.

Tabla 5. Capacidad antioxidante en extractos hidroalcohólicos del arilo de P. Insigne.

Solvente	FRAP µg ET/100 g EL	DPPH µg ET/100 g EL	ABTS µg ET/100 g EL
E/A 80%	5,370.03 ± 317.98	17,653.85 ± 499.63	7,253.09 ± 396.53
M/A 80%	14,932.32 ± 479.91	15,098.29 ± 556.96	6,166.67 ± 222.22
E/A 50%	5,282.49 ± 587.96	19,081.20 ± 422.10	6,787.04 ± 370.60
M/A 50%	1,583.68 ± 671.69	16,252.14 ± 275.19	6,250 ± 586.80

ET: equivalentes de trolox. EL: extracto liofilizado.

La actividad antioxidante es un parámetro que determina qué tanto el compuesto antioxidante evita que su sustrato se oxide (Pérez, VC. Lugo, EC. Gutiérrez, M. Del Toro, CL. 2013). En la tabla 5 se observa que el tipo de solvente influye en la capacidad antioxidante, siendo, en la mayoría de los casos mayor en el solvente etanol sin importar su concentración probablemente por su alta polaridad. Sin embargo, en el método FRAP su mayor capacidad se observó en el solvente de metanol al 80% con diferencias significativas entre las otras variables. La actividad del radical ABTS tuvo un comportamiento ligeramente más elevado en el etanol

probablemente debido a que este compuesto es soluble en solventes acuosos y orgánicos haciéndolo un método apto para determinar la capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica de extractos biológicos (Pérez, V.C. Lugo, E.C. Gutiérrez, M. Del Toro, C.L. 2013).

Kubola J. et al 2011, analizaron los fitoquímicos del fruto de *P. dulce*. Su estudio muestra un procedimiento y métodos similares al del presente ya que el arilo fue liofilizado, se utilizó un agitador orbital y la muestra fue centrifugada, sin embargo, difiere en cuanto a peso, tiempo de centrifugación y revoluciones por minuto (rpm). Asimismo, para la cuantificación de flavonoides Kubola, J. et al. emplearon rutina como referente, a diferencia de la catequina. Sus resultados señalan, en el caso de compuestos fenólicos totales, 66% menor cantidad y 50% menos en flavonoides totales. En cuanto a la capacidad antioxidante analizada mediante el método FRAP, se obtuvo un rendimiento bastante significativo en el presente estudio con un valor de 149.32 ± 4.8 mmol FeSO₄/g a comparación de 0.92 ± 0.04 mmol FeSO₄/g de Kubola, J. et al. Estos resultados podrían deberse a la cantidad de muestra empleada ya que difieren en 1 gramo o simplemente a la diferencia de especie estudiada.

Otro estudio, realizado por López, G. et al. 2018 sobre el arilo de *P. dulce*, se encontró una mayor capacidad antioxidante mediante el método ABTS de 142.2 ± 8.1 µmol TE/g a comparación de este (62.50 ± 5.87 µmol TE/g); sin embargo el método DPPH resultó cuantificar mayor capacidad antioxidante reportando 162.52 ± 2.75 µmol TE/g en el presente estudio, ya que López, G. et al. obtuvieron 41.4 ± 5.1 µmol TE /g. Aunque en ambos el solvente empleado fue metanol, López, G. y colaboradores no mencionan la concentración a la que se encuentra el mismo. Esto podría representar la diferencia de resultados o podría ser debido a que fue utilizado únicamente 1 gramo del fruto liofilizado disuelto en 20 ml de metanol y en el presente estudio 2 gramos en menor volumen (10 ml), es decir, la muestra se encuentra menos concentrada en dicha investigación. Sin embargo, el solvente de López, G. et al. podría haber sido bastante diluído, ya que, a pesar de que el metanol influye en la capacidad antioxidante (debido a que es más polar que otros), el radical ABTS es mucho más soluble en solventes acuosos y orgánicos (Pérez, V.C. Lugo, E.C. Gutiérrez, M. Del Toro, C.L. 2013).

De acuerdo con otros estudios sobre el fruto de *P. dulce*, como el de Megala, J. y Geetha, A. 2010 y Preethi, S. Saral, M.A. 2014, el rendimiento de los extractos etanólicos mejoró de acuerdo a la cantidad de solvente hidroalcohólico que se utilizó, ya que su metodología establece una concentración etanólica del 70 y 80% respectivamente. Sin embargo, en el caso del presente estudio, analizando el fruto del *P. Insigne*, a mayor agua, mayor contenido de polifenoles (50:50). El contenido obtenido por Megala, J. y Geetha, A. fue de 26.5 ± 1.3 mg EAG/g de fenoles totales, con una muestra secada en horno y posteriormente liofilizada de 10 gr disueltos en 100 ml de etanol al 70%; a diferencia de este trabajo, Megala, J. et al. emplearon temperatura en su procedimiento (60°C) y un extractor de compuestos, generalmente lipídicos, "Soxhlet" durante 8 horas. De acuerdo a Sepúlveda, C. y Zapata, J. 2019, existe un aumento en la velocidad de degradación de compuestos fenólicos y en la pérdida de actividad antioxidante al aumentar la sensación térmica ya que son compuestos muy vulnerables, sin embargo, estos cambios suelen producirse a temperaturas típicas de procesos de alimentos, es decir, de entre $70-90^{\circ}\text{C}$. Por otro lado, el empleo del extractor Soxhlet así como la cantidad de muestra (10 gr) y la cantidad de su respectiva disolución (100 ml) sí podrían influir en los resultados del estudio a comparación del nuestro. Así mismo, en el estudio elaborado por Preethi, S. Saral, M.A. 2014, mencionan haber utilizado el extractor Soxhlet en su procedimiento, sin embargo, la cantidad de muestra diluída fue de 20 gr en 200 ml de etanol a una concentración del 80%, obteniendo 622.5 mg EAG/g de compuestos fenólicos. Este estudio fue realizado en un microondas (350 Watts) por 3 horas. Se detectaron diversos fitoquímicos volátiles y de bajo peso molecular. Mencionan que esto podría deberse a que el método de extracción es muy rápido y se requiere de poco tiempo a comparación de los métodos utilizados tradicionalmente.

Un reciente estudio realizado por Rochín, J.J. et al 2021, muestra el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de variedades de frijol sembradas en el estado de Zacatecas. Los fitoquímicos fueron extraídos a partir de 0.5 gr de las leguminosas trituradas hasta pasar por una malla de 0.180 mm disueltas en 10 ml de metanol al 80%. Esta suspensión se agitó en un rotador (OVAN noria R, EUA, 2010) por 10 min y fue centrifugada a 3000 rpm/ 10°C /10 min. Sus resultados varían de 67 mg a 204 mg EAG/100 g de compuestos fenólicos, y los niveles de capacidad

antioxidante fueron de 243 μmol a 1282 μmol ET/100 g utilizando el método DPPH. Las variedades Flor de Junio y Negro San Luis presentaron los mayores contenidos de fenólicos totales, flavonoides y capacidad antioxidante. Cabe destacar que este tipo de leguminosas se consumen una vez atravesado el proceso de cocción a comparación de la especie *Pithecellobium* la cual puede ser consumida cruda sin alterar su contenido fitoquímico. Nuestros resultados muestran una cantidad de compuestos fenólicos de 573.17 ± 179.03 mg EAG/100 g igualmente en una solución con metanol al 80%; y una actividad antioxidante de 15098.29 ± 556.96 μg ET/100 gr EL empleando el mismo método (DPPH). Sin embargo, cabe mencionar que el frijol contiene otro tipo de compuestos fenólicos, los cuales contribuyen con el contenido de fenólicos totales, como ácidos fenólicos y taninos condensados, así como la variación en la capacidad antioxidante obtenida de los genotipos analizados, puede atribuirse a los diferentes niveles de fitoquímicos (taninos, flavonoides y antocianinas) contenidos en cada variedad, así como a su contenido total de compuestos fenólicos, ya que estos compuestos bioactivos son los principales responsables de la capacidad antioxidante in vitro en frijol (Yang, et al. 2020)(Rochín, J.J. et al. 2021).

Tras analizar la composición nutricional de “*Tamarindus indica*”, leguminosa consumida en México (Kuru, P. 2014), se concluyó que la especie P. Dulce proporciona mayores beneficios de acuerdo a su contenido de macronutrientes y antioxidantes; el Guamúchil proporciona menos calorías y más proteína que el fruto del tamarindo, así como mayor contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante tanto en la especie P. Dulce como en la P. Insigne.

X. Conclusiones

Este estudio ha permitido concluir que en el caso de la caracterización del perfil fenólico en el arilo liofilizado de la leguminosa *Pithecellobium Insigne*, el solvente con resultados más altos en cuanto a cantidad de compuestos fue el etanólico en una concentración al 50% lo que sugiere que el fruto de *P. Insigne* podría ser una buena fuente de compuestos fenólicos para la industria alimentaria y farmacéutica. En cuanto a la capacidad antioxidante, se determinó que cada método reaccionó distinto siendo en el caso del método de Poder antioxidante reductor férrico (FRAP) 89 veces mayor en el solvente de metanol al 80% que en el mismo pero a una concentración menor (50%); a diferencia del método DPPH, que mostró ser 21 veces mayor en el solvente etanólico al 50% que en el metanólico al 80%. De acuerdo al método ABTS, se obtuvo mayor rendimiento en el solvente etanol a una concentración del 50%, sin mostrar diferencias significativas entre los demás solventes. Estos resultados se determinaron a partir de la muestra previamente liofilizada, a condiciones de luz muy bajas y a temperatura ambiente.

El presente trabajo demuestra la importancia de los compuestos fenólicos presentes en el fruto de *Pithecellobium Insigne* como una buena alternativa para el aprovechamiento de estos compuestos alimenticios. Además, el ser una especie endémica de México y ser fruto de temporada aumenta su valor al fomentar la seguridad alimentaria particularmente en zonas rurales. En general, este estudio proporciona una base sólida para futuras investigaciones sobre compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en *P. Insigne* y destaca su potencial uso en la industria alimentaria y farmacéutica.

XI. Referencias

- Bagchi, S. Jayaram, K. (2016). Studies on water soluble polysaccharides from *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. seeds. DOI 10.1016/j.carbpol.2015.11.018.
- Jayaraman, M. Arumugam, G. (2012). Antiulcerogenic activity of hydroalcoholic fruit extract of *Pithecellobium dulce* in different experimental ulcer models in rats. DOI 10.1016/j.jep.2012.05.011
- Preethi, S. Saral, A. (2016). Screening of natural polysaccharides extracted from the fruits of *Pithecellobium dulce* as a pharmaceutical adjuvant. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2016.07.036
- Madhukar, D. Pankaj, N. Kothavade, S. et al (2015). Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth seeds extract in streptozotocin-induced diabetic rats. doi:10.1016/j.eujim.2015.01.001.
- Ahmad, M. Ahmad, R. Prakash, P. et al (2018). Preparation and evaluation of antibacterial potential of *Pithecellobium dulce* root extract against Gram positive and Gram negative bacteria. DOI 10.1016/j.micpath.2018.01.013
- Alonso-Castro, A.J. Villarreal, M.L. Luis A. Salazar-Olivo, L.A. (2010). Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. DOI 10.1016/j.jep.2010.11.055.
- Murugesan, S. Lakshmanan, D.K. Arumugam, V. Alexander, R.A. (2019). Nutritional and therapeutic benefits of medicinal plant *Pithecellobium dulce* (Fabaceae): A review. DOI 10.7324/JAPS.2019.90718
- Manimaran, P. Sanjay, M. R. Senthamaraikannan, P. et al. (2020). A new study on characterization of *Pithecellobium dulce* fiber as composite reinforcement for light-weight applications. DOI 10.1080/15440478.2018.1492491
- Wall-Medrano, A. González, G.A. Loarca, G.F. et al. (2016). Ripening of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. [Guamúchil] Fruit: Physicochemical, Chemical and Antioxidant Changes. DOI 10.1007/s11130-016-0575-0.
- Madriz, A. Kuri, A. Chávez, J. et al. (2020). Phenolic profile and antioxidant capacity of *Pithecellobium dulce* (Roxb) Benth: a review. DOI 10.1007/s13197-020-04453-y.

<https://sci-hub.se/10.1007/s13197-020-04453-y>

- Chaparro, A. Osuna, H.R. Aguillon, J. Osuna, A.M. (2015). Nutritional composition of pithecellobium dulce, guamuchil aril. DOI 10.3923/pjn.2015.611.613
- Monroy, R. Colín, H. (2016). El guamúchil *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth, un ejemplo de uso múltiple. DOI 10.21829/myb.2004.1011278.
- London Journal of Botany 3: 199. (1844). *Pithecellobium dulce*.
- Kedare, B. Singh, P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. DOI 10.1007/s13197-011-0251-1
- Zamora, J.D. (2007). ANTIOXIDANTES: MICRONUTRIENTES EN LUCHA POR LA SALUD. DOI 10.4067/S0717-75182007000100002
- Coronado, M. Vega, S. Gutierrez, R. et al. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Recuperado de: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
- García, S.L. (2013). SISTEMÁTICA DE PITHECELLOBIUM MART. SECCIÓN SPICATAE L. RICO Y TAXONOMÍA DE P. LANCEOLATUM (WILLD.) BENTH. (LEGUMINOSAE). Recuperado de: https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1003/1/PCB_M_Tesis_2013_Sergio_Garcia_Lara.pdf
- García, S.Lara, R. Grether, I. et al. (2015). Testing a species hypothesis with morphometric analysis: *Pithecellobium insigne* (Leguminosae, Mimosoideae, Ingeae). DOI : <http://dx.doi.org/10.3159/TORREY-D-14-00083.1>. <http://www.bioone.org/doi/full/10.3159/TORREY-D-14-00083.1>
- Francis, J. Lowe, C. (2000). Bioecología de Árboles Nativos y Exóticos de Puerto Rico y las Indias Occidentales. Recuperado de: https://data.fs.usda.gov/research/pubs/iitf/Bioecologia_gtr15.pdf#page=422
- González-González, R.M., et al. (2019.) Validation of an HPLC-DAD method for the determination of plant phenolics. Revista Brasileira de Farmacognosia, <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.06.002>.
- Martin, D.A. (2017). LOS COMPUESTOS FENÓLICOS: UN ACERCAMIENTO A SU BIOSÍNTESIS, SÍNTESIS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>. Recuperado de: <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/1968/2813>

- Ortiz Torres, H. (2011). Potencial antioxidante de hojas y corteza de Bauhinia kalbreyeri harms: contribución de sus flavonoides en esta actividad. Revista Tumbaga, 1, 43-58. Tolima, D - Universidad del Tolima. Recuperado de <https://elibro.net/es/ereader/bibliouaq/94725?page=5>.
- Nazario, O. Ordoñez, E. Mandujano, Y. et al. (2014). POLIFENOLES TOTALES, ANTOCIANINAS, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE GRANOS SECOS Y ANALISIS SENSORIAL DEL LICOR DE CACAO (Theobroma cacao L.) CRIOLLO Y SIETE CLONES. Recuperado de: <https://revistas.unas.edu.pe/index.php/revia/article/viewFile/85/69>
- Lot, A. y col. (2015). Informe Técnico Final del proyecto Catálogo y guía de plantas indicadoras de humedales de México a nivel nacional. Recuperado de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/102194/Informe_PIH.pdf
- Coba, P. Mayacu, T. Vidari, G. (2010). Importancia de la actividad antioxidante y evaluación de extractos en etanol del género Oryctanthus. <http://dx.doi.org/10.17163/lgr.n11.2010.03>
- Megala, J. Geetha, A. (2010). Free radical-scavenging and H⁺, K⁺ - ATPase inhibition activities of Pithecellobium Dulce. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.01.059.
- Bikash, P. Pal, S. Manna, P. C.Sil, P. (2012). Traditional extract of Pithecellobium Dulce fruits protects mice against CCl₄ induced renal oxidative impairments and necrotic cell death. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2012.02.001>
- Moreno, L. Valeria, A. et al. (2016). Efecto de la alimentación con Pithecellobium dulce en el perfil de ácidos grasos de la leche de cabras criollas. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33944929005>
- Pérez, VC. Lugo, EC. Gutiérrez, M. Del Toro, CL. (2013). Extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de lima y determinación de actividad antioxidante.
- Kuri, A. Chávez, J.L. Guzmán, S.H. (2017). Phenolic profile and antioxidant capacity of Cnidocolus chayamansa and Cnidocolus aconitifolius: A review. <https://doi.org/10.5897/JMPR2017.6512>

- Sáyago, S. Álvarez, E. (2018). Alimentos vegetales autóctonos iberoamericanos subutilizados. ISBN: 978-1-938038-10-5.
- Pío, J. F., Díaz, S., Montes, J., López, G., Delgado, F. (2013). Nutritional and nutraceutical characteristics of white and red *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth fruits. DOI: 10.1051/fruits/2013084 www.fruits-journal.org
- López, G. Montes, J. Sánchez, L. et al. (2018). Anthocyanins of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. fruit associated with high antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities Doi: 10.1007/s11130-018-0693-y
- Parra, A. (2019). Evaluación de extractos de plantas en la nutrición y salud de animales herbívoros.
- Kubola, J. Siriamornpun, S. Meeso, N. (2011). Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. doi:10.1016/j.foodchem.2010.11.104
- Re, R. Pellegrini, N. et a. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Maya, D. C., Zamora, R. (2019). PROPIEDAD ANTIOXIDANTE DE ALGUNOS ALIMENTOS CULTIVADOS EN MÉXICO. Recuperado en <http://www.milenaria.umich.mx/ojs/index.php/milenaria/article/view/35>
- Rochín, J.J. Mora, S. Navarro, R.O. Tovar, X, Quiñones, G. Ayala, J. L., & Aguayo, J. (2021). Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de variedades de frijol sembradas en el estado de Zacatecas. <https://doi.org/10.15174/au.2021.3059>
- Hernández, D.C. Ayala, M. Soto, S, et. al. (2021). Los extraordinarios usos para el guamúchil (*Pithecellobium Dulce*). SSN: 2448-5357

VII Anexos

