



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO
de Tuxtepec

Maestría en Ciencias en Alimentos

TESIS

“Identificación y cuantificación de ácidos fenólicos de extractos de fruto de “cruetillo” (*Randia spp*): actividad antioxidante y antiproliferativa”

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

PRESENTA:

IBQ. VÍCTOR MANUEL FERNÁNDEZ LÓPEZ

DIRECTOR:

DRA. IVET GALLEGOS MARÍN

CO-DIRECTOR INTERNO:

DRA. CECILIA EUGENIA MARTÍNEZ SÁNCHEZ

CO-DIRECTOR EXTERNO:

DRA. LILIA LETICIA MÉNDEZ LAGUNAS

TUXTEPEC, OAXACA

OCTUBRE 2024

Autorización de Presentación Electrónica de Tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oax., 15/octubre/2024
Oficio No. DEP/CT-4522

C. VICTOR MANUEL FERNÁNDEZ LÓPEZ
EGRESADO DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS
CON NÚMERO DE CONTROL M17350028
PRESENTE

POR MEDIO DE LA PRESENTE ME PERMITO COMUNICARLE QUE EL COMITÉ TUTORIAL INTEGRADO POR LOS CC. IVET GALLEGOS MARÍN, CECILIA E. MARTÍNEZ SÁNCHEZ, LILIA LETICIA MÉNDEZ LAGUNA, ERASMO HERMAN Y LARA Y ERNESTINA PAZ GAMBOA REVISÓ Y APROBÓ EN SU TOTALIDAD EL TRABAJO PROFESIONAL DENOMINADO "IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS DE EXTRACTOS DE FRUTO DE CRUCETILL (RANDIA SPP): ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIPROLIFERATIVA." PRESENTADO POR USTED COMO PRODUCTO DE TESIS DE ACUERDO AL LINEAMIENTO DE TITULACIÓN CORRESPONDIENTE, PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN ALIMENTOS.

POR LO ANTERIOR Y DE ACUERDO A LOS LINEAMIENTOS INSTITUCIONALES SE LE DA TRÁMITE LEGAL PARA QUE PROCEDA A LA PRESENTACIÓN DEL TRABAJO PROFESIONAL.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica
Ciencia y Técnica Presentes al Futuro



JULIÁN KURI MAR
SUBDIRECTOR ACADÉMICO

ccp. Depto. Servicios Escolares
Archivo
M17350028/emh*



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTEPEC

SUBDIRECCIÓN
ACADÉMICA

IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS
DE EXTRACTOS DE FRUTO DE “CRUCETILLO” (*Randia spp*):
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIPROLIFERATIVA

Por

VÍCTOR MANUEL FERNÁNDEZ LÓPEZ

Tesis propuesta al

Instituto Tecnológico de Tuxtepec

Como requerimiento para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Alimentos

Octubre 2024

CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Tuxtepec el día 10 de octubre del 2024, el que suscribe **C. Víctor Manuel Fernández López** alumno del Programa de Maestría en Ciencias en Alimentos con número de control: **M17350028**, adscrito al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tuxtepec, manifiesto que soy autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Ivet Gallegos Marín y cedo los derechos del trabajo titulado: **"Identificación y cuantificación de ácidos fenólicos de extractos de fruto de "crucetillo" (*Randia spp*): actividad antioxidante y antiproliferativa"** al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tuxtepec para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a los correos: victormanuelfernandezlopez49@gmail.com y ivetg18@hotmail.com, si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'V.M. F.L.', is written over a horizontal line. Below the line, the name 'Victor Manuel Fernández López' is printed.

Victor Manuel Fernández López

Nombre y firma

Octubre 2024

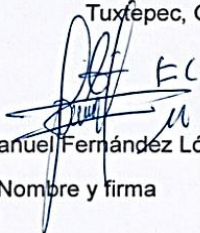
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD Y DE NO PLAGIO

Yo, **Víctor Manuel Fernández López** con Número de control: **M17350028**, RFC: **FELV990828AXA**, alumno de la Maestría en Ciencias en Alimentos, del Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tuxtepec, autor (a) de la Tesis titulada **"Identificación y cuantificación de ácidos fenólicos de extractos de fruto de "cruetillo" (*Randia spp*): actividad antioxidante y antiproliferativa"**

DECLARO QUÉ:

1. El presente trabajo de investigación y tema de la tesis presentada para la obtención del Título de Maestro en Ciencias en Alimentos es original y asignado por mi director de tesis la **Dra. Ivet Gallegos Marín**, siendo resultado de mi trabajo experimental y escritura personal, el cual no he copiado de otro trabajo de investigación, ni utilizado ideas, fórmulas, ni citas completas, así como ilustraciones diversas, sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc. (en versión digital o impresa). Caso contrario, menciono de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor.
2. Declaro que el trabajo de investigación que pongo en consideración para evaluación no ha sido presentado anteriormente para obtener algún grado académico o título, ni ha sido publicado en sitio alguno.
3. Soy consciente de que el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, es objeto de sanciones administrativas y/o legales por parte del Instituto, por lo que asumo cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de irregularidades en la tesis, así como de los derechos sobre la obra presentada. Asimismo, me hago responsable ante la Institución o terceros, de cualquier irregularidad o daño que pudiera ocasionar, por el incumplimiento de lo declarado. De identificarse falsificación, plagio, fraude, o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente del Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tuxtepec.

Tuxtepec, Oaxaca a 10 de octubre del 2024.


Víctor Manuel Fernández López

Nombre y firma

NOMBRE DEL TRABAJO

Identificación y cuantificación de ácidos
fenólicos de extractos de fruto de cruceti
llo (*Randia spp*)

AUTOR

Víctor Manuel Fernández-López

RECuento DE PALABRAS

17838 Words

RECuento DE CARACTERES

105552 Characters

RECuento DE PÁGINAS

76 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

2.1MB

FECHA DE ENTREGA

Oct 7, 2024 11:58 AM CST

FECHA DEL INFORME

Oct 7, 2024 11:59 AM CST

● 15% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 14% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 7% Base de datos de trabajos entregados
- 3% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

DEDICATORIAS

A Dios

Mis logros son tu obra en mi vida. Gracias por guiarme hasta este punto, por otorgarme salud y la paciencia necesaria ante las adversidades.

A mi familia

A mis padres, Virginia López y Cesáreo Fernández, porque siempre han confiado en mí y han sido un soporte de suma importancia en mi formación profesional. A mis hermanos, por alentarme a seguir adelante y hacer de esta travesía una experiencia ligera. Gracias porque como familia, siempre han estado para mí.

A mis amigos

A mis amigos de vida y de escuela, por estar para mí en cada momento, porque gracias a sus risas y pláticas lograron menguar los días difíciles y así poder culminar con esta meta.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora, **Dra. Ivet Gallegos Marín**, por su apoyo y compromiso con el proyecto desarrollado. Por sus consejos, amistad y disponibilidad ante todas las dudas presentadas a lo largo del proyecto de investigación.

A la **Dra. Lilia L. Méndez Lagunas** (CIIDIR-Oaxaca), por su disposición, enseñanzas y consejos. Por darme las herramientas necesarias durante mi estancia para poder cumplir con los objetivos del proyecto.

A la **Dra. Adriana Moreno**, por su disposición y otorgar las facilidades para poder realizar los ensayos biológicos propuestos.

Al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías** (Conahcyt) por otorgarme el apoyo económico, lo cual facilitó cumplir en tiempo y forma con el proyecto.

Al **Tecnológico de Tuxtepec**, por facilitar sus instalaciones para la realizar las evaluaciones y técnicas del proyecto.

A mis maestros de la maestría, por siempre atender las dudas y compartir su invaluable conocimiento.

RESUMEN

Fernández-López Víctor M. Maestría en Ciencias en Alimentos. Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tuxtepec. Octubre 2024. **Identificación y cuantificación de ácidos fenólicos de extractos de fruto de “crucetillo” (*Randia spp*): actividad antioxidante y antiproliferativa.** Director (a): Ivet Gallegos Marín, Co-directora: Dra. Cecilia Eugenia Martínez Sánchez, Co-directora externa: Dra. Lilia Leticia Méndez Lagunas.

El fruto de crucetillo ha sido objeto de investigación por su popularidad dentro de la población ya que le atribuyen efecto antiinflamatorio, antiviperino, hipoglucemiante, antiproliferativo, entre otros. Por ello, el objetivo de esta investigación es identificar y cuantificar los ácidos fenólicos, su capacidad antioxidante y antiproliferativa de extractos del fruto de crucetillo (*Randia spp*). Los frutos fueron secados por ventana refractiva (RWTM) a 55 °C/2.5 h. Posteriormente, se realizó una extracción hidroalcohólica (etanol/agua, 70:30) ^[1]. Se obtuvieron dos extractos a partir de: fruto fresco (EF1), fruto seco (EF2). Así mismo, se obtuvo un extracto a partir de la bebida tradicional (EBT3) y blanco (EB4). A los extractos obtenidos, se les determinó el contenido de polifenoles y flavonoides totales, actividad antioxidante (DPPH[•] y ABTS^{•+}), identificación de ácidos fenólicos por HPLC, citotoxicidad y actividad antiproliferativa mediante las líneas celulares de macrófagos de ratón (J774.2) y de adenocarcinoma de colon (Caco-2), utilizando el cisplatino como control. Los datos fueron analizados utilizando el software STATISTICA v. 10. En la composición química proximal, el parámetro que resalta es el porcentaje de proteína (fresco 13.77% y seco 16.17%). Después del secado, el fruto aumentó su luminosidad, verdor y amarillamiento ($L^*=22.86$, $a^*=4.29$, $b^*=11.94$). Los extractos con mayor contenido de polifenoles fueron EF1 y EF2 (47.224 y 50.277 mg GAE/g de extracto). El contenido de flavonoides totales fue mayor para EF2 (35.533 mg EQ/g de extracto). Los extractos con mayor porcentaje de actividad antirradical por el método DPPH[•], fueron: EF1 y EF2 (21.824 y 35.724%) y ABTS^{•+}: EF1 y EF2 (51.548 y 54.542%). Los extractos con mejor IC_{50} del radical DPPH[•], fueron: EF1 y EF2 (18.295 y 14.229 mg de extracto/mL) y ABTS^{•+}: EF1, EF2 y EBT3 (8.706, 8.682 y 10.594 mg de extracto/mL). El extracto con mayor presencia de compuestos fenólicos fue EF1: kaempferol (137.555), hidroxibenzoico (5.347), ferúlico (2.302), cumárico (1.548) y cafeico (1.053) mg/gss. Los extractos EF1 y EF2 no presentaron citotoxicidad. No obstante, el extracto de la EBT3 y EB4 mostraron efecto citotóxico

sobre las células J774 (CC₅₀: 69.74 y 29.99 µg/mL). En la actividad antiproliferativa, el extracto EBT3 fue el más activo (IC₅₀: 65.49 µg/mL). Los resultados obtenidos indican que los extractos de fruto de *Randia spp* tienen presencia de ácidos fenólicos y presentan actividad antirradicalaria, pudiendo ser utilizado como fuente preventiva o coadyuvante contra enfermedades asociadas al estrés oxidativo

ABSTRACT

Fernández-López Víctor M. Master of Science in Food. National Technology of Mexico/Technological Institute of Tuxtepec. October 2024. **Identification and quantification of phenolic acids in extracts of “crucetillo” fruit (*Randia* spp): antioxidant and antiproliferative activity.** Director: Ivet Gallegos Marín, Co-director: Dr. Cecilia Eugenia Martínez Sánchez, External co-director: Dr. Lilia Leticia Méndez Lagunas.

The crucetillo fruit has been the subject of research due to its popularity among the population, since it is attributed with anti-inflammatory, anti-viperine, hypoglycemic, antiproliferative effects, among others. Therefore, the objective of this research is to identify and quantify the phenolic acids, their antioxidant and antiproliferative capacity of extracts from the crucetillo fruit (*Randia* spp). The fruits were dried by refractive window (RWTM) at 55 °C/2.5 h. Subsequently, a hydroalcoholic extraction was carried out (ethanol/water, 70:30) [1]. Two extracts were obtained from: fresh fruit (EF1), dried fruit (EF2). Likewise, an extract was obtained from the traditional drink (EBT3) and white (EB4). The extracts obtained were determined for their total polyphenol and flavonoid content, antioxidant activity (DPPH[·] and ABTS^{·+}), identification of phenolic acids by HPLC, cytotoxicity and antiproliferative activity using mouse macrophage cell lines (J774.2) and colon adenocarcinoma (Caco-2), using cisplatin as a control. The data were analyzed using STATISTICA v. 10 software. In the proximate chemical composition, the parameter that stands out is the percentage of protein (fresh 13.77% and dry 16.17%). After drying, the fruit increased its luminosity, greenness and yellowness (L^{*}=22.86, a^{*}=4.29, b^{*}=11.94). The extracts with the highest polyphenol content were EF1 and EF2 (47,224 and 50,277 mg GAE/g of extract). The total flavonoid content was higher for EF2 (35,533 mg EQ/g of extract). The extracts with the highest percentage of antiradical activity by the DPPH[·] method were: EF1 and EF2 (21,824 and 35,724%) and ABTS^{·+}: EF1 and EF2 (51,548 and 54,542%). The extracts with the best IC₅₀ of the DPPH[·] radical were: EF1 and EF2 (18,295 and 14,229 mg of extract/mL) and ABTS^{·+}: EF1, EF2 and EBT3 (8,706, 8,682 and 10,594 mg of extract/mL). The extract with the highest presence of phenolic compounds was EF1: kaempferol (137,555), hydroxybenzoic acid (5,347), ferulic acid (2,302), coumaric acid (1,548) and caffeic acid (1,053) mg/gss. The extracts EF1 and EF2 did not

present cytotoxicity. However, the extract of EBT3 and EB4 showed a cytotoxic effect on J774 cells (CC50: 69.74 and 29.99 $\mu\text{g/mL}$). In the antiproliferative activity, the extract EBT3 was the most active (IC50: 65.49 $\mu\text{g/mL}$). The results obtained indicate that the fruit extracts of *Randia* spp. contain phenolic acids and present antiradical activity, and can be used as a preventive or adjuvant source against diseases associated with oxidative stress.

ÍNDICE

RESUMEN.....	viii
ABSTRACT	x
LISTA DE TABLAS.....	xv
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Fitoquímicos	3
2.1.1. Compuestos fenólicos.....	5
2.1.2. Ácidos fenólicos	6
2.2. <i>Randia spp.</i>	8
2.2.1. Etnobotánica de <i>Randia spp.</i>	8
2.2.2. Taxonomía.....	9
2.2.3. Uso medicinal de <i>Randia sp.</i>	9
2.3. Antioxidantes y su relación con los radicales libres	12
2.3.1. Antioxidantes.....	12
2.3.1.1. Clasificación de antioxidantes.....	12
2.3.2. Radicales libres.....	14
2.3.2.1. Estrés oxidativo	15
2.4. Cáncer	15
2.4.1. Cáncer de colon	16
2.4.1.1. Tratamiento	16
2.5. Obtención y caracterización de extractos con propiedades biológicas.....	17
2.5.1. Extracción asistida por ultrasonido (EAU) como método de obtención de fitoquímicos ...	17
2.5.2. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....	18
2.6. Modelos celulares y bioensayo	19
2.6.1. Macrófago de monocitos BALB/c de ratón (J-774).....	19
2.6.2. Células de adenocarcinoma de colon (Caco-2)	19
2.6.3. Método MTT	20
III. ANTECEDENTES.....	21
IV. JUSTIFICACIÓN	23

V. OBJETIVOS	24
5.1. Objetivo general	24
5.2. Objetivos específicos	24
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	25
6.1. Materia prima	25
6.2. Secado y obtención del polvo.....	25
6.3. Análisis químico proximal de los frutos de <i>Randia spp.</i>	25
6.3.1. Determinación de la humedad	25
6.3.2. Determinación de cenizas	26
6.3.3. Determinación de extracto etéreo	26
6.3.4. Determinación de proteínas	27
6.4. Parámetros de color	27
6.5. Preparación de los extractos de frutos de crucetillo <i>Randia spp</i> y preparación tradicional en vino	28
6.5.1. Extracto de fruto fresco (EF1)	28
6.5.2. Extracto de fruto seco (EF2).	28
6.5.3. Preparación de bebida tradicional de fruto de <i>Randia spp</i> y el blanco de referencia	29
6.5.3.1. Extracto de bebida tradicional (EBT3).	29
6.5.3.2. Extracto de blanco de referencia (EB4)	30
6.6. Caracterización química de los extractos	31
6.6.1. Espectroscopía Ultravioleta-visible (UV-Vis)	32
6.6.2. Identificación de familias químicas	32
6.6.2.1. Alcaloides	33
6.6.2.2. Saponinas	33
6.6.2.3. Compuestos fenólicos	33
6.6.2.4. Flavonoides	33
6.6.2.5. Esteroles y triterpenos	33
6.7. Evaluación del contenido de polifenoles y flavonoides totales en extractos.	34
6.7.1. Contenido de polifenoles totales (TPC).....	34
6.7.2. Contenido de flavonoides totales (TFC).....	34
6.8. Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos	34
6.8.1. Método 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH ⁺)	34
6.8.2. Método 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS ⁺).....	35

6.9.	Identificación de ácidos fenólicos por HPLC.....	35
6.10.	Bioensayos.....	37
6.10.1.	Ensayo de citotoxicidad	37
6.10.2.	Ensayo antiproliferativo sobre células Caco-2	37
6.11.	Análisis estadístico	38
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
7.1.	Caracterización fisicoquímica del fruto fresco y seco de <i>Randia spp</i>	39
7.1.1.	Composición química proximal	39
7.1.2.	Determinación de los parámetros de color	39
7.2.	Caracterización química de los extractos de fruto de <i>Randia spp</i> , bebida tradicional y blanco de referencia	40
7.2.1.	Barrido espectral Uv-Vis de los extractos.....	40
7.2.2.	Identificación de familias fitoquímicas	46
7.2.3.	Evaluación del contenido de polifenoles y flavonoides totales	47
7.2.4.	Evaluación de la capacidad antioxidante por los métodos DPPH [·] y ABTS ^{·+}	49
7.2.5.	Concentración inhibitoria media (IC ₅₀) de la capacidad antioxidante de los extractos de fruto y bebida tradicional de fruto de <i>Randia spp</i>	51
7.2.6.	Identificación y cuantificación de ácidos fenólicos por HPLC de los extractos.....	52
7.3.	Ensayos biológicos.....	54
7.3.1.	Ensayo de citotoxicidad de los extractos	54
7.3.2.	Actividad antiproliferativa.....	55
VIII.	CONCLUSIONES.....	57
IX.	RECOMENDACIONES.....	58
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	59

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Diferencias entre metabolitos primarios y secundarios	3
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Randia spp.</i>	9
Tabla 3. Uso tradicional y demostración biológica de distintas especies de <i>Randia</i>	11
Tabla 4. Clasificación de los antioxidantes y su modo de acción.	13
Tabla 5. Periodos de tiempo de vida media de las ROS.	14
Tabla 6. Fases móviles del método HPLC para ácidos fenólicos.	36
Tabla 7. Parámetros de elución.	36
Tabla 8. Composición química proximal del fruto de <i>Randia spp</i> en fresco y seco.	39
Tabla 9. Determinación de parámetros de color del fruto de <i>Randia spp</i> , en fresco y seco.	40
Tabla 10. Identificación de familias químicas de extracto de fruto y bebida tradicional de <i>Randia spp</i>	46
Tabla 11. Contenido de polifenoles y flavonoides de extracto de fruto y bebida tradicional de fruto de <i>Randia spp</i>	47
Tabla 12. IC50 del radical DPPH ⁺ y ABTS ^{•+} de los extractos de fruto de <i>Randia spp</i> y su bebida tradicional.	52
Tabla 13. Identificación y cuantificación de ácidos fenólicos de extracto de fruto de <i>Randia spp</i> y su bebida tradicional.	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Síntesis de compuestos secundarios.	4
Figura 2. Clasificación de polifenoles en plantas.	5
Figura 3. Estructura de los ácidos fenólicos derivados de la estructura hidroxibenzoica.	6
Figura 4. Estructura de los ácidos fenólicos derivados de la estructura hidroxicinámica	7
Figura 5. Fotos descriptivas de <i>Randia</i> spp.	10
Figura 6. Modo de acción del método MTT.	20
Figura 7. Esquema de obtención de extracto de fruto fresco.	28
Figura 8. Esquema de obtención de extracto de polvo de fruto.	29
Figura 9. Esquema de obtención de extracto de bebida tradicional.	30
Figura 10. Técnicas y análisis químicos aplicados a los extractos.	31
Figura 11. Barrido espectral Uv-Vis de extracto de fruto fresco.	42
Figura 12. Barrido espectral Uv-Vis de extracto de fruto seco.	43
Figura 13. Barrido espectral Uv-Vis de extracto de bebida tradicional de fruto de <i>Randia</i> spp..	44
Figura 14. Barrido espectral Uv-Vis de extracto de blanco de referencia.	45
Figura 15. Actividad antioxidante (% inhibición) del radical DPPH ⁺ de extractos de fruto y bebida tradicional de <i>Randia</i> spp por concentraciones.	49
Figura 16. Actividad antioxidante (% inhibición) del radical ABTS ^{•+} de extractos de fruto y bebida tradicional de fruto de <i>Randia</i> spp por concentraciones.	50