

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL  
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERIA EN CIENCIA Y  
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



Evaluación del método de extracción de componentes bioactivos de hojas de zapote (*Manilkara zapota*): efecto de disminución de niveles de triglicéridos y colesterol en sangre.

Por:

**LUIS ANTONIO MONTEJO GARCIA**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS**

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre del 2020

“Evaluación del método de extracción de componentes bioactivos de hojas de zapote (*Manilkara zapota*): efecto de disminución de niveles de triglicéridos y colesterol en sangre”.

Por:

**LUIS ANTONIO MONTEJO GARCIA**

TESIS

Presentado como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

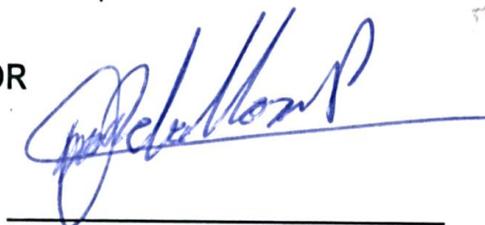
**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

La cual fue revisada y aprobada por:

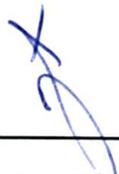
**COMITÉ ASESOR**



**Dra. Xochitl Ruelas Chacón**  
Asesor principal



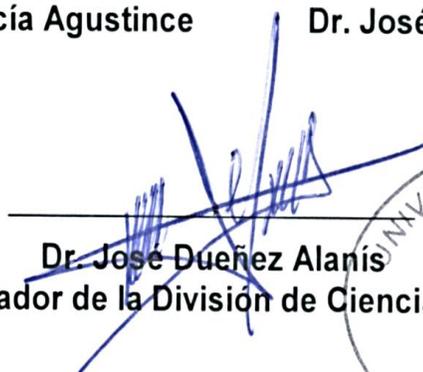
**M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla**  
Coasesor



**M.C. Carlos Alberto García Agustince**  
Coasesor



**Dr. José Daniel Corona Flores**  
Coasesor



**Dr. José Dueñez Alanís**  
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Saltillo, Coahuila, México

“Evaluación del método de extracción de componentes bioactivos de hojas de zapote (*Manilkara zapota*): efecto de disminución de niveles de triglicéridos y colesterol en sangre”.

Por:

**LUIS ANTONIO MONTEJO GARCIA**

TESIS

Presentado como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

La cual fue revisada y aprobada por:

**JURADO CALIFICADOR**



**Dra. Xochitl Ruelas Chacón**  
Presidente



**M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla**  
Vocal



**M.C. Carlos Alberto García Agustince**  
Vocal



**Dr. José Daniel Corona Flores**  
Vocal

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre del 2020

## DEDICATORIA

### A DIOS

Porque sin su bendición, nada hubiera sido posible, por darme salud, alimento, paz, tranquilidad en mi corazón y claridad en mi mente para superar cada uno de los retos en esta etapa.

### A LA UAAAN

Por abrirme sus puertas, permitir superarme como persona y como profesionista.

### A LA DRA. XOCHITL RUELAS CHACON

Por ser un gran ejemplo, una gran maestra, una gran amiga, por permitirme trabajar a su lado en esta investigación y compartirme su valioso conocimiento. Gracias de todo corazón.

### A MIS PADRES

**Elder Montejo Mejía y Cristina García Montejo**, porque a pesar de todos los obstáculos que como familia atravesábamos, decidieron apoyarme en esta etapa, que sin dudarlo sabíamos que sería muy difícil, gracias por brindarme su amor incondicional, por aquellas veces en que me sentía solo y triste; por las situaciones en las que me encontraba y con unas humildes y sencillas palabras que llegaban a mi corazón, me daban la energía y felicidad que necesitaba para seguir luchando. Siempre los llevo en mi mente y en mi corazón porque no solo me dieron la vida, si no me forjaron y me enseñaron a ser una persona íntegra llena de valores y principalmente me enseñaron a trabajar en mis sueños. Gracias por que sin importar cada una de las críticas de aquellas personas que nunca creyeron en mí; ustedes siempre se mantuvieron firmes y me apoyaron.

Sin embargo, esas personas no sabían que sus criticas me fortalecían para salir adelante, uno no siempre decide la vida que desea, dios siempre será el único que nos guie y ponga esa luz en el camino para que tu no tropieces con esas rocas que muchas veces las personas van dejando para que tu no alcances la meta, ese sueño

que creaste con tanto esfuerzo. Las palabras pueden ser el arma más hiriente para una persona, pero sus palabras siempre fueron el arma que necesitaba para vencer esos miedos que me impedían avanzar. Siempre serán un orgullo para mí porque sé que de todas las personas que hay en este mundo ustedes serán los primeros en estar para mí, cuando lo necesite. Recuerdo ese lugar en el que crecí y a pesar de que quizá no todos los momentos fueron felicidad, siempre lo recuerdo con singular alegría porque ahí nací ahí crecí y principalmente ahí compartí la mayor parte de mi tiempo con ustedes.

Mamá muchas gracias madrecita linda mi guerrera porque tú eres mi orgullo, nunca olvidare ese beso que entre en medio de lágrimas me diste por la noche cuando yo en medio del llanto dormía y me dijiste te amo hijo, siempre me protegiste de aquellas personas que sin conocerme me atacaban. Ahora me doy cuenta de que todo lo que he sufrido me ha servido para crecer en mi persona y ser un hombre completo. Gracias, gracias, gracias por aquellos días en que regresaba de esas vacaciones a tu lado y al estar en el aeropuerto lloraba y te decía mamá ya no puedo a lo que tú me decías si puedes, ve con dios hijo te quiero, ve por esos sueños y te escondías esas lagrimas para que yo resistiera el dolor de no estar a tu lado.

Padre, gracias porque he aprendido que nuestras decisiones no siempre son las correctas, pero que nunca debemos perder la fe en que en el momento menos esperado podemos salir de ese calabozo que inconscientemente uno solo decidió meterse, con el paso del tiempo decidí que me quedaría con los recuerdos más bellos que pudimos tener. Recuerdo esos días de pesca, esos días de cacería, esos días en el trabajo, en los que juntos reíamos por tu gran sentido del humor. Tú me enseñaste a trabajar, que sin eso yo no hubiese podido enfrentar al mundo, que tú mismo me dijiste que no sería fácil, que las personas eran muy diferentes. Padre esos sonidos que salían de tus labios para llamarme e irnos a comer al arroyo; que mi mente los convertía en amor.

**Liliana Edelmi Montejo García** sé que no fuimos los mejores hermanos, pero tú y yo sabemos que situaciones vivimos y que te vi derramar lágrimas al mismo tiempo en que yo lo hacía y me abrazabas, siempre te llevo en mi corazón y te prometí que

mis esfuerzos eran para todos incluyendo esos hermosos sobrinos que me diste, gracias por esas palabras, esos consejos que me diste cuando quería perder el control. Te quiero.

**Yohani Montejo García**, que puedo decir de ti princesa, tú eres mi gran motor. Contigo pase los momentos más tristes y dolorosos de mi vida pero solo al verte me preguntaba qué es lo que quiero para ella, recuerdo ese día en que tome las maletas para seguir este camino y al dejarme en la estación llorabas y corríste detrás del autobús para que yo no me alejara de ti, recuerdo todos los días en que te llevaba a la escuela y pasaba por ti, esas sonrisas de una niña feliz con su hermano, esas veces que te lleve a la prepa y me tenías que esperar. Solo éramos tú y yo por la vida, por todo lo que vivimos gracias por ser mi princesa.

**Abuela Hilda Mejía López** gracias porque con tu sabiduría me enseñaste a que siempre hay que creer en ti mismo y en que si luchas por esos sueños que parecen tan difíciles, se alcanzan. Gracias por tu amor.

## RESUMEN

La investigación se realizó en las instalaciones del laboratorio 1 del departamento de ingeniería en ciencia y tecnología de alimentos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila México. Con el objetivo de determinar el rendimiento y efectividad de tres métodos de extracción de componentes bioactivos responsables de la disminución de los niveles de triglicéridos y colesterol en sangre. Se utilizó como materia prima las hojas del árbol de *Manilkara zapota* también conocido como chicozapote, níspero, chupeta, entre otros, en las diferentes regiones en las que se ubica entre ellos México, Guatemala e India. El diseño experimental fue completamente al azar realizándose los análisis por triplicado y utilizando el paquete estadístico de Infostat versión 2017. Se aplicó un análisis de varianza para comprobar si existía diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre los valores iniciales y los finales, y al existir diferencia se realizó una comparación de medias por Fisher a una  $P > 0.05$ . Se encontró que los métodos son efectivos para extracción de compuestos, en el caso de los artesanales presentando un rendimiento de 68.06 y 79.32% con una variación de extracción del 11.26%, mientras que el método Soxhlet obtuvo un rendimiento del 85.22% respectivamente. El análisis estadístico demuestra que hubo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en los niveles de colesterol en los pacientes, 4, 5, 6, 7, 8 y 9, en la variable edad se apreció variación en los pacientes, sin embargo, se observan niveles más altos en edades avanzadas y con una diferencia de medias de 20.87 se presentó diferencia significativa entre hombres y mujeres. En niveles de triglicéridos todos los pacientes mostraron diferencia significativa siendo los más relevantes los pacientes 1, 4, 5, 6, 8 y 13. Para este caso los pacientes entre 40-60 años mostraron los niveles más altos y se apreció resultados similares en pacientes con edades iguales. También se observó gráficamente la variación entre hombres y mujeres, siendo los hombres quienes presentaron los niveles más altos con una media de 176.53. Concluyendo así que los métodos aplicados son efectivos para la extracción, sin embargo, el método Soxhlet proporcionaría un mayor rendimiento de los compuestos. Así también entre

otras las variables edad y sexo pueden afectar significativamente los niveles de grasa en sangre, sin embargo, se puede considerar la infusión de hojas de *Manilkara zapota* como una alternativa para mantener niveles estables.

**Palabras clave:** compuestos bioactivos, colesterol, triglicéridos.

**Correo electrónico:** tesista Luis Montejo García [montejogarcia\\_1994@outlook.es](mailto:montejogarcia_1994@outlook.es),  
directora de tesis Dra. Xochitl Ruelas Chacón [xruelas@yahoo.com](mailto:xruelas@yahoo.com).

## INDICE GENERAL

CAPITULO I.....	1
INTRODUCCION .....	1
1.1 Hipótesis.....	2
1.2 Objetivos .....	2
1.2.1 Objetivo general .....	2
1.2.2 Objetivos específicos.....	3
1.3 Justificación.....	3
CAPITULO II.....	4
REVISION DE LITERATURA .....	4
2.1 Especie <i>Manilkara zapota</i> .....	4
2.1.1 Historia y distribución geográfica.....	4
2.1.2 Caracterización botánica .....	4
2.1.3 Taxonomía.....	6
2.1.4 Sinonimia .....	6
2.1.5 Usos importantes .....	7
2.1.6 Actividad antiinflamatoria.....	7
2.1.7 Efectos antioxidantes.....	8
2.1.8 Actividad antibacteriana .....	8
2.1.9 Actividad enzimática .....	9
2.3 Compuestos activos.....	9
2.3.1 Fitoquímicos .....	9
2.3.2 Importancia en el organismo.....	10
2.4 Tipos de sustancias bioactivas .....	13
2.4.1 Carotenoides.....	14
2.4.2 Flavonoides.....	15
2.4.3 Antocianinas (pertenecientes a los flavonoides).....	15
2.4.4 Taninos.....	16
2.4.5 Betalaínas.....	16
2.4.6 Fitoquímicos azufrados del allium.....	17
2.4.7 Isotiocianatos e indoles.....	17

<b>2.5 Técnicas de análisis .....</b>	<b>17</b>
<b>2.5.1 Principios generales de extracción y separación de compuestos bioactivos.....</b>	<b>17</b>
<b>2.6 Métodos de extracción y purificación.....</b>	<b>18</b>
<b>2.6.1 Sistema SFE (extracción por medio de fluidos supercríticos) asistida por ultrasonido.....</b>	<b>19</b>
<b>2.6.2 Extracción asistida por ultrasonido.....</b>	<b>19</b>
<b>2.6.3 Extracción por microondas .....</b>	<b>20</b>
<b>2.6.4 Extracción por infusión.....</b>	<b>20</b>
<b>2.6.5 Extracción solido líquido .....</b>	<b>21</b>
<b>2.6.6 Extracción por Soxhlet.....</b>	<b>21</b>
<b>2.6.7 Extracción por enzimas .....</b>	<b>23</b>
<b>2.7 Métodos de identificación .....</b>	<b>25</b>
<b>2.7.1 Espectroscopia ultravioleta y visible.....</b>	<b>25</b>
<b>2.7.2 Espectroscopia infrarroja .....</b>	<b>26</b>
<b>2.7.3 Espectroscopia de masas (EM).....</b>	<b>26</b>
<b>2.8 Métodos de separación .....</b>	<b>26</b>
<b>2.8.1 Cromatografía de papel (PC) .....</b>	<b>27</b>
<b>2.8.2 Cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC .....</b>	<b>27</b>
<b>2.8.3 Cromatografía de capa fina .....</b>	<b>28</b>
<b>2.8.4 Cromatografía de gases líquidos .....</b>	<b>28</b>
<b>2.8.5 Cromatografía de fluidos supercríticos SFC.....</b>	<b>28</b>
<b>CAPITULO III.....</b>	<b>29</b>
<b>MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>29</b>
<b>3.1 Materiales .....</b>	<b>29</b>
<b>3.2 Metodología.....</b>	<b>30</b>
<b>3.3 Proceso de secado .....</b>	<b>31</b>
<b>3.4 Almacenamiento .....</b>	<b>31</b>
<b>3.5 Estandarización de método .....</b>	<b>32</b>
<b>3.6 Aplicación de métodos de extracción.....</b>	<b>32</b>
<b>3.7 Vía de administración.....</b>	<b>34</b>

3.8 Eficiencia de métodos .....	34
3.9 Administración de la infusión en voluntarios .....	34
<b>CAPITULO IV .....</b>	<b>35</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSION .....</b>	<b>35</b>
4.1 Evaluación del método de extracción.....	36
4.2 Efecto de disminución de niveles de triglicéridos y colesterol en sangre.....	37
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>46</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>47</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>55</b>

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Taxonomía.....	6
<b>Cuadro 2</b> Efecto de los fitoquímicos en la salud.....	12
<b>Cuadro 3.</b> Ejemplos de algunos compuestos bioactivos extraídos por diferentes disolventes. Los valores entre paréntesis indican la polaridad del disolvente.....	23
<b>Cuadro 4.</b> Estudios sobre el uso de tratamientos enzimáticos para liberar compuestos bioactivos naturales de matrices naturales.....	25

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura1.</b> <i>Manilkara zapota</i> .....	5
<b>Figura2.</b> Sistema SFE.....	19
<b>Figura 3.</b> Microondas CEM Mars 6 TM.....	20
<b>Figura 4.</b> Compuestos bioactivos encontrados en matrices vegetales formando interacciones con redes lignocelulósicas.....	24
<b>Figura5.</b> Árbol <i>Manilkara Zapota</i> .....	31
<b>Figura6.</b> Secado de las hojas.....	31
<b>Figura7.</b> Almacenamiento.....	32
<b>Figura8.</b> Soxhlet.....	32
<b>Figura 9.</b> Extracto por método tradicional, 12 minutos.....	33
<b>Figura 10.</b> Extracto por método tradicional,40 minutos.....	33
<b>Figura11.</b> Extracto Soxhlet.....	34
<b>Figura12.</b> Rendimiento del método de extracción.....	37
<b>Figura 13.</b> Representación del estudio de medias de Fisher a una $p>0.05$ del nivel de colesterol en los 13 voluntarios.....	38
<b>Figura 14.</b> Nivel de colesterol.....	49
<b>Figura 15.</b> Influencia de edad sobre los niveles de colesterol de los 13 voluntarios.....	40
<b>Figura 16.</b> Efecto del sexo sobre los niveles de colesterol expresados en 13 voluntarios.....	41
<b>Figura 17.</b> Resultados concentrados de análisis de varianza en niveles de triglicéridos.....	42
<b>Figura 18.</b> Promedio de niveles de triglicéridos en voluntarios al día 15.....	43
<b>Figura 19.</b> Influencia de la edad en niveles de triglicéridos en los 13 voluntarios.....	44
<b>Figura 20.</b> Influencia del sexo en niveles de triglicéridos en los 13 voluntarios.....	45

# CAPITULO I

## INTRODUCCION

La historia de la medicina natural se remonta desde la creación del mundo y forma parte de la cultura general de la humanidad. Las plantas en general han sido utilizadas para la alimentación y cura de enfermedades. Mismos conocimientos que se han ido transmitiendo de generación en generación y que además han tomado suma importancia en la mayoría de los países, ya que se considera que no causan daño alguno a la salud. Estos conocimientos con el paso del tiempo se han ido perfeccionando y a su vez abriéndose paso a nuevos descubrimientos en las propiedades que presentan cada una de las plantas y el beneficio que nos podrían aportar.

A través del tiempo hemos podido notar que las enfermedades en la población han tenido un incremento significativo y a las cuales en su mayoría se les ha logrado encontrar un tratamiento dentro de la medicina convencional. Así también se sabe que los mismos medicamentos han generado efectos secundarios en la salud pública y que han llegado a impactar en la tasa de mortalidad anual en los países.

Es por ello por lo que hoy buscamos retomar parte del conocimiento naturista que se tiene en el estado de Chiapas, México, acerca del control de dos enfermedades en específico, triglicéridos y colesterol en sangre, analizando las estadísticas del país este padecimiento está presente en casi 3 de cada 10 mexicanos (28%), con una prevalencia similar en hombres (27.4%) y en mujeres (28.4%).

El árbol de *Manikara zapota* es originario de las selvas del norte de Centroamérica y sureste de México. Esta planta ha recibido usos como el consumo de la fruta en gran parte del continente americano, en países como Colombia,

Guatemala, Venezuela, Brasil, etc., y a la goma producida en la corteza en la elaboración de gomas de mascar, descubierto por William F. Semple en el año de 1869. Para esta investigación se analizará el porcentaje de disminución en triglicéridos y colesterol en sangre, utilizando una infusión a base de las hojas de *Manilkara zapota* en una población de Saltillo, Coahuila, México.

Según la OMS, una enfermedad se define como la “Alteración o desviación del estado fisiológico en una o varias partes del cuerpo, por causas en general conocidas, manifestada por síntomas y signos característicos, y cuya evolución es más o menos previsible”.

Dado que los datos indican un incremento en la demanda por los productos naturales se considera que el producto a elaborar tendría un impacto en la sociedad gracias al fácil acceso en de la economía de la población.

## **1.1 Hipótesis**

El uso de una infusión de las hojas de *Manilkara zapota* puede ser una alternativa en el tratamiento de niveles de triglicéridos y colesterol en sangre.

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo general**

Determinar rendimiento y efectividad de tres métodos de extracción de componentes bioactivos responsables de la disminución de los niveles de triglicéridos y colesterol en sangre

### **1.2.2 Objetivos específicos**

1. Establecer las condiciones de extracción de componentes bioactivos mediante el método artesanal de ebullición, método Soxhlet con solvente y método de rotavapor con agua.

2. Evaluar las propiedades bioactivas del extracto obtenido al reducir o disminuir los niveles de triglicéridos en sangre.

### **1.3 Justificación**

Considerando que lo más importante para una persona es la salud, es importante analizar cuáles son los problemas que más crecimiento están teniendo hoy día. Numerosas enfermedades se han propagado por el mundo. Según las estadísticas en 2016 México se convirtió en el segundo país de la OCDE con 4,630 muertes por enfermedades en la sangre y en los órganos hematopoyéticos (Sevilla, 2019). Otro de los grandes problemas es la falta de economía para adquirir tratamientos y así atacar dichas enfermedades. De la misma manera entra en controversia el uso de medicamentos ya que, aunque no existen datos estadísticos concretos, se sabe que las secuelas por el uso excesivo de medicamentos industriales, son causa de muchas enfermedades que conllevan a la muerte.

Es por ello que en el presente proyecto se busca analizar el uso de una infusión a base de hojas de *Manilkara zapota* y sus efectos sobre los niveles de triglicéridos y colesterol en sangre, considerando las bases de la medicina tradicional en México, misma que la OMS ha analizado y aceptado, y de esta manera obtener datos confiables sobre sus posibles efectos.

## CAPITULO II

### REVISION DE LITERATURA

#### 2.1 Especie *Manilkara zapota*

##### 2.1.1 Historia y distribución geográfica

México es un país con gran abundancia en flora, por lo que estudiar a cada una de ellas nos tomaría mucho tiempo, en este proyecto se estudiara el árbol de (*Manilkara zapota* o *Achras zapota*), el cual es originario de México, América Central y América del Sur, que ha recibido otros nombres en base a las culturas de cada país, los nombres más utilizados son chicozapote o ácana (Gazel, 2002). Con el paso de los años se fue expandiendo por muchos más países. Se introdujo en filipinas durante la colonización española y desde ese entonces, se extendió por Asia y crece en grandes cantidades en India, Tailandia, Malasia, Camboya, Indonesia o Bangladés, lugares en donde el fruto es muy popular y se conoce como chico ([missouribotanicalgarden.org](http://missouribotanicalgarden.org), 2020).

La palabra zapote es de origen náhuatl: “tzapotl”, nombre que se les daba a los frutos de forma esférica y semillas grandes (Vester & Navarro, 2007).

##### 2.1.2 Caracterización botánica

Pertenece a la familia de la *Sapotaceae*, es un árbol perennifolio, de un gran porte, de 25m a 35m de altura con un diámetro de hasta 1.25 m. Hojas dispuestas en espiral, aglomeradas en las puntas de las ramas, simples, elípticas a oblongas, margen entero. Tronco recto, acanalado en la parte inferior. Corteza profundamente fisurada, formando piezas más o menos rectangulares, con un abundante exudado lechoso blanco y pegajoso, muy amarga y astringente. Flores solitarias axilares, a veces aglomeradas en las puntas de las ramas, dulcemente perfumadas; sépalos pardo-verdosos, corola tubular de color blanco. Fruto tipo baya de 5 a 10 cm de

diámetro, cáscara café y áspera, pulpa carnososa y jugosa muy dulce. Los frutos inmaduros tienen cierta cantidad de látex en su interior. El fruto contiene normalmente 5 semillas de color negro, brillante, con el hilo blanco visible en el borde (Figura 1) (Cordero & Boshier, 2003).

Es un componente importante de los bosques tropicales cálidos, húmedos y subhúmedos. Crece y se desarrolla en sitios de 0 a 1200 msn, con temperaturas medias de 26°C, máximas de 37°C y mínimas de 15°C, y precipitaciones de 750 a 2700 mm. No es muy exigente en suelos, crece en suelos calizos, rocosos, arenosos, arcillosos, salinos e infértiles, aunque las mejores producciones se logran en suelos francos, profundos, bien drenados y ricos en materia orgánica (Cruz & López, 2004). En bosques caducifolios, está restringida a suelos húmedos. Prospera en terrenos escarpados, planos o ligeramente inclinados, cañadas, acahuales, potreros, planicies inundadas y vega de ríos.



**Figura 1.** *Manilkara zapota*

Fuente: [missouribotanicalgarden.org](http://missouribotanicalgarden.org), 2017.

### 2.1.3 Taxonomía

*Manilkara zapota* L. (Royen) (Sapotacea) (Cuadro 1), es una de las especies que dominan el dosel de las selvas altas y medianas de México y Centroamérica, los individuos que se desarrollan bajo condiciones de dosel cerrado, con el tiempo transitan de una condición en la que sólo presentan cotiledones a otra en la que gradualmente desarrollan hojas de mayor longitud. El nombre del género proviene del nombre vernáculo de malabar (sur de la India) citado por van Rheedee en 1683. (Cruz & Lopez, 2010).

### 2.1.4 Sinonimia

*Bombax vitifolium* Willd.; *Cochlospermum codinae* Eichler; *Cochlospermum hibiscoides* Kunth; *Cochlospermum luetzelburgii* Pilg.; *Cochlospermum serratifolium* Moc. & Sessé ex DC.; *Cochlospermum triphyllum* (Blake) Pittier, *Lachnocistus utilis* Duchass. Ex Linden & Planch.; *Mahurea speciosa* Choisy; *Maximiliana hibiscoides* (Kunth) Kuntze; *Maximiliana triphylla* Blake; *Maximiliana vitifolia* (Willd.) Krug & Urb.; *Wittelsbachia vitifolia* (Willd.) Mart. ([missouribotanicalgarden.org](http://missouribotanicalgarden.org), 2020).

**Cuadro 1. Taxonomía**

<b>Manilkara zapota (L.) P. Royen</b>	
Reino	Plantae
Subreino	Embryophyta
División	Magnoliidae
Clase	Equisetopsida
Subclase	Magnoliidae
Orden	Ericales
Familia	Sapotaceae
Nombre científico	Manilkara zapota (L.) P. Royen

Fuente: CONAFOR, 2010.

### **2.1.5 Usos importantes**

El *Manilkara zapota* se cultiva también por su fruto comestible, similar a la ciruela. Su pulpa es parda, translúcida y muy dulce. El color de la cáscara es café claro, el de la pulpa, naranja claro, y el de la semilla, negro. En México, esta fruta es comercializada con dos nombres: chicozapote y chupeta, palabra esta última que proviene del náhuatl y significa zapote de miel, precisamente por ser el más dulce de los frutos que producen los árboles de la familia de las sapotáceas (Vester & Navarro, 2007). En Guatemala de la misma manera se comercializa con este último nombre, y la madera es utilizada para la elaboración de diversas artesanías. Para la obtención de la goma utilizada para la elaboración del chicle, el árbol es marcado por las mañanas con machete (cortes en zigzag), para que la savia mane por los cortes y sea colocado en bolsitas y luego esta se recoge para llevar a proceso. El árbol puede drenarse una vez cada tres años. En Venezuela el fruto se le conoce con el nombre de níspero y es muy común en las zonas occidentales, como la región zuliana. En la República Dominicana y Colombia también se lo denomina níspero. En Asia su cultivo está muy extendido y al fruto se le conoce como chikoo (Vester & Navarro, 2007).

### **2.1.6 Actividad antiinflamatoria**

En 2013 se realizaron análisis del extracto de hojas de *M. zapota* demostrando la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas y glucósidos. Para probar los efectos medicinales sobre la pirexia, generalmente manifestada por un aumento en la temperatura corporal por encima de los rangos normales de 36.5-37.5 °C. En este estudio se utilizaron como prueba ratones ratas albinas Wistar, obteniéndose como resultado que la tasa de actividad antiinflamatoria del extracto tuvo un efecto significativo, ya que redujó los síntomas e inflamación en menor tiempo. Incluso mejor que el medicamento estándar diclofenaco (Ganguly et al., 2013).

### **2.1.7 Efectos antioxidantes**

En 2012 se realizaron análisis químicos y biológicos a extractos de hoja de *Manilkara zapota*. Los compuestos extraídos de las hojas mostraron efectos antidiabéticos, antioxidantes e hipocolesterolémicos, esto debido a la presencia de compuestos químicos, principalmente constituyentes fenólicos (Fayek et al., 2012). Así también en 2012 se realizaron análisis de la capacidad antioxidante de las hojas frente a especies de oxígeno reactivo (ROS), el cual juega un rol en la muerte celular programada y necrosis, obteniendo un resultado positivo.

*M. zapota* tiene una importante actividad antioxidante, así como una notable actividad antimicrobiana que indica un posible papel preventivo en varios desórdenes. Además, *M. zapota* es de fácil acceso y es rica fuente de antioxidantes naturales y antimicrobianos, como complemento alimenticio o en la industria farmacéutica. Los diversos mecanismos antioxidantes de la acetona del extracto de *M. zapota* puede ser atribuido a sus fuertes habilidades como donante de hidrógeno y notable eliminador de ROS (Kanerla & Chanda, 2012).

### **2.1.8 Actividad antibacteriana**

El extracto de acetona de las semillas tiene actividades antibacterianas, específicamente contra ciertas cepas de las especies *Pseudomonas oleovorans* y *Vibrio cholerae* (Lim, 2013). También, según varios médicos, el árbol contiene un bajo nivel de serina (un aminoácido situado en las proteínas). Este aminoácido se encuentra en las proteínas del chicle.

En el año 2013 se realizaron análisis de las semillas como materia prima en la obtención de un nuevo biomaterial, es decir, extracto para la síntesis de AgNPs (Ontary et al., 2013).

### **2.1.9 Actividad enzimática**

En un estudio se analizó el efecto del extracto del fruto sobre la actividad de la colágenasa y la elastasa, dos enzimas que se encargan de desintegrar, respectivamente, el colágeno y la elastina de los tejidos; los resultados mostraron que la actividad de éstas enzimas se inhibe con el extracto de chicozapote, lo cual puede tener repercusiones en el tratamiento de algunas patologías vinculadas a ellas y en la prevención de la foto envejecimiento dérmico (Pientaweeratch et al., 2016).

## **2.3 Compuestos activos**

### **2.3.1 Fitoquímicos**

La fitoquímica no es más que el análisis de todas aquellas sustancias químicas de naturaleza orgánica producidas por las plantas, su biosíntesis, metabolismo y función biológica, que proporcionan a la planta color, sabor y resistencia frente a enfermedades. Los fitoquímicos de origen vegetal se dividen en cinco clases, a saber, polifenoles, carotenoides, alcaloides, terpenoides y compuestos que contienen azufre (Ma, Z. et al., 2018).

Incluso sin un conocimiento específico de sus actividades biológicas o mecanismos moleculares de acción, los fitoquímicos tienen una larga historia de uso en medicinas tradicionales y alimentos funcionales. Miles de fitoquímicos con supuestos beneficios para la salud pueden ser encontrados en alimentos y bebidas, por ejemplo, licopeno en tomates, catequinas en té verde, isoflavonas en soya y flavonoides en varias frutas. Los científicos nunca han explorado plantas en la búsqueda de nuevos fitoquímicos bioactivos, que podrían usarse como alimentos funcionales o como medicamentos (Xiao et al., 2019).

En las últimas décadas, los fitoquímicos ampliamente presentes en plantas comestibles han exhibido impacto biológico positivo en la salud humana, incluido el tratamiento de algunos tipos de cáncer (Koh et al., 2020).

Existen ya diversos métodos estandarizados de extracción de componentes en las plantas, pero es importante conocer por su estructura para elegir el método más eficiente en el proceso, de tal manera que se obtengan los mejores rendimientos y disminuir los costos en la investigación (La Barbera et al., 2017).

### **2.3.2 Importancia en el organismo**

Los fitoquímicos se utilizan cada vez más en el tratamiento del cáncer debido a la asequibilidad y al posible efecto anticanceroso con reacciones adversas mínimas en comparación con la quimioterapia. *Markhamia tomentosa* es una planta medicinal usada tradicionalmente para tratar el cáncer. En este estudio, los compuestos antiproliferativos de *M. tomentosa* se aislaron usando enfoque guiado por bioactividad y caracterizado mediante diversas técnicas espectroscópicas a través de bioensayos guiados, comprobándose dichos efectos ya que se detuvo la muerte celular, y demostró efecto citotóxico (Ibrahim, 2018).

El cáncer es un proceso que consta de diversos pasos. Al parecer los fitoquímicos combaten el cáncer bloqueando uno o más de los pasos que conducen a la enfermedad. Por ejemplo, el cáncer puede comenzar cuando una molécula carcinogénica de los alimentos que consumimos o del aire que respiramos invade una célula. Sin embargo, si también llega a la célula un fitoquímico llamado sulfurafane el cual se encuentra en el brócoli, se inicia un proceso de activación de grupo de enzimas que sacan de la célula el agente carcinogénico antes de que haga daño (Koh et al., 2020). Se sabe que otros fitoquímicos previenen el cáncer de otras maneras. Los flavonoides que se encuentran en las frutas cítricas y en las berries impiden en primer lugar, que las hormonas causantes se unan a las células. La genisteína, que se encuentra en la soya, destruye los tumores evitando que se desarrollen los capilares necesarios para nutrirlos. Los índoles que se encuentran en las plantas crucíferas como la col de Bruselas y el repollo, intensifican la actividad inmunológica y le ayudan al organismo a excretar las toxinas. Las saponinas presentes en frijoles, el garbanzo, la soya y la lenteja previenen la multiplicación de las células del cáncer.

Los ácidos p-cumarico y clorogénico, que se encuentran en el tomate interfieren la formación de algunas uniones químicas que pueden producir agentes carcinogénicos (Balch & Balch, 2002). Y de esta manera las investigaciones sobre los efectos benefactores de los fitoquímicos siguen teniendo gran crecimiento para la industria farmacéutica.

Los carotenoides, encontrados en las zanahorias y tomates se han clasificado como beneficiosos para la salud al demostrar efectos antioxidantes, prevención de cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares (Cuadro 2) (La Barbera et al., 2017).

Así también se pueden extraer componentes como son los nutrientes esenciales para la dieta diaria, proteínas, vitaminas, minerales, fibra, entre otros. En 2010 se realizó un estudio de extracción de proteínas de algunos vegetales, con la intención de contribuir a mejorar la alimentación y evitar de esta manera el alto índice de desnutrición, se estudió la hoja de calabaza, camote, frijol, col, amaranto, todas bajo las mismas condiciones y extraídos mediante los mismos métodos semicaseros, resultando la hoja de calabaza con el mayor porcentaje de proteína. De la misma manera se dice que las frutas y las verduras son alimentos importantes para la extracción de compuestos de gran beneficio para el cuerpo humano y para el desarrollo de la medicina, ya que en ellos se pueden encontrar compuestos fenólicos, antioxidantes naturales, sin faltar los fitoquímicos que pueden complementar el requerimiento del cuerpo (Altemimi et al., 2017).

En mayo de 2019 se realizaron estudios a *Teucrium polium*, ya que sus antecedentes indican que tradicionalmente se utilizaba para curar ciertas enfermedades como dolor abdominal, resfriado, reumatismo, como antiinflamatorio, antibacteriano, anti-cáncer etc. Lo cual proporciona las bases para un análisis más detallado. En el mencionado estudio se utilizaron técnicas por ultrasonido y maceración y se analizó el contenido fenólico total, tocoferol, tanino, flavonoides y actividad antioxidante, resultando ser buenas técnicas y una buena fuente de fitoquímicos (Farahmandfar et al., 2019).

## Cuadro 2. Efecto de los fitoquímicos en la salud.

Phytochemicals	Plant	Health promoting activities	References
<i>Activity on metabolic diseases</i>			
Curcumin, capsaicin, catechins	Curcuma, chili peppers, cocoa	Antidiabetic	(Leiberer, Mündlein, & Drexel, 2013)
Amorfrutins	<i>Glycyrrhiza foetida</i> root	Antidiabetic, lipid-lowering	(Weidner et al., 2012)
Proanthocyanidins	Seed shells	Antiobesity	(Yokota, Kimura, Ogawa, & Akihiro, 2013)
Luteolin, phytosterols, isoflavones	Artichoke, soy	Hypocholesterolemic activity	(Gebhardt, 1997; Mannarino, Ministrini, & Pirro, 2014)
<i>Anti-carcinogenic activity</i>			
Theaflavins, thearubigins	Black teas	Antiproliferative activity	(Bhattacharya, Halder, Mukhopadhyay, & Giri, 2009)
Baicalein, baicalin, curcumin, quercetin, lutein	Garlic, lemon, carrot, basil, grape	Antiproliferative action on leukemia, hepatoma, melanoma, breast, bladder, pancreas, ovary, brain, kidney, lung, colon, and stomach carcinoma cells	(Cherng, Shieh, Chiang, Chang, & Chiang, 2007; Rai, Kaur, Jacobs, & Singh, 2010; Russo, Nigro, Rosiello, D'Arienzo, & Russo, 2007; Shehzad, Lee, & Lee, 2013)
Erythrodiol, uvaol, oleanolic, maslinic acid	Olive fruits	Cytotoxic effects on human breast cancer cells	(Allouche et al., 2011)
Isothiocyanates, dithiolethiones, sulfuraphanes	Brassicaceae	Inhibition of carcinogenesis by modulating carcinogens metabolism and detoxification	(Ares, Nozal, & Bernal, 2013; Dillard & Bruce German, 2000; Tang et al., 2010)
Gamma-carotene, lycopene, lutein	Cruciferous vegetables	Protection against uterine, prostate, breast, colorectal, lung, and digestive tract cancers	(Jian, Du, Lee, & Binns, 2005; Toniolo et al., 2001)
<i>Other activities</i>			
S-allyl cysteine, allicin	Garlic	Antihypertensive	(Shouk, Abdou, Shetty, Sarkar, & Eid, 2014)
Luteolin, kaempferol, apigenin, myricetin	Teas, onions, apples	Anti-inflammatory and antibacterial activities	(Dillard & Bruce German, 2000)
Beta-sitosterol and its glycosides	Legumes, cereals, corn oil, nuts	Antioxidant activity, hypocholesterolemic activity, anti-inflammatory, antineoplastic, antipyretic, and immune system-modulating activity	(Loizou, Lekakis, Chrousos, & Moutsatsou, 2010; Woyengo, Ramprasath, & Jones, 2009)
Tocotrienols, tocopherols	Palm oil	Antioxidant, antiproliferative and apoptotic activities, preventing or reducing the risk of breast cancer	(McIntyre, Briski, Gapor, & Sylvester, 2000)
Phenolics in general, especially polyphenolics	Figs and grape seeds	Antioxidant, amyloid disease prevention and therapy, apoptotic on cancer cells	(Antunes-Ricardo et al., 2014; Ares et al., 2013; Lourenço, Gago, Barbosa, De Freitas, & Laranjinha, 2008; Stefani & Rigacci, 2014)
Epicatechin, epigallocatechin, epicatechin-gallate, epigallocatechin-gallate	Grapes, berries, cocoa, green tea, nuts	Reduction of dysregulations and degenerative phenomena, anticarcinogenic effects	(Lambert & Elias, 2010; Yang, Lambert, & Sang, 2009)
Carotenoids	Carrots, tomatoes	Antioxidants that might aid in the prevention of several human chronic degenerative diseases, such as cancer, cardiovascular diseases and age-related eye diseases	(Bijttebier, D'Hondt et al., 2014)

Fuente: La Barbera et al., 2017.

Los fitoquímicos, también llamados compuestos naturales, se pueden clasificar en varias categorías según su estructura o función, tales como ácido fenólico, flavonoides, alcaloides y carotenoides. Estos extractos de plantas o productos químicos son ampliamente investigados sobre los estimulantes de la proliferación y diferenciación en la terapia con células madre, que es una solución altamente rentable alternativas no tóxicas disponibles para aplicación terapéutica.

Las acciones y el mecanismo de los fitoquímicos en las células madre pueden proporcionar más conocimiento sobre su futuro (Zhang et al., 2020)

*Barringtonia* es un género perteneciente a la familia de *Lecythidaceae*. *Barringtonia spp.* Son plantas perennes y perennes con frutos fibrosos. Diferentes partes de estas plantas se emplean ampliamente como medicina para tratar numerosas enfermedades, incluidas las gastrointestinales, respiratorias y enfermedades de la piel. Toda la planta, incluida la hoja, el tallo, la corteza, el fruto y la raíz, se utiliza en las plantas tradicionales de medicina. La hoja de *B. racemosa* se emplea tradicionalmente en el tratamiento de la hipertensión y como depurativo (Kong et al., 2019).

Otro ejemplo es el árbol de Moringa, que presenta, efectos sobre los biomarcadores de inflamación, anticáncer, hepatoprotector, biomarcadores de diabetes, sobre biomarcadores de enfermedad cardiovascular, entre otros. Esta planta presenta la mayoría de los fitoquímicos tales como polifenoles, carotenoides, alcaloides, terpenoides y compuestos que contienen azufre, mismos a los que se le atribuye los efectos en la salud (Ma, Z. et al., 2018).

La ingesta fitoquímica de los alimentos puede complementar estrategias dietéticas actuales para el manejo de la osteoartritis y ayuda en la formulación de estrategias más económicas y estrategias manejables para la osteoartritis. La ingesta de polifenoles de los alimentos (por ejemplo, fresas liofilizadas y jugo de cereza agria) puede retrasar la progresión de osteoartritis a través de disminución de la inflamación y reducción de la degradación del cartílago (Guan et al., 2019).

## **2.4 Tipos de sustancias bioactivas**

Estas se dividen en dos grupos; nutraceúticas y tóxicas, las primeras son productos naturales que se considera favorecen la salud, previenen enfermedades, por lo mismo tienen propiedades medicinales, ejerciendo un efecto positivo en la salud humana. A su vez los tóxicos se originan en el procesado de los alimentos que producen efectos negativos en la salud humana. Gran variedad de productos

contiene tanto nutraceuticos como toxicos. Sus propiedades farmacologicas dependeran de su procedencia y la cantidad de sustancias bioactivas que posean (Dergal & Salvador, 2006).

### **2.4.1 Carotenoides**

Quimicamente divididos en dos grupos, los carotenos, que son hidrocarburos y las xantofilas, sus derivados oxigenados. Los carotenos son muy solubles en éter de petróleo y poco solubles en etanol; entre los que destacan los  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ - carotenos y el licopeno. Las xantofilas pueden presentarse como ácidos, aldehídos o alcoholes y son solubles en etanol, metanol y éter de petróleo; como ejemplo la fucoxantina, la luteína y la violaxantina. Por su parte la mayoría de los carotenoides presentes en la naturaleza son compuestos trans, si se crea una posición cis se desplaza el máximo de absorbancia y aparece una banda de menor longitud de onda. Se presentan en forma lipídica en los tejidos vegetales y animales (Dergal & Salvador, 2006).

Son responsables de dar a las plantas y animales colores brillantes. Presentan actividad antioxidante y algunos demuestran actividad vitamínica A. un carácter definitorio es la estructura química de su molécula, un polieno derivado del isopropeno, de una longitud de cadena de 40 carbonos. La cadena principal del polieno consiste en dobles enlaces conjugados que permite que los carotenoides tomen el exceso de energía de otras moléculas mediante un mecanismo de transferencia de energía no radioactiva. Esta característica podría ser la responsable de la actividad autooxidante observada en los carotenoides biológicos. Además de desechar del organismo el oxígeno reactivo y los radicales libres, debido a su actividad antioxidante otros beneficios a la salud son, mejorar la función inmunológica y proteger la piel contra quemaduras de sol algunos tipos de cáncer (Dergal & Salvador, 2006).

El  $\beta$ - caroteno es el más frecuente de carotenoides alimenticios y el más potente de los que inhiben la actividad provitaminica A. Y diversos estudios le atribuyen efectos beneficiosos en la salud como preventivo carcinogénico, envejecimiento y cataratas. Otros carotenoides son la luteína, zeaxantina, y licopeno (Damodaran et al., 2008).

#### **2.4.2 Flavonoides**

Son sustancias con uno a más anillos aromáticos y, al menos, un sustituyente hidroxilo. Existen dos grupos: ácidos fenólicos (benzoico y cinámicos) y los flavonoides (flavonoides, antocianinas, taninos).

Los flavonoides y las antocianinas son solubles en agua, metano y etanol, presentan características de glucósidos. Algunos flavonoides son precursores en la biosíntesis de antocianinas. Son pigmentos no nitrogenados, con un esqueleto de difenilpropano, derivado del ácido shiquímico, con estructuras simples o compleja, debido a la polimerización (Dergal & Salvador, 2006). Pueden clasificarse en siete grupos: flavonas, flavononas, flavonoles, flavanonoles, isoflavonas, flavanoles (catequinas) y antocianidinas (Damodaran et al., 2008). Se les ha llegado a otorgar grandes beneficios en la salud relacionadas con el sistema circulatorio, infecciones, resfriados, acción sinérgica contra la vitamina C, pero se recomienda someter a estudio, ya que no han sido comprobadas de un todo (Dergal & Salvador, 2006).

#### **2.4.3 Antocianinas (pertenecientes a los flavonoides)**

Se reconoce como una subclase de los flavonoides, son responsables de la coloración de frutas y flores generalmente. En su mayoría presentes en la piel o cascara, aunque también se pueden encontrar en la pulpa. Se conocen aproximadamente 20 antocianinas, entre las más importantes destacan la pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina. Al llevar a cabo una interacción entre antocianinas y azúcares se pueden llegar a formar 300

antocianinas. Son compuestos muy poco estables y difíciles de purificar, se pueden extraer por extracciones alcohólicas (Damodaran et al., 2008).

#### **2.4.4 Taninos**

Se definen como compuestos fenólicos, toman este nombre por su facilidad para combinarse con proteínas y otros polímeros como los polisacáridos. Se encuentran presentes en aproximadamente 500 especies de plantas, pueden encontrarse en las raíces, corteza, hojas y semillas. A su vez son compuestos incoloros, sabor astringente y amargo soluble en agua, alcohol y acetona. Se han dividido en grupos hidrosolubles o pirogálicos y no hidrosolubles o condensados. Los hidrosolubles son sustancias poliméricas complejas y se clasifican en galotaninos, cuando derivan del ácido gálico y elagitaninos cuando provienen del ácido elágico. Los no condensados o proantocianidinas tienen una estructura flavonoide, son dímeros de la catequina o de antocianidinas. Son responsables de coloración, en algunos casos se emplean como clarificantes al precipitar proteínas. La extracción de los taninos es por lixiviación en agua caliente (60 a 82 °C) seguido de una filtración, blanqueo por sulfitato y finalizando con un secado para la obtención de un polvo (Damodaran et al., 2008).

#### **2.4.5 Betalaínas**

Autorizados como pigmentos por la FDA, referente a un grupo de aproximadamente 70 compuestos hidrosolubles. Divididos en dos grupos rojo o betacianinas, y los amarillos o betaxantinas. Se encuentran en solo 10 familias, Aizoaceae, Amaranthaceae, Basellanaceae, Cactaceae, Chenopodaceae, Didiereactaceae, Holophytaceae, Nyctaginaceae, Phytolaccaceae, y Portulacaceae. Así también se han encontrado betalaínas de origen fúngico. Al igual que las antocianinas se acumulan en flores, frutas y hojas. Su uso principal es como colorante, aunque por su estabilidad se limita a gelatinas, bebidas y postres. Su

color se altera debido a factores como pH el cual debe mantenerse entre 3 y 7, la temperatura, luz y actividad acuosa (Damodaran et al., 2008).

#### **2.4.6 Fitoquímicos azufrados del allium**

Los sulfuros son compuestos de las verduras de la familia del género allium, en las que se encuentran las cebollas, ajos, escalonias, chalotas, rocambolas y puerros. Presentan beneficios a la salud como, inhibición del crecimiento y proliferación celular, mejora del sistema inmune, como anticancerígenos, protegiendo también del daño oxidativo. La alicina proveniente del ajo picado y fresco es el compuesto principal que contribuye a la salud (Damodaran et al., 2008).

#### **2.4.7 Isotiocianatos e indoles**

Estos compuestos se forman durante la masticación de algunas plantas de la familia de las crucíferas, que estimula la hidrólisis de la tioglucosidasa (mirosinasa) de los precursores conjugados, denominados glucosinolatos. Se ha visto que el indol-3-carbinol tiene propiedades anticancerígenas, debido a que induce las actividades del citocromo P450 (Fase 1) y del glutatión s-transferasa (Fase 2), lo que da lugar a una mayor capacidad metabolizante de los cancerígenos (Damodaran et al., 2008).

### **2.5 Técnicas de análisis**

#### **2.5.1 Principios generales de extracción y separación de compuestos bioactivos**

La eficacia de cualquier método de extracción depende principalmente de los disolventes seleccionados, así como la polaridad del compuesto bioactivo deseado. Otros factores que también hay que tener en cuenta, es la afinidad molecular entre el solvente y el soluto, la transferencia de masa, procesos, mezclas de

codisolventes, leyes ambientales, toxicidad humana y viabilidad financiera (Banožić et al., 2020). Para lograr más procesos de separación, así como la identificación y caracterización de los compuestos bioactivos, los materiales vegetales primero deben someterse a un proceso de extracción. Todos los procesos apuntan principalmente a lograr los siguientes objetivos: extracción de bioactivos compuestos con propiedades medicinales, mejorando la selectividad de los métodos analíticos al aumentar la concentración de los compuestos deseados, diseñando un método de detección y separación que se mantiene constante, independientemente del origen de las muestras utilizadas (Gligor et al., 2019).

## **2.6 Métodos de extracción y purificación**

La extracción es el primer y más importante paso en el aislamiento y caracterización de compuestos bioactivos a partir de materiales vegetales. Esta operación de la unidad juega un papel crucial en el éxito general de los estudios cualitativos y cuantitativos de los compuestos bioactivos comúnmente extraídos. El rendimiento del proceso depende, no solo de los parámetros operativos, sino también de los métodos de pretratamiento, la composición química y las características físicas de la planta y el compuesto de interés. Un ejemplo típico es la producción de extractos con mayor contenido de polifenoles a partir de cáscaras de granada liofilizadas en comparación con las cáscaras secadas al horno y no tratadas previamente (Essien et al., 2020).

El método soxhlet es muy conocido y se ha llegado a utilizar en múltiples investigaciones, resultando muy eficaz. Generalmente en este método se utilizan solventes como éter, petróleo, cloroformo en lípidos y alcohol, acetato de etilo para compuestos más polares. Además, es un método aprobado por la FDA de los Estados Unidos (Azmir et al., 2013).

Con la creciente conciencia de la necesidad de una técnica ecológica y rentable (o de sostenibilidad en la producción), se han desarrollado una variedad de alternativas (Moreira et al., 2019). "Las tecnologías de extracción de fluidos

subcríticos y supercríticos se encuentran entre los métodos que cumplen los criterios para ser considerados adecuados como tecnologías de extracción ecológica". Ambas técnicas se han aplicado como una herramienta eficaz para la recuperación de bioactivos de plantas. Actualmente, estas tecnologías también se utilizan en la producción de envases de película bioactiva (Zhao & Zhang, 2014).

### 2.6.1 Sistema SFE (extracción por medio de fluidos supercríticos) asistida por ultrasonido

El sistema consta de tres componentes principales: (I) el gas CO<sub>2</sub> tanque de almacenamiento, donde el gas (con una presión de 70–80 bar) pasa a través del sistema de enfriamientos (con una temperatura de -20 ° C) para la condensación. Después de la condensación, se entra al tanque con una bomba de pistón (II) para comprimir el gas condensado y aumentando su presión en un grado supercrítico (de 150 a 210 bar). También hay un recipiente de extracción de dos capas (III) con una capacidad de presión de 600 bar, hecho de acero inoxidable (23 cm de altura, 2,8 cm de diámetro interno y 5,3 cm de diámetro externo) (figura 2) (Vaeli et al., 2019).

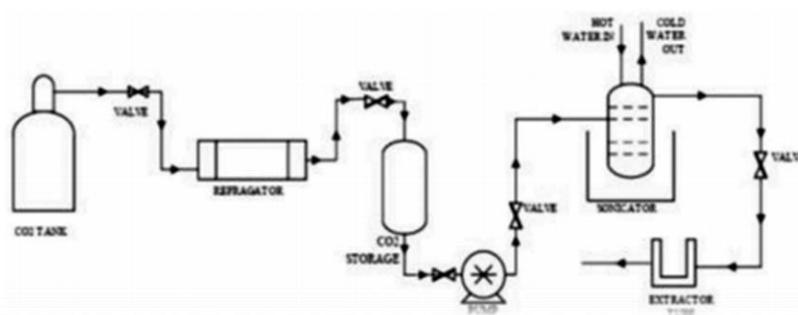


Figura 2. Sistema SFE

### 2.6.2 Extracción asistida por ultrasonido

Las cavitaciones ultrasónicas generan fuerzas de corte que rompen las paredes celulares y también aumentan la transferencia de masa y el rendimiento de extracción (EY). De hecho, la extracción asistida por ultrasonidos debido la

reducción del consumo de solventes puede proporcionar componentes bioactivos más económicos, ambientales y de seguridad. Este método puede resultar con mayor eficiencia si se combina con una buena preparación de la muestra y el uso de solventes como etanol y agua. Múltiples investigaciones han demostrado que para la extracción de compuestos bioactivos resulta favorecedor el utilizar métodos como, ultrasonido agua, agua –etanol- ultrasonido y etanol ultrasonido (Farahmandfar et al., 2019).

### 2.6.3 Extracción por microondas

Este método utiliza energía microondas (figura 3) para calentar la mezcla de muestra-solvente, en un vial cerrado y en condiciones de extracción controladas como lo es la composición del producto a analizar, la longitud de ondas, temperatura y el tiempo de residencia, para obtener una distribución de los analitos de interés desde la muestra hacia el solvente. Durante el proceso las moléculas dipolares de la mezcla se alinean debido a la exposición de las ondas electromagnéticas, a su vez esto produce una migración de iones y rotación de moléculas, de esta manera se obtienen los compuestos deseados (Izquierdo et al., 2013).



**Figura 3.** Microondas CEM Mars 6 TM.  
Fuente; CEM.com, 2020.

### 2.6.4 Extracción por infusión

Este método consiste en someter el material a examinar en un solvente durante un tiempo determinado y bajo las condiciones de temperatura deseados,

estas pueden variar dependiendo las características físicas del material (Serna et al., 2018).

### **2.6.5 Extracción sólido líquido**

La extracción de solventes es el medio más común de recuperando compuestos fenólicos a partir de materiales vegetales debido a la simplicidad de la técnica, eficiencia y una amplia gama de posibles aplicaciones. Aunque es un proceso simple, la extracción química es impulsada por condiciones tales como el tiempo asignado para extracción, temperatura de extracción y relación muestra-solvente, que afectan el rendimiento y el grado de recuperación. En las mismas condiciones, la naturaleza de los compuestos para ser recuperado es un factor importante a tener en cuenta ya que ayuda a seleccionar el solvente más adecuado para la extracción. En el caso de la industria alimentaria numerosos estudios han preferido el uso de mezclas binaras como etanol y agua, resultando ser un medio eficaz para recuperar fotoquímicos de material vegetal, gracias a su efecto sinérgico hace de ellos un solvente superior sobre sus contrapartes puras (Sherma & Zweig, 1972).

### **2.6.6 Extracción por Soxhlet**

La técnica de extracción de Soxhlet ha sido ampliamente utilizada para extraer varios compuestos bioactivos de diversos materiales vegetales. La muestra de material vegetal seco debe mantenerse en el dedal. El dedal se coloca luego en el matraz de destilación, que contiene disolvente selectivo. Cuando se alcanza el nivel de exceso de disolvente; la solución del porta cartuchos es aspirado por un sifón. El sifón descarga la solución nuevamente en el matraz de destilación. Esta solución lleva extraída solutos en el líquido a granel. El soluto se queda en la destilación, el matraz y el disolvente vuelven al lecho sólido de la planta. El proceso se ejecuta repetidamente hasta que se completa la extracción (Selvamuthukumaran & Shi., 2017).

Este proceso es una forma extracción sólido líquido destinada para la extracción de aceites, principalmente para muestras vegetales, en donde la muestra es sometida a una inmersión dentro de un dedal, frente a un solvente, generalmente se utiliza etanol, butanol, hexano, pentanol. Estos tienen la función de lavar la muestra provocando la separación de los analitos, debido a la diferencia de solubilidad y posteriormente se llega a una recuperación de los aceites. Para llevar a cabo el lavado de la muestra además del solvente es necesaria la presencia de calor. El proceso es un poco tardado de entre 3 a 6 horas generalmente. Seguido de esto se debe eliminar el disolvente residual para lo cual existen diversos métodos, un ejemplo sería el evaporador rotativo de vacío (Biao et al., 2019).

La tasa de extracción de cualquier método convencional depende principalmente sobre la elección del uso de solventes selectivos. El cuadro 3, muestra los ejemplos de varios compuestos bioactivos, extraídos usando diferentes solventes. La polaridad solvente es uno de los factores más importantes para el compuesto objetivo, y mientras selecciona el solvente, la afinidad molecular entre el solvente y el soluto, su seguridad ambiental, su toxicidad y su factibilidad económica deben considerarse en mayor medida para la extracción (Selvamuthukumaran & Shi., 2017).

**Cuadro 3. Ejemplos de algunos compuestos bioactivos extraídos por diferentes disolventes. Los valores entre paréntesis indican la polaridad del disolvente.**

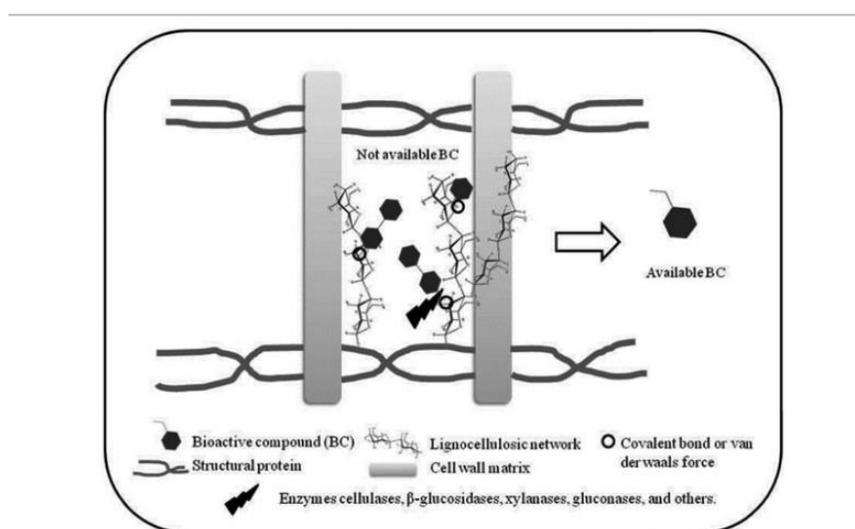
AGUA (1.000)*	Etanol (0.654)*	Metanol (0.762)*	Cloroformo (0.259)*	Éter (0.117)*	Acetona (0.355)*
Antocianinas	Taninos	Antocianinas	Terpenoides	Alcaloides	Flavonoides
Taninos	Polifenoles	Saponinas	Flavonoides	Terpenoides	

Saponinas	Flavonoides	Terpenoides	Taninos		
Terpenoides	Terpenoides		Flavonoides		
	Alcaloides		Polifenoles		
			Antocianinas		

Fuente: Selvamuthukumarán & Shi., 2017.

### 2.6.7 Extracción por enzimas

Las paredes celulares de las plantas contienen polisacáridos como celulosa, hemicelulosa y pectinas que actúan como barreras para la liberación de sustancias intracelulares. Algunas enzimas tales como la celulasa, la  $\beta$ -glucosidasa, la xilanas, la  $\beta$ -glucanasa y la pectinasa ayudan a degradar la estructura de la pared celular y despolimerizar los polizacáridos de la pared de la célula vegetal, facilitando la liberación de compuestos unidos. Por lo tanto, se han propuesto enzimas como herramientas para optimizar la extracción de compuestos de matriz vegetal (Kim et al., 2005; Wilkins et al., 2007; Wang et al., 2010). La mayoría de los NBC (compuestos bioactivos naturales), como los flavonoides, están presentes en diferentes formas, interactuando con los componentes de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y pectina) (Figura 4) (Kim et al., 2005).



**Figura 4.** Compuestos bioactivos encontrados en matrices vegetales formando interacciones con redes lignocelulosicas

Fuente: Gil et al., 2013.

Para la liberación de estos compuestos, estas interacciones deben ser interrumpidas por las enzimas que hidrolizan la pared celular. La  $\beta$ -glucosidasa rompe los enlaces glucosídicos  $\beta$ -1,4 en los glucósidos (flavonoides junto con glucosa) (Yang et al., 2010). Por otro lado, los compuestos fenólicos a menudo están unidos a la célula, polisacáridos de pared y degradación de la pared celular es un paso clave en liberando fenoles de la pared celular. En este sentido, se ha demostrado que el uso de xilanasas,  $\beta$ -glucanasas y celulasas es efectivo, ya que pueden hidrolizar los ácidos fenólicos unidos al éster (Moore et al., 2006). Sin embargo, dicha liberación depende de las características estructurales y de composición de los compuestos (Yang et al., 2010).

Existen varios informes sobre el tratamiento enzimático de tejidos vegetales para la extracción de NBC (cuadro 4).

**Cuadro 4. Estudios sobre el uso de tratamientos enzimáticos para liberar compuestos bioactivos naturales de matrices naturales.**

<b>Enzimas utilizadas para la extracción</b>	Pectinasa, celulosa y beta-glucosidasa	Alfa-amilasa y glucoamilasa	Cellulase R® MX, Cellulase R® CL y Kleerase R® AFP	ROHALASE R® OS y ROHAPECT R® PTE (Actividad de celulasa, glucanasa y xilanasa)	Pectinex XXL Y Pectinex Ultra SPL (Enzimas pectolíticas)	Pectinex B3 L, Vinoxym EC, y Vinoxym G	Celulosa de Trichoderma reesei, pectinasa de A. niger y celulosa de P. decumbens.	Mezcla de proteasas
<b>Condiciones del ensayo</b>	0.4 mg/mL de pectinasa, 18 h, 30-35°C, pH 3.5-4.	2% p/p de enzima, 60min, pH 4.5.	1.5 % p/p de enzima, 50 °C, 3 h.	0.05% y 0.1% p/p, 20min, 70 °C y 50 °C	20 mL/ 100 kg de masa, 1 h, 20 °C	1% de enzima, 37-40 °C, 6 h	2 mg/mL de enzima, 30 h, 40 °C.	60 °C, pH 8, 40min
<b>Materiales</b>	Hojas de guisante	Cúrcuma (Curcuma longa L.)	Cascaras de cítricos: Yen Ben y limón Meyer, toronja, mandarina y naranja	Colza	Pomaceas	Piel de uva de 3 variedades: Cabernet Sauvignon, Cabernere y Ribier(residuos industriales).	Hojas de Ginkgo biloba	Salvado de arroz
<b>Compuestos bioactivos</b>	Flavonas: Luteolina y Apigenina	Oleoresina	Fenólicos totales	Fenoles, tocoferoles y fosfolípidos	Polifenoles	Antocianinas	Flavonoides: Quercetina, kaempferol e isorhamnetina(predominante)	Extracto enzimático con potencial uso como alimento funcional como producto final.
<b>Aplicaciones</b>	Actividades farmacológicas, antiinflamatorias, antiérgicas, antiproliferativas, etc.	Formulación de alimentos para la prevención del cáncer.	Actividades antioxidantes y de barrido de radicales libres. Implicaciones en la salud.	Prevención y tratamiento de enfermedades crónicas: enfermedades cardíacas y neurodegenerativas, envejecimiento, cáncer y artritis reumatoide.	Eficacia contra el cáncer de colon.	Aditivos alimentarios que proporcionan beneficios a la salud.	Actividades fisiológicas en terapias para enfermedades inflamatorias, cardíacas y cáncer.	Prevención de enfermedades incluyendo cáncer, hígado graso, hipercalcemia, cálculos renales, etc.
<b>Referencias</b>	(Chen & col., 2010)	(Fu & col., 2008)	(Kurmudle & col., 2010)	(Li & col., 2006)	(Muñoz & col., 2004)	(Oszmianski & col., 2011)	(Parrado & col., 2006)	(Wang & col., 2010)

Fuente: Gil et al., 2013.

## 2.7 Métodos de identificación

### 2.7.1 Espectroscopia ultravioleta y visible

La espectroscopía UV-Vis está basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible (radiación con longitud de onda comprendida entre los 160 y 780 nm) por una molécula. La absorción de esta radiación causa la promoción de un electrón a un estado excitado. Los electrones que se excitan al absorber radiación de esta frecuencia son los electrones de enlace de las moléculas, por lo que los picos de absorción se pueden correlacionar con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto. Debido a ello, la espectroscopía UV-Vis se utiliza para la identificación de los grupos funcionales presentes en una molécula. Las bandas

que aparecen en un espectro UV-Vis son anchas debido a la superposición de transiciones vibracionales y electrónicas (Bruice & Paula, 2008).

### **2.7.2 Espectroscopia infrarroja**

Los espectros IR pueden medirse en sustancias vegetales de forma automática. Este método detecta las frecuencias de vibración característica de los compuestos, lo que lo hace el método más simple y con frecuencia el más confiable para identificar un compuesto. Comúnmente este método se utiliza para estudios fotoquímicos como un dispositivo de huella digital para comparar un compuesto natural de un sintético. También se ha utilizado para identificar aceites esenciales (Bruice & Paula, 2008).

### **2.7.3 Espectroscopia de masas (EM)**

El valor de la técnica es que requiere solo microgramos de material, que puede proporcionar un peso molecular preciso y que puede producir un patrón de fragmentación complejo que a menudo es característico (y puede identificar) el compuesto particular. La EM, en esencia, consiste en degradar trazas de un producto orgánico y registro del patrón de fragmentación según masa. El vapor de muestra se difunde hacia el sistema de baja presión de la masa en donde se ioniza con suficiente energía para provocar la fragmentación de los enlaces químicos. Los iones resultantes cargados positivamente se aceleran en un campo magnético que se dispersa y permite mediciones por la abundancia de iones con una relación masa-carga dada. El registro resultante de la abundancia de iones frente a la masa constituye la masa molecular del fragmento. La técnica funciona con éxito con casi todos los tipos de constituyentes de plantas de bajo peso molecular e incluso se ha utilizado para el análisis de péptidos (Bruice & Paula, 2008). El espectro de masas solo registra fragmentos con carga positiva.

## **2.8 Métodos de separación**

### **2.8.1 Cromatografía de papel (PC)**

Una de las principales ventajas de PC es la gran comodidad de llevar separaciones simplemente en hojas de papel de filtro, que sirven tanto como medio para la separación y como soporte. Otra ventaja es la considerable reproducibilidad de R (retención relativa), valores determinados en papel, de modo que tales mediciones son parámetros valiosos para usar en la descripción de nuevos compuestos de plantas.

La cromatografía en papel por lo general implica una cromatografía de partición o de adsorción.

El papel de celulosa consiste en una colección parcialmente orientada de fibras de celulosa. Estas fibras están compuestas por cadenas de carbohidratos aproximadamente paralelas fuertemente reticuladas por enlaces de hidrógeno en algunas regiones para dar una estructura parcialmente cristalina y parte amorfa. En las regiones amorfas, la celulosa absorbe agua u otros solventes hidrofílicos. Esto conduce a la formación de piscinas de líquido conectadas por puentes de cristalitas. El agua en estas regiones es de dos tipos, al unirse químicamente a las fibras de celulosa y la otra está unida más libremente y está disponible para dividir los solutos. Los extractos de tejidos animales o vegetales y otras muestras biológicas se preparan moliendo o mezclando con un solvente adecuado y eliminando los residuos insolubles por filtración o centrifugación. El extracto generalmente debe purificarse y concentrarse y, a menudo, transferirse a un disolvente diferente antes de la aplicación al papel. La eliminación de materiales orgánicos extraños y sales inorgánicas, que pueden conducir a resultados anómalos, se logra mediante extracción con solvente, prescripción, electrólisis o intercambio iónico (Sherma & Zweig, 1972).

### **2.8.2 Cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC**

Su importancia radica en su campo de aplicación, ya que con esta técnica se pueden analizar todos aquellos compuestos termosensibles, con masas

moleculares muy grandes o incluso polares. Es capaz de actuar de forma precisa en la selección de los compuestos según la elección de la columna y la composición del eluyente, aprovechando las interacciones dilución/fase móvil/ fase estacionaria (Rouessac et al., 2000).

### **2.8.3 Cromatografía de capa fina**

En este método la separación de los componentes se realiza sobre una capa muy delgada del material la cual refiere a la fase estacionaria, generalmente compuesta de gel de sílice. Está a su vez es depositado sobre una placa de vidrio, plástico o aluminio. La sugestión de la fase estacionaria sobre el soporte está asegurada por un aglomerante orgánico o mineral. En este método se distinguen tres etapas, aplicación de la muestra, migración sobre la placa, revelado post-cromatográfico. Es considerada a su vez como una técnica complementaria de la HPLC (Rouessac et al., 2000).

### **2.8.4 Cromatografía de gases líquidos**

Su aplicación se remonta a los años 40 del siglo pasado, en donde se utilizaron en el control de las fracciones de ligeras de las refinerías de petróleo. Al elegir esta técnica se debe tener en cuenta que para la separación de la placa se requiere que el compuesto a analizar se encuentre en estado gaseoso, lo cual limita su uso a compuestos muy volátiles o termoestables, ya que los compuestos tendrían que pasar por una fase de calentamiento (Rouessac et al., 2000). Este equipo se encuentra compuesto por 3 puntos: un inyector, un detector y una columna.

### **2.8.5 Cromatografía de fluidos supercríticos SFC**

Su originalidad radica en la naturaleza de la fase móvil, la cual en su caso es un fluido supercrítico, lo cual le da la ventaja de llevar a cabo una mejor caracterización de los compuestos termolábiles o de masas molares elevadas. El

dióxido de carbono es el fluido más utilizado en fase móvil ya que es el que tiene el punto crítico más fácil de alcanzar ( $T=31\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $P=7400\text{kPa}$ ) (Rouessac et al., 2000).

## CAPITULO III

### MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Materiales

- ✓ Hojas de *manilkara zapota*
- ✓ Aluminio
- ✓ Algodón
- ✓ Bolsas de celofán dorado
- ✓ Vaso de precipitado de diferentes capacidades

- ✓ Balanza Ohaus
- ✓ Termómetro
- ✓ Parrilla de calentamiento Labcompanion
- ✓ Equipo soxhlet
- ✓ Magneto
- ✓ Agua
- ✓ Éter de petróleo

### 3.2 Metodología

Las hojas de *Manilkara zapota* fueron obtenidas de árboles ubicados en la región fronteriza del estado de Chiapas México, en el municipio de Frontera Comalapa (Figura 4).

El proceso experimental de extracción fue llevado a cabo en el laboratorio I del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos.



**Figura 5.** Árbol *Manilkara zapota*  
Fuente: Montejo García, L.A., 2019

### 3.3 Proceso de secado

El proceso de secado consistió en dejar las hojas sobre charolas de aluminio y a exposición directa al sol, se cubrieron con mantillas para evitar el contacto con cualquier agente contaminante. Transcurrida una semana de exposición al sol, las hojas fueron trituradas con ayuda de un mortero y colocadas en charolas de aluminio nuevamente. Finalmente se colocaron en una estufa de secado durante 24 horas más para asegurar pérdida absoluta de humedad y así evitar propagación de hongos (Fig. 5).



**Figura 6.** Secado de las hojas

### 3.4 Almacenamiento

Para el almacenamiento se utilizaron bolsas de celofán dorado para evitar el contacto de las hojas con la luz solar ya que según la literatura los compuestos bioactivos son sensibles a la luz y al tiempo de almacenamiento (Fig. 6).



**Figura 7.** Almacenamiento

### 3.5 Estandarización de método

Se consideró en base a la literatura encontrada los métodos de extracción de componentes, en los cuales se optó principalmente por llevar a prueba métodos artesanales por inmersión en agua caliente, ya que sería la manera de ingesta en las personas. Se realizó una comparación con un método estándar mediante sistema soxhlet y de esta manera poder evaluar rendimientos y ver la eficiencia del método (Fig. 7).



**Figura 8.** Soxhlet

### 3.6 Aplicación de métodos de extracción.

Se utilizaron 3 métodos en los cuales se evaluó, porcentaje de rendimiento, así como la efectividad en la extracción de los componentes bioactivos.

El primer método utilizó 200 mL el agua y se calentó hasta alcanzar punto de ebullición, misma que fue agregada a 5 g de muestra en otro vaso de precipitado en el que se mantuvo en agitación por 12 min (Fig. 8).



**Figura 9.** Extracto por método tradicional, 12 minutos

En el segundo método se utilizó 200 mL de agua, y se calentó hasta alcanzar punto de ebullición, misma que se agregó a 5 g de muestra dentro de otro vaso de precipitado en el cual se mantuvo en agitación durante 4 horas (Fig. 9).



**Figura 10.** Extracto por método tradicional, 4 hrs.

Para el tercer método de extracción se instaló un sistema soxhlet, utilizando como reactivo éter de petróleo, fueron suministrados a un dedal 5 g de muestra y se prosiguió a esperar 4 lavadas o sifoneos del sistema, para asegurar una mayor extracción de los componentes (Fig. 10).



**Figura 11.** Extracto soxhlet

### **3.7 Vía de administración**

Se le proporcionó a cada uno de los 13 voluntarios, 15 porciones de 5 g dentro de bolsa de celofán dorado para evitar contacto con la luz solar y poder ingerir una dosis diaria, la cual podía ser a cualquier hora del día sin que la persona cambiara su dieta. Se acompañó de una receta, la cual fue redactada en base a la aplicación del método de 12 minutos para facilitar la ingesta y considerando no afectar las actividades diarias de los participantes

### **3.8 Eficiencia de métodos**

Se realizó el cálculo porcentual para medir eficiencia de los métodos aplicados y tener datos concretos de la extracción. Se utilizó la formula según la indica (Vogel et al., 1996).

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{rendimiento real}}{\text{rendimiento teorico}} \times 100$$

### **3.9 Administración de la infusión en voluntarios**

El estudio se realizó mediante ingesta de una infusión que duro 15 días, en personas voluntarias de la comunidad de Saltillo, Coahuila, México. Se les proporcionaron 15 muestras de 5 g para ingerir una por día, dichas muestras almacenadas en bolsas plásticas dentro de una bolsa de celofán dorado para evitar contacto con oxígeno y luz solar.

Se les proporcionó una receta escrita, para el modo de preparación correcto, añadido a esto se les informó que no tenían que cambiar su alimentación ni su rutina

diaria, teniendo como requisito obligatorio ingerir las dosis correctamente, una por día sin importar la hora.

Se realizaron dos análisis sanguíneos de triglicéridos y colesterol, antes de la primera ingesta y después de la última ingesta. Se compararon ambos resultados para buscar si hay diferencia significativa entre ambos valores.

## **CAPITULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

El diseño experimental fue completamente al azar realizándose los análisis por triplicado y utilizando el paquete estadístico de Infostat versión 2017. Se aplicó un análisis de varianza para comprobar si existía diferencia significativa ( $P>0.05$ )

entre los valores iniciales y los finales, y al existir diferencia se realizó una comparación de medias por Fisher a una  $P > 0.05$ .

#### **4.1 Evaluación del método de extracción.**

Se logró la extracción de componentes a través de una infusión por el método artesanal 1, artesanal 2 y por el método Soxhlet

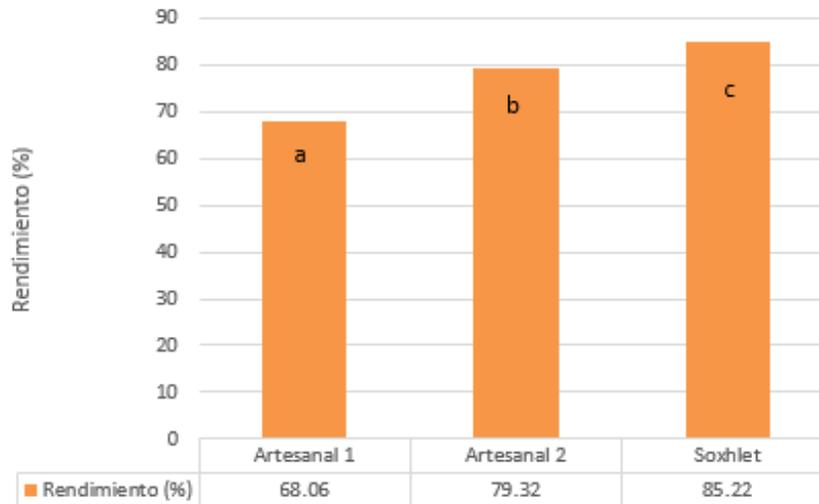
En el método artesanal 1, se calentó el agua a  $92^{\circ}\text{C}$  y se incorporó la muestra (5 g) con agitación a 3,000 rpm durante 12 minutos, obteniéndose un extracto con tonalidad café claro y una eficiencia del 68.06%.

En el método artesanal 2, las hojas permanecieron en agitación (3,000 rpm) en agua caliente ( $92^{\circ}\text{C}$ ) durante 4 horas, se presentó color café oscuro y un rendimiento del 79.32%.

En el método Soxhlet se utilizó éter de petróleo y se mantuvo una temperatura entre  $50\text{-}60^{\circ}\text{C}$ . Se realizaron 4 lavadas y se observó que el líquido tenía una coloración amarillenta. Posteriormente al separar el solvente en el rotavapor se obtuvo un aceite de color verde. El rendimiento por este método fue de 85.22%.

De los resultados de los métodos de extracción podemos ver que hubo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en el rendimiento de extracción (Fig. 11).

El método con el que se obtuvo un mayor rendimiento fue el de la extracción en Soxhlet, la razón puede deberse a que el éter de petróleo es un solvente que facilita una mayor extracción de los componentes bioactivos (Rajan et al., 2020), y que debido a su polaridad facilita la extracción a diferencia del agua que presenta una mayor polaridad. En este caso el éter de petróleo tiene una polaridad más baja en comparación con el agua, lo que se puede deber su mayor efectividad en la investigación (Selvamuthukumaran & Shi., 2017).



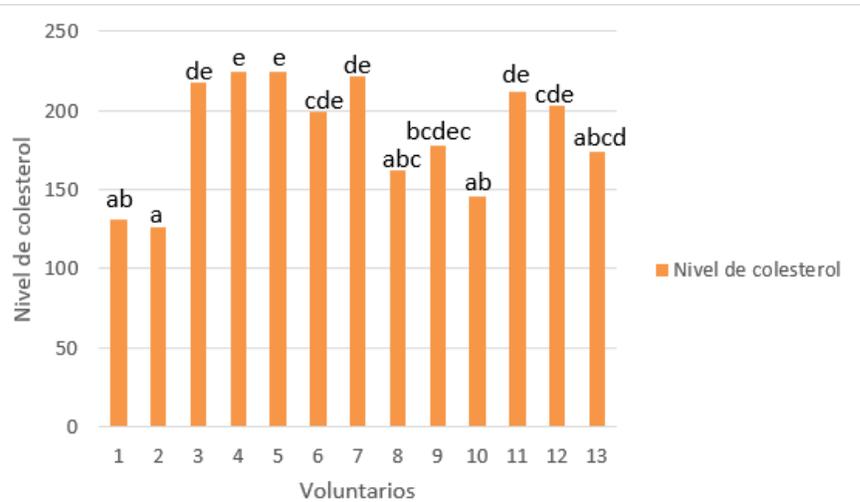
**Figura 12.** Rendimiento del método de extracción.

En la actualidad la tendencia apunta a reducir el uso de disolventes orgánicos, ya que a menudo son nocivos, apenas se separan del extracto y son peligrosos para el medio ambiente. Aunque estos métodos se han considerado peligrosos, las técnicas nuevas de extracción proporcionan una temperatura más baja durante la extracción, menor tiempo, más fácil separación y purificación de extractos, mayor rendimiento de extracción y mejor eficiencia de extracción, en general mostrando mejores propiedades ambientales, de salud y seguridad (Banožić et al., 2020). Por lo cual en base a las necesidades del investigador este método podría ser muy eficiente.

#### **4.2 Efecto de disminución de niveles de triglicéridos y colesterol en sangre.**

Se analizó como influye la edad y el sexo en la disminución o variación de triglicéridos y colesterol.

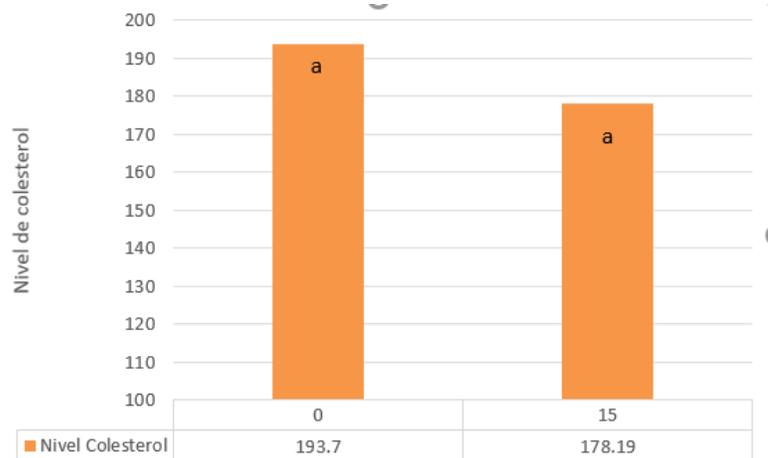
El análisis estadístico demuestra que hubo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en los niveles de colesterol en los pacientes, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 (figura 13). Sin embargo, en el resto de los pacientes la diferencia no fue muy visible.



**Figura 13.** Representación del estudio de medias de Fisher a una  $p > 0.05$  del nivel de colesterol en los 13 voluntarios.

Generalizando en base a los días se aprecia una variación de la disminución de los niveles de colesterol (figura 14).

Podemos considerar que los resultados fueron favorables dado que las personas tuvieron como variable el mantener su dieta diaria normal, y podemos atribuir estos beneficios a la posible presencia de compuestos bioactivos en las hojas.

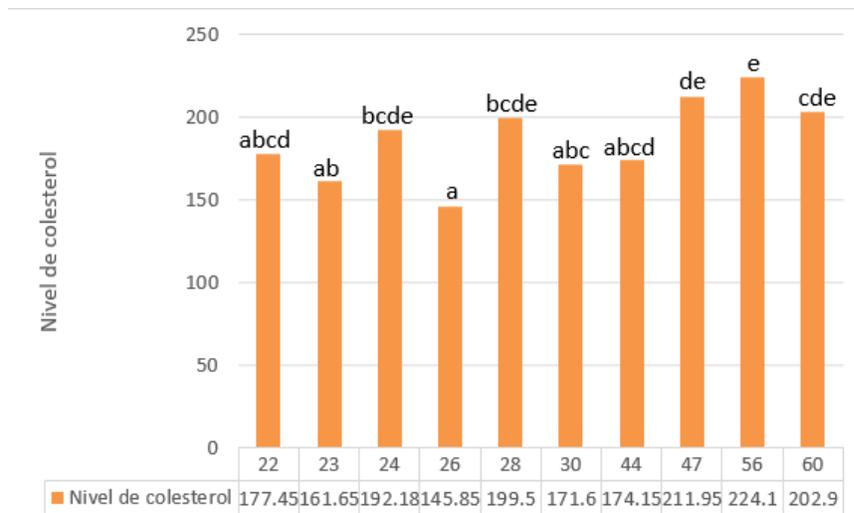


**Figura 14.** Nivel de colesterol

En una investigación en 2012, Fayek menciona que los extractos de las hojas presentan efectos hipocolesterolemicos, lo cual se puede deber a la alta presencia de constituyentes fenólicos.

Además de estos compuestos según Ganguly (2013), se encuentran presentes alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas y glucósidos, mismos que forman parte de los fitoquímicos. De esta manera podemos considerar la posible presencia de algunos de ellos en el extracto de las hojas, ya que, según Xiao y col., (2019) estos compuestos tienen una larga historia en el uso de la medicina tradicional.

Ahora si analizamos la edad en los pacientes vemos que es muy variada y no se puede apreciar diferencia significativa, sin embargo, se observa que los pacientes con las mismas edades presentan resultados similares (figura 15).

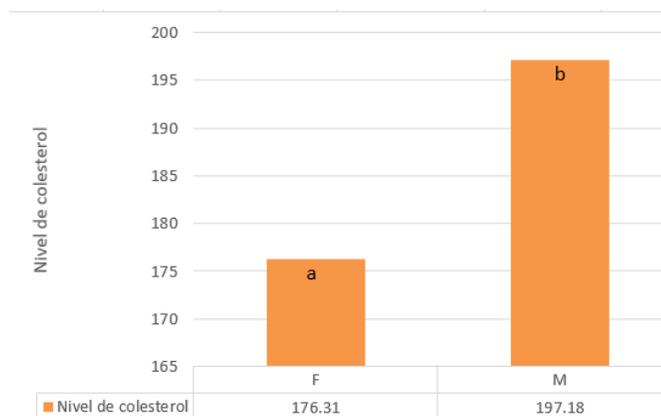


**Figura 15.** Influencia de edad sobre los niveles de colesterol de los 13 voluntarios.

Para esta variable se genera una relación edad-alimentación según Dong (2020), ya que en cada etapa la dieta se diferencia en el tipo de alimento consumido, manteniendo un porcentaje similar en grasas y carbohidratos (Horsager et al., 2020), y añadido a estos factores y sin distinción del sexo. Franco (2018) mencionó que existe alto grado de sedentarismo en personas mayores, pudiendo ser este un factor que beneficie la conversión del superávit calórico a grasa. De esta manera se comprueba por qué nuestros resultados arrojan valores más altos en personas de edad avanzada.

En la figura 16 se encontró diferencia significativa entre hombres y mujeres, lo cual puede deberse a la diferencia en el metabolismo de ambos sexos, ya que se sabe que el hombre debido a su composición corporal requiere un aporte calórico más alto, sin embargo, tiende a acumular menos grasa que las mujeres.

De acuerdo con los resultados de la presente investigación se aprecia que hubo una mayor cantidad de colesterol en sangre en hombres que en mujeres, lo cual puede deberse al tipo de alimentación, el consumo excesivo de alimentos con alto contenido en grasas como los productos de origen animal principalmente.

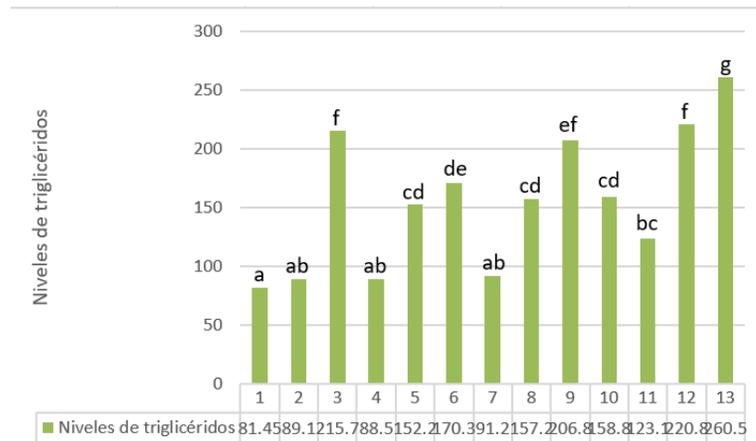


**Figura 16.** Efecto del sexo sobre los niveles de colesterol expresados en 13 voluntarios.

Existen otros factores que pueden contribuir a un alto contenido de grasa en sangre como la falta de ejercicio y cuestiones hereditarias conocidas con el nombre de *Hipercolesterolemia familiar*— Niveles elevados de lipoproteína de baja densidad (LDL), *Hipertrigliceridemia familiar*— Niveles elevados de triglicéridos e *Hiperlipidemia familiar combinada*— Niveles elevados de colesterol o triglicéridos, o de los dos, y la lipoproteína de alta densidad (HDL) es baja (Kreisberg & Reusch, 2005).

En esta investigación los valores finales en niveles de colesterol arrojaron un valor positivo para el control de dicha enfermedad, existiendo una diferencia de 15.51% en el promedio general respecto a los valores iniciales. Los resultados individuales se pueden apreciar en la tabla de niveles de colesterol en la sección de anexos.

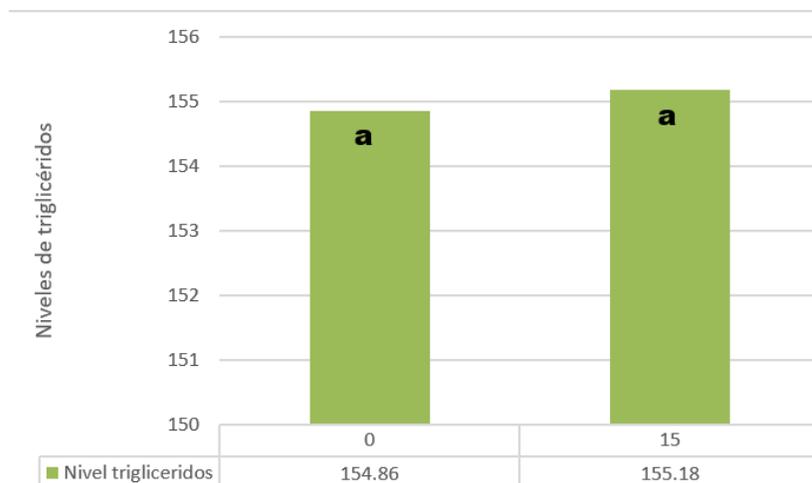
En cuanto a niveles de triglicéridos hubo diferencia significativa entre los pacientes como se puede observar en la figura 17.



**Figura 17.** Resultados concentrados de análisis de varianza en niveles de triglicéridos.

Al analizar la comparación de los niveles de triglicéridos entre los pacientes (figura 18) el día 0 y día 15, no se presentó una diferencia significativa a una  $P > 0.05$ .

En 2020 Ling describe que un estudio donde el uso de los flavonoides tiene un efecto satisfactorio, ya que hubo una significativa alta de los niveles de triglicéridos y grasa en hámsteres. En el mismo año Wang (2020), demostró que el uso de la baicalina, un flavonoide derivado del medicamento a base de hierbas *Scutellaria baicalensis georgi*, podría reducir el contenido de triglicéridos (TG) y la acumulación de gotitas de lípidos en células de hepatoma humano (HepG2) tratadas con ácido palmítico (PA).



**Figura 18.** Promedio de niveles de triglicéridos en voluntarios al día 15.

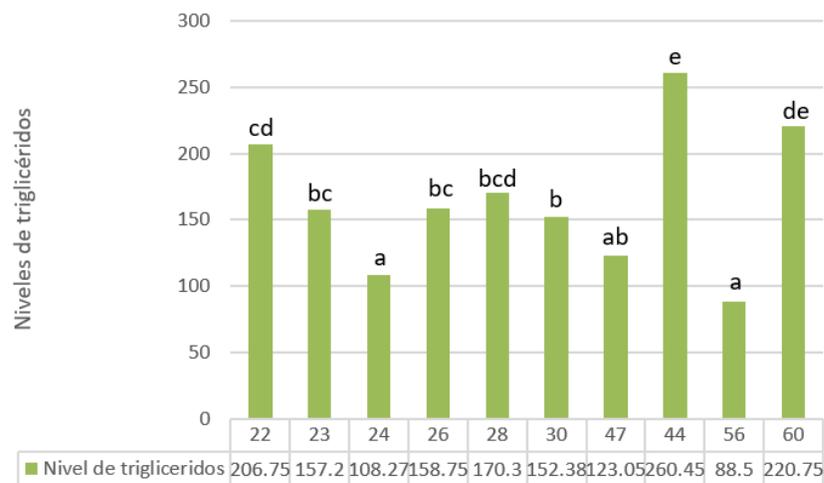
Yong (2020) demostró que debido a la composición fotoquímica de *Manilkara zapota*, los compuestos polifenólicos son los principales componentes bioactivos encontrados en la planta, por lo que se le pueden atribuir efectos bioactivos. Las sustancias polifenólicas presentes en el extracto obtenido y el cual fue ingerido por los participantes, también posee efectos hipercolesterolémicos.

En su investigación reciente, Hao (2020) analizó en una investigación el uso de Huang-Qi San (HQS), una medicina tradicional china, y afirmó que puede mejorar la hiperlipidemia con obesidad, mejora el trastorno metabólico, y el depósito ectópico de lípido.

Gao (2020) evaluó una serie de extractos de aceite de fruto de espinillo amarillo (SBFO), que es rico en ácido palmitoleico (POA), a través de experimentos *in vivo*. El objetivo fue explorar cual es el mecanismo de acción en anti-hiperlipidemia. Los resultados revelaron que el extracto de SBFO podría controlar el peso corporal y la masa de tejido adiposo, aliviar la acumulación de grasa, junto con mejorar el colesterol total (CT), los triglicéridos (TG), el colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) y las lipoproteínas de baja densidad, nivel de colesterol (no HDL-C) de manera dependiente de la dosis.

En cuanto a los niveles de triglicéridos comparado con la edad, se aprecia una estrecha relación entre los pacientes (figura 19).

Se sabe claramente que hay una estrecha relación en el aumento de grasa en sangre respecto a la edad. La alimentación es un factor importante también, ya que conforme a los años las personas se vuelven susceptibles a no cuidar la parte nutricional y practicar el sedentarismo (Liu et al., 2020). Esto sucede debido a que se ocupa más del tiempo en actividades laborales, y de descanso en lugar de practicar un deporte o hacer ejercicio.



**Figura 19.** Influencia de la edad en niveles de triglicéridos en los 13 voluntarios.

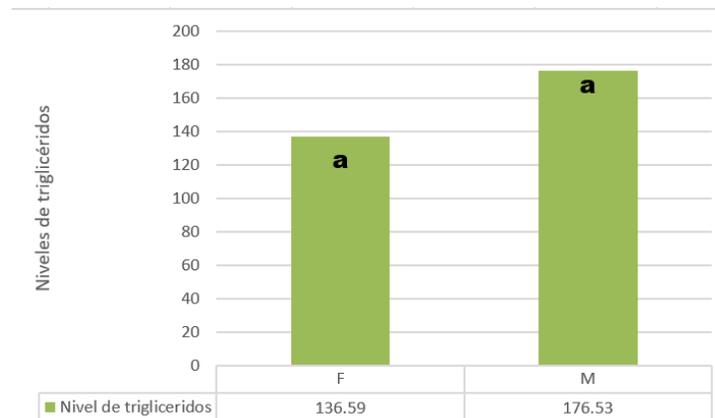
En un estudio realizado por Liu (2020), se demostró que el sedentarismo causa diabetes y que además causa la enfermedad cardiovascular. Enfermedades que tienen una estrecha relación con la hiperdislipidemia.

Si analizamos los datos vemos que las personas de edad más avanzada mostraron niveles más altos de grasa. Esto se ve reflejado en un bioensayo con conejos, ya que son los mejores animales para poder realizar experimentos de hiperlipidemia y otras enfermedades para extrapolar sus efectos al ser humano.

Por otra parte, Niimi (2016) realizó un estudio que demuestra cómo influye el cambio de alimentación en la alteración de grasa en el cuerpo de conejos por lo

que, si comparamos con el cuerpo humano, es claro que una dieta alta en grasas incrementa notoriamente la grasa en el cuerpo y por tanto en sangre.

Se comprueba que los niveles de triglicéridos no se ven afectados significativamente por el sexo del paciente (figura 20).



**Figura 20.** Influencia del sexo en niveles de triglicéridos en los 13 voluntarios.

Aunque existe una ligera variación en las medias, se aprecia que el sexo masculino es el que tiene el nivel más alto. Lo cual se puede deber a alteraciones en la vida cotidiana, el uso excesivo de sustancias tóxicas en la alimentación o en personas adultas la existencia de alguna enfermedad como hipertensión, Rubio (2017).

Asimismo, Tarnopolsky (1995), menciona que en cuestiones de deporte se ha demostrado que las mujeres logran oxidar más lípidos. Aunque la tendencia en este tipo de desórdenes es una prevalencia más alta en mujeres que en hombres, debido a que la relación entre la alimentación y la vida cotidiana de la persona es de peso para la disminución de estos niveles.

Comparando los valores finales respecto a los iniciales se obtuvo una variación de 0.32% de promedio general. Sin embargo, los pacientes presentaron variación individual la cual se puede apreciar en la sección de anexos en la tabla niveles de triglicéridos.

## CONCLUSIONES

Se establecieron condiciones para tres métodos de extracción de componentes bioactivos, evaluándose la efectividad de extracción sobre las hojas de *Manilkara zapota*, así como los posibles efectos en la disminución de colesterol y triglicéridos en sangre.

Se determinaron tiempos de 12 min y 4 hrs para la extracción en métodos artesanales, con temperaturas de ebullición y en constante agitación durante el proceso. Por su parte el sistema Soxhlet se llevó a cabo utilizando éter de petróleo como solvente (temperatura estándar 40-60°C), y se realizaron 4 lavadas a la muestra. En base a porcentajes de rendimiento presento una mayor efectividad el método Soxhlet (85.25%), seguido del método artesanal de 4 horas (79.75%), siendo el método de artesanal de 12 min (68.75%) el que mostro un menor porcentaje de extracción.

De acuerdo con el análisis en la disminución de colesterol y triglicéridos pocos pacientes mostraron diferencia significativa, sin embargo, la mayoría mostraron una disminución aun sin que la dieta fuese cambiada. Por tal motivo podemos considerar esta infusión como una alternativa en el tratamiento de estas enfermedades, sin considerarlo un medicamento.

## BIBLIOGRAFIA

- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D., & Lightfoot, D. (2017). Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants* (6):1-23.
- Azmir, J., Zaidul, I., Rahman, M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F. . . . Omar, A. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* 117(4):426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Balch, J., & Balch, P. (2002). *Recetas nutritivas que curan*. New York: Avery.
- Banožić, M., Babić, J., & Jokić, S. (2020). Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industrial waste-a review. *Industrial Crops and Products*, 144:112009. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112009>
- Biao, L., Jie, G., Dua, L., Dua, J., Qia, K., Liang, X., Ying, X., & Hui, Z. (2019). Comparative study on the extraction of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge (yellow horn) seed oil using subcritical n-butane, supercritical CO<sub>2</sub>, and the Soxhlet method. *LWT - Food Science and Technology* (111): 548-554.
- CEM.com (2000). Cem mars 6. Recuperado 12 febrero, 2020, de <http://cem.com/es/mars-6>
- CONAFOR. (2010). *Manilkara zapota* (L.) P. Royen. [En línea]. Citado el 4 de febrero de 2020 Sitio web: [https://www.cnf.gob.mx:8443/snif/especies\\_forestales/detalles.php?tipo\\_especie=20](https://www.cnf.gob.mx:8443/snif/especies_forestales/detalles.php?tipo_especie=20)
- Cordero, J. & Boshier, D. (2003). *Árboles de Centroamérica un Manual para extensionistas*. Oxford Forestry Institute (OFI) 1079.

- Cruz, J., & Lopez L. (2004). Demography of the seedling bank of *Manilkara zapota* (L.) Royen, in a subtropical rain forest of Mexico. *Plant Ecology* (172)227–235. <https://doi.org/10.1023/B:VEGE.0000026341.46440.f5>
- Cruz J. & Lopez L. (2010). Cambios ontogénicos en la morfología de plántulas de *Manilkara zapota*: análisis de sus implicaciones ecológicas. *Revista mexicana de biodiversidad* 81(1):1-4.
- Damodaran, S., Kirk, I., & Fennema, O. (2008). *Fennema química de los alimentos*. España: Acribia, S.A. Zaragoza.
- Dergal Badui, Salvador. (2006). *Química de alimentos*. México: Pearson Education.
- Dong, H., Yan, Y., Liu, J., Cheng, H., Zhao, X., Shan, X., Huang, G., Mi, J., Mi, J., Liu, J., Cheng, H., Zhao, X., Shan, X., Huang, G., Hou, D., Wang, W., Meng, L., Liu, Q., Yi, Y., ... Zhu, G. (2020). Reference centiles for evaluating total body fat development and fat distribution by dual-energy x-ray absorptiometry among children and adolescents aged 3–18 years. *Clinical Nutrition* 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.08.012>
- Essien, S. O., Young, B., & Baroutian, S. (2020). Recent advances in subcritical water and supercritical carbon dioxide extraction of bioactive compounds from plant materials. *Trends in Food Science & Technology* 97: 156–169. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.014>
- Farahmandfar, R., Asnaashari, M., & Bakhshandeh, T. (2019). Influence of ultrasound-assist and classical extractions on total phenolic, tannin, flavonoids, tocopherol and antioxidant characteristics of *Teucrium polium* aerial parts. *Journal of food measurement and characterization* (13): 1357-1363.
- Fayek, N., Abdel, A., Mossa, M., Meselhy, R., & Shazly, A. (2012). Chemical and biological study of *Manilkara zapota* (L.) Van Royen leaves (Sapotaceae) cultivated in Egypt. *Pharmacognosy Research* (4):85-91.
- Franco, L. P., Gonçalves Zardini Silveira, A., Sobral de Assis Vasconcelos Lima, R., Horst, M. A., & Cominetti, C. (2018). APOE genotype associates

with food consumption and body composition to predict dyslipidaemia in Brazilian adults with normal-weight obesity syndrome. *Clinical Nutrition*, 37(5):1722-1727. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.07.002>.

- Ganguly, A.,Mahmud, Z.,Nasir, M., & Rahman,S.(2013). In-vivo anti-inflammatory and anti-pyretic activities of Manilkara zapota leaves in albino Wistar rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* (4):301-307.
- Gao, S., Hu, G., Li, D., Sun, M., & Mou, D. (2020). Anti-hyperlipidemia effect of sea buckthorn fruit oil extract through the AMPK and Akt signaling pathway in hamsters. *Journal of Functional Foods* 66:103837. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103837>
- Gazel,A. (2002). Multivariate analysis of plants sapodilla (Manilkara zapota (L.) p. van Royen) col.,lection of CATIE´s. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24(3):727-730.
- Gligor, O., Mocan, A., Moldovan, C., Locatelli, M., Crian, G., & Ferreira, I. (2019). Enzyme-assisted extractions of polyphenols – a comprehensive revi. *Trends in Food Science & Technology* (88):302-315.
- Guan, V. X., Mobasheri, A., & Probst, Y. C. (2019). A systematic review of osteoarthritis prevention and management with dietary phytochemicals from foods. *Maturitas* 122:35–43. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2019.01.005>
- Hao, M., Guan, Z., Gao, Y., Xing, J., Zhou, X., Wang, C., Xu, J., & Li, W. (2020). Huang-Qi San ameliorates hyperlipidemia with obesity rats via activating brown adipocytes and converting white adipocytes into brown-like adipocytes. *Phytomedicine* 78:153292. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153292>
- Horsager, C., Færk, E., Lauritsen, M. B., & Østergaard, S. D. (2020). Validation of the Yale Food Addiction Scale 2.0 and estimation of the population prevalence of food addiction. *Clinical Nutrition* 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.12.030>

- Ibrahim, M. (2018). Biological evaluation of phytoconstituents from *Markhamia tomentosa* ethanolic leaf extract. *South African Journal of Botany* (115):31-36.
- Izquierdo, S., Crespo, A., Conde, T., López, O., González, M., & Llópiz, J. (2013). Extracción asistida por microondas de lípidos de las semillas de *Cucurbita pepo* L. (calabaza). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* (18):1028-4796.
- Gil-Chávez, G., Villa, J. A., Fernando Ayala-Zavala, J., Basilio Heredia, J., Sepulveda, D., Yahia, E. M., & González-Aguilar, G. A. (2013). Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12(1):5-23. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12005>
- Jimenez, A. (2017, 1 julio). Medicina tradicional. Recuperado 12 febrero, 2020, de [http://www.conamed.gob.mx/gobmx/boletin/pdf/boletin13/medicina\\_tradicional.pdf](http://www.conamed.gob.mx/gobmx/boletin/pdf/boletin13/medicina_tradicional.pdf)
- Kaneria, M., & Chanda, S. (2012). Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of *Manilkara zapota* L. (chiku) leaves by sequential soxhlet extraction method. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* (5): S1526-S1533.
- Kim, Y. J., Kim, D.-O., Chun, O. K., Shin, D.-H., Jung, H., Lee, C. Y., & Wilson, D. B. (2005). Phenolic Extraction from Apple Peel by Cellulases from *Thermobifida fusca*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(24):9560-9565. <https://doi.org/10.1021/jf052052j>
- Koh, Y., Ho, C., & Pan, M. (2020). Recent advances in cancer chemoprevention with phytochemicals. *Journal of Food and Drug Analysis* 28(1):14–37. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.11.001>
- Kong, K. W., Mat Junit, S., Aminudin, N., & Abdul Aziz, A. (2019). Phytochemicals in *Barringtonia* species: Linking their traditional uses as food

and medicine with current research. *Journal of Herbal Medicine* 100299. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100299>

- Kreisberg, R. A., & Reusch, J. E. B. (2005). Hiperlipidemia (Exceso de grasas en la sangre). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90(3),0-0. <https://doi.org/10.1210/jcem.90.3.9992>
- La Barbera, G., Capriotti, A. L., Cavaliere, C., Montone, C. M., Piovesana, S., Samperi, R., Laganà, A. (2017). Liquid chromatography-high resolution mass spectrometry for the analysis of phytochemicals in vegetal-derived food and beverages. *Food Research International* 100:28–52. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.080>
- Lim, K., Cabajar, A., Lobarbio, C., Taboada, & Lacks, D. (2019). Extraction of bioactive compounds from mango (*Mangifera indica* L. var. Carabao) seed kernel with ethanol–water binary solvent systems. *Association of Food Scientists & Technologists* (56):2536–2544.
- Lim, T. K. (2013). *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 6, Fruits* (2013 ed., Vol.6). Springer.
- Ling, Y., Shi, Z., Yang, X., Cai, Z., Wang, L., Wu, X., Ye, A., & Jiang, J. (2020). Hypolipidemic effect of pure total flavonoids from peel of Citrus (PTFC) on hamsters of hyperlipidemia and its potential mechanism. *Experimental Gerontology* 130:110786. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.110786>
- Liu, Q., Liu, F.-C., Li, J.-X., Huang, K.-Y., Yang, X.-L., Chen, J.-C., Liu, X.-Q., Cao, J., Shen, C., Yu, L., Zhao, Y.-X., Wu, X.-P., Zhao, L.-C., Li, Y., Hu, D.-S., Lu, X.-F., Huang, J.-F., & Gu, D.-F. (2020). Sedentary behavior and risk of incident cardiovascular disease among Chinese adults. *Science Bulletin* 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.scib.2020.05.029>
- Liu, X., Qian, X., Tu, R., Mao, Z., Huo, W., Zhang, H., Jiang, J., Zhang, X., Tian, Z., Li, Y., & Wang, C. (2020). SOCS3 methylation mediated the effect of sedentary time on type 2 diabetes mellitus: The Henan Rural Cohort study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 30(4), 634-643. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.11.007>

- Ma, Z. F., Ahmad, J., Zhang, H., Khan, I., & Muhammad, S. (2020). Evaluation of phytochemical and medicinal properties of Moringa (*Moringa oleifera*) as a potential functional food. *South African Journal of Botany*, 129, 40-46. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.12.002>
- missouribotanicalgarden.org. (2017). Manilkara zapota. [En línea]. Citado el 4 de febrero de 2020, Sitio web: <https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=286825&isprofile=0>
- Moore, J., Cheng, Z., Su, L., & Yu, L. (Lucy). (2006). Effects of Solid-State Enzymatic Treatments on the Antioxidant Properties of Wheat Bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(24):9032-9045. <https://doi.org/10.1021/jf0616715>
- Moreira, S. A., Alexandre, E. M., Pintado, M., & Saraiva, J. A. (2019). Effect of emergent non-thermal extraction technologies on bioactive individual compounds profile from different plant materials. *Food Research International* 115:177–190. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.046>
- Niimi, M., Yang, D., Kitajima, S., Ning, B., Wang, C., Li, S., Liu, E., Zhang, J., Eugene Chen, Y., & Fan, J. (2016). ApoE knockout rabbits: A novel model for the study of human hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 245:187-193. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.12.002>
- Otari, S., Patil, R., Ghosh, S., & Pawar, S. (2013). Green phytosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Manilkara zapota* (L.) seeds and its inhibitory action against *Candida* species. *Materials Letters* (6): 367-369.
- Pientaweeratch, S., Panapisal, V., & Tansirikongkol, A. (2016). Antioxidant, anti-col.,lagenase and anti-elastase activities of *Phyllanthus emblica*, *Manilkara zapota* and silymarin: an in vitro comparative study for anti-aging applications. *Pharmaceutical Biology* (9):1865-1872.
- Rajan, M., Rajkumar, G., Farias Lima Guedes, T. J., Chagas Barros, R. G., & Narain, N. (2020). Performance of different solvents on extraction of bioactive

compounds, antioxidant and cytotoxic activities in Phoenix loureiroi Kunth leaves. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 17, 100247. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2020.100247>

- Rouessac, F., Rouessac, A., & Ourisson, G. (2000). *Análisis Químico, Métodos y Técnicas Instrumentales Modernas*. Madrid España: Mc Graw Hill.
- Rubio, G., Arana, P., Lozano, N., Morales, L., Guerrero, G., Vargas, A. (2017). Riesgo aumentado de trastornos metabólicos en prehipertensos. *Medicina familiar*, 19(3):57-60.
- Selvamuthukumar, M., & Shi, J. (2017). Recent advances in extraction of antioxidants from plant by-products processing industries. *Food Quality and Safety* 1(1):61-81. <https://doi.org/10.1093/fqs/fyx004>
- Serna-Jiménez, J. A., Torres-Valenzuela, L. S., Martínez Cortínez, K., & Hernández Sandoval, M. C. (2018). Aprovechamiento de la pulpa de café como alternativa de valorización de subproductos. *Revista ION*, 31(1), 37-42. <https://doi.org/10.18273/revion.v31n1-2018006>
- Sevilla, B. (2019, 18 septiembre). Número de muertes por enfermedades de la sangre en países de la OCDE 2016. Recuperado 12 febrero, 2020, de <https://es.statista.com/estadisticas/588896/numero-de-muertes-por-enfermedades-de-la-sangre-en-determinados-paises-de-la-ocde/>
- Sherma, J., & Zweig, G.(1972). *Handbook of chromatography*. United States of America: CRC PRESS.
- Tarnopolsky, M. A., Atkinson, S. A., Phillips, S. M., & MacDougall, J. D. (1995). Carbohydrate loading and metabolism during exercise in men and women. *Journal of Applied Physiology* 78(4):1360-1368. <https://doi.org/10.1152/jappl.1995.78.4.1360>
- Vaeli, N., Honarvar, B., Esfandiari, N., & Aboosadi, Z. (2019). A mathematical modelling to extract active ingredients from *Oliveria decumbens* by supercritical fluid extraction through using ultrasonic process. *Mathematical and computer modelling of dynamical systems* (25):261-283.

- Vester, H., Navarro, N. M., & Tecnología, C. D. Q. C. Y. (2007). *Árboles maderables de Quintana Roo*. Fondo Mixto de Fomento a la Investigación Científica y tecnología.
- Vogel, A.I., Tatchell, A.R., Furnis, B.S., Hannaford, A.J. & P.W.G. Smith. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 5th Edition*. Prentice Hall, 1996. ISBN 0-582-46236-3.
- Wang, T., Jónsdóttir, R., Kristinsson, H. G., Hreggvidsson, G. O., Jónsson, J. Ó., Thorkelsson, G., & Ólafsdóttir, G. (2010). Enzyme-enhanced extraction of antioxidant ingredients from red algae *Palmaria palmata*. *LWT - Food Science and Technology* 43(9):1387-1393. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.010>
- Wang, Z.-Y., Jiang, Z.-M., Xiao, P.-T., Jiang, Y.-Q., Liu, W.-J., & Liu, E.-H. (2020). The mechanisms of baicalin ameliorate obesity and hyperlipidemia through a network pharmacology approach. *European Journal of Pharmacology*, 878:173103. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173103>
- Wilkins, M. R., Widmer, W. W., Grohmann, K., & Cameron, R. G. (2007). Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulase and pectinase enzymes. *Bioresource Technology* 98(8):1596-1601. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.06.022>
- Xiao, J., Sarker, S. D., Nahar, L., & Cao, H. (2019). Report on the 2nd International Symposium on Phytochemicals in Medicine and Food (4–7 April 2017, FuZhou, China). *Food Chemistry* 272:182–184. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.044>
- Yong, K. Y., & Abdul Shukoor, M. S. (2020). Manilkara Zapota: A phytochemical and pharmacological review. *Materials Today: Proceedings* 29:30-33. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.688>
- Yurkanis Bruice, Paula. (2008). *Química Orgánica*. México: Pearson Education.
- Yang, Y.-C., Li, J., Zu, Y.-G., Fu, Y.-J., Luo, M., Wu, N., & Liu, X.-L. (2010). Optimization of microwave-assisted enzymatic extraction of corilagin and geraniin from *Geranium sibiricum* Linne and evaluation of antioxidant

activity. *Food Chemistry* 122(1):373-380.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.061>

- Zhao, S., & Zhang, D. (2014). Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of Eucalyptus leaves oil and comparison with Soxhlet extraction and hydro-distillation methods. *Separation and Purification Technology* 133:443–451.  
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.07.018>
- Zhang, S., Lam, K. K. H., Wan, J. H., Yip, C. W., Liu, H. K., Lau, Q. M., . . . Zhang, K. Y. B. (2020). Dietary phytochemical approaches to stem cell regulation. *Journal of Functional Foods* 66:103822.  
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103822>

## **ANEXOS**

### **Datos de método de extracción**

Metodo extracción		Rendimiento (%)	
		Artesanal 1	68.06
Metodo	Rendimient	Artesanal 2	79.32
Artesanal 1	68.75	Soxhlet	85.22
Artesanal 2	79.75		
Soxhlet	85.25		
Artesanal 1	67.75		
Artesanal 2	78.95		
Soxhlet	85.28		
Artesanal 1	66.75		
Artesanal 2	79.67		
Soxhlet	84.95		
Artesanal 1	68.7		
Artesanal 2	79.7		
Soxhlet	84.88		
Artesanal 1	67.74		
Artesanal 2	78.95		
Soxhlet	85.67		
Artesanal 1	68.65		
Artesanal 2	78.92		
Soxhlet	85.3		

### Datos de niveles de colesterol

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Rendimiento (%)	18	1.00	0.99	0.70

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	912.73	2	456.37	1543.25	<0.0001
Metodo	912.73	2	456.37	1543.25	<0.0001
Error	4.44	15	0.30		
Total	917.17	17			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.66919

Error: 0.2957 gl: 15

Metodo	Medias	n	E.E.	
Artesanal 1	68.06	6	0.22	A
Artesanal 2	79.32	6	0.22	B
Soxhlet	85.22	6	0.22	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

ParticipaA1:C66nte	Tratamiento (días)	Nivel Colesterol	Edad	Sexo
1	0	140.8	24	F

2	0	128.7	30	F
3	0	220.4	30	M
4	0	273.2	56	M
5	0	215.4	24	F
6	0	206.2	28	M
7	0	232.9	24	F
8	0	156	23	M
9	0	162.6	22	M
10	0	150.2	26	F
11	0	228.1	47	F
12	0	225.8	60	M
13	0	177.8	44	F
1	15	120.7	24	F
2	15	122.7	30	F
3	15	214.6	30	M
4	15	175	56	M
5	15	233.5	24	F
6	15	192.8	28	M
7	15	209.8	24	F
8	15	167.3	23	M
9	15	192.3	22	M
10	15	141.5	26	F
11	15	195.8	47	F
12	15	180	60	M
13	15	170.5	44	F
1	0	140.8	24	F
2	0	128.7	30	F
3	0	220.4	30	M
4	0	273.2	56	M
5	0	215.4	24	F

6	0	206.2	28	M
7	0	232.9	24	F
8	0	156	23	M
9	0	162.6	22	M
10	0	150.2	26	F
11	0	228.1	47	F
12	0	225.8	60	M
13	0	177.8	44	F
1	15	120.7	24	F
2	15	122.7	30	F
3	15	214.6	30	M
4	15	175	56	M
5	15	233.5	24	F
6	15	192.8	28	M
7	15	209.8	24	F
8	15	167.3	23	M
9	15	192.3	22	M
10	15	141.5	26	F
11	15	195.8	47	F
12	15	180	60	M
13	15	170.5	44	F
1	0	140.8	24	F
2	0	128.7	30	F
3	0	220.4	30	M
4	0	273.2	56	M
5	0	215.4	24	F
6	0	206.2	28	M
7	0	232.9	24	F
8	0	156	23	M
9	0	162.6	22	M

10	0	150.2	26	F
11	0	228.1	47	F
12	0	225.8	60	M
13	0	177.8	44	F
1	15	120.7	24	F
2	15	122.7	30	F
3	15	214.6	30	M
4	15	175	56	M
5	15	233.5	24	F
6	15	192.8	28	M
7	15	209.8	24	F
8	15	167.3	23	M
9	15	192.3	22	M
10	15	141.5	26	F
11	15	195.8	47	F
12	15	180	60	M
13	15	170.5	44	F

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.00000

Error: 0.0000 gl: 52

Nivel Colesterol	Medias	n	E.E.	
192.30	22.00	3	0.00	A
162.60	22.00	3	0.00	A
156.00	23.00	3	0.00	B
167.30	23.00	3	0.00	B
232.90	24.00	3	0.00	C
233.50	24.00	3	0.00	C
215.40	24.00	3	0.00	C
120.70	24.00	3	0.00	C
209.80	24.00	3	0.00	C
140.80	24.00	3	0.00	C
150.20	26.00	3	0.00	D
141.50	26.00	3	0.00	D
206.20	28.00	3	0.00	E
192.80	28.00	3	0.00	E
122.70	30.00	3	0.00	F
220.40	30.00	3	0.00	F
214.60	30.00	3	0.00	F
128.70	30.00	3	0.00	F
170.50	44.00	3	0.00	G
177.80	44.00	3	0.00	G
195.80	47.00	3	0.00	H
228.10	47.00	3	0.00	H
175.00	56.00	3	0.00	I
273.20	56.00	3	0.00	I
225.80	60.00	3	0.00	J
180.00	60.00	3	0.00	J

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.00000

Error: 0.0000 gl: 52

Sexo Medias n E.E.

F	31.29	42	0.00	A
M	36.50	36	0.00	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

#### Nivel Colesterol

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Nivel Colesterol	78	0.29	0.19	18.72

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	33244.35	9	3693.82	3.05	0.0040
Edad	33244.35	9	3693.82	3.05	0.0040
Error	82433.08	68	1212.25		
Total	115677.43	77			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=37.70014

Error: 1212.2512 gl: 68

Edad Medias n E.E.

26	145.85	6	14.21	A
23	161.65	6	14.21	A B
30	171.60	12	10.05	A B C
44	174.15	6	14.21	A B C D
22	177.45	6	14.21	A B C D
24	192.18	18	8.21	B C D E
28	199.50	6	14.21	B C D E
60	202.90	6	14.21	C D E
47	211.95	6	14.21	D E
56	224.10	6	14.21	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

## Datos de triglicéridos

Nueva tabla : 6/16/2020 - 10:27:32 PM - [Versión : 9/20/2018]

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Nivel de triglicéridos	78	0.77	0.72	22.19

Datos desbalanceados en celdas.  
 Para otra descomposición de la SC  
 especifique los contrastes apropiados.. !!

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	247959.61	13	19073.82	16.12	<0.0001
Voluntarios	247957.58	12	20663.13	17.47	<0.0001
Tratamiento (días)	2.04	1	2.04	1.7E-03	0.9670

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=39.67081

Error: 1183.0144 gl: 64

Voluntarios Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.					
1	81.45	6	15.29	A				
4	88.50	6	15.29	A	B			
2	89.10	6	15.29	A	B			
7	91.20	6	15.29	A	B			
11	123.05	6	15.29		B	C		
5	152.15	6	15.29			C	D	
8	157.20	6	15.29			C	D	
10	158.75	6	15.29			C	D	
6	170.30	6	15.29			D	E	
9	206.75	6	15.29				E	F
3	215.65	6	15.29					F
12	220.75	6	15.29					F
13	260.45	6	15.29					G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=15.56017

Error: 1183.0144 gl: 64

Tratamiento (días) Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.	
0	154.86	39	6.00	A
15	155.18	39	6.00	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Nivel de triglicéridos	78	0.56	0.51	29.41

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	182295.96	9	20255.11	9.74	<0.0001
Edad	182295.96	9	20255.11	9.74	<0.0001
Error	141376.58	68	2079.07		
Total	323672.54	77			

**Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=49.37202**

Error: 2079.0673 gl: 68

Edad Medias n E.E.

56	88.50	6	18.61	A
24	108.27	18	10.75	A
47	123.05	6	18.61	A B
30	152.38	12	13.16	B
23	157.20	6	18.61	B C
26	158.75	6	18.61	B C
28	170.30	6	18.61	B C D
22	206.75	6	18.61	C D
60	220.75	6	18.61	D E
44	260.45	6	18.61	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Nivel de triglicéridos	78	0.10	0.08	40.04

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	30910.24	1	30910.24	8.02	0.0059
Sexo	30910.24	1	30910.24	8.02	0.0059
Error	292762.30	76	3852.14		
Total	323672.54	77			

**Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=28.07632**

Error: 3852.1355 gl: 76

Sexo Medias n E.E.

F	136.59	42	9.58	A
M	176.53	36	10.34	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)