

MÉXICO: UN TESORO FITOQUÍMICO

CIN2017A10276



17 DE FEBRERO DE 2017

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE MÉXICO CAMPUS "HISPANO"

AGUILAR CASTAÑEDA YARELI LIZBETH

RÍOS PALACIOS JOCELYNN

ASESORA: NALLELY ROSALBA ROMÁN CORTÉS

ÁREA: CIENCIAS BIOLÓGICAS, QUÍMICAS Y DE LA SALUD

DICIPLINA: QUÍMICA

TIPO DE INVESTIGACIÓN: EXPERIMENTAL

Índice

Resumen	2
Abstract	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MARCO TEÓRICO.....	4
Nutracéuticos	4
a) Carotenoides	5
b) Polifenoles	5
c) Vitamina c	6
Estrés oxidativo	6
Antioxidantes.....	7
Especies vegetales alimenticias.....	7
Nanche (Byrsonima crassifolia).....	8
Huaya (Melicoccus bijugatus).....	9
Chicozapote (Manilkara zapota).....	9
Metodología.....	10
Resultados.....	13
Conclusiones.....	14
Bibliografía.....	15

Resumen

México es un país con una amplia diversidad de frutas y verduras, mismas que se consumen desde tiempos ancestrales como parte de sus tradiciones y costumbre; sin embargo, hoy en día se desconoce el valor nutricional y nutracéutico pese a su consumo vigente en la dieta básica de poblaciones rurales principalmente del centro y sur de México. El objetivo fue evaluar los componentes nutricionales y antioxidantes del chicozapote (*Manilkara zapota*), huaya (*Melicoccus bijugatus*) y nanche (*Byrsonima cassifolia*). Se cuantificó el contenido de flavonoides, fenoles totales, vitamina C, carotenoides y actividad antioxidante. El nanche presenta contenido de compuestos fitoquímicos y potencial antioxidante contra radicales libres; además de ser una especie de consumo subvalorado de alto valor nutricional y funcional.

Palabras clave: antioxidante, fenoles, flavonoides.

Abstract

Mexico is a country with a wide variety of fruits and vegetables, which have been consumed since ancient times as part of their traditions and custom; however today the nutritional and nutraceutical value is unknown despite its current consumption in the basic diet of rural populations mainly in central and southern Mexico. The objective was to evaluate the nutritional and antioxidant components of chicozapote (*Manilkara zapota*), huaya (*Melicoccus bijugatus*) and nanche (*Byrsonima cassifolia*). The content of flavonoids, total phenols, carotenoids and antioxidant activity were quantified. The nanche presents content of phytochemical compounds and antioxidant potential against free radicals; besides being a kind of undervalued consumption of high nutritional and functional value.

Key words: antioxidant, total phenols, flavonoids.

INTRODUCCIÓN

La gran diversidad vegetal y la amplia riqueza cultural de México han favorecido el aprovechamiento de las plantas con fines medicinales y alimenticias desde épocas prehispánicas; sin embargo, el tipo de vida de la mayoría de la población, sedentaria y rápida ha llevado al incremento en el consumo de grasas, azúcares y alimentos refinados, enlatados y/o procesados; disminuyendo la preparación de alimentos frescos y de origen natural. De esta manera se han perdido conocimientos o no se ha estudiado su valor nutracéutico (García de Alba *et al.*, 2012).

Es importante destacar el potencial nutricional, nutracéutico y antioxidante de varias plantas alimenticias de México, endémicas de la región como una contribución a la seguridad alimentaria utilizadas ancestralmente en la alimentación de nuestra cultura prehispánica. Sin embargo, su amplia adaptabilidad a condiciones ecológicas estresantes para otros cultivos y la extensa gama de formas de aprovechamiento, muchas de las cuales continúan vigentes, particularmente en las comunidades rurales en las que aún se practica la agricultura tradicional, no se han estudiado nutracéuticamente y se desconoce su potencial antioxidante (García de Alba *et al.*, 2012).

Los nutracéuticos son productos alimenticios que ejercen acción benéfica en la salud o bien previenen enfermedades; los antioxidantes son un tipo específico de nutracéutico (García de Alba *et al.*, 2012). Un antioxidante (eliminador de radicales libres) es un compuesto que inhibe o retrasa la oxidación de sustratos, incluso si el compuesto está presente en una concentración significativamente más baja que es la del sustrato oxidado. Entre los antioxidantes más eficaces se encuentran la vitamina C y E, carotenoides, flavonoides, ácidos fenólicos (Wojdylo *et al.*, 2007; Serrano *et al.*, 2007).

Los efectos aditivos y sinérgicos entre los antioxidantes y los nutrientes son capaces de contribuir con efectos benéficos a la salud (Serrano *et al.*, 2007); incrementándose el interés científico por estudios clínicos y epidemiológicos que tratan de buscar la correlación entre la ingesta de alimentos o componentes de los mismos con la prevención de algunas enfermedades cardiovasculares, visuales, neurológicas, cáncer, envejecimiento, diabetes, etc. (Chaturvedi *et al.*, 2011).

Las hierbas, vegetales, frutas, especias y algunas otras plantas alimenticias son usadas en diversas áreas, incluyendo la medicina y la nutrición; además de ser empleadas como condimento, saborizantes, repelentes, fragancias, cosméticos, tinturas, etc. Algunas especies vegetales son reconocidas por sus propiedades medicinales y el impacto benéfico a la salud por su contenido de nutrientes (Wojdylo *et al.*, 2007).

Los nutraceuticos son productos alimenticios que ejercen acción benéfica en la salud o bien posee propiedades medicinales; incluyendo la prevención o tratamiento de enfermedades; los antioxidantes son un tipo específico de nutraceutico (Chaturvedi *et al.*, 2011). Un antioxidante (eliminador de radicales libres) es un compuesto que inhibe o retrasa la oxidación de sustratos, incluso si el compuesto está presente en una concentración significativamente más baja que es la del sustrato oxidado (Kalpa *et al.*, 2011).

De 20 años a la actualidad se ha incrementado la importancia por el consumo de alimentos con beneficios antioxidantes y nutraceuticos (Chaturvedi *et al.*, 2011), entre ellos encontramos a las vitaminas E y C, carotenoides, flavonoides, ácidos fenólicos, etc.; es importante mencionar que la mayoría de los compuestos nutraceuticos son productos naturales obtenidos de especies vegetales (Wojdylo *et al.*, 2007; Serrano *et al.*, 2007).

MARCO TEÓRICO

Nutraceuticos

Término que surge de la unión de las palabras *nutrición* y *farmaceutico*, son los alimentos contienen compuestos bioactivos que ayudan a la salud del ser humano. A pesar de las numerosas investigaciones al respecto, no en muchos casos se conoce su mecanismo de acción, su dosis óptima, potencial o consecuencias por consumo en exceso (Badui, 2013).

Pueden ser de origen vegetal (fitoquímicos), animal y mineral, podemos clasificarlos por su función biológica o por su estructura química.

No son nutrientes asociados a deficiencias en la dieta pero su consumo ayuda a la prevención de ciertas enfermedades y como complemento de fármacos (Valenzuela *et. al.*, 2014).

No debemos confundir a los nutraceuticos con los alimentos funcionales, éstos últimos son cualquier alimento (no necesariamente natural) que además de sus componentes nutritivos contienen otros que favorecen la salud, capacidad física y estado mental de una persona (Badui, 2012).

Los nutraceuticos también llamados fitonutrientes, son compuestos del reino vegetal que requieren ser ingeridos mediante la dieta regular para producir un efecto positivo en nuestra salud (Badui, 2012), algunos de los más conocidos son:

a) Carotenoides

Derivan su estructura del isopreno $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ por lo que tienen actividad antioxidante, producen colores desde el amarillo hasta el rojo intenso.

Se dividen en:

Carotenos: hidrocarburos, neutralizan los radicales libres pero no propagan su reacción, los alimentos que lo contengan son sensibles a la luz, oxígeno y altas temperaturas. Destacan los α β γ - carotenos y licopeno.

- Xantofilas: contienen oxígeno, sin actividad de vitamina A, actividad antioxidante (Badui, 2006).

b) Polifenoles

Efectos antioxidantes, antiinflamatorios, cardioprotectores y antimicrobiano, aunque su consumo en exceso forma un complejo con el hierro y reducen su biodisponibilidad, compuestos polifenólicos a base de una estructura fenólica que incluye a:

- Antocianinas: ayudan a regular la glucosa sanguínea, protección contra cardiopatías, hipertensión y efecto antiinflamatorio (Badui, 2012).
- Flavonoides:
 - Isoflavonas: moléculas con actividad estrogénica por lo que se le considera como un ayudante para controlar el cáncer homonodependiente de mama, disminución de osteoporosis y síntomas postmenopáusicos.

- Flavononas
- Flavonoles
- Taninos
- Lignanós

c) Vitamina c

Derivado de los hidratos de carbono con una estructura de cetona cíclica que se encuentra en vegetales frescos, lácteos, carnes rojas; requerida diariamente porque el hombre no la almacena pues es hidrosoluble. Necesaria para la síntesis del colágeno, formación de huesos, interviene en las reacciones óxido-reducción (Salvador, 2006).

Estrés oxidativo

Exposición de la materia viva a fuentes diversas que producen el desequilibrio entre las sustancias prooxidantes y los antioxidantes, ya sea por el déficit de defensas o por un exceso de la producción de especies reactivas del oxígeno; que altera la función de los órganos o sistemas (Venero, 2002).

Radicales libres: También llamadas especie reactiva del oxígeno (ERO), son aquellas moléculas que presentan un electrón desapareado o impar en el último orbital. Su producción es un fenómeno continuo con implicaciones en el envejecimiento. (Mayor, O. 2010). Incluye: superóxido (O_2^-), radicales de hidroxilo ($OH^\bullet$), peroxilo ($RO_2^\bullet$), hidroperoxilo (H_2O_2) y alcoxilo ($RO^\bullet$) (González, 2011).

El cuadro 1 muestra la clasificación general de los radicales libres que son especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno (Gutiérrez, 2006).

Cuadro 1. Clasificación de radicales libres (RL) y su vida media.					
RADICALES LIBRES					
Especies Reactivas del Oxígeno (ROS)		Vida media (s)	Especies Reactivas del Oxígeno (NOS)		Vida media (s)
O_2^-	Anion superoxido	$>10^{-6}$	NO	Óxido nítrico	$>1^{-10}$
$HO_2^\bullet$	Perhidroxilo	Inestable			
$HO^\bullet$	Radical hidróxilo	10^{-9}	$NO_2^\bullet$	Dióxido de nitrógeno	-
$RO^\bullet$	Radial alcoxilo	10^{-6}			
$HO_2^\bullet$	Peroxilo	10^{-2}	$ONOO^\bullet$	Peróxinitrito	0.05-1

Cano-Europa *et al.* (2015).

Antioxidantes

El organismo cuenta con dos sistemas antioxidantes; enzimático y no enzimático; que en conjunto ayudan a neutralizar la acción de los radicales libres formados en el interior del cuerpo. Cuando el balance celular se inclina hacia los agentes oxidantes por la deficiencia de antioxidantes se produce un fenómeno llamado alteración oxidativa.

Los antioxidantes representan un mecanismo de defensa contra los radicales libres en todas las células, cuando se une con un radical libre le cede un electrón para que éste se haga más débil (Oxila, 2010). Se clasifican en:

Cuadro 2. Clasificación de los antioxidantes según origen.

ENDÓGENO	EXÓGENO
Superóxido dismutasa [SOD]	Polifenoles (flavonas, flavonoles, isoflavonas)
Catalasa [CAT]	Antocianinas
Glutación peroxidasa [GPx]	Licopeno
La ubiquinona	Proantocianinas
La transferrina	Estilbenos
Ceruloplasmina	Quinonas
Lactoferrina	Tocotrienoles
Albúmina	Coumarinas
La bilirrubina	Vitamina E y C
Ácido úrico	Caroteno
Melatonina	Oligoelementos (Se, Zn, Mg y Cu)
Ácido úrico	
Macros y microelementos (Zn y Se)	

Oxilia et al. (2010)

Especies vegetales alimenticias

Especies de plantas cultivadas que son parte de la biodiversidad que actualmente no son apreciados por los consumidores debido a diversos factores -agronómicos, genéticos, comerciales, económicos, sociales, entre otros-.

Debido a su poco conocimiento, los agricultores los cultivan menos por su falta de competitividad con relación a otras especies. Sin embargo, muchas especies subutilizadas son una fuente importante de nutrientes que mejoran nuestra dieta y por ende nuestra salud. (Padulosi y Hoeschle-Zeledon, 2004)

Aunque México es un país megadiverso en especies vegetales, no se conocen muchas de éstas en todo el país, entre tantos frutos seleccionamos aquellos que consideramos accesibles para su consumo; nanche, huaya y chicozapote.

Nanche (*Byrsonima crassifolia*)

El nanche es un fruto amarillo que se conoce como nance, nantzin, changunga, chi, chengua, entre otros; es originario de América tropical y nativo del sureste de México, del vocablo náhuatl *nantzincoyotl* que significa “fruto ácido de las madres o ancianas”. Esta especie vegetal pertenece a:

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Familia: *Malpighiaceae*

Género: *Byrsonima*

En México se encuentra en la zona tropical (Tamaulipas, San Luis Potosí, Veracruz, Tabasco, Yucatán, Quintana Roo, Sinaloa, Nayarit, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas), es cultivada en la costa de Nayarit.

Árbol de 2 a 15 m de altura con tronco color café oscuro, hojas alargadas y simples de 5 por 2 cm con forma elíptica color verde oscuro. Presenta flores en racimos de 12 cm de largo y frutos de 10 a 15 cm de largo color amarillo (Figura 1) ligeramente naranja con pulpa agri dulce y rodeado por 1 a 3 semillas blancas (Jaime, 2009).



Figura 1. Frutos de nanche.

En cuanto a sus propiedades medicinales, el nanche es bueno para aliviar problemas estomacales, ginecológicos, antiséptico, infecciones renales, antipiréticas y astringentes.

Huaya (*Melicoccus bijugatus*)

Árbol originario de América Central, en México abunda en los estados de Yucatán, Quintana Roo Campeche; los frutos tienen un sabor agri dulce y funcionan como laxantes.

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Familia: *Sapindaceae*

Género: *Melicoccus*

Por sus propiedades medicinales es utilizado para combatir el cáncer, infecciones urinarias y bronquiales.



Figura 2. Pulpa y cáscara de huaya.

Chicozapote (*Manilkara zapota*)

Árbol de hasta 40 m de altura y frutos ovados de color pardo, pulpa carnosa y dulce con semillas negras y brillantes (Figura 3). Originario de Mesoamérica, climas semicálido y cálido. Esta especie vegetal y alimenticia pertenece a:

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Familia: *Sapotaceae*

Género: *Manilkara*

Por sus propiedades medicinales se utiliza para problemas digestivos, insomnio, hemorragias vaginales, quemaduras, tratamiento de la tuberculosis y presión alta.



Figura 3. Fruto de chicozapote.

Metodología

a. Recolección del material vegetal.

Las especies vegetales chicozapote (*Manilkara zapota*), huaya (*Melicoccus bijugatus*) y nanche (*Byrsonima crassifolia*) fueron obtenidos en la Central de Abasto de Ecatepec ubicada en Avenida Carlos Hank González (AV. CENTRAL), Colonia Santa Cruz Venta de Carpio en el Municipio de Ecatepec de Morelos, Estado de México. Se seleccionaron cuidadosamente aquellos frutos que no presentaban alteración morfológica visible, ni indicios de afecciones patógenas.

b. Preparación del material vegetal fresco.

A 1g de materia vegetal fresco fue colocado en un tubo de ensaye se le agregó 10 mL de metanol acuoso al 80%; la suspensión fue agitada ligeramente, los tubos fueron sonicados por 15 min a temperatura ambiente; posteriormente se dejaron reposando los extractos por 24 h. Los extractos metanólicos fueron filtrados y centrifugados por 10 min a 1500 rpm, los sobrenadantes fueron colectados y mantenidos a 4°C para su posterior uso en las próximas 24 h (Wojdylo *et al.*, 2007).

c. Estimación del contenido de flavonoides.

Se empleó el método colorimétrico descrito por Chang *et al.* (2002) con cloruro de aluminio; en donde a se tomaron 0.5 ml del sobrenadante de los extractos metanólicos previamente preparados, se le agregó 1.5 mL de metanol (MeOH) acuoso al 95% (v/v), 0.1 mL de cloruro de aluminio al 10% (AlCl₃, p/v), 0.1 mL de acetato de potasio (0.1 M) y 2.8 mL de agua destilada. La mezcla es agitada y se incuba por 30 min a temperatura ambiente transcurrido el periodo de incubación se lee la absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro Genesys 10S. Para su cuantificación se elaboró una curva patrón de la flavona quercetina de (0 - 300 mg/L).

Los resultados de del contenido de flavonoides totales se reporta como mg equivalentes de quercetina en 100 g⁻¹ de peso fresco (mg EQ100 g⁻¹ p.f.). Los resultados se presentan con la media ± desviación estándar (DE, n=3). El contenido total de flavonoides se cuantifico empleando la siguiente formula:

$$\frac{\text{mg de quercetina}}{100 \text{ g de pf}} = \left[\frac{\left(\frac{\text{Abs} - b}{m} \right)}{C} \right] * 100$$

Ecuación 1. Determinación de flavonoides.

En donde:

Abs = absorbancia de la mezcla después de adicionar la muestra o estándar.

b = ordenada al origen de la curva estándar.

m = pendiente de la curva estándar.

C = concentración de la muestra (g/L).

d. Determinación de fenoles totales.

Se utilizó el método espectrofotométrico descrito por Folín y Ciocalteu, (1927) con algunas modificaciones de Madahujith y Shahidi, (2005); esta técnica se fundamenta en el carácter reductor del reactivo Folín-Ciocalteu, con coloración azul. De las muestras previamente preparadas (extractos MeOH, apartado 1.2.) se tomaron 0.5 mL a los cuales se les agregó 0.5 mL del reactivo Folín-Ciocalteu [0.2N] y 4 mL de Na₂CO₃ [0.7M], la mezcla fue agitada vigorosamente en vórtex e incubada a temperatura ambiente y en oscuridad durante aproximadamente 2 horas. Una vez finalizada la incubación, la mezcla se analizó en un espectrofotómetro Genesys 10S a una λ de 765 nm, registrando de este modo su absorbancia. El blanco empleada fue agua, siguiendo la misma metodología antes descrita.

El control empleado fue ácido gálico (0 – 400 mg/L). Las pruebas se realizaron por triplicado; los resultados se reportan como el promedio de las mismas con su respectiva desviación estándar. Los resultados se expresan en mg equivalentes de ácido gálico en 100 g⁻¹ de peso fresco (mg EAG 100 g⁻¹ p.f.). Calculados mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\left(\frac{Abs - b}{m}\right)}{[C]} [=] \frac{mg \text{ de ácido gálico}}{g \text{ de peso fresco}}$$

Ecuación 2. Cuantificación de fenoles totales.

En donde:

Abs = absorbancia después de adicionada la muestra a analizar o la referencia.

m = pendiente de la curva estándar.

b = ordenada al origen de la curva estándar.

C = concentración de la muestra (g/L).

e. Contenido de carotenoides

Se cuantificó el contenido total de clorofila y carotenos de acuerdo al método propuesto por Lichtenthaler (1987). A 10 mL de acetona al 80 % se añadieron a 10 mL de jugo, la solución se filtró y se obtuvo la absorbancia a 663, 646 y 476 nm, con acetona como blanco. Las concentraciones se calcularon con las siguientes fórmulas:

Clorofila a (Ca) = $12.25 A_{663} - 2.79 A_{646}$

Clorofila b (Cb) = $21.50 A_{646} - 5.10 A_{663}$

Clorofila total (Ca + b) = $7.15 A_{663} + 18.71 A_{646}$

Carotenos = $(1000 A_{476} - 1.63 Ca - 104.96 Cb) (221-1)$

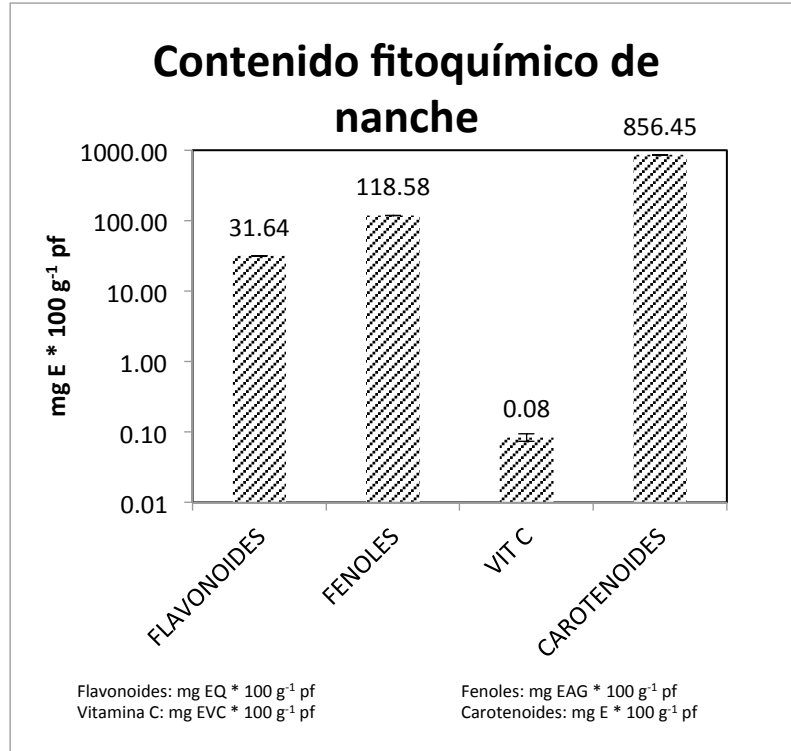
f. Determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilben-zotiazolin)-6-sulfónico).

La AAO y el porcentaje de inhibición se determinaron usando la metodología descrita por Re *et al.* (1999). Se preparó una solución del radical ABTS $\cdot^-$ (7 mM) con persulfato de potasio (K₂S₂O₈, 2.45 mM); la mezcla se deja en reposo a temperatura ambiente (± 25 °C), en oscuridad durante aproximadamente 16 h antes de poder empleado en los análisis siguientes, la coloración el azul/verde intenso que permanece estable durante las primeras 48 horas, después de su preparación. Una vez formado el radical libre de ABTS $\cdot^-$, se diluye con cantidad suficiente de etanol (a 1 ml del radical se le adicionan de 75 a 100 ml de EtOH) hasta lograr obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.1 a una longitud de onda de 734 nm a una temperatura media de 30°C. Una vez cumplido este objetivo, se tomó 1 ml del radical así formado, se colocó en tubos de ensaye y se le adicionaron 10 μ L de las muestras previamente preparadas (extractos metanólicos). La mezcla fue agitada vigorosamente en un vórtex y posteriormente se incubo en baño maría a 30°C. Finalmente se tomaron lecturas de absorbancia a λ 734 nm de las mezclas a los minutos 1 y 7 después de la incubación.

Resultados

Se buscaron frutos homólogos a los seleccionados para el estudio; el kiwi, zapote y la acerola pertenecen a la misma orden que el chicozapote, jocote y nanche, respectivamente. Se espera obtener mejores resultados de las propiedades fitoquímicas en los vegetales estudiados comparados con los frutos antes mencionados.

La grafica 1 muestra el contenido de fitoquímicos del nanche, mismos que se están comparando con otras frutas.



Existen estudios que demuestran una relación directa del contenido de fenoles con la actividad antioxidante. El cuadro 3 muestra la actividad antioxidante y el porcentaje de inhibición de radicales libres de fruto comestible nanche.

Cuadro 3. Actividad antioxidante por ABTS del extracto de nanche.

FRUTO	ABTS* 7 min	
	AAO (mg ET 100 g ⁻¹ p.f.) ^z	% de inhibición
Nanche	234.77 ± 4.5	40.32 ± 0.8

^zLos resultados se reportan media ± DE.

Conclusiones

El fruto de nanche presenta contenido de fenoles y flavonoides; en consecuencia presentan actividad antioxidante o potencial secuestrador de radicales libres; los frutos

de carácter alimenticio constituyen una fuente importante de compuestos bioactivos y/o fitoquímicos con diferentes actividades biológicas, entre las que destacan la actividad antiinflamatoria, anticancerígena, antimicrobiana, antioxidantes, etc.; además de que son importantes para contrarrestar efectos de desnutrición en la población; de aquí la importancia de estudiar y realizar investigaciones que contribuyan al incremento del conocimiento de estas especies vegetales alimenticias.

Bibliografía

Badui, S. 2012. *La ciencia de los alimentos en la práctica*. México: Pearson. p.p 78-81.

Badui Salvador. 2006. *Química de los alimentos*. México: Pearson Educación. p.p 387-706.

Cano-Europa, E.; Blas-Valdivia V.; Franco-Colin M. and Ortíz-Butron, R. 2015. Regulation of the redox environment. *In: Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress*. Sivakumar, J. T. G. (ed.). InTech. pp: 3-15.

Cepedes Miranda. 2000. *Un acercamiento a la teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo en el envejecimiento*. Noviembre 8, 2016, de Scielo.sld.cu Sitio web: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03002000000300007&script=sci_arttext&lng=pt

Chang, C. M.; Yang, H. W. and J. Chern. 2002. Estimation of total flavonoids content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal Food and Drug Analysis* 10(3): 176-182.

Chaturvedi, S.; Sharma, P. K.; Garg, V. K.; Bansal, M. (2011). Role Of Nutraceuticals In Health Promotion. **International Journal Of Pharmtech Research Health** 3(1): 442-448.

Folin, O.; Ciocalteau, V. 1927. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **The Journal of Biological Chemistry** 73(2): 627-650.

García de Alba, J. E.; Ramírez, H. B. C.; Robles, A. G.; Zañudo, H. J.; Salcedo, R. A. L.; García de Alba, V. J. E. 2012. Conocimiento y Uso de las Plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. **Saberes y Razones** 39: 29-44.

Gutiérrez, J. 2006. ¿Qué sabe usted acerca de... radicales libres? **Revista Mexicana**

de Ciencias Farmacéuticas, vol 37, núm. 4. 69-73

Gutiérrez Justo. 2002. *Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes*. Noviembre 8, 2016, de Scielo.sld.cu Sitio web: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009

Jaime, C. 2009. Caracterización morfológica de fruto y semilla de nanche *Byrsonima crassifolia* (L). Kunt Y su relación con la capacidad germinativa. **Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas**. 8-13

Kalpa, R.; Mital, K.; Sumitra, Ch. 2011. Vegetable and fruit peels as a novel source of antioxidants. **Journal of Medicinal Plants Research** 5(1): 63-71.

Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology** 148: 350-382.

Madhujith, T.; Shahidi, F. 2005. Antioxidant potential of pea beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Science** 70(1): S85-S90.

Martínez, S. González, J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición hospitalaria**. 272-274.

Mata, S. 2009. Chicozapote. febrero 13, 2017, de Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana Sitio web: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Manilkara%20Ozapota&id=7519>

Mayor-Oxilia, R. 2010. Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** 5(2): 23-29.

Morrison Robert. (1985). *Química orgánica*. Estados Unidos de América: Pearson Education. P.p 980-984.

Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M. Y Rive-Evans, C. 1999. Antioxidant activity an improved ABTS radical catión decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine** 26(9/10): 1231-1237.

Padulosi, S. Hoeschle-Zeledon, I. 2004. **¿A qué llamamos especies subutilizadas?** LEISA Revista de Agroecología. 6-8.

Valenzuela, A. *et al.* 2014. Alimentos fucnionales, nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? **Instituto de Nutrición y Tecnología de los**

Alimentos (INTA). 201-203.

Wojdylo, A.; Oszmiański, J.; Czemerys, R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. **Food Chemistry** 105(3): 940-949.