



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

**LAS PLANTAS Y FRUTAS DE LA COCINA  
TRADICIONAL YUCATECA COMO ALIMENTOS  
FUNCIONALES EN LA DIETA DIARIA**

Tesis que presenta

**MÓNICA ANAHÍ GUILLEN POOT**

En opción al título de

**MAESTRO EN CIENCIAS**

(Ciencias Biológicas: Opción Biotecnología)

Mérida, Yucatán, México  
2019



CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



**RECONOCIMIENTO**

Por medio de la presente hago constar que el trabajo de tesis de la **L.F. Mónica Anahí Guillen Poot**, titulado “**Las plantas y frutas de la cocina tradicional yucateca como alimentos funcionales en la dieta diaria**”, fue realizado en los laboratorios de la Unidad de Biotecnología del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección del Dr. Luis Manuel Peña Rodríguez, dentro de la opción de Biotecnología, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

Atentamente:

---

Dr. Clelia De la Peña Seaman  
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 8 de agosto de 2019.



## DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se regirán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized letters and a horizontal line, positioned above the printed name.

Mónica Anahí Guillen Poot



Este trabajo se llevó a cabo en la Unidad de Biotecnología del Centro de Investigación Científica de Yucatán, y forma parte del proyecto titulado “**Las plantas y frutas de la cocina tradicional yucateca como alimentos funcionales en la dieta diaria**” en el que participé bajo la dirección del **Dr. Luis Manuel Peña Rodríguez**.





## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para mis estudios de maestría con No. 618967.

A los laboratorios de la Unidad de Biotecnología del CICY y a las instalaciones del CICY en general, por las instalaciones prestadas para llevar a cabo los experimentos de la tesis.

Al programa de Emerging Leaders in the Americas Program (ELAP) del gobierno canadiense, por la beca otorgada para la estancia de investigación en el laboratorio de Bio-productos de la Facultad de Agricultura de la Universidad de Dalhousie en Halifax, Canadá.

Al Dr. Vashantha Rupasingue y a todo su equipo de trabajo, por la asesoría en la parte experimental durante mi estancia de investigación en su laboratorio en la Facultad de Agricultura.

A mis directores de tesis Dr. Luis M. Peña Rodríguez y Dr. Pascal Richomme, por su asesoría, enseñanzas y apoyo durante mis estudios de maestría y realización de este proyecto.

Al Dr. Felipe Vázquez Flota y al Dr. Francisco J. Aguirre Crespo, integrantes de mi comité tutorial y de revisión de tesis, por sus observaciones y comentarios que contribuyeron a la realización y mejora de este proyecto.

A mis amigos y compañeros dentro y fuera del CICY, por su apoyo y por formar parte de esta experiencia.

A los técnicos Fabiola Escalante Erosa y Karlina García Sosa, por su apoyo técnico y experiencia en el laboratorio para la parte experimental de esta tesis.



## **DEDICATORIAS**

A Dios.

A mi mamá y abuelita, porque siempre estuvieron y están en todo momento para apoyarme.

A mis hermanos Joaquín, Zazil y, de manera especial, a Braulio por siempre echarme porras, por aguantar mis malos ratos y por estar conmigo en las buenas y en las malas.

A mis amigos Carolina, Dani, Manuel y Evelin, por sus palabras y apoyo incondicional.

*Gracias....*



<b>ÍNDICE</b>	
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>3</b>
<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>3</b>
1.1. Alimentos funcionales y su relación con las enfermedades crónico degenerativas .....	3
1.1.1. Las enfermedades crónicas y el estrés oxidativo .....	5
1.2. Potencial de la biodiversidad como alimentos funcionales .....	7
1.2.1. Consumo y uso tradicional de las especies seleccionadas .....	10
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>13</b>
OBJETIVO GENERAL .....	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
<b>ESTRATEGIA EXPERIMENTAL</b> .....	<b>15</b>
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>18</b>
<b>2.1. INTRODUCTION</b> .....	<b>19</b>
<b>2.2. MATERIAL AND METHODS</b> .....	<b>21</b>
2.2.1. Chemical reagents .....	21
2.2.2. Sample collection and handling .....	21
2.2.3. Preparation of crude extracts .....	21
2.2.4. Phytochemical analysis .....	22
2.2.5. Total antioxidant capacity .....	23
2.2.6. Antidiabetic capacity .....	26
2.2.7. Anticancer activity .....	28
<b>2.3. RESULTS</b> .....	<b>31</b>
2.3.1. Phytochemical analysis .....	32
2.3.2. Antioxidant capacity .....	32
2.3.3. $\alpha$ -Glucosidase and $\alpha$ -amylase activity .....	34
2.3.4. Cytotoxic and antiproliferative activity .....	35
2.3.5. Identification and quantification of major phenolics .....	35
<b>2.4. DISCUSSION</b> .....	<b>38</b>
<b>2.5. CONCLUSIONS</b> .....	<b>42</b>
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>44</b>
<b>DISCUSIÓN GENERAL, CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS</b> .....	<b>44</b>
3.1. DISCUSIÓN GENERAL .....	44
3.2. CONCLUSIONES .....	48
3.3. PERSPECTIVAS .....	49

<b>ANEXOS .....</b>	<b>51</b>
Criterios de selección de las especies objeto de estudio .....	51
Determination of Anti-AGEs activity .....	51
Determination of antimicrobial activity .....	52
Fichas técnicas de las especies de estudio .....	53
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>62</b>

---

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**Figura 1.1.** Principales metabolitos secundarios presentes en alimentos ..... 3

**Figura 1.2.** Principales antioxidantes enzimáticos y naturales..... 6

**Figura 1.3.** Estrategia experimental..... 15

**Figure 1.4.** Phenolic metabolites quantified in extracts from yucatecan plants and fruits . 36



---

---

**ÍNDICE DE TABLAS**

**Tabla 1.1.** Recursos genéticos nativos para la alimentación y la agricultura en Yucatán... 9

**Tabla 1.2.** Recursos genéticos introducidos y acriollados en Yucatán para la alimentación y la agricultura ..... 10

**Tabla 1.3.** List of traditional Yucatan fruit and plant species included in the study. .... 31

**Tabla 1.4.** Antioxidant capacity and phytochemical analysis of extracts from Yucatecan plants and fruits ..... 33

**Tabla 1.5.** IC<sub>50</sub> of extracts of Yucatecan pulps against  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase..... 34

**Tabla 1.6.** Quantification of phenolic metabolites in extracts from yucatecan plants and fruits..... 37

---

## ABREVIATURAS

ECD	Enfermedades Crónico Degenerativas
MS	Metabolitos Secundarios
RL	Radicales Libres
ADN	Acido Desoxirribonucleico
ERO	Especies Reactivas de Oxígeno
ERN	Especies Reactivas de Nitrógeno
TAH	Transferencia de Átomos de Hidrógeno
TE	Transferencia de Electrones
AGE's	Productos Finales de Glicación

---

---



## RESUMEN

Los alimentos funcionales son productos y/o alimentos naturales o modificados que contienen componentes bioactivos y que se consumen regularmente. Un alimento se considera funcional si además de ser nutritivo, se demuestra que tiene un efecto beneficioso sobre una o varias funciones del organismo y reduce el riesgo a una enfermedad. Actualmente algunas frutas y plantas se consideran alimentos funcionales y sus beneficios se obtienen mediante su consumo al formar parte de una dieta equilibrada. En este sentido, el objetivo de este proyecto es demostrar el potencial que tienen las plantas y las frutas empleadas en la cocina tradicional yucateca como alimentos funcionales y su empleo en la prevención y/o control de enfermedades infecciosas, cardiovasculares, diabetes, cáncer, entre otras. Para ello, se identificaron 16 especies de plantas y frutas locales entre las que se encuentran el cocoyol (*Acrocomia aculeata*), saramuyo (*Annona squamosa*), nance agrio (*Byrsonima bucidifolia*), nance amarillo (*Byrsonima crassifolia*), caimito (*Chrysophyllum cainito*), la chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*), ciricote (*Cordia dodecandra*), calabaza yucateca (*Cucurbita moschata*), el zapote negro (*Diospyros digyna*), el zapote (*Manilkara zapota*), mamoncillo (*Melicoccus bijugatus*), la huaya silvestre (*Melicoccus oliviformis*), grosella (*Phyllanthus acidus*), el canisté (*Pouteria campechiana*), mamey (*Pouteria sapota*) y la ciruela (*Spondias purpurea*). Todos los frutos se colectaron maduros y se secaron por liofilización. El material liofilizado y molido se extrajo con una mezcla de agua-etanol vía maceración y se evaluó la actividad biológica mediante ensayos orientados a la identificación de extractos y entidades químicas con actividad antioxidante, anticancerígena, antimicrobiana y antidiabética. Los extractos de los frutos de *B. bucidifolia*, *M. bijugatus*, *P. acidus* y *S. purpurea* mostraron una correlación positiva entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante. Por otra parte, se identifica a los extractos de *C. moschata* y *C. dodecandra* como potenciales fuentes de agentes hipoglucemiantes al inhibir la  $\alpha$ -glucosidasa de manera dependiente de la concentración. Con base a las actividades biológicas demostradas, los frutos de *B. bucidifolia*, *M. bijugatus*, *P. acidus*, *S. purpurea*, *C. moschata*, *C. dodecandra*, así como las hojas de *C. aconitifolius*, se consideran potenciales alimentos funcionales e importantes especies empleadas en la dieta tradicional yucateca. Estos resultados apoyan la producción, consumo y comercialización de las especies en mercados externos a la región de la Península de Yucatán.

---

---

---



**ABSTRACT**

Functional foods are natural or modified products and/or foods that contain bioactive components and which are consumed regularly. A food is considered functional if in addition to being nutritious, it is shown to have a beneficial effect on one or several functions of the organism and reduction of the risk to a disease. Currently some fruits and plants are considered functional foods and their benefits are obtained through their consumption as part of a balanced diet. In this sense, the objective of this project is to demonstrate the potential of plants and fruits used in traditional Yucatecan cuisine as functional foods and their use in the prevention and/or control of infectious diseases, cardiovascular diseases, diabetes, cancer, others. For this, 16 species of local plants and fruits were identified, among which are the (*Acrocomia aculeata*), sugar apple (*Annona squamosa*), nance agrio (*Byrsonima bucidifolia*), sweet craboo (*Byrsonima crassifolia*), purple star apple (*Chrysophyllum cainito*), chaya (*Cnidocolus aconitifolius*), circote (*Cordia dodecandra*), calabaza yucateca (*Cucurbita moschata*), black zapote (*Diospyros digyna*), sapodilla (*Manilkara zapota*), mamoncillo (*Melicoccus bijugatus*), huaya silvestre (*Melicoccus oliviformis*), grosella (*Phyllanthus acidus*), egg-fruit-tree (*Pouteria campechiana*), mamey apple (*Pouteria sapota*) and green yellow mombin (*Spondias purpurea*). All the fruits were collected mature and dried by lyophilization. The lyophilized and milled material was extracted with a mixture of water-ethanol via maceration and the biological activity was evaluated by means of tests oriented to the identification of extracts and chemical entities with antioxidant, anticancer, antimicrobial and antidiabetic activity. The extracts of the fruits of *B. bucidifolia*, *M. bijugatus*, *P. acidus* and *S. purpurea* showed a positive correlation between the content of total phenols and the antioxidant activity. On the other hand, extracts of *C. moschata* and *C. dodecandra* are identified as potential sources of hypoglycemic agents by inhibiting  $\alpha$ -glucosidase in a concentration-dependent manner. Based on the biological activities demonstrated, the fruits of *B. bucidifolia*, *M. bijugatus*, *P. acidus*, *S. purpurea*, *C. moschata*, *C. dodecandra*, as well as the leaves of *C. aconitifolius*, are considered potential functional foods and important species used in the traditional Yucatecan diet. These results support the production, consumption and commercialization of the species in markets outside the Yucatan Peninsula region

---

---

---

## INTRODUCCIÓN

La ingesta insuficiente de frutas y verduras es un factor de riesgo importante para la génesis de varias enfermedades crónico degenerativas (ECD). De acuerdo con la OMS, éstas enfermedades ocasionan 1.7 millones de muertes al año (WHO, 2018). Hoy en día los consumidores convencidos de la relación positiva entre una dieta balanceada y la salud, buscan alimentos que contribuyan a la disminución del riesgo de padecer este tipo de enfermedades (Siró *et al.*, 2008).

Como resultado de la búsqueda de alimentos con efectos benéficos en los diferentes procesos fisiológicos, a finales de la década de 1980 surge en Japón los alimentos funcionales; el Ministerio de Salud y Bienestar Japonés diseñó un marco regulador para alimentos que proporcionan beneficios para la salud sin ser medicamentos. Los alimentos funcionales además de su impacto en la nutrición básica, presentan tres características principales: consumo regular en la dieta, fundamento científico de los efectos benéficos y su contribución en la reducción del riesgo de padecer enfermedades (Siró *et al.*, 2008; Bigliardi & Galati, 2013).

Los alimentos funcionales proporcionan nutrimentos esenciales (C, H, O, N), vitaminas (A, C, D, E, K y las B) y minerales ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $P^{-3}$ ), también contienen micronutrientes y/o metabolitos secundarios (MS) (Liu, 2013). Los MS en los “alimentos funcionales” son nombrados como “componentes funcionales” y los cuales al ser absorbidos y transportados a los distintos órganos y sistemas, permiten mantener y/o restablecer diversas funciones fisiológicas (Dewick, 2009; Kabera *et al.*, 2014).

Actualmente existe una gran diversidad de alimentos funcionales, desde alimentos naturales hasta fortificados con componentes funcionales entre otros con funciones específicas (Bigliardi & Galati, 2013). El estudio de frutas, plantas y MS como alimentos funcionales con diferentes actividades biológicas ha ido en aumento en los últimos años, muy probablemente debido a la sensibilización de los consumidores a los beneficios asociados con la salud (Willett, 1994; Barros *et al.*, 2011).

En este contexto, el objetivo de este proyecto es demostrar la actividad biológica que poseen las frutas y plantas empleadas y consumidas en la cocina tradicional yucateca y establecer bases científicas que sustenten su potencial empleo como alimentos

funcionales en la prevención y/o control de enfermedades crónicas degenerativas, entre otras.

## CAPÍTULO I

## ANTECEDENTES

## 1.1. Alimentos funcionales y su relación con las enfermedades crónico degenerativas

Los alimentos pueden proveer una mezcla de MS que, por su origen biosintético, podrán ser policétidos, productos fenólicos, alcaloides y terpenoides, entre otras familias. Los polifenoles y los terpenoides se reconocen como importantes familias de antioxidantes naturales (Cao & Prior, 1999; F. Shahidi, 2004). Sin embargo, estos MS también presentan otras cualidades biológicas al ejercer efectos antimicrobianos, anticancerígenos, y antiinflamatorios (Dillard & German, 2000; Louis, 2013), entre otras. Las frutas, verduras, plantas y granos integrales, además de ser alimentos bajos en calorías, grasas, sodio y ser fuentes de fibra, vitaminas y minerales, también son una fuente importante de MS benéficos para la salud (Dasgupta & Klein, 2014).

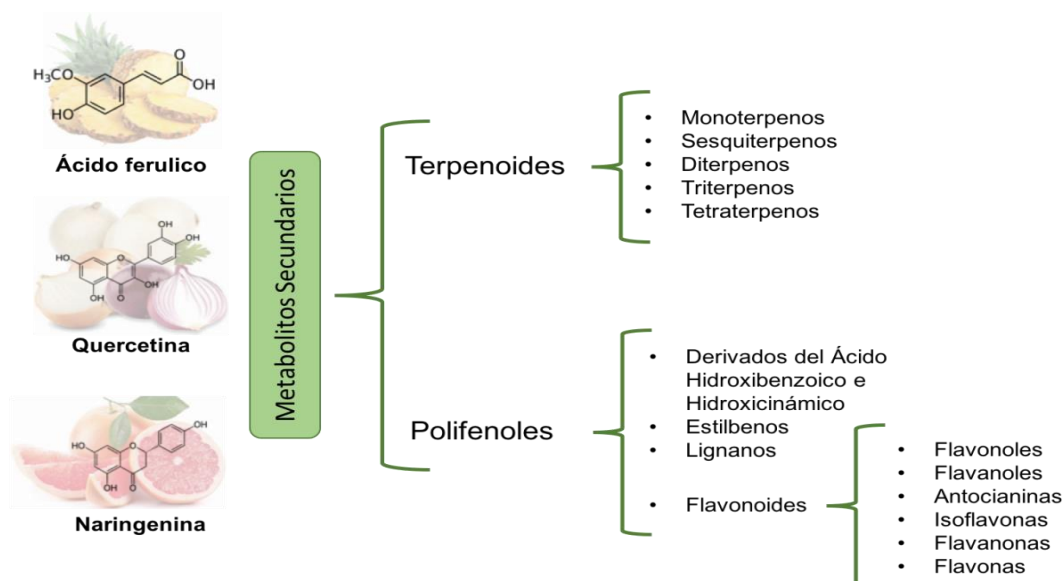


Figura 1.1. Principales metabolitos secundarios presentes en alimentos

Diferentes estudios epidemiológicos han demostrado que existe una correlación positiva entre el consumo de frutas y verduras y la disminución en la incidencia de enfermedades

coronarias, algunos tipos de cáncer, diabetes, artritis, entre otras enfermedades crónicas (Louis, 2013; Vitale *et al.*, 2010; Sergent *et al.*, 2010); es por ello que a ciertas frutas, legumbres y plantas, se les confiere el estatus de “alimentos funcionales” al promover la salud y/o prevenir o aliviar las enfermedades (Rufino *et al.*, 2010; Paz *et al.*, 2015). Estas observaciones han permitido identificar MS bioactivos (Figura 1.1) (Dewick, (2009).

El estudio realizado por Paz (2015), se destaca la funcionalidad de frutos como el acaí (*Euterpe oleracea*), el tamarindo (*Tamarindus indica*) y la acerola (*Malpighia emarginata*), debido a la actividad antioxidante, antibacteriana y sus composición fitoquímica registrada. Por otro lado, estudios fitoquímicos han permitido la cuantificación de los posibles metabolitos bioactivos relacionados con el potencial antioxidante ejercido por dieciocho frutas tropicales de Brasil en las cuales se destacan los frutos de *M. emarginata*, camu-camu (*Myrciaria dubia*) y el puca-preto (*Mouriri elliptica*), los cuales registraron altos niveles de polifenoles y flavonoides, MS identificados como los responsables de la actividad antioxidante (Rufino *et al.*, 2010).

Por otro lado, los frutos de especies del género *Prosopis* como el algarrobo (*Prosopis alba*), representan una alternativa en cuanto a la formulación de alimentos funcionales, dado su alto contenido de aminoácidos esenciales y sus propiedades biológicas como antioxidante y antiinflamatorio (Cattaneo *et al.*, 2014). De la misma forma se ha reportado que el mistol (*Ziziphus mistol*), posee un alto contenido en fibra dietética, flavonoides y procianidinas, por lo que se recomienda su consumo como un alimento funcional para la prevención del síndrome metabólico y patologías relacionadas (Cardozo *et al.*, 2011; Orqueda *et al.*, 2017).

El estudio de alimentos tradicionales como alimentos funcionales ha tenido un gran auge, puesto que su consumo en una dieta equilibrada representa una buena alternativa de prevención. Las bayas son un grupo de frutos tradicionales de los países con climas fríos; estos frutos representan una alta derrama económica para los países productores, el cultivo se ha incrementado notablemente como resultado de su alta demanda la cual puede estar relacionada con sus excelentes propiedades organolépticas, nutritivas y bioactivas (Zhao, 2007). Algunos de estos frutos han sido objetos de varios estudios de investigación; tal es el caso de Haskap (*Lonicera caerulea*), que además de demostrar una alta actividad antioxidante, otros estudios *in vitro* sugieren un efecto antimicrobiano y

antiadherente (Rupasinghe *et al.*, 2015). Otras bayas como la frambuesa negra (*Rubus occidentalis*), arándano azul (*Vaccinium corymbosum*), arándano (*Vaccinium macrocarpon*), frambuesa roja (*Rubus idaeus*) y fresa (*Fragaria ananassa*), les han demostrado fuertes propiedades anticancerígenas, antioxidantes y antiproliferativas (Hariram *et al.*, 2014).

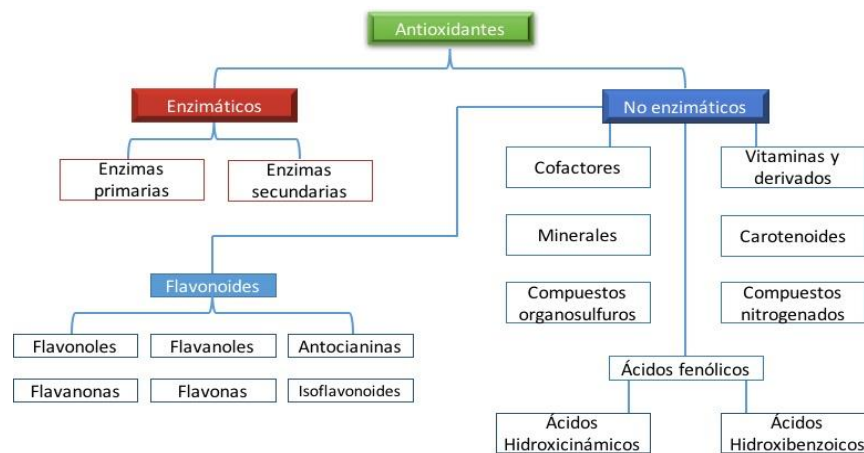
Muchos de los estudios realizados en los alimentos funcionales, tienen su enfoque en la valoración y cuantificación de la actividad antioxidante, esta situación podría estar relacionada al hecho de que los procesos oxidativos en sistemas fisiológicos están fuertemente relacionados con la génesis y evolución de las enfermedades crónico degenerativas (ECD) de mayor prevalencia a nivel mundial (WHO, 2012) como la diabetes, hipertensión, cáncer, enfermedades respiratorias (Dichi *et al.*, 2014; WHO, 2019), entre otras. Estas enfermedades son de larga duración y de progresión lenta, reducen la salud y la calidad de vida a través del deterioro de los órganos y sistemas corporales con el paso del tiempo (Dichi *et al.*, 2014). Las ECD comparten factores de riesgo comunes y los cuales son modificables como lo es el estrés, el tabaquismo, la hipertensión arterial, el sedentarismo, la alimentación, el sobrepeso, obesidad y niveles de colesterol elevado (WHO, 2003).

### **1.1.1. Las enfermedades crónicas y el estrés oxidativo**

El oxígeno es un elemento indispensable para la vida, pero cuando las células usan oxígeno para generar energía, bajo ciertas condiciones se crean radicales libres (RL) como consecuencia de la producción de adenosín trifosfato (ATP) por parte de las mitocondrias en un metabolismo celular normal. Los RL pueden definirse como un átomo o molécula que contiene uno o más electrones no apareados en su última capa de valencia, con la capacidad de existir de manera independiente. El número impar de electrón de un radical libre lo hace inestable, de corta duración y altamente reactivo. Debido a su alta reactividad, pueden extraer electrones de otras moléculas para lograr estabilidad (Brand-Williams *et al.*, 1995). Así, la molécula atacada pierde su electrón y se convierte en un RL, comenzando una reacción en cadena que continúa con la peroxidación lipídica (lipoperoxidación); dando como resultado la desestabilización y desintegración de las membranas celulares u oxidación de otros componentes celulares como las proteínas o incluso el ADN (Phaniendra *et al.*, 2015).

Los RL que se producen durante el metabolismo incluyen las especies reactivas de oxígeno (ERO), las especies reactivas de nitrógeno (ERN) y sus combinaciones, las ERO's son las de mayor importancia biológica por su alta reactividad; aunque las demás especies son menos reactivas, también pueden conducir fácilmente a reacciones de RL en organismos vivos (Genestra, 2007). El organismo busca continuamente el equilibrio entre la presencia de RL y antioxidantes para mantener las funciones celulares y bioquímicas vitales. El desbalance hacia un aumento de RL sobre la capacidad de los antioxidantes se define como estrés oxidativo, lo que conlleva a daños oxidativos en las células que se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar enfermedades crónicas, como diferentes tipos de cáncer, alzheimer, diabetes y enfermedades cardiovasculares (Kohen & Nyska, 2002).

El cuerpo humano ha desarrollado mecanismos para contrarrestar el estrés oxidativo, se destaca la producción endógena de antioxidantes y el suministro externo mediante alimentos y/o suplementos (MS de tipo polifenólico); los MS exhiben estructuras comunes y específicas que les permiten actuar como agentes de reducción y donantes de hidrógeno. Los antioxidantes endógenos o exógenos pueden actuar como eliminadores de RL al prevenir y reparar los daños causados por estos, mejorando la defensa inmunológica y/o disminuyendo el riesgo de ECD (Figura 1. 2) (Liu, 2003; Yeung *et al.*, 2018; Gulcin, 2012).



**Figura 1.2.** Principales antioxidantes enzimáticos y naturales  
Fuente: Carocho & Ferreira, 2013.



Los antioxidantes pueden ser clasificados dentro de dos categorías respecto a su mecanismo acción, como antioxidantes preventivos, que inhiben la formación de especies reactivas de oxígeno (peróxido dismutasa, catalasa, peroxidasa y el transferrin) y como antioxidantes de rompimiento de cadena, que eliminan radicales y por lo tanto rompen su secuencia en cadena (vitamina C, vitamina E, ácido úrico, bilirrubina y polifenoles) (Dichi *et al.*, 2014).

En este contexto, los antioxidantes de rompimiento de cadena tienen dos posibles rutas, la transferencia de átomos de hidrogeno (TAH) o la transferencia de electrones (TE). El resultado final es el mismo, independientemente del mecanismo, pero la cinética y el potencial de reacciones secundarias difieren. Las reacciones TE y TAH pueden ocurrir en paralelo, y el mecanismo que domina en un sistema estará determinado por la estructura y las propiedades antioxidantes, la solubilidad, el coeficiente de partición y el disolvente del sistema (Wright *et al.*, 2001). El resultado final es el mismo, independientemente del mecanismo, pero la cinética y el potencial de reacciones secundarias difieren. Las reacciones TE y TAH pueden ocurrir en paralelo y el mecanismo que domina en un sistema estará determinado por la estructura y las propiedades antioxidantes, la solubilidad, el coeficiente de partición y el disolvente del sistema (Wright *et al.*, 2001).

El interés por el estudio y la búsqueda de MS con valor funcional en frutas tradicionales y nativas de la Península de Yucatán, representa ser una alternativa prometedora y potencial para el consumo y distribución de estas frutas como alimentos funcionales. Ello relacionado con los reportes relacionados con las propiedades biológicas que contribuyen a la prevención de enfermedades de importancia mundial. En este sentido, la Península Yucatán cuenta con una gran diversidad de especies frutales y plantas medicinales nativas que aún son inexploradas con respecto a su potencial valor funcional, situación que mantiene a dichas especies en el olvido y desconociendo su valor en el sistema agrícola local.

## **1.2. Potencial de la biodiversidad como alimentos funcionales**

El conocimiento de los alimentos funcionales en América Latina es relativamente reciente,

Brasil posee una regulación en la que se define como funcional, a un componente alimenticio nutritivo o no, que puede producir efectos benéficos para la salud diferentes al de la nutrición básica, forma parte de una dieta normal y no se presenta en una forma farmacéutica (De Figueiredo Toledo, 2008); ésta situación convierte a Brasil en un país potencial productor y consumidor de alimentos funcionales, ya que posee grandes recursos naturales y una amplia biodiversidad de flora y fauna asociada a una gran variedad de plantas y frutos comestibles con potenciales efectos benéficos para la salud (Sarmiento Rubiano, 2006).

Al igual que Brasil, México es un país megadiverso por la riqueza biológica que presenta y la cual se manifiesta en sus tipos de vegetación, sus formas biológicas y en sus cultivos nativos, asociados a las diversas culturas que se desarrollaron en Mesoamérica y Aridoamérica (CONABIO, 2016). En este contexto, la diversidad de alimentos derivados de especies frutales de la región tropical, ha sido una de las aportaciones de México para el mundo. Con los eventos colonizadores de siglo XVI, los alimentos derivados de especies frutales se incrementaron con las especies provenientes no sólo de viejo mundo, sino también de Oriente y hoy en día son naturalizadas o son nuevas variedades a las de su lugar de origen; ejemplo de ello son el mango (*Mangifera indica* L), la pera (*Pyrus communis* L.), manzana (*Malus pumila* Mill.), la uva (*Vitis vinífera* L.), por mencionar las más conocidas.

Antes de la llegada de los españoles, en la Península de Yucatán los mayas ya aprovechaban especies frutales, como las que encontraban en la selva y que sembraban en sus patios para facilitar el acceso a ellas. Fue así que partir de la conquista, la riqueza natural del Nuevo Mundo fue objeto de extraordinarias narraciones por frailes, historiadores, naturalistas y viajeros.

En la obra llamada Historia natural y moral de las Indias, escrita en 1590, el jesuita José de Acosta habla de las plantas diciendo: “Mejor han sido pagadas las Indias en lo que toca a plantas, que en otras mercaderías, porque las que han venido a España son pocas, y dándose mal; las que han pasado de España son muchas, dándose bien” (Acosta, 1978). Otra narración se encuentra descrita en La Historia General de las Cosas de la Nueva España de Bernardino de Sahagún, quien vino a México como evangelizador en 1529. Sahagún menciona la fruta *eyotzaputl* (zapote negro, *Diospyros digyna*), con muchas

pepitas negras por dentro, como frijoles (Lascurain *et al.*, 2010). Otro de los frutos descritos es el *zacaxocotl*, jobo o ciruela (*Spondias purpurea*), (Lascurain *et al.*, 2010). Fray Diego de Landa en el siglo XVI describe el uso de la chaya (*Cnidocolus aconitifolius*) como arbusto, cuyas hojas se consumen cocinadas e incluso las compara en sabor con la col (Lascurain *et al.*, 2010).

En este sentido, de manera general, se estima que la Península de Yucatán cuenta con un gran número de especies frutales nativas, aproximadamente 20 especies frutales distribuidas en 13 familias; 12 especies de granos, tubérculos y vegetales, como los frijoles, ibes, jícama y chaya (Zizumbo Villarreal *et al.*, 2010) (Tabla 1.1).

**Tabla 1.1.** Recursos genéticos nativos para la alimentación y la agricultura en Yucatán

<b>Nombre científico</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Familia</b>
<b>Especies frutales</b>		
<i>Acrocomia mexicana</i>	Cocoyol	Arecaceae
<i>Bromelia pingüin</i>	Piñuela	Bromeliaceae
<i>Phyllanthus acidus</i>	Grosella	Malphigiaceae
<i>Byrsonima crassifolia</i>	Nance	Malphigiaceae
<i>Carica papaya</i>	Papaya	Caricaceae
<i>Casimiroa tetrameria</i>	Yuy	Rutaceae
<i>Cordia dodecandra</i>	Ciricote	Boraginaceae
<i>Diospyros digyna</i>	Zapote negro	Ebenaceae
<i>Hylocereus undatus</i>	Pitahaya	Cactaceae
<i>Jacaratia mexicana</i>	Bonete	Caricaceae
<i>Malpighia glabra</i>	Usté	Malphigiaceae
<i>Manilkara zapota</i>	Zapote	Sapotaceae
<i>Parmentiera aculeata</i>	Pepino Kat	Bignoniaceae
<i>Pouteria campechiana</i>	K'anisté	Sapotaceae
<i>Psidium guajava</i>	Guayaba	Myrtaceae
<i>Sabal mexicana</i>	Xa'an	Arecaceae
<i>Sabal japa</i>	Huano	Arecaceae
<i>Spondias mombin</i>	Ciruela	Anacardiaceae
<i>Spondias purpurea</i>	Ciruela	Anacardiaceae
<i>Talisia oliviformis</i>	Huaya	Sapindaceae

***Cnidoscolus aconitifolius* var. Chaya** Euphorbiaceae  
**Chayamansa**

Fuente: Zizumbo Villarreal *et al.*, 2010.

Por otro lado, la introducción temprana de especies procedentes de otros centros de domesticación mesoamericanos y sudamericanos complementó la estructuración de los sistemas agroforestales, los cuales incluyeron a más de 13 especies frutales, 15 especies de granos, tubérculos, vegetales y saborizantes; entre los más importantes, el maíz, los frijoles y la calabaza (Zizumbo Villarreal *et al.*, 2010) (Tabla 1.2).

**Tabla 1.2.** Recursos genéticos introducidos y acriollados en Yucatán para la alimentación y la agricultura

<b>Nombre científico</b>	<b>Nombre común Especies frutales</b>	<b>Familia</b>
<b><i>Ananas comusus</i></b>	Piña	Bromeliaceae
<b><i>Anacardium occidentale</i></b>	Marañón	Anacardiaceae
<b><i>Annona cherimola</i></b>	Chirimoya	Annonaceae
<b><i>Annona muricata</i></b>	Guanábana	Annonaceae
<b><i>Annona purpurea</i></b>	Anona morada	Annonaceae
<b><i>Annona reticulata</i></b>	Anona	Annonaceae
<b><i>Annona squamosa</i></b>	Saramuyo	Annonaceae
<b><i>Casimiroa edulis</i></b>	Zapote blanco	Rutaceae
<b><i>Chrysophyllum cainito</i></b>	Caimito	Sapotaceae
<b><i>Mammea americana</i></b>	Mamey de Santo Domingo	Guttiferae
<b><i>Meliococcus bijugatus</i></b>	Guaya cubana o mamoncillo	Sapindaceae
<b><i>Pasiflora edulis</i></b>	Granadilla	Passifloraceae
<b><i>Persea americana</i> var. Americana</b>	Aguacate	Lauraceae
<b><i>Puteria glomerata</i></b>	Choch	Sapotaceae
<b><i>Pouteria sapota</i></b>	Mamey	Sapotaceae
<b><i>Cucurbita moschata</i></b>	Calabaza	Cucurbitaceae

Fuente: Zizumbo Villarreal *et al.*, 2010.

### 1.2.1. Consumo y uso tradicional de las especies seleccionadas

La biodiversidad Yucateca es amplia y ha sido aprovechada en diferentes sentidos, desde el sustento familiar con la comercialización de sus frutos y hojas, hasta la comercialización industrial con el látex y la madera a nivel internacional. Los frutos de algunas especies no están disponibles todo el año, es por eso que, como alternativa para la comercialización y

consumo se han desarrollado conservas o postres a base de piloncillo o azúcar y canela; tal es el caso de los frutos de nance (*B. crassifolia*), que por su naturaleza dulce, puede ser consumido fresco o en conserva, no así para los frutos de ciricote (*C. dodecandra*) ya que los frutos frescos son simples, para su consumo y comercialización es necesario cocinarlos a manera de postre; otro fruto es el cocoyol (*A. aculeata*) el cual, fresco es fibroso, simple y astringente, por lo que debe ser cocido con endulzantes y canela.

Otras especies nativas pueden ser consumidas frescas, acompañados de algún cítrico o como ingredientes de diferentes platillos. El zapote negro (*D. digyna*), de manera tradicional es consumido fresco y se acompaña de naranja agria (*Citrus aurantium*) y azúcar, la chaya (*C. aconitifolius*) como ingrediente principal de ensaladas, aguas frescas y tamales; la calabaza (*C. moschata*) desde tiempos prehispánicos ha sido una importante fuente de alimento y medicina para los antiguos pobladores de la Península (mayas). También se encuentran otras especies tropicales que, por sus características bromatológicas, son idóneas para ser consumidas frescas, entre comidas o como postres helados, tal es el caso de las guayas (*M. oliviformis*), la grosella (*P. acidus*), las ciruelas (*S. purpurea*), el mamey (*P. sapota*) y el zapote (*M. zapota*).

El uso de la diversidad vegetal yucateca en la medicina tradicional tiene sus mayores registros en la atención de padecimientos cutáneos, gastrointestinales y respiratorios (Méndez-González *et al.*, 2010). Sin embargo, las partes más utilizadas de las plantas medicinales son las hojas, las raíces y las resinas; los frutos registran una prevalencia alrededor del 7% (Méndez-González *et al.*, 2010).

El consumo de especies nativas y tradicionales de la Península de Yucatán se ha visto disminuido, tal vez por la falta de conocimiento sobre sus beneficios nutricionales y biológicos, lo que provoca la disminución de su plantación, o la sustitución de su consumo por alimentos de distribución internacional. En este sentido, el aprovechamiento de las especies frutales y nativas de la Península de Yucatán requiere del diseño de políticas orientadas al fomento de la investigación científica aplicada a la generación de alternativas tecnológicas de alimentos o componentes alimenticios con propiedades funcionales; productos que podrían representar una novedosa alternativa de negocio así como una importante alternativa fuente de alimentos que contribuyen a la calidad de vida de la población local que tradicionalmente consume algunas especies como parte de su

dieta normal. Por otro lado, la generación de conocimiento científico sobre sus propiedades biológicas de los frutos de la Península de Yucatán, puede fortalecer e impulsar las bases científicas para una comercialización internacional.

**JUSTIFICACIÓN**

La Península de Yucatán cuenta con numerosas especies vegetales que actualmente se están sub-aprovechando; por otro lado, en la dieta tradicional yucateca se consume una variedad de frutas estacionales y plantas; sin embargo, no hay suficiente información sobre su potencial empleo como alimentos funcionales. Situación que puede estar relacionada al escaso conocimiento que se tiene sobre las propiedades biológicas de las frutas y plantas medicinales de la región. La evaluación y documentación de la actividad biológica ejercida por las frutas y plantas de la región, permitirá confirmar y revalorar su importancia como parte de la dieta tradicional yucateca, así como de ser potenciales alimentos funcionales de consumo local, nacional e internacional.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el potencial como alimento funcional de frutas y plantas comúnmente consumidas en la cocina tradicional Yucateca.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar la actividad biológica de los extractos hidroalcohólicos obtenidos a partir de las especies seleccionadas
- Cuantificar el contenido de componentes mayoritarios en las especies seleccionadas
- Correlacionar la actividad biológica con la presencia de metabolitos secundarios de tipo polifenólico y su potencial como alimento funcional.



## ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

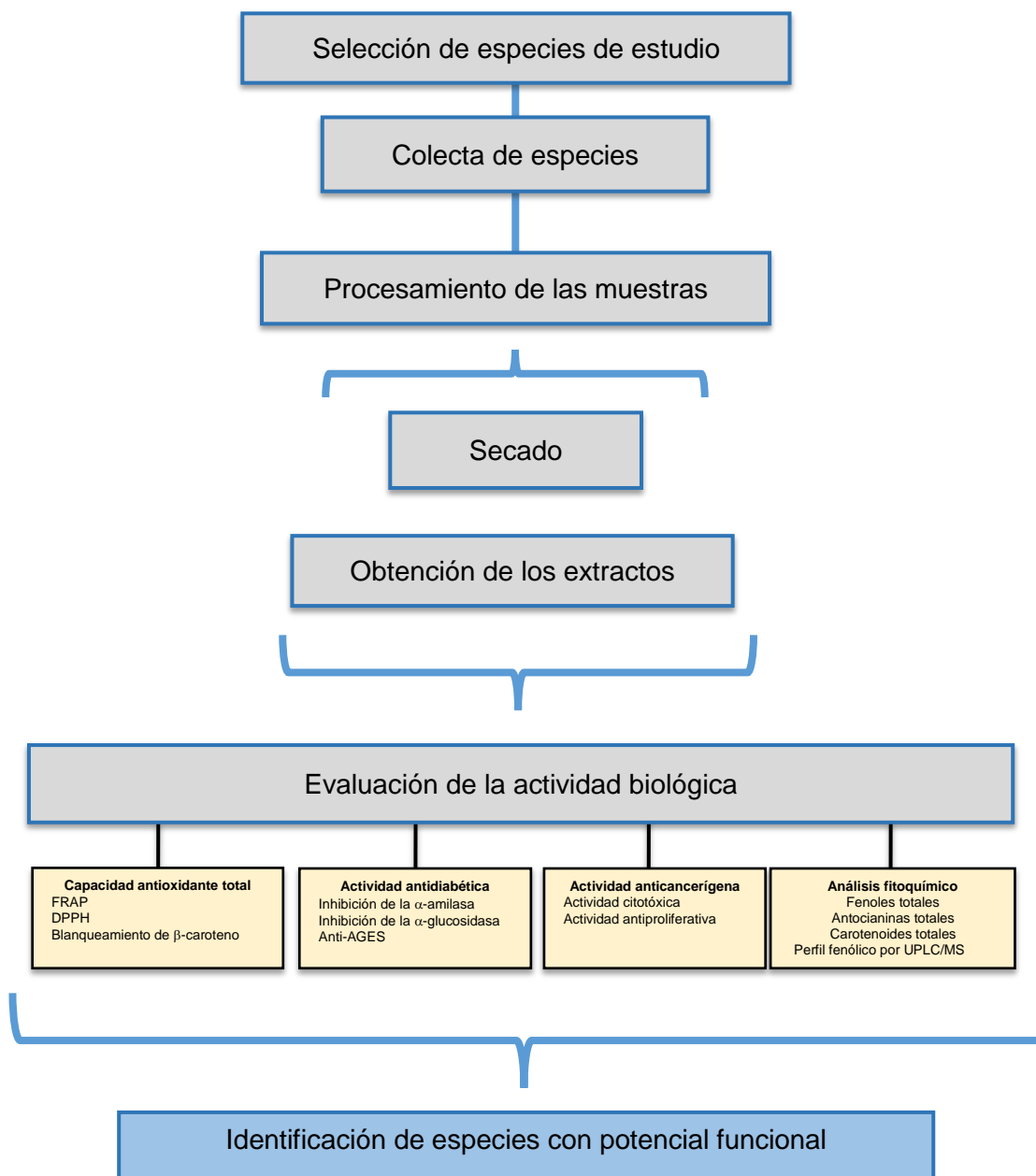


Figura 1.3. Estrategia experimental





## CAPÍTULO II

### FUNCTIONAL FOODS IN THE DAILY DIET. EXPLORING THE POTENTIAL OF PLANTS AND FRUITS TRADITIONALLY CONSUMED IN YUCATAN.

**Autores:** Mónica Anahí Guillen-Poot, Lía Sarahi Valencia-Chan, Rosa Esther Moo-Puc, Pascal Richomme-Peniguel, H.P. Vasantha Rupasingue, Luis Manuel Peña-Rodríguez

**Revista:** *Journal of Functional Food*

**Estatus del artículo:** En revisión para ser sometido.

#### RESUMEN

La biodiversidad de la península de Yucatán incluye más de 3000 especies de plantas, de las cuales, aproximadamente 175 se consideran endémicas. Un número importante de estas especies, tanto introducidas como endémicas, son parte de la dieta para la población de la península de Yucatán y no se consumen comúnmente en otras partes de México, por lo que la investigación de sus propiedades promotoras de la salud (e.g. actividad antioxidante, antimicrobiana, citotóxica y antidiabética) podría promover su consumo general y garantizar su conservación al reconocer su potencial económico como alimentos funcionales. El objetivo principal de este estudio fue evaluar la actividad biológica y los componentes bioactivos en las hojas o frutos de 16 especies nativas y tradicionales, comúnmente consumidas en la península de Yucatán y dado que los alimentos funcionales deben demostrar funciones biológicas beneficiosas más allá de los nutrientes básicos, los resultados de esta investigación sugieren que los frutos de *B. bucidifolia*, *M. bijugatus*, *P. acidus*, *S. purpurea*, *C. moschata*, *C. dodecandra* y las hojas de *C. aconitifolius* podrían investigarse más a fondo como alimentos funcionales potenciales, debido a su capacidad antioxidante y propiedades antidiabéticas.

## 2.1. INTRODUCTION

About two-thirds of the world's biodiversity is located in a little more than a dozen countries known as mega diverse countries (Mittermeier *et al.*, 1997). Mexico occupies the fourth place because of its rich biodiversity, which can be explained, in large part, by its geographic position, its complex geological history, its rugged topography and its extensive coastline along two oceans (Sarukhán *et al.*, 2009). These features have allowed the development of a wide diversity of terrestrial ecosystems harboring thousands of species belonging to all taxonomic groups, with close 50% of these species being endemic (Sarukhán *et al.*, 2009; Villaseñor, 2016).

In addition to its biodiversity, Mexico also has an important rich cultural diversity, with more than 50 ethnic groups which include the Mayan people living in the southeastern states of Yucatan, Quintana Roo and Campeche (González-Méndez *et al.*, 2012). The biodiversity of the Yucatan peninsula includes over 3000 plant species, of which close to 175 are considered to be endemic; many of these species, both introduced and endemic, are part of the diet for the Mayan people of the Yucatan peninsula and are not commonly consumed in other parts of Mexico.

Among the great diversity of plants and fruits consumed by the Mayan people of the Yucatan peninsula, there are a number of native species including "chaya" [*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst. (Euphorbiaceae)], "cocoyol" [*Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd. Ex Mart (Arecaceae)], "grosella" [*Phyllanthus acidus* (L) Skeels. (Phyllanthaceae)], "nance amarillo" [Sweet craboo; *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth (Malpighiaceae)], "ciricote" [*Cordia dodecandra* A. DC. (Boraginaceae)], "zapote negro" [Black sapote; *Diospyros digyna* Jacq. (Ebenaceae)], "zapote" [Sapodilla; *Manilkara zapota* (L.) P. Royen (Sapotaceae)], "canisté" [Egg-fruit-tree; *Pouteria campechiana* B. (Sapotaceae)], "nance agrio" [*Byrsonima bucidifolia* Standl (Malpighiaceae)], "ciruela" [Green yellow mombin; *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae)], and "huaya silvestre" [*Melicoccus oliviformis* (Kunth) Ralck (Sapindaceae)]; other fruits from species that became part of the local biodiversity after their introduction include "saramuyo" [Sugar apple; *Annona squamosa* L.

(Annonaceae)], “caimito” [Purple star apple; *Chrysophyllum cainito* L. (Sapotaceae)], “mamoncillo” [Mamoncillo; *Melicoccus bijugatus* Jacq. (Sapindaceae)], “mamey” [Mamey apple; *Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn, (Sapotaceae)] and “calabaza yucateca” [*Cucurbita moschata* Duchesne ex Lam., (Cucurbitaceae)].

In spite of their consumption as part of the daily diet, “chaya” and particularly many of the fruit species previously described are not widely available in Yucatecan supermarkets and can only be found in local markets or with street vendors. Additionally, most of these fruits have not been studied in terms of their biological activity, their bioactive constituents or the potential health benefits associated with the prevention and/or treatment of chronic diseases such as metabolic syndrome, cancer, diabetes, and cardiovascular diseases (Louis, 2013; Szajdek & Borowska, 2008).

Since investigation of the health-promoting properties (e.g., antioxidant, antimicrobial, anti-AGE and antidiabetic activity) of these native and exotic tropical fruits could promote their general consumption and ensure their preservation by recognizing their economic potential as functional foods (Infante *et al.*, 2016; Rufino *et al.*, 2010), the main objective of this study was to evaluate the biological activity and the bioactive components in the leaves or fruits 16 selected native plants commonly consumed by people of Yucatan.

## 2.2. MATERIAL AND METHODS

### 2.2.1. Chemical reagents

All reagents and enzymes [ascorbic acid, gallic acid, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), linoleic acid,  $\beta$ -carotene, 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol (BHT), *p*-Nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside (PNPG),  $\alpha$ -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*, blocked *p*-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-Maltoheptoside,  $\alpha$ -amylase from porcine pancreas, acarbose, Folin-Ciocalteu reagent, 2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-tri-azine (TPTZ), ferric chloride] were purchased from Sigma-Aldrich.

### 2.2.2. Sample collection and handling

Some of the leaves and fruits of the different species (*C. aconitifolius*, *B. crassifolia*, *C. cainito*, *M. zapota*, *P. sapota*, *P. acidus*) were purchased at the local market in Merida, Yucatan, Mexico; others (*C. dodecandra*, *D. digyna*, *P. campechiana*) from trees growing in the Botanical Garden of “Centro de Investigación Científica de Yucatán” or in a private backyard garden (*M. oliviformis*, *S. purpurea*, *A. aculeata*, *B. bucidifolia*) in Felipe Carrillo Puerto, Quintana Roo, Mexico. Collection took place between March and August of 2017. All fruits were purchased/collected when ready for consumption. The leaves or edible parts (pulp with or without skin) of the fruits were frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  and lyophilized for during 72h. An average yield of approximately 40% was obtained for all species.

### 2.2.3. Preparation of crude extracts

The lyophilized and powdered material was subjected to an extraction process following the methodology reported by Paz *et al.*, (2015), with some modifications. In short, 2.5 g of lyophilized powdered material were added to 100 ml of ethanol:water (1:1) and allowed to stir (100 rpm) for 24 h. The suspension was filtered and the filtrate subjected to centrifugation (4000 rpm for 35 min); the supernatant was gravity-filtered (Whatman No. 1 filter paper) and concentrated in vacuo at  $35^{\circ}\text{C}$ . The aqueous residues were frozen, lyophilized (72 h) and then stored at  $4^{\circ}\text{C}$  until used. All extractions were carried out in triplicate.

## 2.2.4. Phytochemical analysis

### 2.2.4.1 Determination of total phenolic content (TPC)

The TPC of the different extracts was determined following the Folin-Ciocalteu methods as described by Huber & Rupasinghe (2009); different concentrations (10, 20, 40, 80, 100, 150 and 250  $\mu\text{M}$ ) of gallic acid in methanol were used to prepare the standard curve. The test solutions were prepared fresh under reduced light conditions and the reaction was carried out under dark conditions. Twenty microliters of the diluted extract, or gallic acid standard, were combined with 100  $\mu\text{L}$  of 0.2 N Folin-Ciocalteu phenol reagent in a 96-wells, clear, polystyrene microplates. After 5 min, 80  $\mu\text{L}$  of 7.5% (w/v) sodium carbonate solution was added to each well and mixed. The mixture was incubated for 2 h at room temperature before measuring the absorption at 760 nm using the Tecan Infinite 200 PRO<sup>®</sup> plate reader. Results are expressed as mg of gallic acid equivalents (GAE) per gram dry weight (mg GAE /g DW). All determinations were made in triplicate.

### 2.2.4.2 Determination of total anthocyanin concentration (TAC)

The TAC in the different extracts was determined using the pH-differential method (Ratnasooriya *et al.*, 2010). Samples were diluted in pairs using pH 1 and pH 4.5 buffers and the absorbance was measured at 520 and 700 nm using a spectrophotometer (Tecan Infinite 200 PRO<sup>®</sup>). The absorbance values (A) and TAC values of the samples were calculated using the following equations:

$$A = (A_{520} - A_{700}) \text{ at pH } 1.0 - (A_{520} - A_{700}) \text{ at pH } 4.5$$

$$\text{TAC} = \frac{A * MW * DF * 100}{\epsilon * 1}$$

Where  $\epsilon$  is the molar extinction coefficient (28,000), MW is the molecular weight (484.8) of cyanidin-3-O-glucoside (C3G), and DF is the dilution factor (1, in this case) (Rupasinghe *et al.*, 2015). The TAC value is expressed as milligrams of cyanidin-3-O-glucoside (C3G) per 10 g DW (mg C3G/g DW). All determinations were made in triplicate.



### 2.2.4.3 Determination of total carotenoid content (TCC)

The TCC was measured using the method reported by Parmar & Rupasinghe, (2015). A solution of 20 mg of extract in 15 mL of a 6:4 mixture of methanol and ethylacetate was kept for 20 minutes at 60°C under shake conditions (100 rpm). The samples were cooled in ice until they reached room temperature and the liquid phase was decanted. A portion (10 mL) of the liquid phase was combined with 10 mL of a 9:1 mixture of hexane and diethylether and then washed with 20 mL of a saturated NaCl solution. The organic phase was separated and evaporated using a nitrogen flow. The dried extract was dissolved in 5 mL of methanol and a 200  $\mu$ L aliquot was taken and transferred to a 96-well plate, where the absorbance was measured in a spectrophotometer (Tecan infinite 200 PRO<sup>®</sup>) at 470 nm. The TCC was calculated using the formula shown below (Gross, 1991):

$$\text{TCC} = \frac{(A * 10^6 * V)}{(A^{(1\%)} * 100 * G)}$$

Where A is the absorbance at 470 nm, V is the total volume of the extract, A<sup>(1%)</sup> is the extinction coefficient for a mixture of solvents arbitrarily set a 2500, and G is the sample weight in grams. All determinations were made in triplicate.

## 2.2.5. Total antioxidant capacity

### 2.2.5.1. DPPH• – radical scavenging assay

The antioxidant assay measuring the DPPH reduction capacity of extracts was carried out following the methodology reported by Castillo-Avila *et al.*, (2009). A 25  $\mu$ M ethanolic solution of DPPH was prepared minutes before being used to prevent decomposition. The experiment was carried out in 96-well plates and a combination of 180  $\mu$ L of DPPH solution and 20  $\mu$ L of the test sample was added to each well. The mixture was allowed to stand for 30 minutes in the dark, then the absorbance was read at a wavelength of 517 nm; the absorbance values were extrapolated to a calibration curve prepared with ascorbic acid at different concentrations, to determine the antioxidant activity of the samples tested. All determinations were made in triplicate.

### 2.2.5.2. Ferric reduction antioxidant power (FRAP) assay

The antioxidant capacity determined by the FRAP method was carried out according to that reported by Huber & Rupasinghe, (2009). The reaction reagent (FRAP solution) was prepared just before the assay by mixing 300 mM of acetate buffer (pH 3.6), 10 mM TPTZ solution and 20 mM ferric chloride solution in the ratio of 10: 1: 1. The TPTZ solution was prepared on the same day of the analysis. Standard solutions of Trolox were prepared by diluting a 1 mM Trolox stock solution in methanol to obtain concentrations of 5, 10, 25, 75, 150 and 300  $\mu$ M of Trolox. The FRAP analysis was performed by combining 20  $\mu$ L of blank, standard or sample with 180  $\mu$ L of FRAP solution in 96-well plates. The reading was taken at 595 nm. Both the FRAP solution and the samples in the microplate were heated to 37°C before the test. The FRAP values were expressed as gram equivalents of Trolox (TE) per gram dry weight of the sample (g TE/g DW). All determinations were made in triplicate.

### 2.2.5.3. $\beta$ -carotene bleaching assay (BCA)

The BCA was carried out following the methodology reported by Koleva *et al.*, (2002) with some modifications. A solution prepared by combining  $\beta$ -carotene (1 mg) chloroform (5 ml), linoleic acid (25 $\mu$ L) and Tween-40 (polyoxyethylene sorbitan monopalmitate) (200 mg), was first placed under a nitrogen flow to remove the chloroform; the resulting emulsion was combined with 25 ml of hydrogen peroxide and 250  $\mu$ L aliquots of the emulsion were pipetted into 96-well plates containing 30  $\mu$ L of test extracts. A control containing linoleic acid (25  $\mu$ L) and Tween-40 (200 mg), and 1 mL of chloroform was prepared; the solvent was evaporated to dryness with nitrogen and the resulting emulsion was combined with 25 mL of hydrogen peroxide. BHT was used as a positive control at a concentration of 0.01%. The absorbance was measured at 492 nm (BioTek) at time 0 and subsequently incubated at 55°C for 120 min (E-class incubator), the absorbance was then measured after 120 min.

The BCA of the extracts was evaluated in terms of bleaching of the  $\beta$ -carotene using the following formula:

$$AAC = [(AM_0 - AB_{120}) / (AB_0 - AB_{120}) * 100]$$

Where  $AM_0$  and  $AB_0$  are the absorbance values measured at time zero of the incubation for the test sample and the control, respectively; and  $AB_{120}$  is the absorbance measured in the test sample, after incubation for 120 min. All determinations were made in triplicate.

## 2.2.6. Antidiabetic capacity

### 2.2.6.1. $\alpha$ -amylase inhibitory assay

The pancreatic porcine  $\alpha$ -amylase assay was adapted from Parmar & Rupasinghe, (2015), with modifications. The enzyme (10 mg) was dissolved in 3 mL of PBS 0.01 M (PBS: sodium phosphate buffer at pH 6.9). Solutions of the extracts at different concentrations (1-500 mg/mL) were prepared by dissolving in PBS. The tests were carried out in a 96-well plate, where 20  $\mu$ L of pancreatic porcine  $\alpha$ -amylase and 20  $\mu$ L of test extracts at different concentrations were added to each well. The mixtures were incubated at 37°C for 10 min and after this time 20  $\mu$ L of substrate (Blocked p-nitrophenyl-alpha-D-maltoheptaoside) were added and the mixture was incubated for 20 min at 37°C. After incubation, 240  $\mu$ L of stop solution (trisodium phosphate at pH 11) were added. The plate was read at 405 nm using a microplate reader Tecan Infinite 200 PRO®. The  $\alpha$ -amylase (20  $\mu$ L enzyme and 20  $\mu$ L PBS) control without any inhibitor represented 100% enzyme activity. Appropriate test extract controls containing the reaction mixture with and without the enzyme were used to correct for the color interference. Acarbose was used as positive control. The percentage inhibition of test sample on  $\alpha$ -amylase was calculated using the formula:

$$\text{Inhibition (\%)} = 100 * (\text{AC} - \text{AS})/(\text{AC})$$

Where AS and AC are the absorbance values of the sample and the control, respectively. The results are expressed in terms of  $\text{IC}_{50}$  representing the concentration of test extracts required to cause the enzyme inhibition by 50%. Calculations were carried out using the GraphPad Prism 5 software. All determinations were made in triplicate.

### 2.2.6.2. $\alpha$ -glucosidase inhibitory assay

The  $\alpha$ -glucosidase inhibitory assay was adapted from Parmar & Rupasinghe (2015) with modifications. Freeze-dried extracts were prepared at different concentrations in PBS 0.01 M. A reaction mixture containing 20  $\mu$ L of extract at different concentrations, 20  $\mu$ L of  $\alpha$ -glucosidase (0.5 U/mL), and 60  $\mu$ L of PBS 0.01 M was added to each well of a 96-well clear plate; the plate was incubated at 37°C for 15 min, prior to adding 20  $\mu$ L of 5 mM 4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (PNPG) as substrate. The mixture was then incubated at 37°C for the reaction to take place (15 min). The reaction was terminated by adding 80  $\mu$ L

of 200 mM sodium carbonate. The absorbance at 405 nm was recorded using micro-plate reader (Tecan Infinite 200 PRO®).

The control  $\alpha$ -glucosidase (20  $\mu$ L enzyme and 120  $\mu$ L PBS) without any inhibitor represented 100% enzyme activity. Appropriate test extract controls containing the reaction mixture with and without the enzyme were used to correct for color interference. The  $\alpha$ -glucosidase inhibition (%) of the samples was calculated in the same way as described for the  $\alpha$ -amylase assay. Acarbose, a prescribed drug for a  $\alpha$ -glucosidase inhibition, was also used like a positive control. The results are expressed as the concentration of extract that inhibiting the enzyme activity by 50% (IC<sub>50</sub>), as calculated by the GraphPad Prism 5 software. All determinations were made in triplicate.

### **2.2.7. Anticancer activity**

#### **2.2.7.1. Cell culture**

Cell lines of cervix adenocarcinoma (HeLa, ATCC-CCL-2), cervix squamous carcinoma (SiHa, ATCC-HTB-35), breast adenocarcinoma (MCF-7, ATCC-HTB-22; MDA-MB-231, ATCC-HTB-26), and green monkey kidney cells (Vero, ATCC-CCL-81), from the American Type Culture Collection (ATCC), were kindly provided by Veronica Vallejo-Ruiz from the East Biomedical Research Center (IMSS, Mexico). The cells were cultured in sterile Costar T25 flasks containing D-MEM medium (Gibco), supplemented with fetal bovine serum (FBS) (10%, v/v), 100 U/mL penicillin G, and 100 µg/mL streptomycin at 37 °C under 5% CO<sub>2</sub> atmosphere (95% humidity).

#### **2.2.7.2. Bioassay of cytotoxic activity**

The growth inhibition of the cell lines was evaluated by the sulforhodamine B method (Skehan *et al.*, 1990). At 70-80% confluence, cells were detached from the culture flask by treatment with 0.05% trypsin-EDTA (Gibco) and a suspension of  $1.5 \times 10^4$  cell/mL of viable cells was seeded in a 96-well microtiter plate (Costar) and incubated for 24 h. When cells reached >80% confluence, the medium was replaced and cells were incubated with stock solutions of extracts serially diluted to reach concentrations of 50.0, 25.0, 12.5, and 6.25 µg/mL. After 48 h of incubation, the medium was discarded and 100 µL of ice-cold 40% trichloroacetic acid (TCA, Aldrich) were added to fix the cells, incubating for 1h at 4 °C. The cells were washed five times with water, left to dry, and then 50 µL of SRB stain (10 mg, 1% acetic acid, Sigma) were added to each well and left to stand for 30 min. Finally, the cells were washed with 50 µL 1% acetic acid, and solubilized with tris(hydroxymethyl)aminomethane (10nM). Consecutively, the optical density of the solution at 560 nm was measured using a spectrophotometer bioassay reader (BioRad, USA).

Results are expressed as the concentration of agent that reduces cell growth by 50% (CC<sub>50</sub>), calculated by GraphPad Prism 5 software. Docetaxel was used as positive control. All determinations were performed for triplicate. In addition, the level of harmfulness on normal cells was evaluated by determining the selectivity index (SI) (Mena-Rejon *et al.*, 2009).

### 2.2.7.3. Bioassay of antiproliferative activity

The sulforhodamine B (SRB) assay was carried out according to the method reported by Skehan *et al.* (1990), using D-MEM medium with 10% FBS to induce cell proliferation. After 48 h of incubation, the medium was discarded and 100  $\mu$ L of ice-cold 40% trichloroacetic acid (TCA, Aldrich) were added to fix the cells, incubating for 1h at 4 °C. The cells were washed five times with water, left to dry, and then 50  $\mu$ L of SRB stain (10 mg, 1% acetic acid, Sigma) were added to each well and left to stand for 30 min. Finally, the cells were washed with 50  $\mu$ L of 1% acetic acid, and solubilized with tris(hydroxymethyl)aminomethane (10 nM). Consecutively, the optical density of the solution was measured at 560 nm using a spectrophotometer bioassay reader (BioRad, USA). Results are expressed as the concentration of agent that reduces cell growth by 50% (IC<sub>50</sub>), calculated by GraphPad Prism 5 software. Docetaxel was used as positive control. All determinations were performed for triplicate. In addition, the level of harmfulness on normal cells was evaluated by determining the selectivity index (SI) (Mena-Rejon *et al.*, 2009).

### 2.2.8. Ultra-performance liquid chromatography and mass spectrometry analysis of phenolics

Analyses of major individual phenolic compounds present in freeze-dried fruits and plant extracts were performed according to a previously reported method (Sekhon-Loodu & Rupasinghe, 2019). All analyses were conducted using ultra-pressure liquid chromatography (Waters, Milford, MA, USA) coupled with Micromass Quattro micro API tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) system and controlled with Mass Lynx V4.0 data analysis system (Micromass, Cary, NC, USA). The column used was Aquity BEH C18 (100  $\times$  2.1 mm, 1.7 $\mu$ m) (Waters, Milford, MA, USA). For the separation of the flavonols, phenolic acid and catechins, the mobile phase consisted of 0.1% formic acid in water (solvent A) and 0.1% formic acid in acetonitrile (solvent B). A linear gradient profile was used with the following proportions of Solvent A applied at time t (min); (t, A%): (0, 94%), (2, 83.5%), (2.61, 83%), (2.17, 82.5%), (3.63, 82.5%), (4.08, 81.5%), (4.76, 80%), (6.75, 20%), (8.75, 94%), and (12, 94%).

Electrospray ionization in negative ion mode (ESI-) was used for the analysis of the flavonols, phenolic acid, and catechins; the following conditions were used: capillary voltage 3,000 V, nebulizer gas (N<sub>2</sub>) temperature 375° C at a flow rate of 0.35 mL/min. The settings for positive ion experiments were as follows: capillary voltage (25–50V) was optimized for each individual compound. Multiple reaction-monitoring (MRM) mode using specific precursor/product ion transitions was employed for quantification in comparison with standards: m/z 301→ 105 for quercetin (Q), m/z 609→301 for Q-3-O- rutinoside, m/z 463→ 301 for Q-3-O-glucoside and for Q-3-O-rhamnoside, m/z 595→301 for phloritin, m/z 435→273 for phloridzin, m/z 353→191 for chlorogenic acid, m/z 179→135 for caffeic acid, and for catechin, m/z 290→ 109 for epicatechin, and m/z 305→125 for epigallocatechin.

### **2.2.9. Statistical analysis**

The experiments were performed in completely randomized design in triplicates and data is expressed as mean ± standard deviation. The significant difference between, TPC, TAC, TCC, FRAP, DPPH, BCB, α-amylase, α-glucosidase inhibition values were tested using one-way analysis of variance (ANOVA) and the multiple mean comparison using Tukey's test (IBM SPSS Software®). Significant levels were defined as probabilities of 0.05 or less.



### 2.3. RESULTS

A group of fifteen fruits and one plant, belonging to eleven different families, was identified as commonly consumed by the Yucatecan population either fresh or as part of Yucatecan traditional dishes (Table 1.3). The edible part(s) were frozen and lyophilized before extraction with an ethanol-water mixture.

**Tabla 1.3.** List of traditional Yucatan fruit and plant species included in the study.

Botanical family	Scientific name	Common name	Used edible part
Sapotaceae	<i>Manilkara zapota</i> (L.) P. Royen	Zapote (sapodilla <sup>b</sup> )	Pulp
Sapotaceae	<i>Pouteria sapota</i> (Jacq.) H.E. Moore & Stearn	Mamey (mamey apple <sup>a</sup> )	Pulp
Sapotaceae	<i>Chrysophyllum cainito</i> L.	Caimito (purple star apple <sup>a</sup> )	Pulp
Cucurbitaceae	<i>Cucurbita moschata</i> (Duchesne ex Lam.)	Calabaza yucateca	Pulp + peel
Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus acidus</i> (L) Skeels.	Grosella	Pulp + peel
Anacardiaceae	<i>Spondias purpurea</i> L.	Ciruela (green yellow mombin <sup>a</sup> )	Pulp + peel
Sapindaceae	<i>Melicoccus oliviformis</i> (Kunth).	huaya silvestre	Pulp
Sapotaceae	<i>Pouteria campechiana</i> (Kunth) Baehni.	Canisté (egg-fruit-tree <sup>a</sup> )	Pulp
Ebenaceae	<i>Diospyros digyna</i> (J.F.Gmel.) Perrier	Zapote negro (black sapote <sup>a</sup> )	Pulp
Sapindaceae	<i>Melicoccus bijugatus</i> (Jacq.)	Mamoncillo	Pulp
Annonaceae	<i>Annona squamosa</i> L.	Saramuyo (sugar apple <sup>a</sup> )	Pulp
Malpighiaceae	<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth	Nance amarillo (sweet craboo <sup>a</sup> )	Pulp + peel
Malpighiaceae	<i>Byrsonima bucidifolia</i> Standl.	Nance agrio	Pulp + peel
Arecaceae	<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq) Lodd. Ex Mart.	Cocoyol	Pulp
Boraginaceae	<i>Cordia dodecandra</i> (Jacq.)	Ciricote	Pulp + peel
Euphorbiaceae	<i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst.)	Chaya	Leaves

<sup>a</sup>From The Plant List, 2010

<sup>b</sup>From (Moo-Huchin *et al.*, 2014)

### 2.3.1. Phytochemical analysis

The initial phytochemical analyses were carried out determining the total phenolic (TPC), anthocyanin (TAC) and carotenoid (TCC) content of the different extracts (Table 1.4). The highest TPC value was found in the extract of the fruits of *B. bucidifolia* (93.76); a second group, showing moderate TPC values included the extracts from the leaves of *C. aconitifolius* (22.84), and the fruits of *M. bijugatus* (25.14), *P. acidus* (22.99), *A. aculeata* (21.28), *D. digyna* (19.76) and *S. purpurea* (19.17). The rest of the fruit extracts showed values well below 13.32 mg GAE/g DW (Table 1.4).

Alternatively, measuring of the TAC showed the highest values for the extracts of three fruits, *B. crassifolia* (29.30), *M. bijugatus* (27.38) and *M. oliviformis* (22.62) (Table 1.4). The rest of the values were below 16.21 mg CGE/g DW.

Finally, evaluation of the TCC in all extracts showed very low values for most of the extracts, with only the leaf extracts of *C. aconitifolius* (174.00 mg/g) and the fruit extracts of *C. moschata* (152.63 mg/g) showing a moderate TCC content (Table 1.4).

### 2.3.2. Antioxidant capacity

The antioxidant capacity of the different extracts was evaluated using three different methods: FRAP, DPPH-reduction and  $\beta$ -carotene bleaching (BCB).

In the FRAP method, where the antioxidant activity is expressed as mg TE/g DW, three fruit extracts showed the highest values: *M. bijugatus* (0.2724), *P. acidus* (0.2496), and *S. purpurea* (0.2253), while a second group, which included *A. aculeata* (0.1624), *B. crassifolia* (0.1595), and *B. bucidifolia* (0.1375) had a moderate activity. The rest of the thirteen species showed values below 0.1117 mg TE/g DW (Table 1.4).

In the DPPH reduction assay, *B. bucidifolia* showed the highest activity with an  $IC_{50}$  of 0.07 mg/ml; while *M. bijugatus* and *P. acidus* showed moderate activity ( $IC_{50}$  44 mg/ml and 0.50 mg/ml, respectively) (Table 1.4).

Finally, the results of the evaluation of the different extracts in the BCB assay showed that only one fruit extract (*D. digyna*: 1.19) showed a significant inhibition when compared to the BHT (1.58) used as positive control (Table 1.4).

**Tabla 1.4.** Antioxidant capacity and phytochemical analysis of extracts from Yucatecan plants and fruits.

Samples	Total phenols (mg GAE/g DW)	Total carotenoids content ( $\mu\text{g/g}$ )	Total anthocyanin (mg CGE/g DW)	FRAP (mg TE/g DW)	DPPH $\text{IC}_{50}$ (mg/mL)	$\beta$ -carotene bleaching (%AA)
<i>Manilkara zapota</i>	2.38 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>	121.37 $\pm$ 0.5 <sup>ab</sup>	8.72 $\pm$ 7.49 <sup>a</sup>	0.026 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	1.09 $\pm$ 0.64 <sup>a</sup>	0.13 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>
<i>Pouteria sapota</i>	3.88 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>	122.60 $\pm$ 0.7 <sup>ab</sup>	4.14 $\pm$ 4.76 <sup>a</sup>	0.026 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.60 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	0.17 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>
<i>Chrysophyllum cainito</i>	6.22 $\pm$ 1.6 <sup>ab</sup>	122.23 $\pm$ 1.5 <sup>ab</sup>	6.71 $\pm$ 13.61 <sup>a</sup>	0.069 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	7.20 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.24 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>
<i>Cucurbita moschata</i>	5.89 $\pm$ 2.0 <sup>ab</sup>	152.63 $\pm$ 1.8 <sup>d</sup>	14.64 $\pm$ 3.36 <sup>a</sup>	0.031 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.64 $\pm$ 0.86 <sup>a</sup>	0.32 $\pm$ 0.51 <sup>a</sup>
<i>Phyllanthus acidus</i>	22.99 $\pm$ 3.3 <sup>g</sup>	124.63 $\pm$ 0.55 <sup>abc</sup>	0.79 $\pm$ 21.01 <sup>a</sup>	0.249 $\pm$ 0.02 <sup>fg</sup>	0.50 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	0.43 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>
<i>Spondias purpurea</i>	19.17 $\pm$ 2.5 <sup>defg</sup>	124.70 $\pm$ 1.3 <sup>abc</sup>	6.28 $\pm$ 15.22 <sup>a</sup>	0.225 $\pm$ 0.03 <sup>efg</sup>	0.55 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	0.54 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>
<i>Melicoccus oliviformis</i>	10.48 $\pm$ 1.9 <sup>bc</sup>	124.67 $\pm$ 1.8 <sup>abc</sup>	22.62 $\pm$ 23.08 <sup>a</sup>	0.067 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.89 $\pm$ 0.61 <sup>a</sup>	0.73 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>
<i>Pouteria campechiana</i>	4.32 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>	123.77 $\pm$ 0.87 <sup>abc</sup>	16.21 $\pm$ 4.55 <sup>a</sup>	0.024 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	1.38 $\pm$ 4.02 <sup>a</sup>	0.46 $\pm$ 0.79 <sup>a</sup>
<i>Diospyros nigra</i>	19.76 $\pm$ 2.0 <sup>efg</sup>	127.97 $\pm$ 1.43 <sup>c</sup>	7.38 $\pm$ 14.89 <sup>a</sup>	0.193 $\pm$ 0.02 <sup>def</sup>	2.93 $\pm$ 2.18 <sup>a</sup>	1.19 $\pm$ 1.11 <sup>a</sup>
<i>Melicoccus bijugatus</i>	25.14 $\pm$ 2.6 <sup>g</sup>	121.13 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>	27.38 $\pm$ 16.46 <sup>a</sup>	0.272 $\pm$ 0.03 <sup>g</sup>	0.44 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	0.55 $\pm$ 0.87 <sup>a</sup>
<i>Annona squamosa</i>	15.76 $\pm$ 1.1 <sup>cdef</sup>	121.63 $\pm$ 1.12 <sup>ab</sup>	3.97 $\pm$ 8.47 <sup>a</sup>	0.096 $\pm$ 0.01 <sup>abc</sup>	2.04 $\pm$ 0.88 <sup>a</sup>	0.52 $\pm$ 0.76 <sup>a</sup>
<i>Byrsonima crassifolia</i>	13.32 $\pm$ 1.6 <sup>cd</sup>	126.17 $\pm$ 3.85 <sup>bc</sup>	29.30 $\pm$ 30.28 <sup>a</sup>	0.159 $\pm$ 0.02 <sup>cde</sup>	0.64 $\pm$ 9.53 <sup>a</sup>	0.40 $\pm$ 0.66 <sup>a</sup>
<i>Byrsonima bucidifolia</i>	93.76 $\pm$ 2.4 <sup>h</sup>	125.57 $\pm$ 1.5 <sup>abc</sup>	5.25 $\pm$ 6.00 <sup>a</sup>	0.137 $\pm$ 0.02 <sup>cd</sup>	0.07 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.37 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>
<i>Acrocomia aculeata</i>	21.28 $\pm$ 1.3 <sup>fg</sup>	125.13 $\pm$ 2.66 <sup>abc</sup>	9.17 $\pm$ 7.17 <sup>a</sup>	0.162 $\pm$ 0.03 <sup>cde</sup>	2.08 $\pm$ 1.26 <sup>a</sup>	0.44 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>
<i>Cordia dodecandra</i>	15.06 $\pm$ 1.7 <sup>cde</sup>	121.27 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	10.20 $\pm$ 10.03 <sup>a</sup>	0.111 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	5.31 $\pm$ 4.02 <sup>a</sup>	0.36 $\pm$ 0.53 <sup>a</sup>
<i>Cnidoscolus aconitifolius</i>	22.84 $\pm$ 2.1 <sup>g</sup>	174.00 $\pm$ 0.35 <sup>e</sup>	14.82 $\pm$ 8.57 <sup>a</sup>	0.068 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	3.25 $\pm$ 2.81 <sup>a</sup>	0.49 $\pm$ 0.73 <sup>a</sup>
<b>Ascorbic acid</b>	---				0.04 $\pm$ 0.004	---
<b>BHT</b>	---				---	1.58 $\pm$ 1.67

The results are expressed as the average  $\pm$  SD, for three independent experiments. Different letters within rows denote significant differences between values as determined by one-way ANOVA analysis.

### 2.3.3. $\alpha$ -Glucosidase and $\alpha$ -amylase activity

The potential antidiabetic activity of the different fruit extracts was evaluated measuring their inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase activities. While all extracts showed inhibition of  $\alpha$ -glucosidase, with  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) values ranging from 114.43 to 287.06 (Table 1.5), the highest values were observed for the fruit extracts of *C. moschata* extract (114.43  $\mu\text{g/mL}$ ) and *C. dodecandra* (123.55  $\mu\text{g/mL}$ ).

Alternatively, when tested for their inhibition of the  $\alpha$ -amylase, only the fruit extracts of *C. cainito* ( $IC_{50}$ : 680.3  $\mu\text{g/mL}$ ) showed significant activity. None of the remaining extracts showed significant inhibition of the enzyme (Table 1.5).

**Tabla 1.5.**  $IC_{50}$  of extracts of Yucatecan pulps against  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase.

Sample	$\alpha$ -glucosidase	$\alpha$ -amylase
	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>Manilkara zapota</i>	184.20 $\pm$ 12.03 <sup>a</sup>	1113.9 $\pm$ 227.68 <sup>ab</sup>
<i>Pouteria sapota</i>	158.73 $\pm$ 25.16 <sup>a</sup>	1554.3 $\pm$ 74.04 <sup>ab</sup>
<i>Chrysophyllum cainito</i>	155.76 $\pm$ 12.78 <sup>a</sup>	680.3 $\pm$ 84.14 <sup>a</sup>
<i>Cucurbita moschata</i>	114.43 $\pm$ 22.18 <sup>a</sup>	1076.6 $\pm$ 126.57 <sup>ab</sup>
<i>Phyllanthus acidus</i>	140.30 $\pm$ 32.22 <sup>a</sup>	NI
<i>Spondias purpurea</i>	287.63 $\pm$ 145.79 <sup>a</sup>	NI
<i>Melicoccus oliviformis</i>	228.06 $\pm$ 67.17 <sup>a</sup>	1329 $\pm$ 6.55 <sup>ab</sup>
<i>Pouteria campechiana</i>	257.46 $\pm$ 61.99 <sup>a</sup>	1954 $\pm$ 166.95 <sup>a</sup>
<i>Diospyros digyna</i>	245.76 $\pm$ 25.08 <sup>a</sup>	NI
<i>Melicoccus bijugatus</i>	225.06 $\pm$ 38.87 <sup>a</sup>	NI
<i>Annona squamosa</i>	183.63 $\pm$ 58.35 <sup>a</sup>	NI
<i>Byrsonima crassifolia</i>	197.83 $\pm$ 43.27 <sup>a</sup>	NI
<i>Byrsonima bucidifolia</i>	180.63 $\pm$ 57.67 <sup>a</sup>	NI
<i>Acrocomia aculeata</i>	168.27 $\pm$ 70.08 <sup>a</sup>	NI
<i>Cordia dodecandra</i>	123.55 $\pm$ 38.80 <sup>a</sup>	NI
<i>Cnidioscolus aconitifolius</i>	140.63 $\pm$ 60.39 <sup>a</sup>	NI
<b>EGCG</b>	35.54 $\pm$ 2.53	12.12 $\pm$ 3.2
<b>Acarbosa</b>	26.23 $\pm$ 8.53	99.67 $\pm$ 26.84

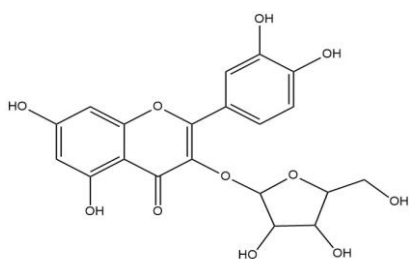
NI: No Inhibition. The results are expressed as the average  $\pm$  SD, for three independent experiments. Different letters within rows denote significant differences between values as determined by one-way ANOVA analysis.

#### 2.3.4. Cytotoxic and antiproliferative activity

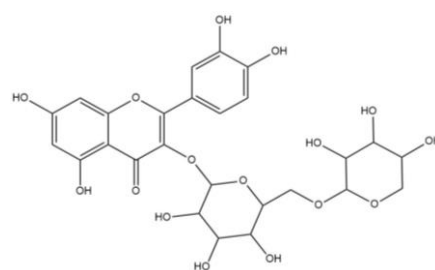
The cytotoxic and antiproliferative activity of the different extracts evaluated against five tumor cell lines (Vero, SiHa, HeLa, MDA, MCF-7). The results showed that none of the extracts had antiproliferative activity and that only the fruits extract of *A. squamosa* showed cytotoxic activity with a  $CC_{50}$  of  $51.92 \pm 1.1$   $\mu\text{g/mL}$  and a selectivity index of 1.9.

#### 2.3.5. Identification and quantification of major phenolics

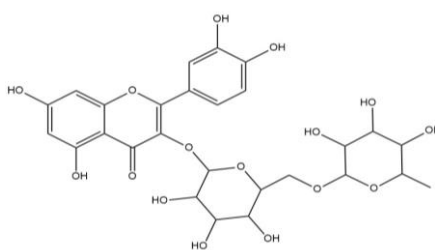
The chromatographic profiles of all extracts were determined by HPLC. A number of common phenolics were detected and identified by comparing their retention times and fragmentation pattern with those of commercial flavonols (quercetin-3-O-arabinoside, quercetin-3-O-rhamnoside, quercetin, quercetin-3-O-rutinoside, quercetin-3-arabinofuranoside), chalcones (phloridzin and phloretin), phenolic acids (cafeic acid and chlorogenic acid), and flavan-3-ols (catechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin-3-gallate and epigallocatechin-3-gallate). The concentration of the identified phenolic was estimated considering the area percentage for each component in the different extracts and the results are expressed as mg/g DW extract. Of the three groups of the phenolic quantified, the flavonols (quercetin-3-O-arabinoside, quercetin-3-O-rhamnoside, quercetin-3-O-rutinoside), were found in greater amounts in *P. acidus* (quercetin-3-O-arabinoside, 0.941), *S. purpurea* (quercetin-3-O-arabinoside, 0.772), *C. aconitifolius* (quercetin-3-O-rhamnoside, 0.608) and *C. dodecandra* (quercetin-3-O-rutinoside, 0.571) (Table 1.6). Alternatively, the phenolic acids were particularly abundant in *P. acidus* (chlorogenic acid, 0.299) and *C. dodecandra* (cafeic acid, 0.286) (Table 1.6), while only one catechin (epicatechin, 0.114) was found in *A. aculeata* (Table 1.6).



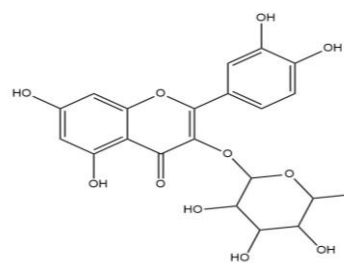
Quercetin-3-arabino-furanoside



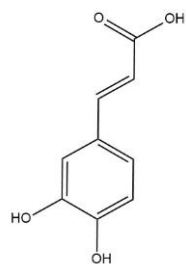
Quercetin-3-O-arabinoside



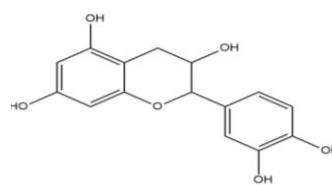
Quercetin-3-O-rutinoside



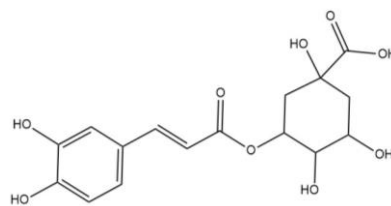
Quercetin-3-O-rhamnoside



Caffeic acid



Epicatechin



Chlorogenic acid

**Figure 1.4.** Phenolic metabolites quantified in extracts from yucatecan plants and fruits.

**Tabla 1.6.** Quantification of phenolic metabolites in extracts from yucatecan plants and fruits.

Sample	Flavonols (mg/g DW Extract)				Phenolic acids (mg/g DW Extract)		Catechins (mg/g DW Extract)
	Quercetin ArabinoGlu	Quercetin Rhamnoside	Quercetin Rutinoside	Q3Arabinofuro	Cafeic acid	Chlorogenic acid	Epicatechin
<i>Cucurbita moschata</i>	< 0.1	< 0.1	0.145	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
<i>Phyllanthus acidus</i>	0.941	0.409	0.137	< 0.1	< 0.1	0.299	< 0.1
<i>Spondias purpurea</i>	0.772	0.255	0.1	< 0.1	< 0.1	0.238	< 0.1
<i>Byrsonima bucidifolia</i>	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.159	< 0.1	< 0.1	< 0.1
<i>Acrocomia aculeata</i>	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.114
<i>Cordia dodecandra</i>	< 0.1	< 0.1	0.571	< 0.1	0.286	< 0.1	< 0.1
<i>Cnidoscolus aconitifolius</i>	0.213	0.608	0.452	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1

The results are expressed as the average.

## 2.4. DISCUSSION

The results of the present study provided information on the qualitative and quantitative content of the main biologically active secondary metabolites contained in the leaves and fruits of sixteen species traditionally consumed in Yucatan. The fruits of *B. bucidifolia* showed the highest TPC, followed by the leaves of *C. aconitifolius* and the fruits of *M. bijugatus*, *P. acidus*, *A. aculeata*, *D. digyna* and *S. purpurea*. While the TPC content of several of the species in the second group is comparable with that reported previously (Arellano-Gómez *et al.*, 2005; Bystrom *et al.*, 2009; García-Rodríguez *et al.*, 2014; Moo-Huchin *et al.* 2014; Setty *et al.* 2014), no information exists about the phytochemical content of the fruits of *B. bucidifolia*, although a high TPC value has been reported for the fruits of *Malpighia emarginata*, which also belongs to the Malpighiaceae family (Mezadri *et al.*, 2008). The additional phytochemical characterization of these extracts showed that their TAC and TCC contents were significantly lower than those previously reported for some of the species (Moo-Huchin *et al.*, 2014); these differences could be related to the state of ripeness of the fruits at the time of collection (Casierra-Posada & Aguilar-Avendaño, 2008) or, in the case of TAC, to the instability of anthocyanins (Oancea & Drăghici, 2013).

The presence of phenolic metabolites in foods, particularly in fruits, is of particular interest mainly because of their antioxidant properties (Gulcin, 2012; Kaur & Kapoor, 2001; Rufino *et al.*, 2010). There are many methods to measure total antioxidant capacity in extracts, either from fruits or plants (Alam *et al.*, 2013; Kuskoski *et al.*, 2005; Prior *et al.*, 2005; Rincon *et al.*, 2009; Fereidoon *et al.*, 2015); in this study the antioxidant activity of the sixteen extracts was evaluated using the FRAP, DPPH and bleaching of  $\beta$ -carotene assays. As expected, the extract of the fruits of *B. bucidifolia* showed the highest antioxidant activity in the DPPH radical reduction assay, confirming the direct correlation between antioxidant activity and the TPC. While there are no reports on the phytochemistry of the fruits of *B. bucidifolia*, a study carried out on the antioxidant activity of the leaf extract of the plant resulted the isolation of two bioactive metabolites identified as artifacts of gallotanin-type precursors (Castillo-Avila *et al.*, 2009). Alternatively, testing of the antioxidant activity of the different extracts using the FRAP assay showed the highest activity in the extracts from the fruits of *M. bijugatus*, *P. acidus* and *S. purpurea*. It is interesting to mention that the antioxidant activity of the fresh fruits of *M. bijugatus* and *S. purpurea* has been reported to be higher (Moo-Huchin *et al.*, 2014); this difference



might be due to the fact that the drying process, such as the one used in this investigation, directly influences the concentration of secondary metabolites and the biological activity of the extracts (Joshi *et al.*, 2011).

Testing of the sixteen extracts for their antioxidant activity in the bleaching of  $\beta$ -carotene assay showed that only *D. digyna* had any significant activity. The lack of activity in most of the extracts might be explained by the fact that this assay, despite being sensitive, has the great disadvantage of being unstable because of the specific interactions, e.g. hydrogen bonds, between the acid and the emulsifier which can block the groups that contribute to the activity or modify the substitution pattern of the hydroxyl groups (Alves *et al.*, 2008; Koleva *et al.*, 2002).

One of the chronic conditions that affects a large percentage of the population in this century is diabetes mellitus type 2, characterized by chronic hyperglycemia (IMSS, 2014) . A key to controlling this complication is to decrease the postprandial increase in blood glucose levels by inhibiting the main hydrolyzing carbohydrate enzymes ( $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase); currently, acarbose, miglitol and voglibose are recognized as potent inhibitors of these two enzymes, however, all have undesirable effects that limit their use (Wang *et al.*, 2013). Due to this, the search for natural inhibitors present in common foods, such as fruits and vegetables, represents a potential alternative for the preventive treatment of hyperglycemia, with minimal side effects (Lacroix & Li-Chan, 2014). Testing of all the extracts for their inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibition showed that while none of the extracts had a significant inhibitory activity on  $\alpha$ -amylase, the extracts of the fruits of *C. moschata* and *C. dodecandra* exhibited the highest levels of inhibition against  $\alpha$ -glucosidase. It is interesting to point out that, even though it has been reported that the activity against  $\alpha$ -glucosidase is highly favored by the content of phenols (Wang *et al.*, 2013), neither the extract from the fruits of *C. moschata*, nor that from the fruits of *D. dodecandra*, showed a significant TPC. However, these findings are in agreement with several reports in the literature describing the hypoglycemic potential of different fruits of species from the Cucurbitaceae family (Andrade-Cetto & Heinrich, 2005), and with a study by Nhiem *et al.* (2010) who identified a series of cucurbitane-type triterpene glucosides with high inhibitory activity against  $\alpha$ -glucosidase from the extract of *Momordica Charantia*, a plant belonging to the Cucurbitacea family. These results strongly suggest that the activity of *C. moschata* could be related to non-phenolic secondary metabolites,

particularly cucurbitane-type triterpene glucosides. Similarly, the low TPC value of the fruits of *C. dodecandra* also suggest that the metabolites responsible for the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity are not phenolics. It is interesting to mention that a number of fruits from other plants belonging to the Boraginaceae family are reported to have antioxidant activity and high TPC values (Tewolde-Berhan *et al.*, 2014). To date, the phytochemical and biological potential of *C. dodecandra* remains largely unknown, even though its fruits and the wood represent an important source of income for the local population.

Testing of all the extracts for their cytotoxic and antiproliferative activity showed that none of the extracts had antiproliferative activity and only the extract of *A. squamosa* had moderate (Francielli de Oliveira *et al.*, 2015) cytotoxic activity; the cytotoxic activity of *A. squamosa* can be explained by the fact that plants of the Annonaceae family are reported to contain acetogenins, recognized as antitumor agents (Alali *et al.*, 1999).

Although many studies on functional foods are particularly directed towards the antimicrobial activity of fruits and their extracts, since it has been argued that natural products with antioxidant activity generally show good antimicrobial activity and vice versa (Paz *et al.*, 2015), none of the extracts tested in this investigation showed activity against a wide variety of human and plant pathogens. Taking into consideration the fact that some of the fruits evaluated showed a high TPC, it can be said that the antimicrobial activity cannot be attributed exclusively to the presence of antioxidant metabolites.

Similarly, none of the extracts showed significant anti-AGEs activity, which could correlate with their low content of anthocyanins since previous studies have suggested that a high content of anthocyanins, correlates favorably with the inhibition of advanced glycation end products (Louis-Philippe *et al.*, 2010; Spínola *et al.*, 2018; Spínola *et al.*, 2018). It is interesting to point out that *D. dodecandra* did not show significant anti-AGEs activity, even though a number of fruits from plants of the Boraginaceae family have been reported to show significant antiglycation activity (Chinchansure *et al.*, 2015).

Qualitative and quantitative UPLC MS/MS analyses of the extracts showed that the main polyphenolic metabolites in *P. acidus* and *C. dodecandra* were flavonols such as quercetin-3-O-arabinoglucoside, quercetin-3-O-ramnoside, quercetin-3-O-arabinofuranoside and phenolic acids such as caffeic acid and chlorogenic acid, while those in *S. purpurea* and *C. aconitifolius* were the flavonols 3-O-arabinoglucoside, quercetin-3-O-ramnoside, quercetin-3-O-arabinofuranoside and epicatechin in *A. aculeata*.

Flavonols such as the identified quercetin-3-O-arabinoglucoside, quercetin-3-O-rhamnoside, quercetin-3-O-rutinoside and quercetin-3-O-arabinofuranoside have been reported to be effective in reducing lipid peroxidation *in vitro* (Hou *et al.*, 2004; Zai Qun *et al.*, 2000), and a diet rich in this type of flavanols is also associated, with a lower incidence of cardiovascular diseases and some types of cancer (Vicente-Vicente *et al.*, 2013).

## 2.5. CONCLUSIONS

This study represents the initial step in the investigation of the functional properties of one plant and a number of fruits consumed traditionally in Yucatan, Mexico. Given the limited or non-existent knowledge on the phytochemical content and biological activity of these selected species, the results of this study contribute to advance the knowledge of their benefits and their potential use as functional foods in the future.

Being that functional foods demonstrate beneficial biological functions beyond basic nutrients, the results of this investigation suggest that the fruits of *B. bucidifolia*, *M. bijugatus*, *P. acidus*, *S. purpurea*, *C. mostacha*, *C. dodecandra* and the leaves of *C. aconitifolius*, could be further investigated as potential functional foods because of their antioxidant capacity and antidiabetic properties.

---

---

## CAPÍTULO III

### DISCUSIÓN GENERAL, CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

#### 3.1. DISCUSIÓN GENERAL

El conocimiento sobre las propiedades biológicas y consumo de las frutas, hoy en día representa una potencial alternativa de prevención de enfermedades, en especial de las ECD que representan uno de los grandes problemas de salud en la sociedad actual, siendo las principales causas de muerte, por encima de las enfermedades contagiosas que, hasta algunos años ocupaban los primeros lugares. En el presente estudio se reporta la evaluación biológica y cuantificación de componentes mayoritarios de extractos hidroalcohólicos de un grupo de frutas y plantas tradicionalmente consumidas en la península de Yucatán, donde quince fueron frutas (*M. zapota*, *P. sapota*, *C. cainito*, *C. moschata*, *P. acidus*, *S. purpurea*, *M. oliviformis*, *P. campechiana*, *D. digyna*, *M. bijugatus*, *A. squamosa*, *B. crassifolia*, *B. bucidifolia*, *A. aculeata* y *C. dodecandra*) y una planta (*C. aconitifolius*).

El fruto de *B. bucidifolia*, conocido comúnmente como Sakpah o nance agrio, en la medicina tradicional, las hojas son usadas en el tratamiento de la disentería (Castillo-Avila *et al.*, 2009) y los frutos consumidos frescos o encurtidos sin embargo, presentan un limitado conocimiento fitoquímico y biológico. Este estudio permitió encontrar un alto contenido de fenoles totales en los frutos de *B. bucidifolia*, seguidos por un segundo grupo, donde se identificaron las hojas de *C. aconitifolius* y los frutos de *M. bijugatus*, *P. acidus*, *A. aculeata*, *D. digyna* y *S. Purpurea*, con cantidades moderadas de fenoles totales lo cual, coincide con lo reportado en estudios anteriormente (Arellano-Gómez *et al.*, 2005; Bystrom *et al.*, 2009; García-Rodríguez *et al.*, 2014; Moo-Huchin *et al.*, 2014; Setty *et al.*, 2014). Por otro lado, el contenido de fenoles totales en *C. aconitifolius*, confirma sus usos y beneficios como un remedio tradicional en el tratamiento de la diabetes, el reumatismo, los trastornos gastrointestinales y la inflamación (Kolterman *et al.*, 2006; Kuti & Konuru, 2004).

De manera complementaria a la caracterización fitoquímica, se cuantificaron los contenidos totales de antocianinas y carotenoides, mostrando valores significativamente más bajos que los informados previamente para algunas de las especies (Moo-Huchin *et al.*, 2014); estas diferencias podrían estar relacionadas con el estado de madurez de los frutos al momento de la recolección (Casierra-Posada & Aguilar-Avenidaño, 2008). Para el

caso del contenido de antocianinas totales, el contenido bajo podría relacionarse con su alta inestabilidad (Oancea & Drăghici, 2013). Por otro lado, se observó una correlación positiva entre los valores bajos carotenoides y la actividad biológica donde se relacionan este tipo de metabolitos (e.g. blanqueamiento de  $\beta$ -caroteno).

Existe un importante interés en la industria de los alimentos por la búsqueda de antioxidantes naturales contenidos en frutas y/o alimentos comúnmente consumidos en una dieta normal (Gulcin, 2012; Kaur & Kapoor, 2001; Rufino *et al.*, 2010). En este estudio, la actividad antioxidante de dieciséis extractos de frutas y hojas, se evaluó mediante el método de FRAP, DPPH y el blanqueamiento del  $\beta$ -caroteno. Como se esperaba, el extracto de los frutos de *B. bucidifolia* mostró la mayor actividad antioxidante en el ensayo de reducción de radicales DPPH, lo que confirma la correlación directa entre la actividad antioxidante y el contenido total de fenoles totales. En cuanto a la actividad antioxidante mediante el ensayo FRAP, la mayor actividad fue en extractos de los frutos de *M. bijugatus*, *P. acidus* y *S. purpurea*. Es interesante mencionar que la actividad antioxidante de las frutas frescas de *M. bijugatus* y *S. purpurea* ha sido reportada como mayor (Moo-Huchin *et al.*, 2014); lo cual, podría deberse a la influencia del método de secado sobre la concentración del contenido fitoquímico y la actividad biológica de los extractos (Joshi *et al.*, 2011).

En la prueba del blanqueamiento del  $\beta$ -caroteno, únicamente *D. digyna* mostró actividad significativa. La falta de actividad en la mayoría de los extractos relacionarse con la inestabilidad de las interacciones entre el ácido y el emulsionante (e.g. los enlaces de hidrógeno) que pueden bloquear los grupos que contribuyen a la actividad o modificando el patrón de sustitución de los grupos hidroxilo (Alves *et al.*, 2008; Koleva *et al.*, 2002).

Una de las principales afecciones crónicas, es la Diabetes Mellitus tipo 2, caracterizada por hiperglucemia crónica (IMSS, 2014). Métodos como la inhibición de las principales enzimas hidrolizantes de carbohidratos ( $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa), representan una potencial línea de investigación para productos naturales con potencial hipoglucemiantes (Lacroix & Li-Chan, 2014). Por tal motivo se evaluaron de todos los extractos para la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa y la  $\alpha$ -amilasa. Donde ningún extracto mostró actividad inhibitoria significativa sobre la  $\alpha$ -amilasa, por el contrario, y de manera promisorio, los extractos de los frutos de *C. moschata* y *C. dodecandra* exhibieron la actividad más alta en la inhibición contra la  $\alpha$ -glucosidasa. Estos hallazgos coinciden con varios informes

descritos en la literatura que informan sobre el potencial hipoglucémico de diferentes frutos de especies de la familia de las Cucurbitáceas (Andrade-Cetto & Heinrich, 2005). Así mismo, *C. dodecandra* tuvo una actividad casi similar a la de *C. moschata* contra la  $\alpha$ -glucosidasa. A pesar de que *C. dodecandra* representa un ingreso económico importante para la población local, con la venta de la madera y sus frutos en mermeladas y conservas, su potencial fitoquímico y biológico aún está sin explorar; se ha informado sobre la caracterización de la actividad antiglicación en varios frutos de la misma familia (Boraginaceae) (Chinchansure *et al.*, 2015). En este sentido, estos resultados confirman su potencial antidiabético.

Con el fin de demostrar el potencial funcional de los alimentos tradicionales, se evaluó la actividad citotóxica de las dieciséis especies seleccionadas y únicamente *A. squamosa* mostro actividad en una línea celular (HeLa), que de acuerdo a la American National Center Institute, esta actividad fue moderada. Para que un extractos pueda ser considerado como un agente anticancerígeno prometedor, la actividad del extracto debe de estar por debajo de 30  $\mu\text{g/ml}$  ( $\text{IC}_{50}$ ) (Francielli de Oliveira *et al.*, 2015) y la actividad mostrada por *S. Squamosa* estuvo por encima de la  $\text{IC}_{50}$  aceptada. La moderada actividad en el extracto no fue sorpresiva, ya que la familia de las Annonaceae se caracteriza por la presencia de acetogeninas que actúan como agentes antitumorales (Alali *et al.*, 1999). Alternativamente, también se evaluó la actividad antiproliferativa, donde ninguno de los extractos mostro actividad.

La Organización Mundial de la salud, recomienda la ingesta de cinco frutas al día para obtener las cantidades suficientes de vitaminas, minerales y MS, necesarios para prevenir y/o curar enfermedades, como las microbianas (Dragsted *et al.*, 2006) que impactan en mayor número de casos en menos de cinco años de edad (OMS, 2019). En este sentido, con el fin de contribuir y reforzar el conocimiento sobre la ingesta de frutas y vegetales, se evaluó la actividad antimicrobiana contra una amplia variedad de patógenos humanos, donde ninguno de los extractos evaluados mostro actividad. Teniendo en cuenta el hecho de que algunas de las frutas evaluadas mostraron un alto contenido de fenoles, se puede deducir que la actividad antimicrobiana no solo puede atribuirse exclusivamente a la presencia de metabolitos de tipo fenólico.

Sobre la actividad antiglicación, ninguno de los extractos de frutas mostro actividad inhibitoria de AGE's, lo cual se correlaciona con contenido bajo de antocianinas, ya que



en estudios anteriores esta actividad se relaciona favorablemente con la inhibición de los productos finales de la glicación avanzada (AGE's) (Louis-Philippe *et al.*, 2010; Spínola *et al.*, 2018).

Los análisis cualitativos y cuantitativos por UPLC MS/MS de los extractos, mostraron como principales metabolitos flavonoles como quercetin-3-O-arabinoglucosido, quercetin-3-O-ramnosido, quercetin-3-O-arabinofuranosido, ácidos fenólicos como el ácido cafeico y ácido clorogénico y únicamente una catequina (epicatequina). Los flavonoles identificados, como la quercetina-3-O-arabinoglu, la quercetina-3-O-ramnosida, la quercetina-3-O-rutinósido y la quercetina-3-O-arabinofuranosida han demostrado ser eficaces para reducir la peroxidación lipídica *in vitro* (Hou *et al.*, 2004; Zai Qun *et al.*, 2000), por lo tanto, una dieta rica en este tipo de flavanoles se asocia con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Vicente-Vicente *et al.*, 2013).

---

### 3.2. CONCLUSIONES

Este estudio proporciona una primera aproximación al estudio del potencial funcional de varias plantas y frutas que se consumen tradicionalmente en Yucatán. Dado que el conocimiento sobre el contenido fitoquímico y la actividad biológica de las especies seleccionadas es limitado o inexistente, los resultados de este estudio contribuyen significativamente al conocimiento de sus beneficios y su uso potencial como alimentos funcionales.

Una de las principales características para que un alimento pueda ser considerado alimento funcional, es demostrar científicamente sus propiedades biológicas. Tomando como base esta característica, los resultados de esta investigación indican que los frutos de *B. bucidifolia*, *M. bijugatus*, *P. acidus*, *S. purpurea*, *C. moschata*, *C. dodecandra* y las hojas de *C. aconitifolius*, podrían considerarse como alimentos funcionales potencialmente importantes en la dieta tradicional yucateca, debido a su actividad biológica demostrada (antioxidante y antidiabético). Estos resultados también podrían promover su producción y consumo fuera de Yucatán.

Finalmente, los alimentos tradicionales identificados con potencial funcional en este estudio, podrían usarse para el aislamiento de metabolitos bioactivos, que en el futuro pueden servir como aditivos en alimentos funcionales modificados o de lo contrario, mejorar su presencia a través de la manipulación genética.

---

### **3.3. PERSPECTIVAS**

Los resultados obtenidos en el trabajo, establecen las bases de futuros estudios relacionados al potencial funcional que tienen los alimentos tradicionales y nativos de la península de Yucatán.

Por otro lado, este tipo de estudios en alimentos tradicionales podría darle un impulso al consumo y cultivo de estas especies puesto que, con el paso del tiempo y la introducción de alimentos de distribución mundial, los alimentos tradicionales y nativos, han ido quedando en el olvido llegando al punto de estar en peligro de extinción, como es el caso del *P. campechiana*, *D. digyna* y *C. dodecandra*.

Evaluar los extractos en diferentes ensayos relacionados con la actividad antidiabética mejoraría el panorama sobre el potencial antidiabético de las frutas estudiadas.

En cuanto a la actividad citotóxica, realizar un fraccionamiento del extracto de *A. squamosa*, contribuiría favorablemente a la identificación de los metabolitos responsables de la actividad.

Así mismo, sería conveniente evaluar los extractos de las frutas en diferentes ensayos de actividad biológica, con el fin de mejorar su potencial funcional.

---

## ANEXOS

### Criterios de selección de las especies objeto de estudio

De manera general, el consumo tradicional, cultivo local y la disponibilidad de las especies fueron los criterios tomados en cuenta para su selección. Asumiendo que en los mercados se venden productos de consumo local y que al ser comercializados es por que existe una demanda sobre ellos, se eligieron de manera observacional en un mercado local de Mérida, Yucatán, México algunas especies entre hojas y frutos (*C. aconitifolius*, *B. crassifolia*, *C. cainito*, *M. zapota*, *P. sapota*, *P. acidus*); otros se eligieron tomando en cuenta los registros de arboles nativos del Jardín Botánico del Centro de Investigación Científica de Yucatán (*C. dodecandra*, *D. digyna*, *P. campechiana*) y de jardines de traspatio (*M. oliviformis*, *S. purpurea*, *A. aculeata*, *B. bucidifolia*) en Felipe Carrillo Puerto, Quintana Roo, México.

### Determination of Anti-AGEs activity

Anti-AGES activity was evaluated measuring fluorescence ( $\lambda$ ) inhibition methodology described by Boisard et al., (2014). For this assay, a solution with 10 mg/ml solution BSA and a 0.5 M solution of D-ribose were combined with a solution of the extract (1  $\mu$ g to 1 mg) in 50 mM phosphate buffer ( $\text{NaN}_3$ , 0.02%) at pH 7.4. The final volume of the assay was 100  $\mu$ L. The solution was incubated in 96-well microtiter plates at 37°C for 24 h in a closed system before recording the fluorescence, which was subtracted from the fluorescence value recorded for the BSA (10 mg/mL) solution incubated under the same conditions. The fluorescence of pentosidine and vesperlysine like AGEs was measured ( $\lambda_{\text{exc}}$  335 nm and  $\lambda_{\text{em}}$  385 nm,  $\lambda_{\text{exc}}$  370 nm and  $\lambda_{\text{em}}$  440 nm, respectively) using a microplate Spectrofluorometer. In this type of automation, a single analysis is sufficient for an accurate  $\text{IC}_{50}$  determination. The percentage of formation of AGEs was calculated for each concentration as follows:

$$\text{AGEs (\%)} = \frac{\text{fluorescence of sample} - \text{fluorescence of blank of sample}}{\text{fluorescence of control} - \text{fluorescence of blank of control}} * 100$$

The dose-effect curves were best fitted with a sigmoidal dose-response equation using the Sigma Plot 12.0 software, which allowed calculation of the  $\text{IC}_{50}$  values.

**Determination of antimicrobial activity**

The antimicrobial evaluation was carried out using the agar diffusion test on 19 microorganisms, one fungus (*Candida albicans* ATCC10231) and eighteen bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Bacillus cereus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC15442, *Acinetobacter baumannii*, SASM 15009530101 (*Staphylococcus aureus* susceptible to methicillin), SARM 15004306601 (*Staphylococcus aureus* resistant to methicillin), *Enterobacter aerogenes* 15509970101, *Klebsiella pneumoniae* oxa48, *Staphylococcus epidermis* 15511909903, *Staphylococcus saprophyticus* 18524425001, *Shigella flexeneri* ATCC 9748 , *Corynebacterium stradium* 12572545501, *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica* and *Enterobacter cloacae* 18008804401. Triplicated plates were tested for each microorganism.

### Fichas técnicas de las especies de estudio

**Nombre científico y familia:** *Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd.

Ex Mart. (Arecaceae)

**Nombre común:** Cocoyol (español)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, cocido como postre en almíbar

**Tipo de producción**

Ornamental

**Disponibilidad estacional**

Julio-diciembre

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

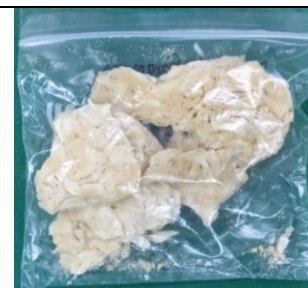
**Nombre científico y familia:** *Annona squamosa* L.

(Annonaceae)

**Nombre común:** Saramuyo (español) sugar apple (ingles)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca

**Tipo de producción**

Ornamental

**Disponibilidad estacional**

Julio-septiembre

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Nombre científico y familia:** *Byrsonima bucidifolia* Standl.  
(Malpigiaceae)

**Nombre común:** Nance agrio (español)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca y en conserva

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Tipo de producción**

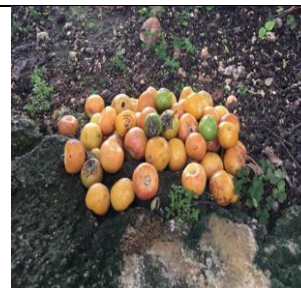
Ornamental

**Disponibilidad estacional**

Mayo-octubre

**Nombre científico y familia:** *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth  
(Malpigiaceae)

**Nombre común:** Nance amarillo (español) sweet craboo  
(ingles)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca, como postre en almíbar y fermentados.

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Tipo de producción**

Comercial y ornamental

**Disponibilidad estacional**

Junio-septiembre



**Nombre científico y familia:** *Chrysophyllum cainito* L.

(Sapotaceae)

**Nombre común:** Caimito (español) purple star apple (ingles)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca

**Tipo de producción**

Comercial y ornamental

**Disponibilidad estacional**

Enero-marzo

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Nombre científico y familia:** *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.)

I.M. Johnst. (Euphorbiaceae)

**Nombre común:** Chaya (español)



**Hoja fresca**



**Hoja liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Hoja, en ensaladas, agua fresca y complemento en platillos tradicionales, como tamales.

**Tipo de producción**

Ornamental

**Disponibilidad estacional**

Enero-diciembre

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Nombre científico y familia:** *Cordia dodecandra* (Jacq.)  
(Boraginaceae)

**Nombre común:** Ciricote (español)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, cocido como postre el almíbar

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Tipo de producción**

Ornamental

**Disponibilidad estacional**

Abril-agosto

**Nombre científico y familia:** *Cucurbita moschata* (Duchesne  
ex Lam.) (Cucurbitaceae)

**Nombre común:** Calabaza yucateca (español)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, cocida en sopas.

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Tipo de producción**

Comercial

**Disponibilidad estacional**

Febrero, abril-mayo y octubre

**Nombre científico y familia:** *Diospyros digyna* Jacq

(Ebenaceae)

**Nombre común:** Zapote negro (español) black sapote (ingles)



**Fruta fresca**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Tipo de producción**

Ornamental

**Disponibilidad estacional**

Julio-diciembre

**Nombre científico y familia:** *Manilkara zapota* (L.) P. Royen

(Sapotaceae)

**Nombre común:** Zapote (español) sapodilla (ingles)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Tipo de producción**

Comercial y ornamental

**Disponibilidad estacional**

Diciembre-abril

**Nombre científico y familia:** *Melicoccus bijugatus* Jacq  
(Sapindaceae)

**Nombre común:** Mamoncillo (español)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Tipo de producción**

Comercial y ornamental

**Disponibilidad estacional**

Abril-julio

**Nombre científico y familia:** *Melicoccus oliviformis* Kunth  
(Sapindaceae)

**Nombre común:** Huaya (español)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Tipo de producción**

Ornamental

**Disponibilidad estacional**

Mayo

**Nombre científico y familia:** *Phyllanthus acidus* (L) Skeels  
(Phyllanthaceae)

**Nombre común:** Grosella (español)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Tipo de producción**

Ornamental

**Disponibilidad estacional**

Marzo-agosto

**Nombre científico y familia:** *Pouteria campechiana* (Kunth)

Baehni (Sapotaceae)

**Nombre común:** Canisté (español) egg-fruit-tree (ingles)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca y en agua fresca

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Tipo de producción**

Ornamental

**Disponibilidad estacional**

Marzo- octubre

**Nombre científico y familia:** *Pouteria sapota* (Jacq.) H.E.

Moore & Stearn (Sapotaceae)

**Nombre común:** Mamey (español) mamey apple (ingles)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca y en helado

**Tipo de producción**

Comercial y ornamental

**Disponibilidad estacional**

Abril-mayo

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

**Nombre científico y familia:** *Spondias purpurea* L.

(Anacardiaceae)

**Nombre común:** Ciruela (español) green yellow mombin

(ingles)



**Fruta fresca madura**



**Pulpa liofilizada**

**Parte y forma de consumo**

Pulpa, como fruta fresca

**Tipo de producción**

Comercial

**Disponibilidad estacional**

Marzo-agosto

*Fuente:* (Fernández-Concha *et al.*, 2010; The Plant List, 2010)

---

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Acosta, J. de. (1978). Historia natural y moral de las Indias. *Medical History*, 22, 400-455.
- Alali, F. Q., Liu, X. X., y McLaughlin, J. L. (1999). Annonaceous acetogenins: Recent progress. *Journal of Natural Products*, 62, 504-540.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., y Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21, 143-152.
- Alonso-Castro, A. J., Villarreal, M. L., Salazar-Olivo, L. A., Gomez-Sanchez, M., Dominguez, F., y Garcia-Carranca, A. (2011). Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 133, 945-972.
- Alves, R. E., De Brito, E. S., Rufino, M. S. M., y Sampaio, C. G. (2008). Antioxidant activity measurement in tropical fruits: A case study with acerola. *Acta Horticulturae*, 733, 299-305.
- American Dietetic Association, A. (2009). Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 109, 735-746.
- Andrade-Cetto, A., y Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 325-348.
- Arellano-Gómez, L. A., Saucedo-Veloz, C., y Arévalo-Galarza, L. (2005). Cambios bioquímicos y fisiológicos durante la maduración de frutos de zapote negro (*Diospyros digyna Jacq.*). *Agrociencia*, 39, 173-181.
- Badarinath, A. V., Mallikarjuna Rao, K., Madhu Sudhana Chetty, C., Ramkanth, S., Rajan, T. V. S., y Gnanaprakash, K. (2010). A review on In-vitro antioxidant methods: Comparisons, correlations and considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2, 1276-1285.
- Barros, L., Carvalho, A. M., y Ferreira, I. C. F. R. (2011). Exotic fruits as a source of important phytochemicals: Improving the traditional use of Rosa canina fruits in Portugal. *Food Research International*, 44, 2233-2236.
- Bent, S. (2008). Herbal Medicine in the United States: Review of Efficacy, Safety, and Regulation. *Journal of General Internal Medicine*, 6, 854-859.
- Benzie, I. F. F., y Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Bigliardi, B., y Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of



- functional foods. *Trends in Food Science and Technology*, 31, 118-129.
- Blomhoff, R., Carlsen, M. H., Andersen, L. F., y Jacobs, D. R. (2006). Health benefits of nuts: Potential role of antioxidants. *British Journal of Nutrition*, 96, 52-60.
- Boisard, S., Le Ray, A. M., Gatto, J., Aumond, M. C., Blanchard, P., Derbré, S., Flurin, C., y Richomme, P. (2014). Chemical composition, antioxidant and anti-AGEs activities of a French poplar type propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 1344-1351.
- Brand-Williams, Cuvelier, M. E., y Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft and-Technology*, 28, 25-30.
- Bystrom, L. M., Lewis, B. A., Brown, D. L., Rodriguez, E., & Obendorf, R. L. (2009). Phenolics, sugars, antimicrobial and free-radical-scavenging activities of *Melicoccus bijugatus* Jacq. Fruits from the Dominican Republic and Florida. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64, 160-166.
- Cao, G., y Prior, R. L. (1999). Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. *Methods in enzymology*, 299, 50-62.
- Cardozo, M. L., Ordoñez, R. M., Alberto, M. R., Zampini, I. C., y Isla, M. I. (2011). Antioxidant and anti-inflammatory activity characterization and genotoxicity evaluation of *Ziziphus mistol* ripe berries, exotic Argentinean fruit. *Food Research International*, 44, 2063-2071.
- Carocho, M., y Ferreira, I. C. F. R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.
- Casierra-Posada, F., y Aguilar-Avenidaño, Ó. E. (2008). Quality of tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L.) harvested at different maturity stages. *Agronomía Colombiana*, 26, 300-307.
- Castillo-Avila, G. M., García-Sosa, K., y Peña-Rodríguez, L. M. (2009). Antioxidants from the leaf extract of *Byrsonima bucidaefolia*. *Natural Product Communications*, 4, 83-86.
- Cattaneo, F., Sayago, J. E., Alberto, M. R., Zampini, I. C., Ordoñez, R. M., Chamorro, V., Pazos, A., y Isla, M. I. (2014). Anti-inflammatory and antioxidant activities, functional properties and mutagenicity studies of protein and protein hydrolysate obtained from *Prosopis alba* seed flour. *Food Chemistry*, 161, 391-399.
- Chinchansure, A. A., Korwar, A. M., Kulkarni, M. J., y Joshi, S. P. (2015). Recent

development of plant products with anti-glycation activity: A review. *RSC Advances*, 5, 1-58.

CONABIO. (2016). *Estrategia Nacional sobre Biodiversidad de México*.

Dasgupta, A., y Klein, K. (2014). *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements: Prevention and Treatment of Disease*. *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements: Prevention and Treatment of Disease*. Elsevier Inc, San Diego, CA. pp. 1-344.

De Figueiredo Toledo, M. C., y Lajolo, F. M. (2008). Supplements and Functional Foods Legislation in Brazil. In *Nutraceutical and Functional Food Regulations in the United States and Around the World*. pp. 349-364.

Desch, S., Schmidt, J., Kobler, D., Sonnabend, M., Eitel, I., Sareban, M., Rahimi, K., Schuler, G., y Thiele, H. (2010). Effect of cocoa products on blood pressure: Systematic review and meta-analysis. *American Journal of Hypertension*, 23, 97-103.

Dewick, P. M. (2009). *Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach*. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex. pp. 509.

Dichi, I., Wander, J., Colado, A., y Cecchini, R. (2014). *Role of oxidative stress in chronic diseases*. CRC Press, pp. 693.

Dillard, C. J., y Bruce German, J. (2000). Phytochemicals: Nutraceuticals and human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1744-1756.

Dragsted, L. O., Krath, B., Ravn-Haren, G., Vogel, U. B., Vinggaard, A. M., Jensen, P. B., Loft, Steffen., Rasmussen, S. E., Sandstrom, B. M., y Pedersen, A. (2006). Biological effects of fruit and vegetables. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65, 61-67.

Fernández-Concha, G., Tapia-Muñoz, J., Duno de Stefano, R., y Ramírez-Morillo, I. (2010). *FLORA ILUSTRADA DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN: Listado Florístico*. pp. 313.

Francielli de Oliveira, P., Morais Alves, J., Lopes Damasceno, J., Machado Oliveira, R. A., Júnior Dias, H., Miller Crotti, A. E., y Crispim Tavares, D. (2015). Cytotoxicity screening of essential oils in cancer cell lines. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 25, 183-188.

García-Rodríguez, R. V., Gutiérrez-Rebolledo, G. A., Méndez-Bolaina, E., Sánchez-Medina, A., Maldonado-Saavedra, O., Domínguez-Ortiz, M. Á., Vázquez-Hernández, M., Muñoz-Muñiz, O. D., y Cruz-Sánchez, J. S. (2014). *Cnidocolus chayamansa* Mc Vaugh, an important antioxidant, anti-inflammatory and cardioprotective plant used in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 151, 937-943.

- Genestra, M. (2007). Oxy radicals, redox-sensitive signaling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling*, 19, 1807–1819.
- González-Méndez, M., Durán-García, R., Borges-Argáez, R., Peraza-Sánchez, S., Eaux Dorantes, A., Tapia-Muñoz, J., Torres-Avilez, M., y Ferrer-Cervantes, M. (2012). *Flora medicinal de los mayas peninsulares*. pp. 339.
- Gross, J. (1991). *Pigments In Vegetables - Chlorophylls And Carotenoids*. Springer Science Business Media, Springer science, New York. pp. 360.
- Gulcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol* (2012), 86, 345-391.
- Hariram Nile, S., y Won Park, S. (2014). Edible berries : Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30, 134-144.
- Harris, C. S., Cuerrier, A., Lamont, E., Haddad, P. S., Arnason, J. T., Bennett, S. A. L., y Johns, T. (2014). Investigating Wild Berries as a Dietary Approach to Reducing the Formation of Advanced Glycation Endproducts: Chemical Correlates of In Vitro Antiglycation Activity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69, 71-77.
- He, F., Liang, N. N., Mu, L., Pan, Q. H., Wang, J., Reeves, M. J., & Duan, C. Q. (2012). Anthocyanins and their variation in red wines II. Anthocyanin derived pigments and their color evolution. *Molecules*, 17(2), 1483-1519.
- Hou, L., Zhou, B., Yang, L., y Liu, Z. L. (2004). Inhibition of human low density lipoprotein oxidation by flavonols and their glycosides. *Chemistry and Physics of Lipids*, 129, 209--219.
- Huber, G. M., y Rupasinghe, H. P. V. (2009). Phenolic profiles and antioxidant properties of apple skin extracts. *Journal of Food Science*, 74, 693-700.
- Infante, J., Rosalen, P. L., Lazarini, J. G., Franchin, M., y De Alencar, S. M. (2016). Antioxidant and anti-inflammatory activities of unexplored Brazilian native fruits. *PLOS ONE*, 11, 1-13.
- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., y He, X. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377-392.
- Instituto Mexicano del Seguro Social. (2014). *Guía de práctica clínica: Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención*. Bone. México.
- Joshi, A. P. K., Rupasinghe, H. P. V., y Khanizadeh, S. (2011). Impact of drying processes on bioactive phenolics, vitamin c and antioxidant capacity of red-fleshed apple slices. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35, 453-457.

- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., y He, X. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377-392.
- Kaur, C., y Kapoor, H. C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables - The millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 703-725.
- Kohen, R., y Nyska, A. (2002). Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicologic Pathology*, 30, 620-650.
- Koleva, I. I., van Beek, T. a, Linssen, J. P. H., de Groot, A., y Evstatieva, L. N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis: PCA*, 13, 8-17.
- Kolterman, D. A., Breckon, G. J., y Kowal, R. R. (2006). Chemotaxonomic Studies in Cnidoscopus (Euphorbiaceae). II. Flavonoids of *C. aconitifolius*, *C. souzae*, and *C. spinosus*. *Systematic Botany*, 9, 22-32.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25, 726-732.
- Kuti, J. O., y Konuru, H. B. (2004). Antioxidant Capacity and Phenolic Content in Leaf Extracts of Tree Spinach (*Cnidoscopus* spp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 117-1212.
- Lacroix, I. M. E., y Li-Chan, E. C. (2014). Overview of food products and dietary constituents with antidiabetic properties and their putative mechanisms of action: A natural approach to complement pharmacotherapy in the management of diabetes. *Molecular Nutrition and Food Research*, 58, 61-78.
- Lascurain, M., Avendaño, S., Aníbal, A., Mirna, D., y Covarrubias, M. (2010). *Guía de Frutos Silvestres Comestibles en Veracruz*. pp. 143.
- Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 3-6.
- Louis-Philippe, B., S. Harris, C., Saleem, A., Cuerrier, A., S. Haddad, P., C. Martineau, L., A.L. Bennett, S., y T. Arnason, J. (2010). Inhibitory effect of the cree traditional medicine Wiishichimanaan ( *Vaccinium vitis-idaea* ) on advanced glycation endproduct formation: identification of active principles. *Phytotherapy Research*, 24, 741-747.

- Louis, S. (2013). *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables Bioactive*. Elsevier, London. pp. 728.
- Madsen, K., Cornish, A., Soper, P., McKaigney, C., Jijon, H., Yachimec, C., Doyle, J., Jewell, L., y De Simone, C. (2001). Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology*, 121, 580-591.
- Manchali, S., Chidambara Murthy, K. N., y Patil, B. S. (2012). Crucial facts about health benefits of popular cruciferous vegetables. *Journal of Functional Foods*, 4, 94-106.
- Mena-Rejon, G., Caamal-Fuentes, E., Cantillo-Ciau, Z., Cedillo-Rivera, R., Flores-Guido, J., y Moo-Puc, R. (2009). In vitro cytotoxic activity of nine plants used in Mayan traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 121, 462-465.
- Méndez-González, M. E., Durán-García, R., Campos-Bobadilla, S. M., y Dorantes-Euán, A. (2010). Flora medicinal, en: *Biodiversidad y Desarrollo Humano En Yucatán*, pp. 349-352.
- Mezadri, T., Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., García-Parrilla, M. C., y Troncoso, A. M. (2008). Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 282-290.
- Mittermeier, R. A. (1997). Megadiversity: Earth's Biologically Wealthiest Nations. CEMEX Conservation. pp. 501.
- Moo-Huchin, V. M., Estrada-Mota, I., Estrada-León, R., Cuevas-Glory, L., Ortiz-Vázquez, E., De Lourdes Vargas y Vargas, M., Betancur-Ancona, D., y Sauri-Duch, E. (2014). 21 Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 152, 508-515.
- Moo-Huchin, V. M., Moo-Huchin, M. I., Estrada-León, R. J., Cuevas-Glory, L., Estrada-Mota, I. A., Ortiz-Vázquez, E., Betancur-Ancona, D., y Sauri-Duch, E. (2015). Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 166, 17-22.
- Moreno, D. A., Carvajal, M., López-Berenguer, C., y García-Viguera, C. (2006). Chemical and biological characterization of nutraceutical compounds of broccoli. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41, 1508-1522.
- Oancea, S., y Drăghici, O. (2013). PH and thermal stability of anthocyanin-based optimised extracts of romanian red onion cultivars. *Czech Journal of Food Sciences*,

31, 283-291.

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2019). Datos y cifras sobre las enfermedades de transmisión alimentaria.

Orqueda, M. E., Zampini, I. C., Torres, S., Alberto, M. R., Pino Ramos, L. L., Schmeda-Hirschmann, G., y Isla, M. I. (2017). Chemical and functional characterization of skin, pulp and seed powder from the Argentine native fruit mistol (*Ziziphus mistol*). Effects of phenolic fractions on key enzymes involved in metabolic syndrome and oxidative stress. *Journal of Functional Foods*, 37, 531-540.

Parmar, I., y Rupasinghe, H. (2015). Antioxidant Capacity and Anti-diabetic Activity of Wild Berry Stem Infusions. *European Journal of Medicinal Plants*, 8, 11-28.

Paz, M., Gúllon, P., Barroso, M. F., Carvalho, A. P., Domingues, V. F., Gomes, A. M., Becker, H., Longhinotti, E., y Delerue-Matos, C. (2015). Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 172, 462-468.

Peraza-Sánchez, S. R., Cen-Pacheco, F., Noh-Chimal, A., May-Pat, F., Simá-Polanco, P., Dumonteil, E., García-Miss, M.R., y Mut-Martín, M. (2007). Leishmanicidal evaluation of extracts from native plants of the Yucatan peninsula. *Fitoterapia*, 78, 315-318.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., y Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30, 11-26.

Podsdek, A., IMajewska, I., Redzynia, M., Sosnowska, D., y Koziolkiewicz, M. (2014). In Vitro Inhibitory Effect on Digestive Enzymes and Antioxidant Potential of Commonly Consumed Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 4610-4617.

Poiroux-Gonord, F., Bidel, L. P. R., Fanciullino, A. L., Gautier, H., Lauri-Lopez, F., y Urban, L. (2010). Health benefits of vitamins and secondary metabolites of fruits and vegetables and prospects to increase their concentrations by agronomic approaches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 12065-12082.

Prior, R. L., Wu, X., y Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290-4302.

Ratnasooriya, C. C., Rupasinghe, H. P. V., y Jamieson, A. R. (2010). Juice quality and polyphenol concentration of fresh fruits and pomace of selected Nova Scotia-grown grape cultivars. *Canadian Journal of Plant Science*, 90, 193-205.

Rincon M, A., Pérez de R N, M., Rached Bou, L., Romero, A., Bucarito C, L., y Padilla, F.

- (2009). Métodos para la extracción de la actividad antioxidante de vegetales. *Revista Facultad de Farmacia*, 74, 24-28.
- Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., de Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., y Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121, 996-1002.
- Rupasinghe, H. P. V. (2014). Canadian "Super Fruits": ARE THEY REAL? *Canadian Food Insights*, 2, 41-43.
- Rupasinghe, H. P. V., Wang, L., Huber, G. M., y Pitts, N. L. (2008). Effect of baking on dietary fibre and phenolics of muffins incorporated with apple skin powder. *Food Chemistry*. 107, 1217-1224.
- Sarmiento Rubiano, L.(2006). Alimentos funcionales, una nueva alternativa de alimentación. *Revista Orinoquia*, 10, 16–23.
- Sarukhán, J., Koleff, P., Carabias, J., Soberón, J., Dirzo, R., Llorente-Bousquets, J., Halffter, G., González, R., March, I., Mohar, A., Anta, S., y de la Maza, J. (2009). Capital Natural de Mexico. Síntesis: Conocimineto actual y perspectivas de sustentabilidad. *Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO)*, pp. 104.
- Sekhon-Loodu, S., y Rupasinghe, H. P. V. (2019). Evaluation of antioxidant, antidiabetic and antiobesity potential of selected traditional medicinal plants. *Frontiers in Nutrition*, 53, 1-11.
- Sergent, T., Piront, N., Meurice, J., Toussaint, O., y Schneider, Y. J. (2010). Anti-inflammatory effects of dietary phenolic compounds in an in vitro model of inflamed human intestinal epithelium. *Chemical-Biological Interactions*, 188, 659-667.
- Setty, O. H., Manjulatha, K., Imam, N., Sarita, K., y Mani Manjari, K. (2014). Phytochemical and Antioxidant studies on fruits of *Phyllanthus* species. *Vedic Research International Phytomedicine*, 2, 81-85.
- Shahidi, F. (2004). Functional Foods: Their Role in Health Promotion and Disease Prevention. *Journal of Food Science*, 69, 146-149.
- Shahidi, Fereidoon, y Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757-781.
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., y Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. *Appetite*, 51, 456-467.
- Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J. T.,

- Bokesch, H., Kenney, S., y Boyd, M. R. (1990). New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *Journal of the National Cancer Institute*, 82, 1107-1112.
- Snyder, S. M., Reber, J. D., Freeman, B. L., Orgad, K., Eggett, D. L., y Parker, T. L. (2011). Controlling for sugar and ascorbic acid, a mixture of flavonoids matching navel oranges significantly increases human postprandial serum antioxidant capacity. *Nutrition Research*, 31, 519-526.
- Spínola, V., Llorent-Martínez, E. J., y Castilho, P. C. (2018). Polyphenols of *Myrica faya* inhibit key enzymes linked to type II diabetes and obesity and formation of advanced glycation end-products (in vitro): Potential role in the prevention of diabetic complications. *Food Research International*, 116, 1229-1238.
- Spínola, V., Pinto, J., y Castilho, P. C. (2018). Hypoglycemic, anti-glycation and antioxidant in vitro properties of two *Vaccinium* species from Macaronesia: A relation to their phenolic composition. *Journal of Functional Foods*, 40, 595-605.
- Szajdek, A., y Borowska, E. J. (2008). Bioactive compounds and health-promoting properties of Berry fruits: A review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67, 147-156.
- Tanaka, T., Shnimizu, M., y Moriwaki, H. (2012). Cancer chemoprevention by carotenoids. *Molecules*, 17, 3202-3242.
- Tewelde-Berhan, S., Remberg, S. F., Abegaz, K., Narvhus, J., Abay, A., y Wicklund, T. (2014). Ferric reducing antioxidant power and total phenols in *Cordia africana* fruit. *African Journal of Biochemistry Research*, 7, 215-224.
- The Plant List [Online] (Actualizado 2010). Disponible en: <http://www.theplantlist.org/>. [Acceso 09 de Julio 2019].
- Thilakarathna, S. H., y Rupasinghe, H. P. V. (2012). Anti-atherosclerotic effects of fruit bioactive compounds: A review of current scientific evidence. *Canadian Journal of Plant Science*, 92, 407-419.
- TPA, D., Tilak, J., Bloor, K., Sane S, K., Ghaskadbi S, S., y Lele, R. (2002). Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. *Medwave*, 2, 794-804.
- Vasantha Rupasinghe, H. P., Boehm, M. M. A., Sekhon-Loodu, S., Parmar, I., Bors, B., y Jamieson, A. R. (2015). Anti-inflammatory activity of haskap cultivars is polyphenols-dependent. *Biomolecules*, 5, 1079-1098.
- Vicente-Vicente, L., Prieto, M., y Morales, A. I. (2013). Eficacia y seguridad de la quercetina como suplemento alimenticio. *Toxicología*, 30, 171-181.



- Villaseñor, J. L. (2016). Catálogo de las plantas vasculares nativas de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 559-902.
- Vitale, A. A., Bernatene, E. A., y Pomilio, A. B. (2010). Carotenoides en quimiopreención: Licopeno Carotenoids in chemoprevention : Lycopene. *Bioquímica Clínica*, 44, 195-238.
- Wang, H., Liu, T., & Huang, D. (2013). *Starch Hydrolase Inhibitors from Edible Plants. Advances in Food and Nutrition Research*. pp. 103-131.
- Willett, W. C. (1994). Diet and health: what should we eat? *Science*, 264, 532-537.
- Wojdyło, A., Nowicka, P., Carbonell-Barrachina, Á. A., y Hernández, F. (2016). Phenolic compounds, antioxidant and antidiabetic activity of different cultivars of *Ficus carica* L. fruits. *Journal of Functional Foods*, 25, 421-432.
- World Health Organization. (2018). Promoting fruit and vegetable consumption around the world.
- World Health Organization. (2018). *Enfermedades no transmisibles*.
- Wright, James S., Johnson, Erin R., y DiLabio, Gino A. (2001). Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 121, 1173-1183.
- Yeung, A. W. K., Mocan, A., y Atanasov, A. G. (2018). Let food be thy medicine and medicine be thy food: A bibliometric analysis of the most cited papers focusing on nutraceuticals and functional foods. *Food Chemistry*, 269, 455-465.
- Zai Qun, L., Lan Ping, M., Bo, Z., Li, Y., y Zhong Li, L. (2000). Antioxidative effects of green tea polyphenols on free radical initiated and photosensitized peroxidation of human low density lipoprotein. *Chemistry and Physics of Lipids*, 106, 53-63.
- Zhang, B., Wijesundara, N. M., Abbey, Lord, y Rupasinghe, H. P. V. (2017). Growing medium amendments effect on growth, secondary metabolites and anti-streptococcal activity of two species of *Plectranthus*. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 5, 53-59.
- Zhao, Y. (2007). *Berry fruit value-added products for health promotion. Berry fruit: Value-added products for health promotion*. CRC Press, pp. 411.
- Zizumbo Villarreal, D., Colunga García-Marín, P., Pat May, F., Martínez Castillo, J., y Mijangos Cortés, J. O. (2010). Recursos fito-genéticos para la alimentación y la

agricultura, en: *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán*. pp. 334-339.