



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS  
BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN  
CIRUELA MEXICANA (*Spondias purpurea* L.) A  
DIFERENTES ETAPAS DE MADUREZ**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: DOCTOR EN  
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**

**P R E S E N T A:**

**M.C. ADABELLA SUÁREZ VARGAS**

Director de Tesis:  
Dr. Irán Alia Tejacal



**Cuernavaca, Morelos, Noviembre 2018.**

CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN CIRUELA MEXICANA (*Spondias purpurea* L.) A DIFERENTES ETAPAS DE MADUREZ

Tesis realizada por M.C. Adabella Suárez Vargas, bajo la dirección del comité asesor indicado, aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

Doctora en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural

---

Director: Dr. Irán Alía Tejacal

---

Revisor: Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

---

Revisor: Dr. Dagoberto Guillén Sánchez

---

Revisor: Dr. Porfirio Juárez López

---

Revisor: Dr. Víctor López Martínez

---

Revisor: Dra. Laura J. Pérez Flores

---

Revisor: Dr. Ismael León Rivera

Cuernavaca, Mor., a 15 de noviembre de 2018

## *Agradecimientos*

*A la beca otorgada (387500) por CONACYT para la realización del doctorado en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos incluida en el Padrón Nacional de Posgrado.*



## *Agradecimientos*

---

*Gracias a mis padres **Viky** y **Martiniano** no tengo las palabras para agradecerles todo lo que me han dado y enseñado a lo largo de mi vida, siempre serán mi gran admiración y orgullo, este nuevo logro se los debo a ustedes por estar siempre conmigo. Gracias a Dios por darme la dicha y la bendición de pertenecer a mi familia.*

*A mis hermanos por compartir momentos de éxito, felicidad, unión, dicha y por todo su apoyo incondicional para poder lograr esta meta: gracias **Alma**, **Yazmín**, **Yocelyn**, **Elizabeth**, **Rodrigo**, **Martín** y **Martincito** por estar siempre apoyándome, los quiero mucho.*

*A mi amiga querida **Diane**, que siempre has estado conmigo y me cuidas desde el cielo.*

*A mi amiga **Lorena García** porque tengo la dicha de contar con tu amistad tan honesta y sincera.*

*Y de pronto un día apareces en mi vida, **M.C Benito T. E** y te conviertes en una persona muy especial e importante. Gracias por estos años que hemos compartido y sin duda han sido momentos únicos, divertidos y felices, por todo el cariño tan único, bien sabes que ya eres una persona importante en mi vida y así lo seguirás siendo.*

*Gracias al **Dr. Irán Alia Tejacal** por permitirme ser parte de su grupo de trabajo y haberme brindado su amistad.*

*Al **Dr. Dagoberto Guillén, Dr. Porfirio Juárez, Dra. Laura J. Pérez, Dr. Ismael León y Dr. Víctor López,** gracias por sus observaciones, conocimientos y el tiempo dedicado en la realización de esta tesis.*

*A la **M.C Alyn Palacios Sosa** por su apoyo incondicional en el laboratorio y sobre todo por su hermosa amistad y todas las vivencias que pasamos.*

*Mil gracias a **Dra. Alma Delia Hernández Fuentes** de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por impulsarme a realizar mis estudios de doctorado y sobre todo agradecerle su ayuda por haber financiado parte de mi estancia doctoral en la Universidad de Murcia, España. Y sobre todo por su amistad y confianza que me ha otorgado. Sin duda Dra siempre ha demostrado su gran calidad como persona.*

*A la **Dra. Encarna Gómez Plaza** por aceptarme en la estancia doctoral y formar parte en su grupo de investigación, en el departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología de la Universidad de Murcia, por todos los nuevos conocimientos adquiridos durante mi estadía.*

*A la **Dra. Aurora (UAEH)** por su invaluable ayuda en mi estancia, y por su amistad que me ha brindado.*

*Al **Dr. Eduardo** porque siempre fue genial platicar y convivir con usted, aprender de sus conocimientos. Gracias Doc.*

*A mis compañeros y nuevos amigos, (maestros y doctores) que fueron parte de esta etapa de mi vida, siempre me brindaron su ayuda y amistad desde el primer día que los conocí y por todas las divertidas convivencias que realizamos; **Oliver, Gastón, Jhon, Raúl, Mairel, Isaac, Conde, Alvaro.***

## ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	II
ÍNDICE DE FIGURAS.....	III
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA.....	V
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	4
<b>CAPÍTULO I. Actividad antioxidante y parámetros fisicoquímicos en ciruela Mexicana ‘Cuernavaqueña’ (<i>Spondias purpurea</i> L.) en diferentes estados de madurez.</b>	
1.1 Introducción.....	5
1.2 Materiales y métodos.....	6
1.3 Resultados y discusión.....	11
1.4 Conclusiones.....	19
1.5 Literatura citada.....	20
<b>CAPÍTULO II. Compuestos bioactivos y actividad antioxidante en siete ecotipos de ciruelas nativas de México (<i>Spondias purpurea</i> L.)</b>	
2.1 Introducción.....	26
2.2 Materiales y métodos.....	27
2.3 Resultados y discusión.....	33
2.4 Conclusiones.....	52
2.5 Literatura citada.....	53
<b>3. Anexos.....</b>	<b>58</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b>	Parámetros determinados en ciruela Cuernavaqueña en 4 diferentes estados de madurez.....	<b>13</b>
<b>Cuadro 2.</b>	Determinación de compuestos bioactivos en ciruela Cuernavaqueña en 4 estados de madurez.....	<b>15</b>
<b>Cuadro 3.</b>	Determinación de actividad antioxidante en pulpa de ciruela Mexicana ‘Cuernavaqueña’.....	<b>16</b>
<b>Cuadro 4.</b>	Determinación de actividad antioxidante en epicarpio de ciruela Mexicana ‘Cuernavaqueña’.....	<b>17</b>
<b>Cuadro 5.</b>	Coeficiente de correlación de Pearson entre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante y el nivel de significancia...	<b>18</b>
<b>Cuadro 6.</b>	Localización geográfica de los diferentes ecotipos de ciruela Mexicana.....	<b>28</b>
<b>Cuadro 7.</b>	Coeficientes de correlaciones de Pearson entre compuestos bioactivos y actividad antioxidante y nivel de significancia.....	<b>50</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Ecotipos de ciruela Mexicana en cuatro etapas de madurez: A) Jocote, B) Chapilla, C) Roja dulce, D) Amarilla, E) Costeña, F) Conservera, G) Morada.....	<b>29</b>
<b>Figura 2.</b>	Cambios de matiz en cuatro etapas de maduración, de siete ecotipos de ciruela Mexicana. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.....	<b>34</b>
<b>Figura 3.</b>	Cantidad de SST (Brix°) y % de ácidos titulables en cuatro etapas de maduración de siete ecotipos de ciruelas Mexicanas. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.....	<b>35</b>
<b>Figura 4.</b>	Cambio de Índice de sabor (SST/AT) en siete ecotipos de ciruela Mexicana. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.....	<b>36</b>
<b>Figura 5.</b>	Cambios en la concentración de fenoles totales en pulpa (A) y epicarpo (B). La barra vertical indica el error estándar de seis observaciones... ..	<b>38</b>
<b>Figura 6.</b>	Concentración de Flavonoides totales en pulpa (A) y epicarpio (B) en cuatro etapas de madurez. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.....	<b>40</b>
<b>Figura 7.</b>	Determinación de carotenoides totales en pulpa (A) y epicarpio (B) en siete ecotipos de ciruela en 4 etapas de madurez. La barra vertical indica el error estándar de seis observaciones.....	<b>42</b>
<b>Figura 8.</b>	Determinación de actividad antioxidante en pulpa (A) y epicarpio (B) de siete ecotipos de ciruela en 4 etapas de madurez mediante la inhibición del radical DPPH.....	<b>44</b>

**Figura 9.** Determinación de actividad antioxidante en pulpa (A) y epicarpio (B) de siete ecotipos de ciruela en 4 etapas de madurez, mediante la inhibición del radical ABTS, la barra vertical indica el error estándar de seis observaciones ..... **46**

**Figura 10.** Determinación de actividad antioxidante en pulpa (A) y epicarpio (B) de siete ecotipos de ciruela, (*Spondia purpurea* L.) en 4 etapas de madurez, mediante la técnica FRAP. Las barra vertical indica error estándar de seis observaciones..... **48**

## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

<b>mL</b>	Mililitros
<b>mg</b>	Miligramos
<b>µg</b>	Microgramos
<b>EAG</b>	Equivalente de Ácido Gálico
<b>EQ</b>	Equivalente Quercetina
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-picrilhidracilo
<b>ABTS</b>	Acido 2,2' azinobis(3-etilbenzotiazolin)-6- sulfónico
<b>FRAP</b>	Poder antioxidante reductor de hierro
<b>g</b>	Gramos
<b>FOSHU</b>	Alimentos para uso específico de salud
<b>ROS</b>	Especies reactivas de oxígeno
<b>h</b>	Matiz
<b>EAA</b>	Equivalentes de Ácido Ascórbico
<b>SST</b>	Sólidos solubles totales
<b>IS</b>	Índice de sabor

## INTRODUCCIÓN

La ciruela Mexicana (*Spondias purpurea* L.) es una fruta perteneciente a la familia Anacardiaceae, género *Spondias*, es considerada especie nativa del sur de México y Centroamérica, forman parte de la vegetación secundaria de las selvas medianas subcaducifolias, asociadas con clima cálido seco, con intervalos de temperatura promedio anual entre 20 y 29 °C, precipitaciones anuales entre 500 y 1,600 mm, (Avitia *et al.*, 2000; Ruenes *et al.*, 2010). Los árboles crecen sobre suelos pedregosos alcanzando hasta 15 m de altura, presentan hojas compuestas imparipinnadas con una vena intermarginal, sus flores son pequeñas de colores variados (rosa, blanco verdoso, púrpura) arregladas en racimos cortos, el enraizamiento es superficial no requiere de grandes precipitaciones para su crecimiento. Arce-Romero *et al.* (2017) indican que en México *S. purpurea* se distribuye ampliamente en la vertiente del océano Pacífico, centro de Veracruz y Península de Yucatán. Diferentes autores han mencionado que la ciruela Mexicana se cosecha en dos épocas; la cosecha de abril a mayo se conoce como ciruelas de época seca y de septiembre a diciembre, como ciruelas de época húmeda (Leo y Shaw, 1990, Avitia *et al.*, 2000, Álvarez *et al.*, 2017).

Las ciruelas son nombradas de diferentes formas dependiendo de la ubicación, en México y América Central se conocen como ciruela, chiabal, cirguëla, ciruela calentana, ciruela tuxpana, ciruela mexicana, ciruela morada, ciruela roja, ciruela sanjuanera, hobo, ciruela de huesito y también como jocote que proviene del náhuatl y significa Xocotl o fruto ácido (Duarte y Paull, 2015). Desde el México prehispánico los frutos de *Spondia purpurea* se han consumido hasta la actualidad, cobrando cada vez más interés (Ramírez *et al.*, 2008). Se ha reportado una variabilidad fenotípica amplia en los frutos de *S. purpurea*, encontrando drupas oblongas, redondas u ovoides; de tamaños y masas diversas que varía entre 20-50 mm y de 4-33 g respectivamente; con endocarpio grueso y fibroso, así como mesocarpio de sabor y aroma agradable (Alia *et al.*, 2012).

Una característica llamativa, es el color de su epicarpio, que van desde verde, amarillo, anaranjado, rojo, rojo púrpura y morado; éste atributo organoléptico, (color) es generalmente proporcionado por compuestos orgánicos. En el proceso de desarrollo del fruto la clorofila es el principal compuesto, que se van degradando

conforme avanza el crecimiento y maduración del fruto, que con lleva una diferenciación de tejidos, síntesis específica de enzimas y de compuestos como carotenoides, antocianinas, polifenoles, entre otros, responsables de propiedades y atributos de calidad en los frutos (Hernández y Sastre, 1999).

Actualmente ha surgido gran interés en el análisis de compuestos funcionales (carotenoides, antocianinas, fenoles, flavonoides, vitaminas) diversos estudios han demostrado, que algunos de estos metabolitos presentan potencial antioxidante, que se debe principalmente a su estructura química. Los compuestos antioxidantes son aquellos que tienen la capacidad de ceder electrones a otras moléculas, por ejemplo, a los radicales libres que son moléculas reactivas y bastante inestables. Las ROS pueden tener en nuestro organismo un origen endógeno, relacionado con el metabolismo del oxígeno y con distintas reacciones de defensa de nuestro sistema inmunológico, o pueden provenir de fuentes externas como el tabaco, la contaminación, dietas desequilibradas, ejercicio intenso, la radiación ultravioleta, el ozono o ciertos medicamentos (Dina *et al.*, 2009). La acumulación de estos radicales libres, causa el estrés oxidante, que se define como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno y radicales libres que pueden provocar daños a las macromoléculas (proteínas, fosfolípidos poliinsaturados de las membranas celulares, hidratos de carbono y ácidos nucleicos), induciendo a la generación de diversas enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer (Bagchi *et al.*, 2000).

Investigaciones recientes en diversas frutas y vegetales, mencionan que estos alimentos son excelente fuente de antioxidantes ó compuestos funcionales, como vitaminas, compuestos fenólicos y carotenoides (Terry y Thompson, 2011). El concepto de alimentos funcionales surgió en Japón a principios de los 80's, pero hasta 1991, el ministro de salud y bienestar de este país fue pionero en publicar una reglamentación permitiendo legalmente la comercialización de algunos alimentos funcionales (Foods for Specified Health Uses ó FOSHU) refiriéndose a aquellos alimentos con compuestos que desempeñan una función favorable y específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su aporte nutricional. Para su aprobación como FOSHU, un alimento debe cumplir fundamentalmente tres requisitos: a) Que exista evidencia científica de su eficacia, b) que su consumo sea

seguro con estudios adicionales en humanos y c) que se hayan determinado analíticamente sus compuestos bioactivos.

Por todo lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se evaluaron diversos ecotipos de ciruela Mexicana de los estados de Morelos, Guerrero y Chiapas, en diferentes etapas de madurez (verde,  $\frac{1}{2}$  verde,  $\frac{3}{4}$  madura y madura) para determinar la capacidad antioxidante que puede presentar en el epicarpio y pulpa de las ciruelas. Con la finalidad de comprobar analíticamente la concentración de los compuestos bioactivos a los cuales se les atribuye la capacidad antioxidante que puede presentar la ciruela Mexicana y ser considerado como un alimento funcional, además se identificó en qué etapa de maduración se determina la mayor concentración de metabolitos funcionales y el mayor potencial antioxidante en los diferentes ecotipos de ciruela.

## OBJETIVO

Determinar la concentración de compuestos bioactivos y actividad antioxidante en pulpa y epicarpio de diferentes ecotipos de ciruela Mexicana (*Spondias purpurea*) cosechados en cuatro diferentes etapas de maduración.

### Objetivos específicos

- 1.- Evaluar las características fisicoquímicas de la ciruela Mexicana de época húmeda (Cuernavaqueña) así como los cambios en el color del epicarpio, sólidos solubles totales, respiración, acidez titulable y producción de etileno en cuatro etapas de maduración.
- 2.- Cuantificar el contenido de fenoles totales, carotenoides totales, flavonoides totales en pulpa y epicarpio de la ciruela Mexicana de época seca, en cuatro etapas de madurez.
- 3.- Determinar la actividad antioxidante en pulpa y epicarpio de ciruela Mexicana en cuatro etapas de madurez, mediante la utilización de las técnicas analíticas DPPH, ABTS y FRAP.

## CAPÍTULO I

### Actividad antioxidante y parámetros fisicoquímicos en ciruela Mexicana 'Cuernavaqueña' (*Spondias purpurea* L.) en diferentes estados de madurez.

#### RESUMEN

Se cosecharon frutos de ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.) 'Cuernavaqueña' en cuatro etapas de maduración, con el objetivo de evaluar la concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante, en pulpa y epicarpio del fruto. La producción mayor de etileno, fue en etapa madura (9.43  $\mu\text{L kg h}^{-1}$ ) al igual que la concentración de sólidos solubles totales (23.9 °B). La acidez titulable fue mayor en la etapa verde tanto en pulpa como en epicarpio con 0.48 y 0.32 % respectivamente. El epicarpio de ciruela madura, presentó mayor contenido de fenoles (190 mg EAG  $\text{g}^{-1}$ ) flavonoides (214 mg EQ  $\text{g}^{-1}$ ) y carotenoides (853  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) totales. La capacidad antioxidante fue mayor en la etapa madura en el epicarpio, DPPH (1087  $\mu\text{M TE}/100$  g), ABTS (1534  $\mu\text{M TE}/100$  g) y FRAP (1764  $\mu\text{M TE}/100$  g). Se obtuvieron correlaciones significativas ( $r= 0.60^{**}$ -  $0.95^{***}$ ) entre los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante.

**Palabras clave:** *Spondias purpurea*, compuestos bioactivos, actividad antioxidante

#### 1.1 INTRODUCCIÓN

La ciruela mexicana, *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae), es un árbol tropical cuyos frutos son redondos u ovoides de tamaños y masas diversas que fluctúan entre 20 y 50 mm y de 4 a 43 g respectivamente, con epicarpio de coloración rojo, amarillo, anaranjado o púrpura al madurar (Alia *et al.*, 2012). Es considerada especie nativa de México y forma parte de las selvas bajas caducifolias y subcaducifolias, su distribución comprende la costa occidental y la zona sureste del país, considerada como un frutal con alto potencial por su bajo costo de producción, debido a que crece en forma silvestre y se adapta a lugares con suelos pobres y delgados (Avitia-García *et al.*, 2000). Los frutos son comercializados en fresco, teniendo alta aceptabilidad y potencial para su producción a escala comercial (Bautista-Baños *et al.*, 2003). Actualmente se ha incrementado el consumo de alimentos funcionales (frutas y

verduras) asociados con la disminución y prevención de enfermedades crónicas, debido a la presencia de compuestos bioactivos (vitaminas, enzimas, carotenoides, flavonoides y compuestos fenólicos) a los que se atribuyen propiedades antioxidantes (Hooper and Cassidy, 2006; Isabelle *et al.*, 2010). Estos compuestos tienen la capacidad de neutralizar moléculas dañinas, tales como los radicales libres que interactúan y desestabilizan moléculas estables como las proteínas, ácidos nucleicos, lípidos etc, lo que provoca enfermedades degenerativas en el organismo (Niva, 2007). Existen diferentes métodos de compuestos cromógenos (DPPH, FRAP, ABTS) que ayudan a determinar la capacidad antioxidante (Brand-Williams *et al.*, 1995; Benzie and Strain., 1996; Re *et al.*, 1999) que presentan los alimentos, para captar especies reactivas de oxígeno y radicales libres (Prior *et al.*, 2005). Son escasos los estudios que han reportado la presencia de compuestos bioactivos y actividad antioxidante en frutales nativos de México, en particular de la ciruela Mexicana. Por lo anteriormente descrito, el objetivo de esta investigación fue cuantificar la capacidad antioxidante en pulpa y epicarpio de la ciruela 'Cuernavaqueña' en cuatro estados de maduración y determinar la relación entre los compuestos bioactivos y actividad antioxidante.

## **1.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

En Septiembre de 2014 se cosecharon frutos de ciruela mexicana 'Cuernavaqueña' provenientes de árboles de una huerta comercial ubicada en Buenavista, Cuernavaca, Morelos, México (18°56'55.71" N, 99°18'39.67" O, 1987 msnm). Se transportaron al Laboratorio de Producción Agrícola en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, para su evaluación. Los frutos fueron clasificados subjetivamente de acuerdo al color del epicarpio formando cuatro grupos de 40 frutos cada uno, de acuerdo a su etapa de madurez fisiológica, verde (100 % color verde del epicarpio), 1/2 verde (75 % de color verde del epicarpio), 3/4 madura (25 % de color verde del epicarpio) y madura (0% de color verde del epicarpio). Posteriormente los frutos se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio 1 % v/v y se colocaron a temperatura ambiente (22 ± 2 ° C y 60 % HR).

### **1.2.1 Color**

Se determinaron los parámetros de color, luminosidad ( $L^*$ ), cromaticidad ( $C^*$ ) y matiz (h) en el epicarpio de las ciruelas, de los 4 estados de maduración por medio de un espectrofotómetro manual (X-Rite 3290®, USA) las lecturas se realizaron en tres partes diferentes de cada fruto (McGuire, 1992). Se evaluaron 20 frutos por cada etapa de maduración.

### **1.2.2 Velocidad de respiración y producción de etileno**

La velocidad de respiración ( $CO_2$ ) y producción de etileno fueron cuantificados mediante un sistema estático (Mendoza-Wilson y Báez-Saduño, 2000) que consistió en colocar dos frutos de masa conocida en recipientes de vidrio con capacidad de 145 mL, cerrados herméticamente durante 2 horas. Posteriormente, se tomó 1 mL de gas del espacio de cabeza a través de un la septo de los frascos, para inyectarlo a un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 7890A GC), con una columna tipo abierta con empaque de capa porosa de sílica conectada simultáneamente a un detector de ionización de flama (FID) a una temperatura de 170°C y otro de conductividad térmica (TCD) a 170 °C, como gas acarreador se utilizó  $N_2$  (2 mL/min). El inyector y horno del cromatógrafo se mantuvieron a una temperatura de 150 y 80 °C respectivamente durante las mediciones. Para la cuantificación se utilizaron estándares de  $CO_2$  (460 ppm) y etileno (100 ppm) (Quark INFRA®). La unidad experimental en esta variable fueron dos frutos en un frasco y se tuvieron seis repeticiones.

### **1.2.3 Sólidos solubles totales y acidez titulable**

Los sólidos solubles totales se determinaron a partir de dos gotas de jugo de cada fruto evaluado, extraídas con la ayuda de un Super Extractor (ATAGO ®) las cuales fueron colocadas en un refractómetro ATAGO PAL-1® (Japan) los resultados se reportaron en °Brix. Se determinó la acidez titulable de acuerdo a lo establecido por la AOAC, (1995) en pulpa y epicarpio, se tituló con NaOH 1 N, usando fenolftaleína como indicador, los resultados se expresaron como % de ácido cítrico. Se determinó el índice de sabor (IS) mediante la relación de los sólidos solubles totales (°Brix) y la

acidez titulable, en pulpa y epicarpio. Se evaluaron diez frutos por etapa de maduración.

#### **1.2.4 Fenoles totales**

La concentración de fenoles totales se realizó conforme a la metodología de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Se homogenizaron un gramo de pulpa y epicarpio por separado en un tubo de ensaye con ayuda de un Ultra Turrax (IKA®), con 20 mL de agua destilada y posteriormente se filtraron. Se tomó 0.5 mL del filtrado y se mezcló con 2.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10) después de 5 min se adicionaron 2 mL de carbonato de sodio (7.5% p/v) y se dejó reposar durante 2 horas, posteriormente las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro (HACH DR 5000®) a 760 nm. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco.

#### **1.2.5 Flavonoides totales**

El total de flavonoides se determinó usando la metodología de Arvouet-Grand *et al.* (1994). Se pesó 0.5 g de muestra (pulpa y epicarpio por separado) con 10 mL de metanol y se homogenizó con un Ultra Turrax (IKA®) y posteriormente se filtró. A partir del filtrado se tomaron 2 mL de muestra y se mezclaron con 2 mL de tricloruro de aluminio al 2 % p/v dejando reposar por 15 min en la oscuridad, se realizaron las lecturas de absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro (HACH DR 5000®). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de Quercetina (EQ) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco.

#### **1.2.6 Cuantificación de carotenoides**

Para la extracción y cuantificación de carotenoides totales se utilizó la metodología descrita por Rodríguez-Amaya y Kimura (2004). A un gramo de muestra se le adicionaron 15 mL de acetona fría y se homogeneizó utilizando un Ultra Turrax (IKA®) se filtró y se agregaron 30 mL de hexano y 100 mL de agua destilada, se dejó reposar hasta observar la separación de dos fases, la fase acuosa (fase inferior) se desechó, quedando en el embudo solo la fase superior (extracto que contenía los carotenoides), se agregó 100 µL de NaOH (10 N) y se lavó 4 veces con 100 mL de

agua destilada, finalmente tras los lavados el extracto se filtró, usando papel filtro que contenía una capa de Sulfato de sodio anhidro para eliminar residuos de agua. Se midió el volumen final y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro (DR- 5000 HACH®) a 452 nm. Los valores de absorbancia de las muestras estuvieron en el intervalo de 0.2 y 0.8, si las muestras presentaban una absorbancia superior a este rango, se realizaron diluciones con hexano en proporciones de 1:1. El dato obtenido se utilizó para calcular el contenido total de carotenoides mediante la fórmula:

$$\text{Contenido total de carotenoides} = \frac{A \times \text{volumen (mL)} \times 10^4}{A_{\substack{1\% \\ 1\text{cm}}} \times \text{peso muestra (g)}}$$

Dónde: A=absorbancia, volumen= volumen total del extracto,  $A$ =coeficiente de absorción de  $\beta$ -caroteno en hexano (2592). La cuantificación de carotenoides totales se expresó como  $\mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  de peso fresco.

### 1.2.7 Determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH

Para la obtención de los extractos de muestras se pesó por separado 1 g de epicarpio y 1 g de pulpa, se homogenizaron cada uno con agua destilada (1:10) obteniendo dos muestras para determinar las variables a estudiar.

Se utilizó la metodología propuesta por Brand-Williams *et al.* (1995), con mínimas modificaciones, este método consistió en colocar en una celda de cuarzo de 3 mL de una solución de DPPH metanólica  $6.1 \times 10^{-5}$  M (Sigma Aldrich, USA) y se hicieron reaccionar con 100  $\mu\text{L}$  de solución de muestra, la mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 30 min y se leyó a 517 nm el cambio de absorbancia. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA)  $100 \text{ g}^{-1}$  y  $\mu\text{M}$  equivalente Trolox (TE)  $100 \text{ g}^{-1}$  peso fresco.

### 1.2.8 Determinación de la capacidad antioxidante por la técnica de ABTS

Se preparó ABTS (Sigma-Aldrich) 7mM y persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) a 2.45 mM y se mezclaron en proporción 1:1 v/v, se dejó reposar durante 16 h. Se diluyó con etanol 20% v/v, hasta alcanzar una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 734 nm. Se agregó 3 mL de ABTS con 50  $\mu\text{L}$  de muestra y se dejó reaccionar durante 15 min, se leyó la absorbancia a 734 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido

ascórbico (EAA) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco y en  $\mu\text{M}$  equivalente Trolox (TE) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco (Re *et al.*, 2005).

### **1.2.9 Capacidad antioxidante de reducción férrica (FRAP)**

Se empleó la metodología desarrollada por Benzie y Strain, (1996): se preparó el reactivo FRAP (TPTZ, FeCl<sub>3</sub> y amortiguador de acetato) se mezcló 1.8 mL de FRAP con 140 $\mu\text{L}$  de agua destilada y 60 $\mu\text{L}$  de muestra, se dejaron reaccionar durante 30 min a 37 °C y transcurrido el tiempo de reacción se leyó la absorbancia a 593 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco y  $\mu\text{M}$  equivalente Trolox (TE) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco.

Las variables de fenoles, flavonoides, carotenoides totales y la evaluación de la actividad antioxidante se evaluaron en seis muestras compuestas; es decir se tomaba muestra de dos frutos y se consideraba una unidad experimental y se tuvieron seis repeticiones.

#### **1.2.10 Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos se analizaron por un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias de Tukey ( $P < 0.05$ ) con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.2. Se realizaron análisis de coeficiente de correlación Pearson entre las variables de compuestos bioactivos y actividad antioxidante.

### 1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron diferencias significativas en la producción de CO<sub>2</sub> entre los diferentes estados de maduración evaluados, se tuvieron valores promedio de 1.11 mL kg h<sup>-1</sup> (Cuadro 1). Pérez *et al.* (2004) al evaluar frutos de ciruela mexicana proveniente de Oaxaca, en etapa verde, ½ amarillo y ¾ de amarillo no observaron cambios significativos en la velocidad de respiración durante la maduración, similar respuesta indican Kohatsu *et al.* (2011) en frutos de *Spondias purpurea* cultivadas en Brasil. En contraste, Montalvo-González *et al.*, (2011); Pereira *et al.*, (2000); Osuna *et al.*, (2011) determinaron un comportamiento climatérico en ciruelas mexicanas cultivadas en México y Brasil. Recientemente, Maldonado-Astudillo *et al.* (2014), indicaron que debido a la variación en el comportamiento de la producción de CO<sub>2</sub>, es difícil determinar si la ciruela mexicana es un fruto climatérico o no, a pesar de los cambios que los cambios bioquímicos y físicos sugieren que es un fruto climatérico.

La producción de etileno se incrementó al avanzar el estado de maduración de 3.92 a 9.43 µL kg h<sup>-1</sup>, la máxima producción de etileno se presentó en la etapa madura (Cuadro 1). Pérez *et al.* (2004) no determinaron cambios en la producción de etileno en la evaluación de frutos de ciruela mexicana provenientes de Oaxaca. Por su parte, Montalvo-González *et al.* (2011) detectaron un incremento significativo en la producción de etileno durante la maduración de frutos de ciruela amarilla proveniente de Nayarit y almacenados bajo diferentes condiciones de luz. Generalmente un incremento en la producción de etileno actúa como un iniciador de la maduración, induciendo la producción autocatalítica, que ocasiona cambios en el color, textura, aroma, sabor y otros atributos bioquímicos, fisiológicos y físicos en el fruto (Hiwasa-Tanase y Ezura, 2014) siendo parámetros importantes que considera el consumidor para su adquisición.

Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las cuatro etapas de madurez en los parámetros de color en el epicarpio de ciruela mexicana (Cuadro 1). Similar comportamiento fue reportado por Dantas *et al.* (2016). En la etapa verde el epicarpio de la ciruela mexicana fue de color verde ( $h=108,90$ ), opaco ( $C^*=26,36$ ) y poco brillante ( $L^*=39,87$ ), en la etapa de maduración ½ verde presentó un color cercano al amarillo ( $h=93,7$ ), menos opaco ( $C^*=34,4$ ) y brillante ( $L^*=45,33$ ) (Cuadro

1). En la etapa  $\frac{3}{4}$  madura los frutos presentaron un ángulo de matiz tendiente al naranja ( $h=75,27$ ) obteniendo una cromaticidad de 43,39 ( $C^*$ ) y la mayor brillantez ( $L^*=50,3$ ) a diferencia de todas las etapas de madurez, por último, en la etapa madura se cuantificó un color tendiente al rojo ( $h=60,39$ ) más opaco ( $C^*=40,48$ ) y menos luminoso ( $L^*=45,91$ ). El cambio de color en las ciruelas mexicanas probablemente se asocia a una disminución de clorofilas y mayor biosíntesis de carotenoides, sin embargo, aún no se ha confirmado esta hipótesis.

La concentración de sólidos solubles totales (SST) se incrementó significativamente de la etapa verde (5.83 °Brix) a la etapa madura (23.9 °Brix) (Cuadro 1). Alia *et al.* (2012) reportaron valores máximos de 17.3 °Brix en 67 colectas de ciruela mexicana provenientes de Morelos, Guerrero y Chiapas. Montalvo *et al.* (2011) reportaron un máximo de SST en ciruela amarilla de 15.0 °Brix, y Tiburski *et al.* (2011) cuantificaron en ciruela amarilla (*Spondias mombin* L.) un promedio de 14.9 °Brix. El incremento de los sólidos solubles totales avanza conforme el estado de madurez de la ciruela mexicana, se ha reportado por diversos autores (Dantas *et al.*, 2016, Bautista *et al.*, 2003; Pérez *et al.*, 2004; Osuna *et al.*, 2011).

La acidez titulable en pulpa y epicarpio fue mayor en la etapa verde (Cuadro 1) y disminuyó significativamente al madurar el fruto de 0.48 % a 0.27 % en pulpa y de 0.42 % a 0.23 % en epicarpio. Lo anterior coincidió con los trabajos realizados por Díaz-Pérez *et al.*, (1999); Filgueiras *et al.*, (2001); Pérez *et al.*, (2004), quienes mencionan que en frutos de ciruela mexicana, la acidez disminuye al avanzar la madurez del fruto. Alia *et al.* (2012) determinaron valores entre 0.2 – 2.0 % de ácido cítrico, mientras que Tiburski *et al.* (2011) reportaron un valor promedio de 1.46 % de ácido cítrico presentes en ciruelas amarillas (*Spondias mombin* L.).

El índice de sabor (IS) en la ciruela mexicana Cuernavaqueña tanto en pulpa como en epicarpio fueron diferentes significativamente entre las etapas de maduración ya que variaron entre 12,35 – 87,62 y 18,47 – 105,16 respectivamente (Cuadro 1). El índice de sabor se incrementó conforme maduró el fruto, debido a una disminución de la acidez titulable e incremento de los SST. Este comportamiento es similar a lo reportado por Filgueiras *et al.* (2001) y Pérez *et al.* (2004). Por otra parte, Alia *et al.* (2012) reportaron una variación alta ( $CV=66\%$ ) en el índice de sabor en un rango de 3.0 y 63.2 lo cual se atribuye a la diversidad entre genotipos evaluados.

**Cuadro 1.** Parámetros determinados en ciruela ‘Cuernavaqueña’ en 4 diferentes estados de madurez.

Etapa de Madurez	Etileno ( $\mu\text{L kg h}^{-1}$ )	Respiración ( $\text{mL kg h}^{-1}$ )	L*	C*	°Hue	SST (°Brix)	AT P (%)	AT E (%)	IS P	IS E
Verde	3.92 c	1.01 a	39.87 c	26.36 c	108.9 a	5.83 d	0.48 a	0.42 a	12.35 c	18.47 c
1/2 verde	5.81 bc	1.20 a	45.33 b	34.4 b	93.7 b	10.18 c	0.41 a	0.32 b	24.67 c	23.91 c
3/4 madura	8.26 ab	1.03 a	50.3 a	43.39 a	75.27 c	18.7 b	0.33 b	0.26 bc	56.24 b	71.79 b
Madura	9.43 a	1.23 a	45.91 b	40.48 a	60.39 d	23.9 a	0.27 b	0.23 c	87.62 a	105.16 a
DMSH	3.39	0.4651	2.18	3.68	6.52	1.72	0.067	0.082	13.28	19.22
CV	23.7	22.96	2.98	6.30	4.52	7.29	9.89	14.45	16.23	19.37

L\*: luminosidad (0: blanco; 100: negro); C\*: Cromaticidad; h: Ángulo matiz (0 = rojo; 90: amarillo, 180 verde); SST: Sólidos Solubles Totales (°Brix); ATC: Acidez titulable Epicarpio (%); ATP ; Acidez Titulable Pulpa; ISP ; Índice de Sabor Pulpa; ISC; Índice de Sabor Epicarpio. Medias con letra diferente en el sentido de las columnas son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey  $P < 0.05$ .

Se determinó mayor concentración de fenoles totales, flavonoides totales y carotenoides totales en el epicarpio de la ciruela mexicana ‘Cuernavaqueña’ (Cuadro 2). Los fenoles totales en pulpa estuvieron en mayor concentración en la etapa  $\frac{1}{2}$  verde y  $\frac{3}{4}$  madura con 89,21 y 77,7 mg EAG  $100 \text{ g}^{-1}$  respectivamente (Cuadro 2). En tanto que los fenoles totales en el epicarpio, en etapa madura tuvo 190.6 mg EAG  $100 \text{ g}^{-1}$  y fue donde se encontró la mayor concentración de fenoles totales (Cuadro 2). Filgueiras *et al.* (2001) cuantificaron la mayor cantidad de fenoles totales en la etapa madura de *S. purpurea* cultivada en Brasil con valores entre 160 y 240 mg EAG  $100 \text{ g}^{-1}$ . Por su parte Tiburski *et al.* (2011) reportaron una concentración de fenoles totales en pulpa de ciruela amarilla (*Spondias mombin*) de 260 mg EAG  $100 \text{ g}^{-1}$ . El fruto de ciruela mexicana ‘Cuernavaqueña’ se consume tanto la pulpa como el epicarpio, por lo que al sumar la cantidad de fenoles totales de la pulpa y epicarpio en la etapa madura se tienen aproximadamente 239 mg EAG  $100 \text{ g}^{-1}$  (Cuadro 2). Los fenoles en los frutos de *Spondias purpurea* presentan la función de ser antioxidantes naturales, proporcionando beneficios contra enfermedades crónico degenerativas cuando estos compuestos son ingeridos por los humanos contra enfermedades crónico degenerativas (Filgueiras *et al.*, 2001; Tiburski *et al.*, 2011). El contenido de fenoles totales en ciruela mexicana es mayor que el reportado en papaya (54 mg

EAG 100 g<sup>-1</sup>), plátano (24-72 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>) y piña (35-52 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>) (Thanaraj y Terry, 2011), por lo que se considera una buena fuente de metabolitos con capacidad antioxidante.

La concentración de flavonoides en la pulpa se incrementó significativamente de la etapa verde a  $\frac{3}{4}$  madura y madura, de 17 a 22-23 mg EQ 100 g<sup>-1</sup> (Cuadro 2). En el epicarpio de las ciruelas en etapa madura, se cuantificó la mayor concentración de flavonoides totales con 214 mg EQ 100 g<sup>-1</sup> (Cuadro 2). En total el contenido de flavonoides en la etapa madura de ciruela mexicana 'Cuernavaqueña', al sumar lo cuantificado en pulpa y epicarpio, es aproximadamente 245 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>; que es mayor a lo reportado en la pulpa de papaya (63.2 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>), Acai (55.9 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>), Uva (70.1 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>) y fresa (21.8 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>) (Zielinski *et al.*, 2014). Los resultados sugieren que la ciruela mexicana aporta cantidades importantes de flavonoides cuando se consume.

El contenido total de carotenoides se incrementó conforme avanzó la maduración del fruto de la ciruela mexicana 'Cuernavaqueña' tanto en pulpa como en epicarpio de valores iniciales entre 37,29 y 150,71 µg g<sup>-1</sup> a valores finales entre 143.8 y 853.6 µg g<sup>-1</sup> respectivamente. Al sumar la cantidad de carotenoides en pulpa y epicarpio, se determinó que en la etapa madura, el fruto de ciruela mexicana 'Cuernavaqueña' contiene 1000 µg g<sup>-1</sup> de carotenoides. Tiburski *et al.* (2011) reportaron una concentración total de carotenoides presentes en pulpa de ciruela amarilla (*Spondias mombin*) de 4869.5 µg g<sup>-1</sup> y estudios realizados por Rodríguez y Kimura, (1989) en la identificación de carotenoides presentes en pulpa de *S. mombin* cuantificaron 210 µg g<sup>-1</sup> de α-caroteno, 260 µg g<sup>-1</sup> de β-caroteno, 170 µg g<sup>-1</sup> de zeaxantina, 200 µg g<sup>-1</sup> de luteína, en mayor concentración β-criptoxantina con 830 µg g<sup>-1</sup>.

**Cuadro 2.** Determinación de compuestos bioactivos en ciruela Cuernavaqueña en 4 estados de madurez.

Etapa de Madurez	Pulpa			Epicarpio		
	Fenoles (mg EAG 100 g <sup>-1</sup> )	Flavonoides (mg EQ 100 g <sup>-1</sup> )	Carotenoides (µg g <sup>-1</sup> )	Fenoles (mg EAG 100 g <sup>-1</sup> )	Flavonoides (mg EQ 100 g <sup>-1</sup> )	Carotenoides (µg g <sup>-1</sup> )
Verde	48.71 b	17.11 c	37.29 c	91.4 d	175.91 b	143.8 d
1/2 verde	89.21 a	19.27 bc	43.64 c	117.17 c	169.62 b	390.9 c
3/4 madura	77.7 a	23.26 a	92.21 b	161.5 b	176.35 b	582.7 b
Madura	48.1 b	22.07 ab	150.71 a	190.65 a	214.7 a	853.6 a
DMSH	21.92	3.66	19.95	13.0	29.16	154.8
CV	20.76	11.09	13.62	5.66	9.77	17.36

EAG; Equivalentes Ácido Gálico; EQ Equivalentes Quercetina. Medias con letra diferente en el sentido de las columnas son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey  $P < 0.05$ .

La inhibición del radical DPPH en pulpa, no mostró diferencias significativas entre las 4 etapas de maduración en promedio se tuvieron 36.05 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> y 396.62 µM TE 100 g<sup>-1</sup> (Cuadro 3). En el ensayo con ABTS la mayor actividad antioxidante en pulpa se incrementó al avanzar la maduración en las etapas de ½ verde y ¾ madura (Cuadro 3). Finalmente, en el ensayo de FRAP en pulpa, la actividad antioxidante disminuyó conforme el fruto avanzó en su maduración (Cuadro 3). Spínola *et al.*, (2015) reportaron en frutas tropicales una actividad antioxidante por medio de ABTS para chirimoyas, limón, papaya, fruta de la pasión y fresas, con valores entre 121,2 y 316,15 mg VEC/100 g<sup>-1</sup> de jugo y entre 675.14 y 1761.27 µmol TE/100 g jugo, respectivamente. Estos valores indican que la ciruela mexicana Cuernavaqueña, muestra aceptable actividad antioxidante.

**Cuadro 3.** Determinación de actividad antioxidante en pulpa de ciruela mexicana ‘Cuernavaqueña’.

Etapa de madurez	Pulpa					
	DPPH	ABTS	FRAP	DPPH	ABTS	FRAP
	mg EAA 100 g <sup>-1</sup>	mg EAA 100 g <sup>-1</sup>	mg EAA 100 g <sup>-1</sup>	μM TE 100 g <sup>-1</sup>	μM TE 100 g <sup>-1</sup>	μM TE 100 g <sup>-1</sup>
Verde	36.97 a	43.4 c	84.41 ab	398.63a	401.17 c	814.60 ab
1/2 verde	36.92 a	61.5 ab	90.48 a	399.12a	563.3 ab	881.18 a
3/4 madura	37.64 a	73.7 a	73.69 b	405.75a	673.84 a	697.15 b
Madura	32.53 a	57.37 bc	56.63 c	383.99a	524.58 bc	56.63 c
DMSH	15.67	15.56	14.94	170.94	136.47	164.83
CV (%)	26.04	15.94	10.83	26.66	15.61	12.55

Equivalente Ácido Ascórbico (EAA); Equivalente Trolox (TE); DMSH; Diferencia Mínima Significativa. CV; Coeficiente de Variación.

La actividad antioxidante en epicarpio de la ciruela mexicana ‘Cuernavaqueña’ se incrementó significativamente al avanzar en su maduración (Cuadro 4). En la etapa madura de la ciruela ‘Cuernavaqueña’, el epicarpio exhibió mayor actividad antioxidante hacia los radicales DPPH, ABTS y FRAP. En el estudio que realizaron Kuskoski *et al.*, (2005) de actividad antioxidante por DPPH en pulpas de frutos tropicales (maracuyá, mora, piña, guanábana, mango, uva) reportaron valores en intervalo de 174,3 a 41,1 mg EAA 100g<sup>-1</sup> y 12,9 a 0,5 μmol TE/g. Para los ensayos con ABTS reportaron valores 37,0 a 224,7 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> y 11,2 a 2,3 μ mol TE/ g, por lo que, son valores similares a los reportados en este trabajo para ciruela mexicana. Por su parte, Tiburski *et al.* (2011) reportaron para ciruela amarilla (*Spondia mombin*) una actividad antioxidante de 17.47 mmol TEAC/ g.

**Cuadro 4.** Determinación de actividad antioxidante en epicarpio de ciruela Mexicana ‘Cuernavaqueña’.

Etapa de madurez	Epicarpio					
	DPPH	ABTS	FRAP	DPPH	ABTS	FRAP
	mg EAA 100 g <sup>-1</sup>	mg EAA 100 g <sup>-1</sup>	mg EAA 100 g <sup>-1</sup>	μM TE 100 g <sup>-1</sup>	μM TE 100 g <sup>-1</sup>	μM TE 100 g <sup>-1</sup>
Verde	51.79 c	76.5 d	93.92 d	556.8 c	698.44 d	918.8 d
1/2 verde	65.5 bc	101.6 c	111.7 c	702.99 bc	925.2 c	1114.79 c
3/4 madura	75.86 b	133.4 b	141.9 b	813.52 b	1210.9 b	1447.2 b
Madura	98.87 a	167.4 a	170.7 a	1087.6 a	1534.7 a	1764.4 a
DMSH	16.18	20.7	15.73	172.73	179.92	172.59
CV (%)	13.53	10.57	6.7	13.56	10.19	7.27

Equivalente Ácido Ascórbico (EAA); Equivalente Trolox (TE). DMSH; Diferencia Mínima Significativa. CV; Coeficiente de Variación.

La ciruela ‘Cuernavaqueña’ mostro buena actividad antioxidante resaltando que el epicarpio tiene mayor inhibición de los radicales libres, atribuyéndose a la presencia de mayor concentración de compuestos bioactivos como fenoles y carotenoides. Entre los métodos más utilizados para determinar la actividad antioxidante para captar radicales libres, el radical DPPH, ABTS y FRAP son de los más rápidos para su determinación. Algunos trabajos relacionan la actividad antioxidante con el contenido de fenoles, flavonoides y carotenoides; sin embargo, pueden existir dentro de la matriz de la muestra, otros compuestos que tengan esa propiedad antioxidante (vitaminas, enzimas, minerales) (Serrano *et al.*, 2007).

Se determinaron correlaciones entre los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante (mg equivalentes ácido ascórbico (EAA) g<sup>-1</sup> y μM equivalente trolox (TE)/100 g) de los tres métodos aplicados, encontrando correlación alta y significativa entre fenoles, carotenoides y flavonoides presentes en el epicarpio hacia la inhibición de estos radicales, lo que sugiere que son los componentes responsables de la actividad antioxidante (Cuadro 5). Sin embargo, no se encontró ninguna correlación entre DPPH con la pulpa de ciruela. Los compuestos bioactivos presentan diferente actividad antioxidante dependiendo de su estructura (número de grupos hidroxilo), así como en la matriz donde se encuentren (Heo *et al.*, 2007).

**Cuadro 5.** Coeficiente de correlación de Pearson entre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante y el nivel de significancia.

	DPPH C		ABTS C		FRAP C		ABTS P		FRAP P	
Fenoles E	A 0.85***	B 0.871***	A 0.94***	B 0.95***	A 0.941***	B 0.943***				
Flavonoides E	A 0.68***	B 0.625**	A 0.649***	B 0.601**						
Carotenoides E	A 0.81***	B 0.76***	A 0.907***	B 0.884***	A 0.87***	B 0.89***				
Fenoles P									A 0.56**	B 0.565**
Flavonoides P							A 0.561**	B 0.555**		
Carotenoides P									A 0.83***	B 0.83***

E; Epicarpio; P: Pulpa. Nivel de significancia (\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*  $p < 0.0001$ ). A: resultados expresados mg EAA  $g^{-1}$ ; B: resultados expresados  $\mu M$  TE  $g^{-1}$ .

Diversos trabajos relacionan la capacidad antioxidante con el contenido de fenoles, flavonoides y carotenoides totales que están presentes en los alimentos (Frankel and Meyer, 2000; Imeh and Khokhar, 2002; Palafox-Carlos *et al.*, 2012). Existen varios métodos para determinar la actividad antioxidante y se ha observado que tienen tendencias diferentes por esa razón es la necesidad de utilizar diferentes métodos. Los más utilizados para evaluar la actividad antioxidante son ABTS y FRAP, estos tienen afinidad hacia los compuestos de naturaleza hidrofílica e hidrofóbica; por otro lado, DPPH es más selectivo hacia los antioxidantes con naturaleza hidrofílica (Sánchez-Moreno, 2002).

Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que la concentración fenoles, flavonoides, carotenoides totales con capacidad antioxidante están naturalmente presentes en frutos de ciruela variando su concentración de acuerdo al estado de madurez. Lo anterior coincide con reportes de la literatura que indican que los compuestos bioactivos varían de acuerdo al estado de maduración, prácticas de manejo del cultivo y procesamiento (Faller and Fialho, 2009; Villa-Rodriguez *et al.*, 2010; Gayosso-García *et al.*, 2011).

#### **1.4 CONCLUSIONES**

La ciruela mexicana 'Cuernavaqueña' presentó alta concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en el epicarpio en la etapa madura, sugiriendo que esta etapa es la ideal para el consumo tanto de pulpa como de epicarpio para aprovechar sus propiedades antioxidantes, La concentración de compuestos, sin embargo la concentración de ellos cambia con respecto al estado de maduración. La ciruela puede considerarse un fruto con alto potencial debido a las propiedades antioxidantes que presentó hacia diferentes radicales libres relacionados por el contenido de compuestos bioactivos proporcionando un valor agregado para su consumo.

## 5. LITERATURA CITADA

- Alia, T.I., Maldonado, A.Y.I., Núñez, C.C.A., Valdez, A.L.A., Bautista, B.S., García, V.E., Ariza, F.R., Rivera, C.F. 2012. Caracterización de frutos de ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.) del sur de México. Revista Fitotecnia Mexicana, 35; 21-26.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., Legret, P. 1994. Standardisation dun extrait de propolis et identification des principaux constituants. J. Pharm. Belgique, 49; 462-468.
- (AOAC) Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official methods of analysis. (16<sup>a</sup> ed). Virginia, USA.
- Avitia-García, E., Castillo-González, A. M., Pimienta-Barrios, E. 2000. Ciruela mexicana y otras especies del género *Spondias* L. Edit. Universidad Autónoma de Chapingo. Primera edición. México. 75.
- Bautista-Baños, S., Díaz-Pérez J.C., Barrera-Necha L.L., Bravo-Luna, L. 2003. Postharvest study of red mombin (*Spondias purpurea*) fruit during storage. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 5,2; 82-85.
- Benzie, I.F., 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.
- Brand-Williams, W., Cuatrecasas, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft and Technologie. Food Science Technology, 28; 1, 25-30.
- Dantas, L.A., Silva D.M.S., Dantas, L.R., DE Sousa, B.S.A., Schunemann, P.P.A. 2016. Development physiology of maturation and indication of harvest point of umbuguela tree fruits (*Spondias* sp.). Revista Brasileira de Fruticultura, 38; 1, 033-42.

- Díaz-Pérez, J.C., Zavaleta, R., Bautista, S., Aguilar, B., Sebastián, V. 1999. Cambios físico-químicos de ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.) cosechada en dos diferentes estados de madurez. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 2; 19-24.
- Faller, A, L. K. & Fialho, E. 2009. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Research International*, 42; 210-215.
- Filgueiras, H.A.C., Alves, R.E., Moura, C.F.H., Oliveira, A.C., Araújo, N.C.C. 2001. Calidad de frutas nativas de Latinoamérica para industria: Ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.). *Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture*, 43; 68-71
- Frankel, E., Meyer, A. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80; 1925-1941.
- Gayosso-García S, L.E., Yahia, E, M., González-Aguilar, G,A. 2011. Identification and quantification of phenoles, carotenoids and vitamina C from papaya (*Carica papaya* L, cv Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS- ESI. *Food Research International*, doi:10.1016/j.foodres.2010.12.001.
- Heo, H., Kim, Y., Chung, D., Kim, D. 2007. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chemistry*, 104; 87-92.
- Hiwase-Tanase, K. & Ezura, H. 2014. Climateric and Non-climacteric Ripening. In: *Fruit Ripening. Physiology, Signaling and Genomics*. Nath, P., Bouzayen, M., MAtto, K. A. & Pech J.C. (ed.). CABI. Boston, MA, USA. 1-14.
- Hooper, L., Cassidy, A. 2006. A review of the health care potential of bioactive compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86; 1805-1813.
- Imeh, U., Khokhar S. 2002. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50; 6301-6306.

- Isabelle, M., Lee, B.L., Lim, H.T., Koh, W-P., Huang, D., Ong, C.N. 2010. Antioxidant activity and profiles of Common Fruits in Singapore. *Food Chemistry*, 123; 77-84.
- Kohatsu, D.S. Zucareli, V. Brambilla, W.P. Evangelista, R. M. Ono, E.O. Da Silva, T. R. B. 2011. Storage temperature and quality of red mombin (*Spondias purpurea* L.). *Journal Food Agriculture and Environment*. Finland, 9; 3-4, 20-22.
- Kuskoski, M.E., Asuero, G.A., Troncoso, M.A., Mancini-Filho J., Fett R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia Tecnología Alimentos Campinas*, 25; 4, 726-732.
- Maldonado-Astudillo, Y.I., Alia-Tejacal, I., Núñez-Colín, C. A., Jiménez-Hernández, J., Pelayo-Zaldivar, C., López-Martínez, V., Andrade-Rodríguez, M., Bautista-Baños, S., Valle-Guadarrama, S. 2014. Postharvest physiology and technology of *Spondias purpurea* L. and *S. mombin* L. *Scientia Horticulturae*, 174; 193-206.
- McGuire, R.G., 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27; 1254-1255.
- Mendoza-Willson A.M.R.; Baéz-Sañudo. 2000. Medición de la tasa respiratoria en sistema cerrado en melón cantaloupe. *Horticultura Mexicana*, México, 8; 158-163
- Montalvo-González, E., García, H.S., Mata-Montes de Oca, Tovar-Gómez, B. 2011. Efecto de la luz en ciruela mexicana manejada en diferentes condiciones de almacenamiento. *CyTA- Journal of Food*, 9; 65-70.
- Niva, M. 2007. "All foods affect health": Understandings of functional foods and healthy eating among health-oriented Finns. *Appetite*, 48;3, 384-393.
- Osuna G.J.A., Pérez, B.M.H., Vázquez, V.V., Gómez, J.R. 2011. Application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on Mexican Plum (*Spondias purpurea* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34; 3, 197 – 204.
- Palafox-Carlos, H.; Gil-Chávez, J.; Sotelo-Mundo, R.R.; Namiesnik, J., Gorinstein, S.; González-Aguilar, G.A. 2012. Antioxidant interactions between major phenolic compounds found in 'Ataulfo' mango pulp: chlorogenic, gallic, protocatechuic and vanillic acids. *Molecules*, 17;11,12657-12664, 2012.

- Palafox-Carlos, H., Yahia E., Islas-Osuna, M.A., Gutiérrez-Martinez, P., Robles-Sánchez, M., González-Aguilar, G.A. 2012. Effect of ripeness stage of mango fruit (*Mangifera indica* L., cv Ataulfo) on physiological parameters and antioxidant activity. *Scientia Horticulturae*, 135; 7-13
- Pereira, M.E.C., Filgueiras, H.A.C., Alves, R.E. 2000. Actividad respiratoria y producción de etileno postcosecha de ciruela mexicana y jobo. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 2; 155-160
- Pérez, L.A., Saucedo, V.C., Arévalo, G.M.L., Guratalla, L.A. 2004. Efecto del grado de madurez en la calidad y la vida postcosecha de ciruela mexicana *Spondias purpurea* L. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27; 133-139.
- Prior, R.L, Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 53; 4290 – 4302.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26; 1231-1337.
- Rodríguez-Amaya, D.B. Kimura, M. 2004. Harvest Plus Handbook for Carotenoid Analysis. Harvest Plus Technical Monograph 2. International Food Policy Research Institute and International Center For Tropical Agriculture, 35-36.
- Sánchez–Moreno, C. 2002. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8; 3, 121-39
- Serrano, J., Goni I., Saura-Calixto F. 2007. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*, 40; 15–21
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology*, 299; 152-178.

- Siqueira, O.M.D.A., Moreira, G.C.C.A., Melo, A.D.E., Stamford, M.C.T. 2015. Dietary fibre content, phenolic compounds and antioxidant activity in Soursops (*Annona muricata* L.) *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37; 4, 1020-1026.
- Solórzano, M.S., Alia, T.I., Rivera, C.F., López, M.V., Pérez, F.L.J., Pelayo, Z.C., Guillén S.D., Díaz de L.S.F., Maldonado, A. Y. I. 2015. Quality attributes and functional compounds of Mexican plum (*Spondias purpurea* L.) fruit ecotypes. *Fruits*, 70 5: 261-270.
- Spínola, V., Pinto, J., Castillo, C, P. 2015. Identification and quantification of phenolic compounds of selected fruits from Madeira Island by HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> and screening for their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 173; 14-30
- Thanaraj, T & Terry, A.L. 2011. Tropical fruits [Banana, pineapple, papaya and mango] In: *Health-promoting properties of fruit & vegetables*. Terry, A. L (ed). CABI, Wallingford, UK. 352-370.
- Tiburski, J.H., Rosenthal, A., Deliza, R., Godoy, R.L.O., Pacheco, S. 2011. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. *Food Research International*, 44; 7, 2326-2331.
- Vieira, M.L., Sousa, B.S.M., Manani-Filho, J., Lima, D.A. 2011. Total phenolics and antioxidant capacity “In vitro” of tropical fruit pulps. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33; 3, 888-897.
- Villa-Rodríguez, J.A., Molina-Corral, F. J., Ayala-Zavala, J, F., Olivas, G,I., González-Aguilar, G. A., 2010. Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of ‘Hass’ avocado. *Food Research International*, doi:10.1016 / j.foodres.2010.11.012.
- Zielinski, F.A.A., Ávila, S., Nogueira, A., Wosiacki, G., Haminiuk, I. C.W., 2014. The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant capacity of frozen fruit pulp in Brazil: An application of chemometrics. *Food Chemistry*, 79, C510-C516.

## CAPITULO II

### Compuestos bioactivos y actividad antioxidante en siete ecotipos de ciruelas nativas de México (*Spondias purpurea* L.)

#### RESUMEN

Se estudió la concentración de fenoles, flavonoides y carotenoides totales, así como la capacidad antioxidante por los métodos de: DPPH, ABTS, FRAP en pulpa y epicarpio de siete ecotipos de ciruelas nativas de México (*Spondias purpurea*) de época seca, cosechadas en cuatro etapas de maduración, verde (hue=100.5-107.1, IS=7.7-25.75), ½ verde (hue=69.75-96.96, IS= 18.98-38.51), ¾ madura (hue= 39.68-82.14, IS=34.82-66.43) y madura (hue=26.67-78.38, IS=57.12-115.61), el porcentaje de acidez titulable fue mayor en la etapa verde y los sólidos solubles totales en la etapa madura presentaron mayor concentración. En el epicarpio se cuantificó la mayor concentración de compuestos bioactivos (fenoles, flavonoides y carotenoides) y actividad antioxidante comparada con la pulpa. En la etapa ¾ madura se cuantificó la mayor concentración de fenoles totales (386.7-848.5 mg EAG g<sup>-1</sup>). Los flavonoides estuvieron en mayor concentración en la etapa verde y ½ verde (116.24-218.9 mg EQ g<sup>-1</sup>). Los carotenoides en la etapa ¾ madura mostraron mayor concentración (255.5-420.0 µg g<sup>-1</sup>). En la etapa ¾ madura se tuvo la mayor actividad antioxidante en epicarpio, para DPPH (633.2- 1339.2 mg EAA g<sup>-1</sup>) y ABTS (487.1-1041.6 mg EAA g<sup>-1</sup>), en FRAP fue en la etapa verde con 582.3-804.2 mg EAA g<sup>-1</sup>. Se encontraron correlaciones altamente significativas (0.533\*\* -0.933\*\*\*) entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante. Las ciruelas nativas (*Spondias purpurea*) evaluadas pueden considerarse como un alimento funcional por sus propiedades antioxidantes.

**Palabras clave:** Ciruelas nativas, *Spondias purpurea*, capacidad antioxidante, etapas de maduración, compuestos bioactivos

## 2.1 INTRODUCCIÓN

Actualmente el alto consumo de frutas ha aumentado considerablemente, numerosas investigaciones bioquímicas y epidemiológicas, lo ha asociado con la disminución y prevención de varias enfermedades, incluyendo las cardiovasculares, neurológicas, la arterioesclerosis, inflamación y distintos tipos de cáncer (Habibi y Ramezani, 2017, Leong y Shui, 2002). Esto sucede porque las frutas proveen vitaminas esenciales, minerales y compuestos denominados fitoquímicos, o sustancias bioactivas (polifenoles, carotenoides, tocoferoles, flavonoides, antocianinas) que confieren beneficios a la salud (Slavin y Lioyd, 2012). Estos compuestos bioactivos tienen la función de ser antioxidantes, gracias a su estructura química de anillos aromáticos y grupos hidroxilo, que les proporcionan la capacidad de reducir y neutralizar el estrés oxidante, producido por los radicales libres ( $O_2$ ,  $OH^-$ ) y especies reactivas de oxígeno como el  $H_2O_2$ , que causan daño celular (Wojdyło *et al.*, 2009). Además los metabolitos, contribuyen con características organolépticas de los frutos (color, sabor, olor, astringencia) (Al-Duais, 2009; Gorinstein *et al.*, 2009).

En México existe una gran biodiversidad de frutos, entre los cuales encontramos a la ciruela Mexicana (*Spondias purpurea* L.) nombrada también como jocote, jobo, abal, ovo, etc, dependiendo de la región donde se cultiva. Es considerada nativa de México, se distribuyen naturalmente a lo largo de la costa occidental y sureste, extendiéndose a Centroamérica, Perú y las costas de Brasil. Las frutas se cosechan en dos épocas del año entre abril- junio donde es mayor la producción (estación seca) y septiembre-noviembre (estación húmeda) (Avitia *et al.*, 2000) se adapta a lugares con suelos pobres y delgados. Generalmente el cultivo es informal en huertas de traspatio, de manera silvestre y hay pocas huertas comerciales, su principal uso es para el consumo en fresco (Maldonado-Astudillo *et al.*, 2014). Los frutos de ciruela Mexicana, son drupas con una diversidad de colores del epicarpio, amarillo, anaranjado, rojo y púrpura, su pulpa es blanda de color amarillo, con sabor dulce y agridulce. La maduración es un proceso de los frutos, en el cual ocurren diversos procesos físico-químicos y la síntesis de compuestos, que reflejan cambios de sus propiedades y atributos organolépticos (Hernández y Sastre, 1999). El cambio de color del epicarpio es un indicador para reflejar el estado de madurez de la ciruela, la clorofila se degrada y se generan diversos compuestos como

carotenoides, antocianinas y flavonoides. Recientemente, se ha reportado la presencia de compuestos bioactivos en ciruela Mexicana de clima húmedo y clima seco (Álvarez *et al.*, 2017; Suárez *et al.*, 2017; Solorzano *et al.*, 2015). Yahia *et al.* (2018) mencionan que los compuestos funcionales se modifican en función de la etapa de maduración de los frutos, Suárez *et al.* (2017) observaron este fenómeno en ciruela de clima húmedo Cuernavaqueñ en cuatro diferentes etapas de maduración, encontrando diferencias significativas en la concentración de los compuestos bioactivos en las diferentes etapas de maduración. Actualmente es escasa la información sobre la concentración de metabolitos funcionales y actividad antioxidante conforme avanza el estado de madurez de la ciruela de clima seco, hasta llegar a la etapa de madurez de consumo, al igual, se carece de información respecto a qué parte de la ciruela proporciona mayor cantidad de compuestos funcionales, si es el epicarpio ó la pulpa: esto resulta relevante ya que algunos consumidores tienen el hábito de solo comer la pulpa y desechar el epicarpio: se han reportado en otros frutos que el epicarpio presenta, la mayor cantidad de síntesis de compuestos bioactivos. Además este estudio generará nueva información de las ciruelas nativas, que podrían ser excelente fuente, para innovar nuevos productos a base de ellas. Por lo que este trabajo tuvo por objetivo determinar la concentración de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en pulpa y epicarpio en cuatro estados de maduración, de siete ecotipos de ciruela Mexicana nativa de México (Jocote, Chapilla, Roja dulce, Amarilla, Costeña, Conservera y Morada) de clima seco y determinar la relación entre los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante.

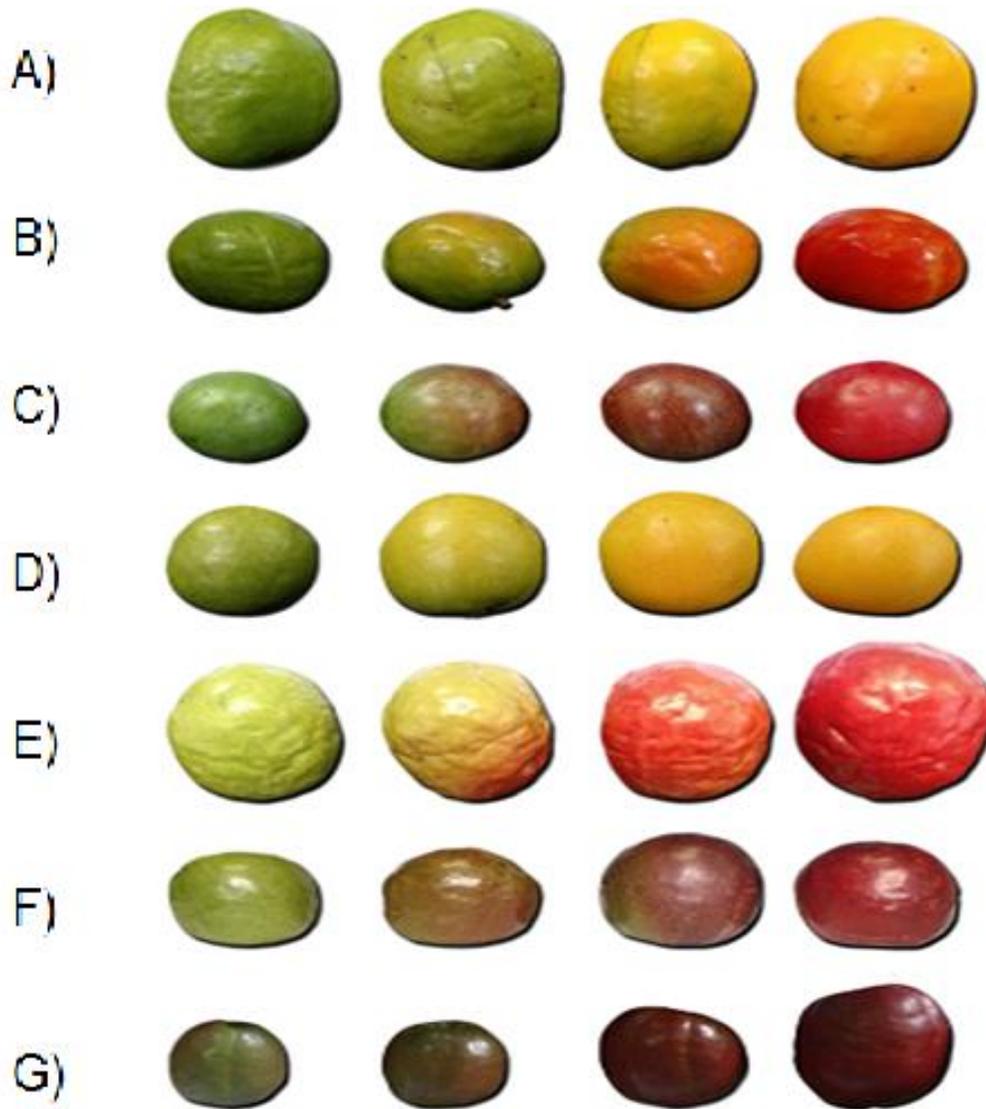
## **2.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

Entre abril y mayo de 2016 se cosecharon frutos de siete ecotipos de ciruela Mexicana, provenientes de Chiapas, Guerrero y Morelos (Cuadro 6). De acuerdo al color del epicarpio se seleccionaron 50 ciruelas para cada etapa de madurez de los 7 ecotipos; etapa verde (100 % color verde del epicarpio),  $\frac{1}{2}$  verde (75 % de color verde del epicarpio),  $\frac{3}{4}$  madura (comúnmente llamada sazón) (25 % de color verde del epicarpio) y madura (0% de color verde del epicarpio) (Figura 1). Posteriormente, los frutos se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio 1 % v/v y

secados a temperatura ambiente ( $23 \pm 2$  °C, 55- 65 % humedad relativa) posteriormente los frutos se almacenaron a -20 °C para su posterior análisis.

**Cuadro 6.** Localización geográfica de los diferentes ecotipos de ciruela Mexicana.

Ecotipo	Localización	Coordenadas
Jocote	Chiapa de Corzo, Chiapas	16°42'38.97"N, 93°0'12.52"O
Chapilla	Chiapa de Corzo, Chiapas	16°42'45.30"N, 93°0'28.77"O
Roja dulce	Jojutla, Azuchilera Morelos	18°34'29.88"N, 99°16'12.41"O
Amarilla	Iguala, Guerrero	18°21'36.76"N, 99°33'66" O
Costeña	Tierra colorada, Guerrero	17°11'12.12"N, 99°31'6.90"O
Conservera	Tlaxmalac, Guerrero	18°21'14.48"N, 99°24'53.80"O
Morada	Tierra colorada, Guerrero	17°11'12.12"N, 99°31'6.90"O



**Figura 1.** Ecotipos de ciruela Mexicana en cuatro etapas de madurez: A) Jocote, B) Chapilla, C) Roja dulce, D) Amarilla, E) Costeña, F) Conserversa, G) Morada.

### 2.2.1 Variables evaluadas

#### Color

El color del epicarpio fue evaluado con un espectrofotómetro manual (X-Rite 3290<sup>®</sup>, USA) se determinó el ángulo de matiz (h), las mediciones se realizaron en 10 ciruelas de cada ecotipo en diferentes partes del fruto y en cada etapa de madurez (Negueruela, 2012).

## **Sólidos solubles totales y acidez titulable**

El contenido de sólidos solubles totales se determinó a partir de tres gotas de jugo de cada fruto evaluado, en un refractómetro ATAGO PAL-1® (Japan) los resultados se reportaron en °Brix. Se determinó la acidez titulable de acuerdo a lo establecido por la AOAC (1995) en pulpa y epicarpio, los resultados se expresaron como % de ácido cítrico.

## **Índice de sabor**

Se evaluó el contenido de sólidos solubles totales y acidez titulable (AOAC) de cada ecotipo de ciruela, en las 4 etapas de madurez y se determinó el índice de sabor (IS), mediante la relación de los sólidos solubles totales (°Brix) y la acidez titulable. Se realizaron 6 repeticiones de cada ecotipo.

## **Fenoles totales**

Los compuestos fenólicos totales se determinaron espectrofotométricamente mediante el método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton *et al.* (1999), con modificaciones de Suárez *et al.* (2017). Se pesó 1 g de material vegetal (pulpa, epicarpio) y se homogenizó en un Ultra Turrax con 20 mL de agua destilada, se centrifugó a 8 500 g a 4°C durante 10 min, se obtuvo el sobrenadante cristalino. Se tomó 0.5 mL de la alícuota de ciruela y se mezcló con 2.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10 v/v) después de 5 min se adicionó 2 mL de carbonato de sodio (7.5% p/v) se dejó reposar durante 2 horas, posteriormente las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro (HACH DR 5000®) a 760 nm. El contenido de fenoles totales fue determinado usando una curva estándar de ácido gálico (0 - 200 mg /L). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco.

## **Flavonoides totales**

Los flavonoides totales fueron determinados por la metodología de Arvouet-Grand *et al.* (1994) con las modificaciones propuestas por Suárez *et al.* (2017). Se pesó por separado 0.1 g de epicarpio y 0.5 g de pulpa, se homogenizaron con 10 mL de metanol en un Ultra Turrax (IKA®) posteriormente se centrifugó a 8 500 g a 4°C,

durante 15 min. A partir del sobrenadante se tomaron 2 mL de muestra y se hicieron reaccionar con 2 mL de tricloruro de aluminio al 2 % p/v dejando reposar por 15 min en la oscuridad, las muestras se leyeron a 415 nm en un espectrofotómetro (HACH DR 5000<sup>®</sup>). Se utilizó una curva estándar de Quercetina y los resultados fueron expresados como mg equivalentes de Quercetina (EQ) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco.

### **Cuantificación de carotenoides**

Para la extracción y cuantificación de carotenoides totales se utilizó la metodología descrita por Rodríguez-Amaya y Kimura (2004) con algunas modificaciones descritas por Suárez *et al.* (2017). La cuantificación de carotenoides totales se expresó como µg·100 g<sup>-1</sup> de peso fresco.

Para determinar la actividad antioxidante empleando las tres metodologías (DPPH, ABTS y FRAP), se utilizó el mismo extracto, se pesó 1 g de pulpa y epicarpio por separado, se homogenizaron con 10 mL de agua destilada, con la ayuda de un Ultra Turrax (IKA<sup>®</sup>) durante 20 segundos, posteriormente se centrifugaron a 4 °C durante 20 min a 8 500 g. Se retiró el sobrenadante cristalino de la fracción sólida.

### **Determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH**

Se utilizó la metodología propuesta por Brand-Williams *et al.* (1995), con mínimas modificaciones de Suárez *et al.* (2017). Se valoró la decoloración del radical DPPH de una solución metanólica  $6.1 \times 10^{-5}$  M (Sigma Aldrich, USA) este método consistió en colocar en una celda de cuarzo, 3 mL de DPPH ajustado a una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  y se hicieron reaccionar con 100 µL de solución de muestra, después de permanecer durante 30 min en ausencia de luz se leyó a 517 nm, comprendido en un intervalo determinado de la curva patrón. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA 100 g<sup>-1</sup>).

### **Determinación de la capacidad antioxidante por la técnica de ABTS**

Se preparó ABTS (Sigma-Aldrich) 7mM y persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ) a 2.45 mM, se mezclaron 1:1, se dejó reposar durante 16 h (Re *et al.*, 1999). Se diluyó con etanol 20% hasta alcanzar una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 734 nm. Se agregó 3 mL de ABTS con 100  $\mu$ L de muestra y se dejó reaccionar durante 15 min, se leyó la absorbancia a 734 nm (Suárez *et al.*, 2017). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) 100  $g^{-1}$  peso fresco.

### **Capacidad antioxidante de reducción férrica (FRAP)**

Se empleó la metodología desarrollada por Benzie y Strain (1996) con pequeñas modificaciones propuestas por Suárez *et al.* (2017). Se preparó el reactivo FRAP (TPTZ,  $FeCl_3$  y tampón acetato) se mezcló 1.9 mL de FRAP con 40  $\mu$ L de agua destilada y 60  $\mu$ L de muestra, se dejaron reaccionar durante 30 min a 37 °C, transcurrido el tiempo de reacción, se leyó la absorbancia a 593 nm y los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) 100  $g^{-1}$  peso fresco.

### **Análisis estadístico**

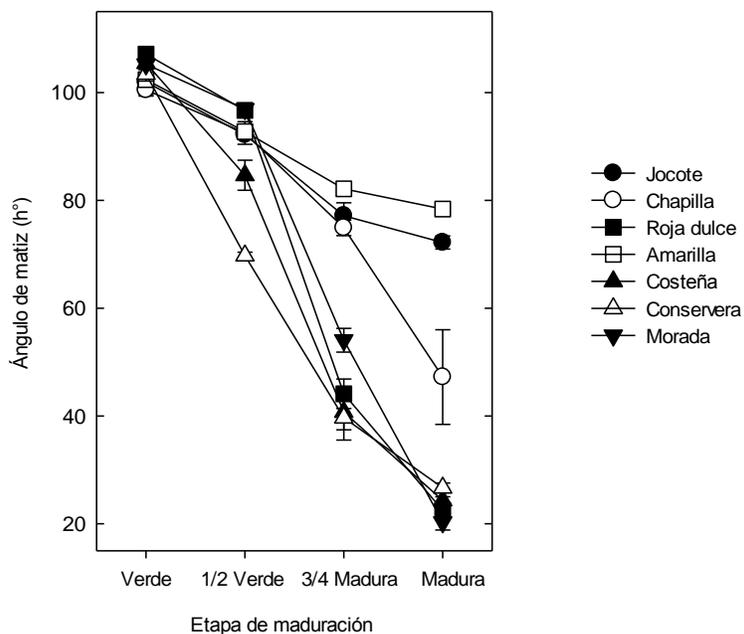
Los datos obtenidos se analizaron por un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias de Tukey ( $P < 0.05$ ) con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.2. Se realizaron análisis de coeficiente de correlación de Pearson entre las variables de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante.

## 2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Color, sólidos solubles totales, acidez titulable e índice de sabor

Se observó un cambio de color en el epicarpio de los ecotipos de ciruela Mexicana evaluado, conforme avanzó el estado de madurez ( $P \leq 0.05$ ). En la etapa verde, los siete ecotipos mostraron un color tendiente al verde ( $h= 100.5-107.10$ ). Vargas-Simón *et al.* (2011) mencionan que en estado inmaduro el color del epicarpio de las ciruelas es verde, similar a lo reportado en los siete ecotipos de este trabajo. En la etapa  $\frac{1}{2}$  verde, el matiz mostró valores cercanos al amarillo ( $h=$  entre 84 y 96) a excepción de Conservera que su color cambio drásticamente hacia el rojo-naranja ( $h=69.75$ ). En  $\frac{3}{4}$  de maduración el color fue entre rojo y naranja-amarillo ( $h=39.68$  y  $82.14$ ) y finalmente en la etapa madura los ecotipos de Roja dulce, Costeña, Conservera y Morada presentaron tonos de rojo a púrpura ( $h=22.4$ ,  $h=24.3$ ,  $h=26.6$ ,  $h= 20.3$ ) y los ecotipos Jocote, Chapilla y Amarilla tonos amarillo y anaranjado ( $h=72.1$ ,  $h=47.2$ ,  $h=78.3$ ) (Figura 2). El cambio de color conforme avanza el estado de maduración de ciruelas *S. purpurea* y *S. mombin* ha sido reportado por diversos autores (Suárez *et al.*, 2017; Dantas *et al.*, 2016; Osuna *et al.*, 2011).

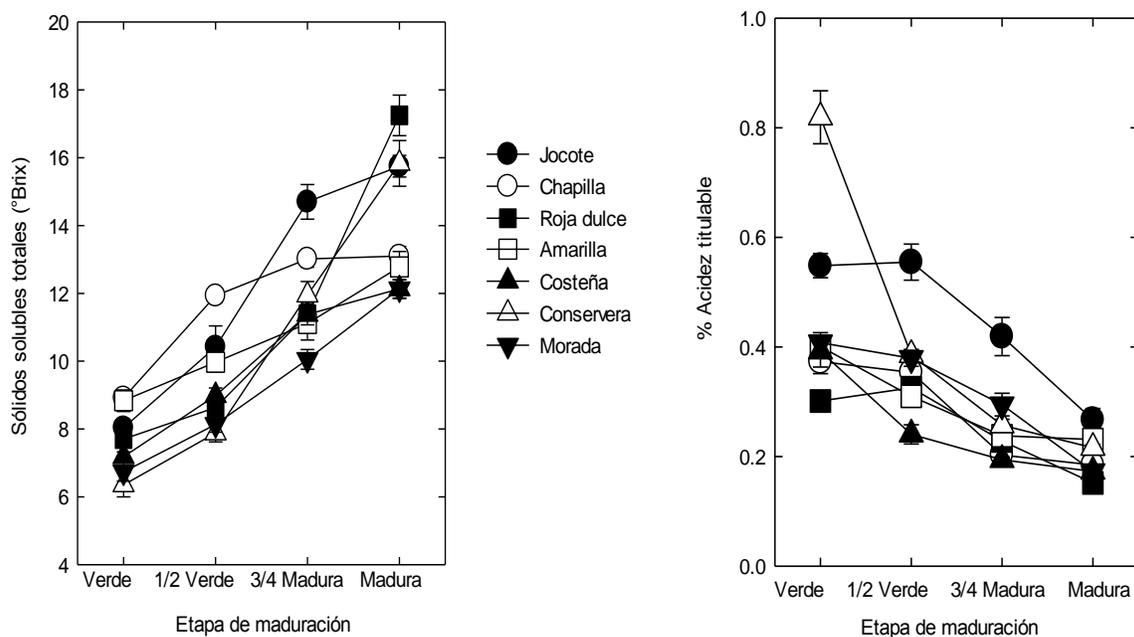
Este comportamiento, es una de las características más sobresalientes en la mayoría de las frutas durante su maduración, y en él presente trabajo se observó esta característica, debido a que ocurren una serie de reacciones en el fruto, principalmente la degradación de la clorofila ( que les da el color verde) y la biosíntesis de nuevos metabolitos secundarios ( los cloroplastos se transforman en cromoplastos y acumulan estos pigmentos) responsables de la pigmentación de los frutos, como los carotenoides que proporcionan colores de amarillo-anaranjado-rojo y las antocianinas y fenoles que proporcionan colores de rojo a morado.



**Figura 2.** Cambios de matiz en cuatro etapas de maduración, de siete ecotipos de ciruela Mexicana. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.

La concentración de sólidos solubles totales (SST) presentó un incremento de la etapa verde a la etapa madura en los siete ecotipos de ciruela Mexicana (Figura 3). En la etapa madura se registró la mayor concentración, en orden decreciente fue Roja dulce > Jocote > Conservera > Chapilla > Amarilla > Costeña > Morada (17.25-12.13 °Brix). Alia *et al.*, (2012) reportaron valores similares (17.3 °Brix) en 67 colectas de ciruela Mexicana provenientes de Morelos, Guerrero y Chiapas. Montalvo *et al.*, (2011) reportaron un máximo de SST en ciruela amarilla de 15°Brix, y Tiburski, *et al.*, (2011) mencionan para ciruela amarilla (*S. mombin* L.) un promedio de 14.9 °Brix. Este comportamiento del incremento de los sólidos solubles totales conforme avanza el estado de madurez de la *S. purpurea*, también lo han reportado diversos autores (Dantas *et al.*, 2017; Suárez *et al.*, 2017; Osuna *et al.*, 2011).

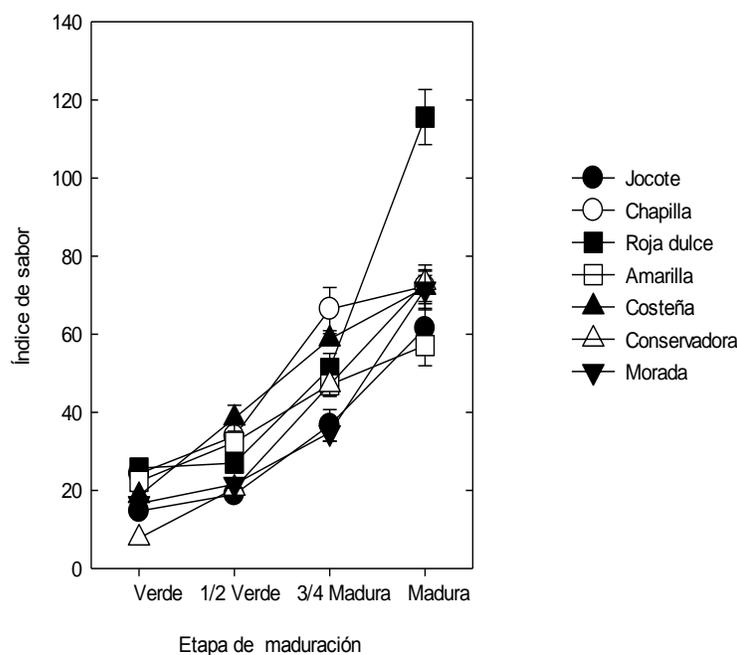
El porcentaje de acidez titulable fue disminuyendo conforme avanzó la etapa de maduración, obteniendo en la etapa madura la menor acidez titulable, en orden decreciente fue Jocote > Amarilla > Conservera > Chapilla > Morada > Costeña > Roja dulce (0.26- 0.151 % de acidez titulable) (Figura 3). Los resultados anteriores coinciden con los trabajos previos que han reportado en *S. purpurea* la disminución de la acidez titulable, al avanzar la maduración del fruto (Suárez *et al.*, 2017; Dantas *et al.*, 2016 y Pérez *et al.*, 2004).



**Figura 3.** Cantidad de SST (Brix°) y % de ácidos titulables en cuatro etapas de maduración de siete ecotipos de ciruela Mexicana. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.

La relación de °Brix/acidez titulable se observó (Figura 4) en la etapa verde de maduración, los siete ecotipos presentaron un índice de sabor entre 7 a 25 y fue incrementando conforme avanzó la etapa de madurez. Este comportamiento lo presentaron los siete ecotipos: sin embargo, Roja dulce, presentó la mayor relación de índice de sabor en la etapa madura con 115 y los seis ecotipos presentaron valores en un rango 72 a 61 IS, mostrando un gradiente de mayor a menor, Conservera > Chapilla > Costeña > Morada > Jocote > Amarilla (Figura 4). Este

comportamiento de incremento en la relación de los SST/AT conforme avanza el estado de maduración, ha sido reportado por otros autores, Filgueiras *et al.* (2001) reportaron en ciruelas *S. purpurea* cosechadas en Brasil la relación °Brix/acidez titulable se incrementó de 7.62 en la etapa verde a 34.32 en la etapa madura. Por otra parte Pérez *et al.*, (2004) reportaron en *S. purpurea* provenientes de Oaxaca un incremento de IS de 18.6 en etapa verde a 42.1 en la etapa madura. En tanto que Dantas *et al.* (2016) reportaron en *S. purpurea* de Brasil valores de IS en un rango de 10.3 a 34.4. En un trabajo previo de ciruela Cuernavaqueña la relación SST/AT fue de 5.8 en la etapa verde a 23.9 en etapa madura (Suárez *et al.*, 2017). Generalmente la degradación de polisacáridos (almidón) aumenta conforme avanza la etapa de maduración incrementando los azúcares simples (sacarosa, glucosa y fructuosa), la degradación de ácidos orgánicos genera precursores para la síntesis de nuevos metabolitos conforme avanza el proceso de maduración por lo tanto disminuye su concentración.



**Figura 4.** Cambio de Índice de sabor (SST/AT) en siete ecotipos de ciruela Mexicana. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.

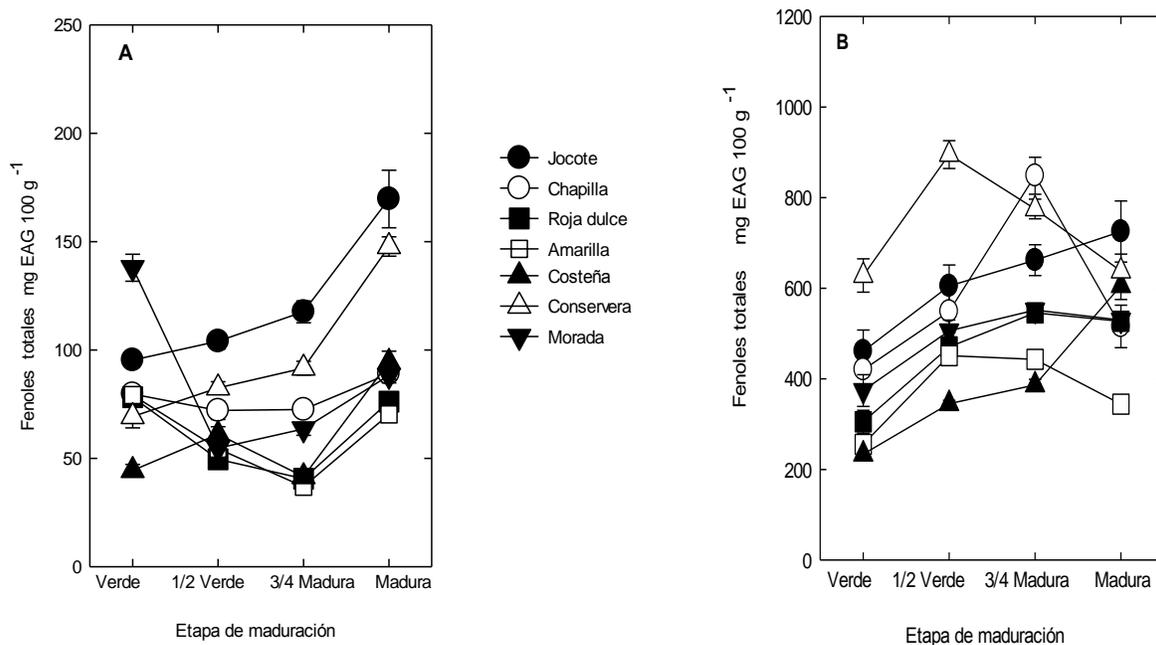
## Compuestos bioactivos (fenoles, flavonoides y carotenoides totales)

Se detectaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la concentración de fenoles totales presente en pulpa, en las cuatro etapas de madurez (Figura 5). En la etapa verde, el ecotipo Morada presentó la mayor concentración de fenoles totales (138 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>) seguido de Jocote, Chapilla, Roja dulce, Amarilla y Conservera (entre 93.36 y 69.3 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>) y finalmente Costeña mostró la menor concentración (44.45 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>). Los fenoles totales presentaron una tendencia a incrementar conforme avanzó la etapa de madurez en los siete ecotipos, donde, Jocote y Conservera fueron los que presentaron mayor concentración en la etapa madura, con 169.7 y 147.7 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>, Costeña, Chapilla, Morada, Roja dulce y Amarilla mostraron valores menores de 70.32 a 94.43 mg EAG 100g<sup>-1</sup>. Tiburski *et al.* (2011) y Ferreira *et al.* (2014) reportaron valores superiores en pulpa de ciruela amarilla (*S. mombin*) (260.21 ± 11.89 mg EAG 100 g - 270.43± 20.22 mg EAG 100 g) a diferencia de lo que se reporta en esta investigación en pulpa de ciruela *S. purpurea*. Sin embargo, Suárez *et al.* (2017) reportaron valores menores en la etapa madura de pulpa (48.1 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>) en ciruela Cuernavaqueña con respecto a este trabajo. Y por su parte Vasconcelos *et al.* (2018) reportaron en pulpa de ciruela amarilla (*S. mombin*) valores similares (98.97 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>) en esta investigación.

En la etapa verde de maduración la cantidad de fenoles totales en el epicarpio, el ecotipo Conservera presentó mayor concentración (628.1 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>) a diferencia de los seis ecotipos que presentaron en un rango de 233.7 a 460.9 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> (Figura 5). En la etapa ½ verde se observó una tendencia en el aumento de fenoles en todos los ecotipos, siendo que Conservera incrementó notablemente la cantidad de fenoles totales (895.21 mg EAG 100g<sup>-1</sup>) en la etapa ¾ maduro el ecotipo Chapilla al igual incrementó notablemente su concentración (848.56 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>). Y en la etapa madura la mayoría de los ecotipos presentaron alta concentración de fenoles totales entre 515.8 a 725.3 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> a diferencia del ecotipo Amarilla que obtuvo una menor concentración de fenoles 343.1mg EAG 100 g<sup>-1</sup>.

Los resultados indican que hubo mayor contenido de fenoles totales en epicarpio que en pulpa., por su parte Solórzano *et al.*, (2015); Álvarez *et al.*, (2017) y Suárez *et al.*, (2017) reportaron al igual, mayor concentración de fenoles en epicarpio de ciruelas *S. purpurea* que en pulpa. Suárez *et al.* (2017) reportaron un

comportamiento similar en el incremento de fenoles totales conforme avanzó el estado de madurez de ciruela Cuernavaqueña de época húmeda, donde observaron mayor concentración de fenoles totales en la etapa madura (190.65 mg EAG100g<sup>-1</sup>). Por su parte Filgueiras *et al.* (2001) no encontraron diferencias significativas en la concentración de fenoles, en los tres estados de maduración de ciruela.



**Figura 5.** Cambios en la concentración de fenoles totales en pulpa (A) y epicarpio (B). La barra vertical indica el error estándar de seis observaciones.

Se detectaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la concentración de flavonoides totales en pulpa de ciruela mexicana en los siete ecotipos, de las cuatro etapas de madurez (Figura 6). En la etapa verde de maduración, se obtuvieron las concentraciones más altas de flavonoides totales, los ecotipos Morada y Conservera presentaron cantidades de 43.87 a 35.31 mg EQ 100 g<sup>-1</sup> respectivamente, seguidos de Costeña, Amarilla y Jocote (23.0 - 27.5 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>) y la menor concentración fue para Chapilla y Roja dulce (15.8-18.8 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>).

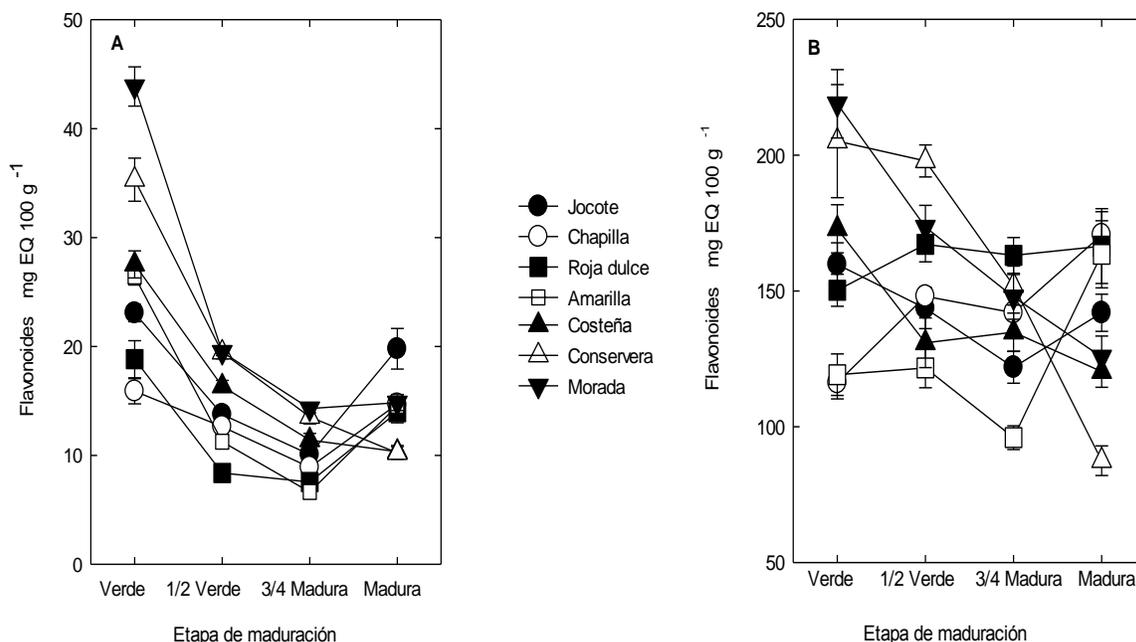
En la etapa 1/2 verde y 3/4 maduro la tendencia fue a disminuir el contenido de flavonoides presentes en pulpas de todos los ecotipos: sin embargo, para la etapa madura se observó un ligero incremento en la concentración, Jocote presentó la

mayor concentración con 19.79 mg EQ 100 g<sup>-1</sup> y las menores concentraciones fueron para Costeña y Conservera. Por otro lado, Ferreira *et al.* (2014) reportaron mayor concentración de flavonoides en pulpa de ciruela con respecto a esta investigación (87.13 ± 4.52 mg CTE / kg). Suárez *et al.* (2017) reportaron en ciruela Cuernavaqueña en etapa madura, valores similares a los reportados en este trabajo (22.07 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>) y observaron una tendencia de incrementar el contenido de flavonoides conforme avanzó la etapa de madurez, un comportamiento diferente a lo encontrado en este trabajo. Palafox-Carlos *et al.* (2012) no encontraron diferencias significativas en la concentración de flavonoides totales en diferentes estados de madurez en pulpa de mango.

El epicarpio de las ciruelas presentó mayor concentración de flavonoides totales que en pulpa, similar comportamiento fue observado por Suárez *et al.* (2017) en ciruela Cuernavaqueña. Se observó que en la etapa verde, los ecotipos Conservera y Morada presentaron mayor concentración (205.1 y 218.9 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>) mientras que Costeña, Jocote y Roja dulce de 150.2 a 172 mg EQ100 g<sup>-1</sup> y en menor concentración fue para Chapilla y Amarilla (116.2- 119.1 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>) (Figura 6).

En la etapa ½ verde y ¾ madura no se registraron cambios significativos en el incremento y disminución de la concentración de los flavonoides, sin embargo en la etapa madura se observó que los ecotipos Chapilla, Roja dulce y Amarilla presentaron valores más altos (170.6, 166.5, 163.5 mg EQ100 g<sup>-1</sup>) seguido de Jocote, Morada y Costeña (142.1, 125.6, 120.3 mg EQ100 g<sup>-1</sup>) y por último Conservera obtuvo la menor concentración (87.47 mg EQ100 g<sup>-1</sup>). El ecotipo Roja dulce no presentó ningún cambio significativo en las etapas de maduración.

Suárez *et al.* (2017) reportaron en epicarpio de ciruela Cuernavaqueña un incremento tendencial de flavonoides conforme avanzó la etapa de madurez y obtuvieron valores concentraciones más altos a los reportados en este trabajo en la etapa madura con (214.7 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>). Zainudim *et al.* (2014) reportaron un comportamiento similar en la disminución de flavonoides conforme avanza el estado de madurez de carambola (*Averrhoa carambola* L.).



**Figura 6.** Concentración de Flavonoides totales en pulpa (A) y epicarpio (B) en cuatro etapas de madurez de diferentes ecotipos de ciruela Mexicana. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.

Respecto al contenido de carotenoides totales en pulpa, en la etapa verde se registraron diversas concentraciones, los ecotipos Morada, Costeña y Conservera tuvieron mayor concentración ( $115.4-100.1 \mu\text{g g}^{-1}$ ) Roja dulce, Amarilla, Jocote entre  $78.05-70.29 \mu\text{g g}^{-1}$  y Chapilla presentó la menor concentración en esta etapa de maduración con  $45.15 \mu\text{g g}^{-1}$  (Figura 7). Los ecotipos Jocote, Chapilla y Conservera mostraron, una tendencia a incrementar los carotenoides conforme avanzó el estado de madurez, y a la inversa los ecotipos Roja dulce y Costeña presentaron una disminución de carotenoides conforme avanzó el estado de madurez. El ecotipo Amarilla presentó en la etapa  $\frac{1}{2}$  verde su mayor concentración de carotenoides ( $102.6 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y en las posteriores etapas de maduración disminuyó. En la etapa de maduración  $\frac{3}{4}$ , el ecotipo Morada tuvo su mayor concentración ( $135.6 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Aunque Suárez *et al.* 2017 reportaron una tendencia en el incremento de los carotenoides presentes en pulpa conforme avanza el estado de madurez de  $37.2$  a  $150.7 \mu\text{g g}^{-1}$ : sin embargo sus valores de concentración son similares a las obtenidas en pulpa en esta investigación. Por su parte Tiburski *et al.* (2011) identificaron cinco

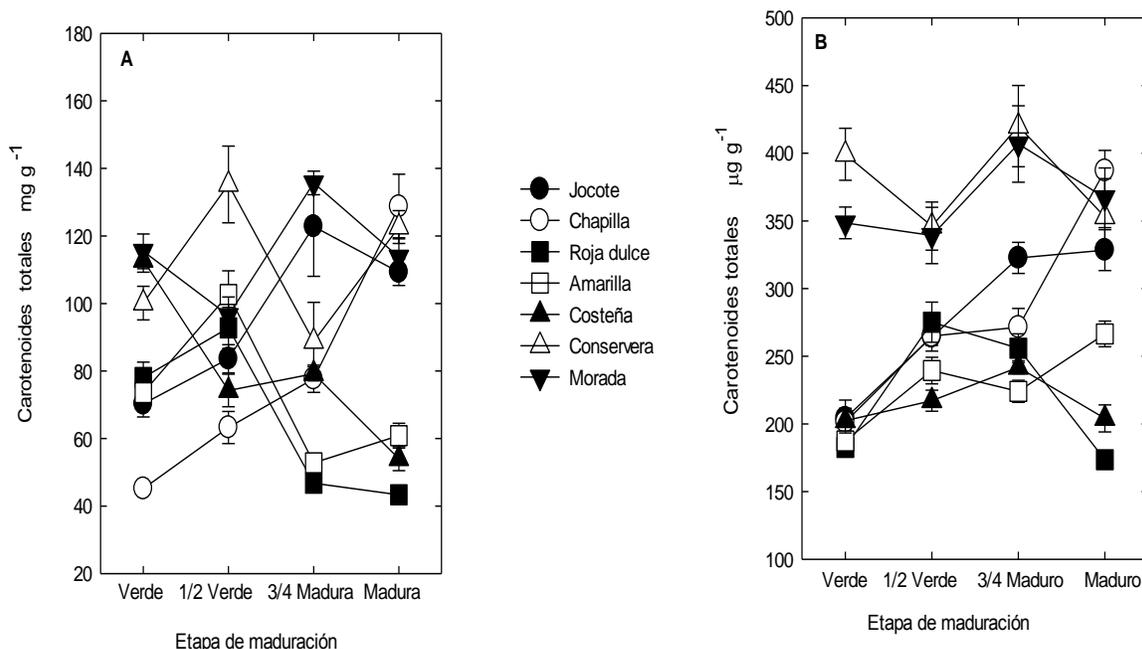
carotenoides en pulpa de ciruela mombin (luteína, zeinoxanthin,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina y  $\beta$ -caroteno) y Ferreira *et al.* (2014) han reportado la presencia de carotenoides en pulpa de ciruela *S. mombin*.

En el epicarpio, se determinaron los carotenoides y se encontró mayor concentración que en pulpa, observándose diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre las etapas de maduración. Un comportamiento similar fue observado en reportes previos, en que encontraron mayor cantidad de carotenoides totales en epicarpio en *S. purpurea* (Álvarez *et al.*, 2017; Suárez *et al.*, 2017 y Solórzano *et al.*, 2015).

En la etapa verde los ecotipos Conservera y Morada (rojo-purpura) obtuvieron mayor concentración de carotenoides a diferencia del resto de los ecotipos (399.2 y 348.6  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) aunque en estos dos ecotipos, no presentaron diferencias significativas en la concentración de carotenoides en las cuatro etapas de madurez (Figura 7). En la etapa  $\frac{1}{2}$  verde y  $\frac{3}{4}$  madura hubo un incremento de carotenoides en Jocote, Chapilla, Roja dulce, Amarilla y Costeña y en la etapa madura se observó un incremento en los ecotipos de Jocote, Chapilla y Amarilla estos tres ecotipos (amarillos) sí presentaron una tendencia en el incremento de carotenoides conforme avanza el estado de maduración. Por otro lado, Roja dulce y Costeña mostraron una disminución al avanzar a la etapa madura. Suárez *et al.* (2017) observaron un comportamiento similar en el incremento de los carotenoides conforme avanzó el estado de maduración de Jocote, Chapilla y Amarilla. Diversos autores han reportado al igual, mayor contenido de carotenoides en el epicarpio de la fruta. Legua *et al.* (2013) determinaron mayor contenido de carotenoides en epicarpio que en pulpa de membrillo (*Cydonia oblonga* Miller) y Neves *et al.* (2015) en camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh]. Britton (1998) menciona que la composición de los carotenoides en ciertas especies de plantas está influenciada por factores genéticos, geográficos y agrícolas que afectan la biosíntesis de estos pigmentos.

Como ya se ha observado en este trabajo, la concentración de fenoles, flavonoides y carotenoides totales ha sido mayor la concentración en el epicarpio de la ciruela que en la pulpa, en los siete ecotipos estudiados, por lo que podría mencionarse que en el epicarpio ocurre una mayor síntesis de estos compuestos. Almeida *et al.* (2007) mencionaron que *S. purpurea* es la especie que contiene un número mayor de bandas cromosómicas, cariológicamente distintas, lo que explica la amplia

variabilidad genética de esta especie, por lo que debido a esto puede ser atribuido a que se encontraron diferentes concentraciones de compuestos bioactivos.



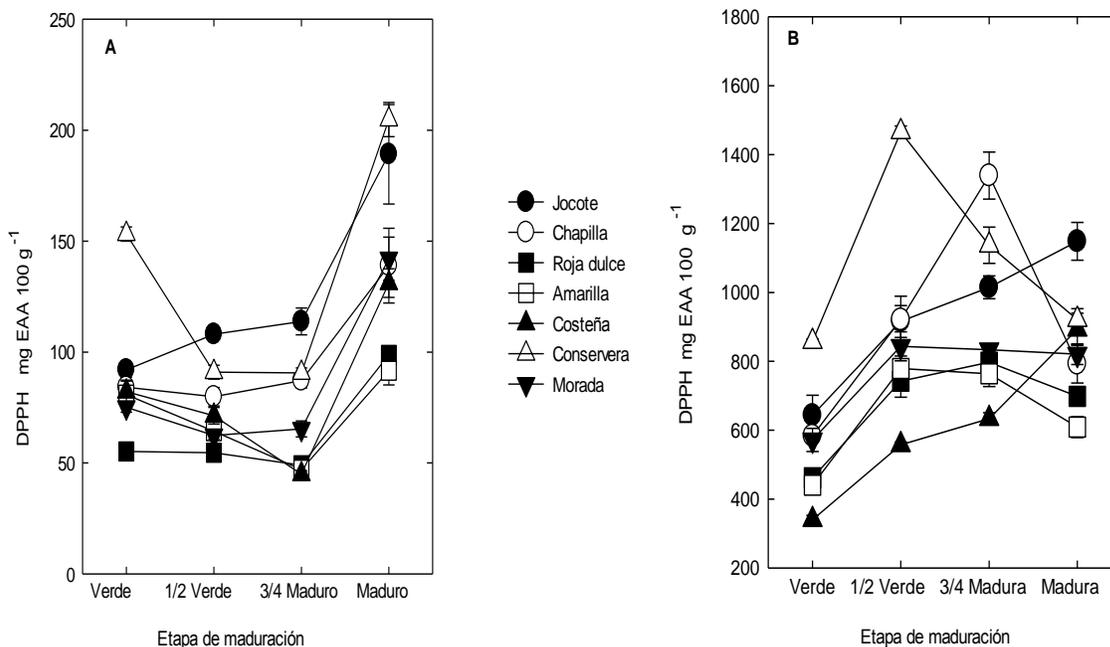
**Figura 7.** Determinación de carotenoides totales en pulpa (A) y epicarpio (B) en siete ecotipos de ciruela en 4 estados de madurez. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.

### Actividad antioxidante DPPH, ABTS y FRAP

La relación a la determinación de la actividad antioxidante en pulpa de los siete ecotipos de ciruela Mexicana, se encontraron diferencias significativas entre las etapas de maduración, en general los ecotipos presentaron un incremento hacia la inhibición del radical DPPH, de la etapa verde a la etapa madura (Figura 8) aunque en la etapa verde Conservera obtuvo la mayor actividad antioxidante del resto de los ecotipos con 153.2 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> y Roja Dulce la menor actividad con 55.21 mg EAA g<sup>-1</sup>. En las etapas ½ verde y ¾ madura la intensidad varió entre los ecotipos, no se encontraron grandes diferencias en su actividad antioxidante, pero Conservera disminuyó considerablemente en estas dos etapas de madurez. En la etapa madura todos los ecotipos incrementaron su actividad hacia el radical DPPH los resultados fueron en un orden decreciente Conservera > Jocote > Morada > Chapilla > Costeña >

Roja dulce > Amarilla, fluctuando sus valores de 204.1 a 91.64 mg EAA g<sup>-1</sup>. Suárez *et al.* (2017) no observaron diferencias significativas en la inhibición del radical DPPH, en las etapas de madurez en pulpa de ciruela Cuernavaqueña, encontrando valores inferiores reportados en este trabajo (37.64 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>). Ferreira *et al.* (2014) y Vasconcelos *et al.* (2018) reportaron en una investigación de pulpa de ciruela amarilla mombin, buena inhibición del radical DPPH. Por lo contrario Palafox *et al.* (2012) en su investigación con mango cosechado en diferentes etapas de maduración en Tepic México en diferentes etapas de maduración, encontró en la etapa ¾ maduro mayor actividad antioxidante misma que disminuyó en la etapa madura.

Se presentó mayor actividad antioxidante en epicarpio que en pulpa, comportamiento similar al que ha sido reportado por diversos autores (Álvarez *et al.*, 2017; Suárez *et al.*, 2017 y Solorzano *et al.*, 2015). Se encontraron diferencias significativas entre las etapas de maduración (Figura 8). En la etapa verde todos los ecotipos mostraron menor actividad de inhibición, hacia el radical DPPH con valores fluctuando valores de 340.1 a 856.8 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>, el ecotipo Conservera fue el que obtuvo la mayor actividad antioxidante y Costeña la menor. En la etapa ½ verde, todos incrementaron su actividad antioxidante pero, Conservera obtuvo la mayor inhibición hacia el radical DPPH (1466.1 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>) en la etapa ¾ madura Chapilla obtuvo la mayor actividad antioxidante y por último en la etapa madura, Jocote presentó la mayor actividad antioxidante, con 1148.4 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>, este ecotipo al igual que Roja dulce, Costeña y Morada presentaron comportamientos similares al aumentar su actividad antioxidante conforme avanzó la etapa de madurez a diferencia de Chapilla, Amarilla y Conservera que mostraron una disminución en la etapa madura, en la hacia la inhibición del radical DPPH (Figura 8). Suárez *et al.* (2017) observaron un incremento de la actividad antioxidante al avanzar el estado de maduración en ciruela Cuernavaqueña comportamiento similar al de algunos ecotipos de esta investigación.



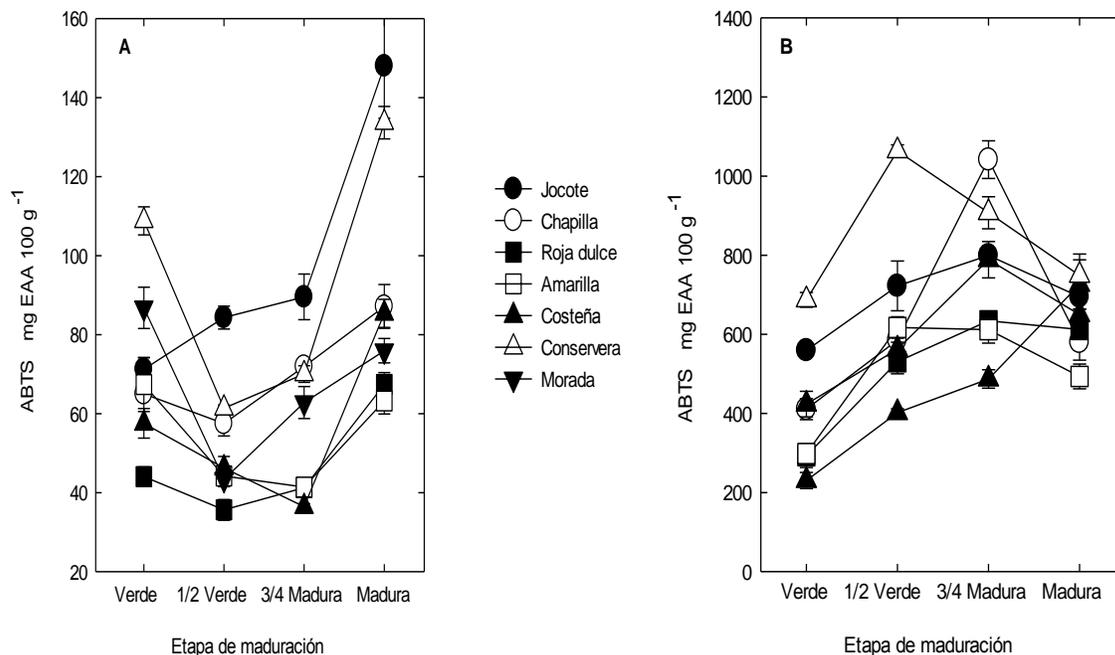
**Figura 8.** Determinación de actividad antioxidante en pulpa (A) y epicarpio (B) de siete ecotipos de ciruela en 4 estados de madurez mediante la inhibición del radical DPPH. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.

La capacidad antioxidante que presentaron los ecotipos de ciruela Mexicana, hacia la inhibición del radical ABTS mostró diferencias significativas entre las etapas de maduración (Figura 9). En la etapa verde, Conservera tuvo mayor actividad antioxidante con  $108.3 \text{ mg EAA } 100 \text{ g}^{-1}$ , el resto de las ciruelas fluctuaron con valores de  $44.08$  a  $86.8 \text{ mg EAAg}^{-1}$ , en la etapa  $\frac{1}{2}$  verde Amarilla, Conservera y Morada disminuyeron su actividad antioxidante y Jocote, Chapilla, Roja dulce y Costeña no presentaron cambios en su actividad antioxidante. En la etapa  $\frac{3}{4}$  incrementaron su actividad antioxidante los ecotipos de Chapilla y Morada: sin embargo, Jocote presentó la mayor actividad antioxidante ( $98.6 \text{ mg EAA } \text{g}^{-1}$ ). En la etapa madura todas las pulpas de los ecotipos presentaron mayor actividad antioxidante los valores obtenidos en orden decreciente fueron para Jocote > Conservera > Chapilla > Costeña > Morada > Roja dulce > Amarilla. Suárez *et al.* (2017) observaron que en la etapa  $\frac{1}{2}$  verde y  $\frac{3}{4}$  los frutos de ciruela Cuernavaqueña presentaron mayor actividad antioxidante comportamiento diferente a lo reportado en esta investigación. Por su

parte Vasconcelos *et al.* (2018), reportaron para pulpa de ciruela Amarilla mombin baja inhibición hacia este radical.

El epicarpio de las ciruelas presentó mayor actividad antioxidante que la pulpa, se encontraron diferencias significativas entre las etapas de maduración (Figura 9). En la etapa verde presentaron su menor actividad antioxidante de inhibición hacia el radical ABTS en orden decreciente Conservera > Jocote > Morada > Chapilla > Amarilla > Roja dulce > Costeña (con valores en el rango 687.1- 230.4 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>) en la etapa ½ verde se observó un aumento, pero Conservera presentó su mayor actividad antioxidante con 1063.6 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> seguida de Jocote y Amarilla (722.3- 617.9 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>).

En la etapa ¾ madura Chapilla expresó su mayor actividad antioxidante con 1041.6 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>. Y en la etapa madura los ecotipos Amarilla, Conservera y Morada presentaron una disminución en la actividad antioxidante, sin embargo Chapilla disminuyó notablemente, mientras que Jocote y Roja dulce mantuvieron su actividad antioxidante y por último Costeña en esta etapa madura, registro su mayor actividad con 726.2 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>. Suárez *et al.* (2017) observaron mayor inhibición del radical ABTS conforme avanzaba el estado de madurez en ciruela Cuernavaqueña, pero con valores inferiores a los reportados en este trabajo. Por su parte Tiburski *et al.* (2011) reportaron inhibición del radical ABTS en su estudio con ciruela amarilla (*Spondias mombin*).



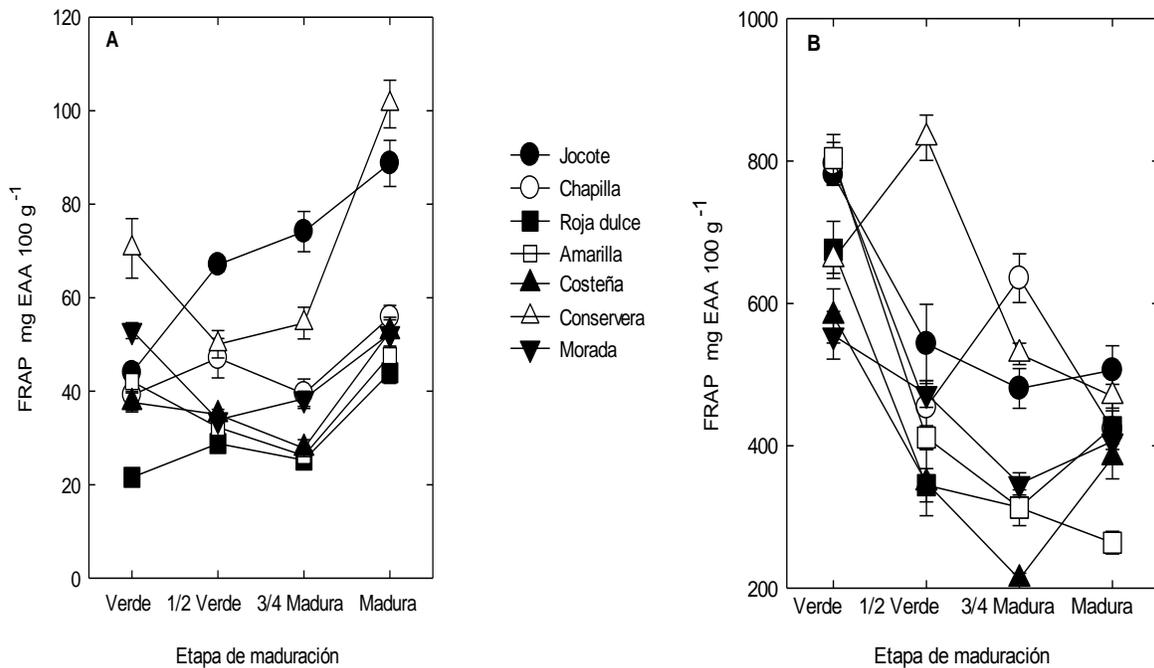
**Figura 9.** Determinación de actividad antioxidante en pulpa (A) y epicarpio (B) de siete ecotipos de ciruela, (*Spondia purpurea*) en 4 estados de madurez, mediante la inhibición del radical ABTS. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.

Se observaron diferencias significativas entre las cuatro etapas de maduración en pulpa por medio del método FRAP (Figura 10). Las pulpas de los ecotipos en la etapa verde presentaron valores en un rango de 70 a 20 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>, de poder reductor del ion ferroso siendo Conservera el ecotipo que tuvo mayor actividad y Roja dulce tuvo la menor actividad. En la etapa 1/2 verde, Amarilla, Conservera y Morada presentaron una disminución, Chapilla y Costeña no presentaron cambios en su actividad y Jocote al igual que Roja dulce incrementaron su actividad antioxidante en esta etapa. En 3/4 de madurez en los valores obtenidos fueron en orden decreciente Jocote > Conservera > Chapilla > Morada > Costeña > Roja dulce no presentaron cambios significativos con respecto a la anterior etapa de madurez a excepción de Amarilla que disminuyó su actividad antioxidante. En la etapa madura todas las pulpas de los siete ecotipos incrementaron su actividad antioxidante, Conservera y Jocote mostraron mayor inhibición del ion ferroso, con 101.4 y 88.7 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>, seguido de Chapilla, Costeña, Morada, Amarilla y Roja dulce, con valores que fluctúan de 55.8 a 43.9 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>. Suárez *et al.*, (2017) reportaron en la etapa

verde y medio verde, la mayor actividad de inhibición del ion ferroso (90.4 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>) en pulpa de ciruela Cuernavaqueña, diferente comportamiento a lo encontrado en este trabajo, pero con valores similares.

El epicarpio de las ciruelas presentó mayor actividad antioxidante hacia la reducción del ion ferroso con respecto a la pulpa. En la etapa verde todos los ecotipos registraron su máximo poder de inhibición hacia el ion ferroso siendo las ciruelas amarillas-naranja las que presentaron valores mayores, (Amarilla 804.2 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>, Chapilla 796.5 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>, Jocote 780.8 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>) seguido de ciruelas rojo- púrpura (Roja dulce, Conservera, Costeña, Morada). En la etapa ½ madura todos los ecotipos presentaron una disminución de su actividad a excepción de Conservera la cual expresó su mayor actividad con 832.8 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>. En la etapa de ¾ madura no presentaron cambios Jocote y Roja dulce sin embargo hubo una disminución de la actividad antioxidante para Chapilla, Amarilla, Costeña, Conservera y Morada. Finalmente en la etapa madura Costeña y Roja dulce incrementaron su actividad antioxidante, Chapilla bajó su poder de inhibición y para Jocote, Amarilla, Conservera y Morada no presentaron cambios con su poder inhibitorio con respecto a la etapa anterior de maduración, en orden decreciente los valores de actividad antioxidante fueron Jocote > Conservera > Roja dulce > Chapilla > Morada > Costeña > Amarilla con valores entre 506.01 y 263.9 mg EAA g<sup>-1</sup>. Suárez *et al.* (2017) reportaron mayor poder de inhibición del ion ferroso en la etapa madura de la ciruela Cuernavaqueña, comportamiento diferente a lo reportado en este trabajo. Por su parte Ferreira *et al.* (2014) reportaron buena reducción de ion ferroso en pulpas de ciruela (*S. mombin* y *S. purpurea*).

En el estudio de Palafox *et al.* (2012) en pulpa de mango no encontraron diferencias significativas en las 4 etapas de madurez hacia la reducción del ion ferroso. Du *et al.* (2009) reportaron diferencias significativas entre los ocho genotipos de kiwi (*Actinidia*) hacia la reducción del ion ferroso, similar comportamiento a lo reportado en este trabajo para los siete ecotipos de ciruela Mexicana.



**Figura 10.** Determinación de actividad antioxidante en pulpa (A) y epicarpio (B) de siete ecotipos de ciruela, (*Spondia purpurea*) en 4 estados de madurez, mediante la técnica FRAP. La barra vertical indica error estándar de seis observaciones.

Se determinó la actividad antioxidante mediante tres métodos DPPH, ABTS y FRAP, diversos autores mencionan que existen varios mecanismos de reacción inmersos en una matriz y por lo cual un método es insuficiente para cuantificar todas las sustancias antioxidantes presentes en un sistema complejo (Hassimotto *et al.*, 2005, Leong y Shui, 2002).

Se determinó el coeficiente de correlación, entre los compuestos bioactivos estudiados (fenoles, flavonoides, carotenoides) presentes en pulpa y epicarpio, con la actividad antioxidante mediante los tres métodos (DPPH, ABTS y FRAP) mostrando buena correlación entre las variables (Cuadro 7). Se observa que hay una relación importante entre estas dos variables. En la pulpa de las ciruelas se encontraron correlaciones entre los compuestos bioactivos (fenoles, flavonoides y carotenoides) y la actividad antioxidante. Se podría mencionar que la pulpa de la ciruela Mexicana contiene compuestos bioactivos que están proporcionando su función antioxidante. Los fenoles totales presentes en pulpa de ciruela Mexicana

presentaron correlaciones altamente significativas con la actividad antioxidante medida mediante la inhibición del radical DPPH. El ecotipo Jocote, Amarilla y Conservera mostraron buena correlación de fenoles totales presentes en pulpa hacia la inhibición de los radicales libres DPPH, ABTS y reducción del ion ferroso (FRAP), Chapilla mostró buena correlación de fenoles totales en la inhibición de DPPH y ABTS mientras que Morada fue con ABTS y FRAP y por último Costeña mostro correlaciones negativas entre fenoles totales con la actividad antioxidante por DPPH (-0.660) y por FRAP (-0.69). En relación a los carotenoides Costeña fue la que presentó correlaciones altamente significativas con la inhibición del radical DPPH (0.879) y FRAP (0.933) Chapilla mostró buena correlación en DPPH y ABTS, Jocote solo con FRAP (0.534). Para flavonoides totales el ecotipo de Amarilla fue el único que mostró correlaciones significativas hacia los tres métodos de medición de la actividad antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP) y Morada solo mostró correlación con ABTS (0.533).

En epicarpio los ecotipos de Roja dulce, Amarilla, Costeña y Morada mostraron correlaciones altamente significativas entre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante mediante las tres técnicas para determinar actividad antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP) Chapilla y Costeña solo tuvieron correlaciones significativas con DPPH y ABTS, mientras que Jocote solo presentó buena correlación de fenoles totales con DPPH (0.747). Para carotenoides presentes en epicarpio de Jocote presentó correlaciones altamente significativas con DPPH, ABTS y FRAP, siendo que Chapilla solo presento buena correlación con FRAP. Los ecotipos de Jocote, Chapilla, Amarilla y Conservera mostraron correlaciones significativas entre flavonoides totales con la reducción del ion ferroso (FRAP).

La pulpa y el epicarpio de la ciruela Mexicana en general mostraron altas correlaciones entre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante, atribuyéndose que los fenoles, flavonoides y carotenoides son los responsables de las propiedades antioxidantes que proporcionan las ciruelas *Spondias purpurea*.

**Cuadro 7.** Coeficientes de correlaciones de Pearson entre compuestos bioactivos y actividad antioxidante y nivel de significancia

ECOTIPO		DPPH P	ABTS P	FRAP P	DPPH E	ABTS E	FRAP E
Jocote	F P	0.688***	0.901***	0.788***	-	-	-
	C P	-	-	0.534**	-	-	-
	F E	-	-	-	0.747***	-	-
	FL E	-	-	-	-	-	0.592**
	C E	-	-	-	0.711***	0.566**	-0.714***
Chapilla	F P	0.593**	0.735***	-	-	-	-
	C P	0.561**	0.710***	-	-	-	-
	F E	-	-	-	0.889***	0.929***	-
	FL E	-	-	-	-	-	-0.661***
	C E	-	-	-	-	-	-0.630***
Roja	F P	0.874***	-	-	-	-	-
	F E	-	-	-	-0.687***	0.800***	0.821***
Amarilla	F P	0.730***	0.722***	0.805***	-	-	-
	FL P	0.582**	0.712***	0.617***	-	-	-
	F E	-	-	-	0.946***	0.892***	-0.568**
	FL E	-	-	-	-	-	-0.693***
Costeña	F P	-0.669*	-	-0.69*	-	-	-
	C P	0.879***	-	0.933***	-	-	-
	F E	-	-	-	0.767**	0.797***	0.79***
Conservera	F P	0.646***	0.621***	0.765***	-	-	-
	F E	-	-	-	0.859**	0.807***	-
	FL E	-	-	-	-	-	0.666***
Morada	F P	-	0.797***	0.769***	-	-	-
	FL P	-	0.533**	-	-	-	-
	F E	-	-	-	0.812***	0.707***	-0.757***

Nivel de significancia (\* p<0.05, \*\*p<0.001, \*\*\* p<0.0001). FE: Fenoles epicarpio, FP: Fenoles pulpa, FLE; Flavonoides epicarpio, FLP: Flavonoides pulpa, CE; Carotenoides epicarpio, CP; Carotenoides pulpa, DPPH P: Actividad antioxidante en pulpa, DPPH E: Actividad antioxidante en epicarpio, ABTS P: Actividad antioxidante en pulpa, ABTS E: Actividad antioxidante en epicarpio, FRAP P: Actividad antioxidante en pulpa, FRAP E: Actividad antioxidante en epicarpio.

Diversas investigaciones relacionan a la actividad antioxidante con el contenido de fenoles, flavonoides, carotenoides, antocianinas, tocoferoles, entre otros compuestos bioactivos, que son sintetizados a lo largo de la maduración del fruto. Los resultados obtenidos confirman que las ciruelas analizadas presentaron una importante actividad antioxidante en las tres metodologías utilizadas DPPH, ABTS y FRAP, se puede deducir que la diversidad de compuestos que están inmersos en la matriz de la ciruela, están actuando como antioxidantes y la capacidad antioxidante que se les atribuye puede ser debida a la interacción de sus estructuras químicas con los radicales libres. Sin embargo, la capacidad antioxidante de la ciruela Mexicana está

fuertemente influenciada por las especies y cultivares ya que se observó, que todos los ecotipos mostraron diferente capacidad antioxidante. Algunos trabajos relacionan la actividad antioxidante con el contenido de fenoles, flavonoides y carotenoides; sin embargo, pueden existir dentro de la matriz de la muestra, otros compuestos que contribuyan también a esta propiedad antioxidante (vitaminas, enzimas, minerales) (Serrano *et al.*, 2007).

## 2. 4 CONCLUSIONES

Los frutos de ciruela Mexicana presentan cambios de color, que son visibles en el epicarpio, considerándose uno de los principales indicadores para determinar el estado de maduración en las ciruelas *Spondias purpurea*.

Las etapas de madurez sí influyen, en la concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante. El epicarpio de los siete ecotipos analizados presentó mayor concentración de compuestos bioactivos (fenoles, flavonoides y carotenoides) que la pulpa de las ciruelas. La actividad antioxidante se vio mayormente reflejada en el epicarpio determinada por los tres métodos (DPPH, ABTS Y FRAP) obteniendo mayor capacidad antioxidante que en pulpa.

La alta correlación encontrada entre la actividad antioxidante y los compuestos bioactivos indican que los fenoles, flavonoides y carotenoides son los responsables de la actividad antioxidante en las ciruelas, pero no se descarta que otros compuestos estén involucrados contribuyendo a dicha actividad.

Los resultados obtenidos indican que las ciruelas nativas de México (*Spondias purpurea*) son una rica fuente fenoles, flavonoides y carotenoides totales, por lo que podría considerarse una excelente fuente de antioxidantes naturales y un fruto con muchas perspectivas para su amplia comercialización.

## 2.5 LITERATURA CITADA

- Alia, T.I., Maldonado, A.Y.I., Núñez, C.C.A., Valdez, A.L.A., Bautista, B.S., García, V.E., Ariza, F.R., Rivera, C.F. 2012. Caracterización de frutos de ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.) del sur de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35; 21-26.
- Almeida, C de S., P. de L. Carvalho y M. Guerra. 2007. Karyotype differentiation among *Spondias* species and the putative Irbid umbu-caja (*Anacardiaceae*). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 155; 541-547.
- Al-Duais, M. 2009. Contents of vitamin C, carotenoids, tocopherols, and tocotrienols in the subtropical plant species *Cyphostemma digitatum* as affected by processing. *Journal Agricultural of Food Chemistry*, 57; 5420–5427.
- Álvarez, V. J.E., Alia, T.I., Chavez, F.H.S., Colinas, L.M.T., Nieto, A. D., Rivera, C. F., Aguilar, P. L.A. 2017. Ciruelas Mexicanas (*Spondias purpurea* L) de clima húmedo y seco: calidad, metabolitos funcionales y actividad antioxidante. *Interciencia*, 42; 10.
- (AOAC) Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official methods of analysis. (16<sup>a</sup> ed). Virginia, USA.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., & Legret, P. 1994. Standardisation dun extrait de propolis et identification des principaux constituants. *J. Pharm. Belgique*, 49; 462-468.
- Avitia, G. E., Castillo, G. A. M., & Pimienta, E. 2000. Ciruela mexicana y otras especies del género *Spondias* L. Edit. Universidad Autónoma de Chapingo. Primera edición, México. 75.
- Benzie, I.F., & 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.

- Brand-Williams, W., Culivier, M.E., & Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie. Food Science Technology*, 28; 1, 25-30.
- Britton G. 1998. Overview of carotenoid biosynthesis. In Britton, G., Liaaen-Jensen, S., Pfander, H. (Eds), *Carotenoids*, vol. 3: Biosynthesis and Metabolismo. Birkhäuser, Basel, 13; 147.
- Camargo, N. L., Xavier da S. V., Alves, P.J., Flach, A., Ruffo, R.S. 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity in pre-harvest camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] fruits. *Scientia Horticulturae*, 186; 223-229.
- Dantas, L.A.; Silva D.M.S.; Dantas, L.R.; De Sousa, B.S.A.; Schunemann, P.P.A. 2016. Development physiology of maturation and indication of harvest point of umbuguela tree fruits (*Spondias* sp.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 38; 1 033-42.
- Du, G., Li, M, Ma, F., Liang, D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry*, 113; 557-562.
- Faller, A,L.K., & Fialho, E. 2009. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and convetional retail vegetables after domestic cooking. *Food Research International*, 42; 210-215.
- Ferreira Z.A.A., Ávila S., Ito V., Noriega A., Wosiacki, G. Isidora H. W.C. 2014. The Association between Chromaticity, Phenolics, Carotenoids, and In Vitro Antioxidant Activity of Frozen Fruit Pulp in Brazil: An Application of Chemometrics. *Journal of Food Science*, Chicago, 79; 4.
- Filgueiras, H.A.C., Alves, R.E., Moura, C.F.H., Oliveira, A.C., & Araújo, N.C.C. 2001. Calidad de frutas nativas de Latinoamerica para industria: Ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.). *Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture*, 43; 68-71.
- Gorinstein, S., Park, Y. S., Heo, B. G., Namiesnik, J., Leontowicz, H., Leontowicz, M., 2009. A comparative study of phenolic compounds and antioxidant and

- antiproliferative activities in frequently consumed raw vegetables. *European Food Research and Technology*, 228; 903–911.
- Hassimotto, N. M., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. 2005. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53; 2928–2935.
- Habibi, F., & Ramezani, A. 2017. Vacuum infiltration of putrescine enhances bioactive compounds and maintains quality of blood orange during cold storage. *Food Chemistry*, 227; 1–8.
- Hernández, M. y A. Sastre. 1999. *Tratado de nutrición*. Ediciones Díaz de Santos S.A., Madrid. 1;496
- Leong, L. P., & Shui, G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76; 69–75.
- Legua, P., Serrano, M., Melgarejo P., Valero, D., Martínez, J.J., Martínez, R., Hernández, F. 2013. Quality parameters biocompounds and antioxidant activity in fruits of nine quince (*Cydonia oblonga* Miller) accessions. *Scientia Horticulturae*, 154; 61-65.
- Maldonado-Astudillo, Y. I. Alia, T. I.; Núñez, C. C. A. Jiménez, H, J. Pelayo, Z. C. López, M.V. Andrade, R. M.; Bautista, B. S. Valle, G. S. 2014. Postharvest physiology and technology of *Spondias purpurea* L. and *S. mombin* L. *Scientia Horticulturae*, 174; 193-206.
- Montalvo-González, E., García, H.S., Mata-Montes de Oca, Tovar-Gómez, B. 2011. Efecto de la luz en ciruela mexicana manejada en diferentes condiciones de almacenamiento. *CyTA- Journal of Food*, 9; 65-70.
- Negueruela, A. I. 2012. Is the color measured in food the color that we see? In : *Color in food. Technological and Psychophysical Aspects*. Caivano, J.L., M del P. Buera. CRC Press. 81-91.
- Neves, L.C., Silva, V.X., Pontis, da, Flach, J.A., Roberto, A., 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity in pre-harvest camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] fruits. *Scientia Horticulturae*, 186; 223–229.

- Osuna G.J.A., Pérez, B.M.H., Vázquez, V.V., & Gómez, J.R. 2011. Application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on Mexican Plum (*Spondias purpurea* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34; 197- 204.
- Palafox-Carlos, H., Yahia E., Islas-Osuna, M.A., Gutiérrez-Martinez, P., Robles-Sánchez, M., & González-Aguilar, G.A. 2012. Effect of ripeness stage of mango fruit (*Mangifera indica* L., cv Ataulfo) on physiological parameters and antioxidant activity. *Scientia Horticulturae*, 135; 7-13
- Pérez, L.A., Saucedo, V.C., Arévalo, G.M.L., & Guratalla, L.A. 2004. Efecto del grado de madurez en la calidad y la vida postcosecha de ciruela mexicana *Spondias purpurea* L. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27; 2: 133-139.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26; 1231-1337.
- Rodríguez-Amaya, D.B.M. & Kimura, M. 2004. Harvest Plus Handbook for Carotenoid Analysis. Harvest Plus Technical Monograph 2. International Food Policy Research Institute and International Center For Tropical Agriculture, 35-36.
- Serrano, J., Goni I., & Saura-Calixto F. 2007. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*, 40; 15–21
- Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology*, 299; 152-178.
- Slavin, J. L., & Lloyd, B. 2012. Health benefits of fruits and vegetables. *Advances in Nutrition*, 3; 506-516.
- Sivaprasad, M. Policegoudra, R.S., Aradhya, S.M. 2010. Biochemical changes associated with hardening of endocarp in *Spondias mangifera* Willd fruits during developmental stages. *Scientia Horticulturae*, 126; 192-199.
- Solórzano, M.S., Alia, T.I., Rivera, C.F., López, M.V., Pérez, F.L.J., Pelayo, Z.C., Guillén S.D., Díaz de L.S.F., Maldonado, A.Y.I. 2015. Quality attributes and

functional compounds of Mexican plum (*Spondias purpurea* L.) fruit ecotypes. *Fruits*, 70; 5, 261-270.

Suárez, V. A., Juárez, L. P., López - Martínez, V., Pérez, F. L.J., Guillén, S.D., Alia, T.I. 2017. Antioxidant activity and physicochemical parameters in “Cuernavaqueña” Mexican plum (*Spondias purpurea*) at different ripening stages. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 39, 4: 1-10.

Tiburski, J.H., Rosenthal, A., Deliza, R., Godoy, R.L.O., & Pacheco, S. 2011. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. *Food Research International*, 44 ;7, 2326-2331.

Vargas–Simón G., Hernandez-Cupil R., Moguel-Ordoñez E. 2011. Caracterización morfológica de ciruela (*Spondias purpurea* L.) en tres municipios del estado de Tabasco, México, 23; 2 , 141-149.

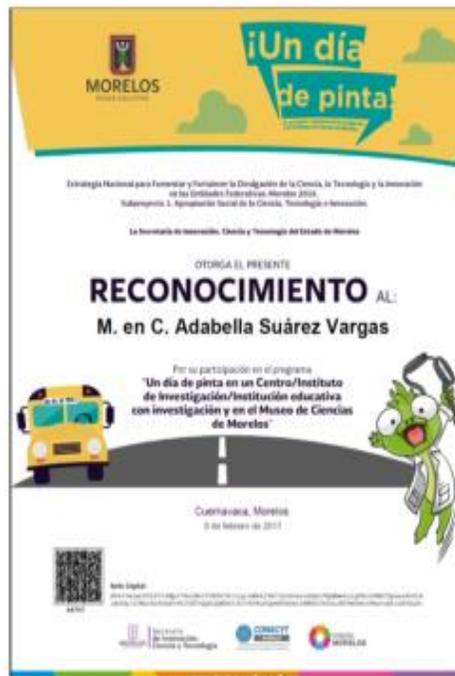
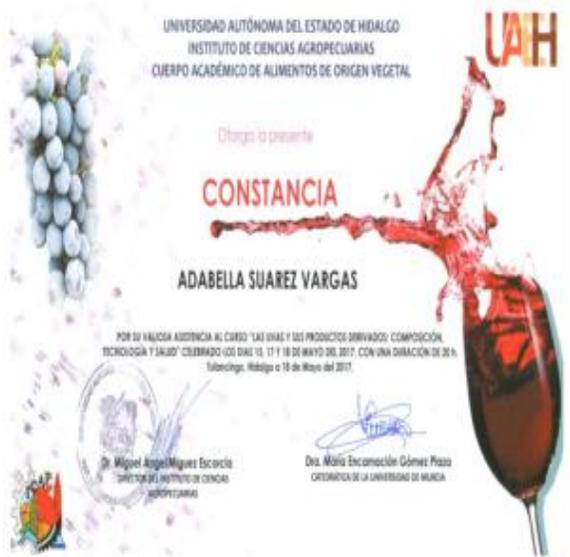
Vasconcelos, S. E.C.M., Rios de S. V., Teixeira, L. M.A., Gabrielle, C.L., Queiroz, F. 2018. Fruits from Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. *Food Chemistry*, 245; 305-311.

Wojdyło, A., Oszmianski, J., & Laskowski, P. 2009. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *Journal Agricultural of Food Chemistry*, 56; 6520–6530.

Zainudin, M. A. M., Abdul, H. A., Anwar, F., Osman, Azizah. Saari, N. 2014. Variation of bioactive compounds and antioxidant activity of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit at different ripenings stages, 172; 325-331.

## ANEXOS

- ❖ Se está realizando la identificación de los principales compuestos fenólicos, presentes en el epicarpio de la ciruela Mexicana de siete ecotipos en estado maduro de consumo, por medio de HPLC-MS.







Sociedad Española de Agricultura Ecológica/Agroecología  
 Calle del Piel, s/n. 1.  
 E-46100 Calatayud (Valencia)  
 E-Mail: [seae@agroecologia.net](mailto:seae@agroecologia.net) www.agroecologia.net  
 Tel: +34 961207122. Móvil: +34 620976118

**CERTIFICADO**

Dña. M<sup>o</sup> Dolores Raigón Jiménez, en su calidad de Presidenta de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica/Agroecología (SEAE), inscrita en el registro nacional de asociaciones del Ministerio del Interior del Gobierno de España, con el nº 113.451 por la presente,

**CERTIFICA**

Que D. Dña ADABELLA SUÁREZ VARGAS, con DNI nº G166474994, ha asistido al **XXVI Jornada Técnica SEAE "Innovación Agroecológica Y Cambio Climático"**, que se ha celebrado en Orihuela (Alicante), del **19 al 20 de octubre de 2017**, organizado por SEAE y UMH.

Y para que así conste, y para los efectos oportunos, a petición del interesado, firmo la presente en Calatayud (Valencia), a 26 de octubre de 2017.



Fdo. M<sup>o</sup> Dolores Raigón Jiménez  
 Presidenta de SEAE



UNIVERSIDAD DE MURCIA

Murcia, 30 de Noviembre, 2017

A quien le pongo en copia,

Como supervisora de la M.C.A. Adabella Suárez Vargas, en un plazo inferior que ella ha realizado una estancia de investigación en mi departamento en la Universidad de Murcia desde el 1 de Septiembre al 30 de Noviembre de 2017.

Durante este tiempo ella ha realizado estudios de aislamiento y caracterización de los compuestos fenólicos de *Spondias purpurea* y para ello ha estado trabajando con los equipos de cromatografía líquida de alta resolución de mi grupo y también ha realizado análisis en un sistema de HPLC-ESI en los servicios de instrumentación científica de la Universidad.

Espero encarecidamente que su estancia en la Universidad de Murcia sea beneficiosa para ella y su centro de estudios.

Dr. Ernesto Gómez-Piña  
 Catedrático de Tecnología de Alimentos



Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Ciencias,  
 Campus de Espinardo, 30107 Murcia  
 T: 968 867000 - F: 968 867001 - www.um.es



UNIVERSIDAD DE MURCIA

Dña. Ana Belén Baulista Ortín, Profesora Contratada Doctor de la Universidad de Murcia.

**Certifica,**

Que la M.C.A. Adabella Suárez Vargas ha realizado investigación teórica-práctica en la revista Experimental del Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología del 4 de septiembre al 30 de noviembre de 2017. Durante este periodo ha adquirido la capacidad para el aislamiento de la iva en el proceso de elaboración del vino, así como en el análisis de los parámetros físico-químico y de compuestos fenólicos del vino por espectrofotometría y por HPLC.

Y para que conste donde convenga, a solicitud de la interesada, firmo la presente.

En Murcia, España a 30 de noviembre de 2017

Facultad de Ciencias Experimentales de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología  
 Campus Universitario de Espinardo, 30111 Murcia

ISSN 1130-2542 <http://dx.doi.org/10.17201/rev.2017.11.11>

**BOTÁNICA E FISIOLÓGICA/BOTANY AND PHYSIOLOGY  
 ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PHYSICOCHEMICAL  
 PARAMETERS IN 'CUERNAVAQUESA' MEXICAN PLUM  
 (*Spondias purpurea* L.) AT DIFFERENT RIPENING STAGES**

ADABELLA SUÁREZ VARGAS<sup>1</sup>, PORFIRIO SUÁREZ LOPEZ<sup>2</sup>, VICTOR LOPEZ MARTÍNEZ<sup>3</sup>, LAURA XIBERTHA PÉREZ FLORES<sup>4</sup>, HANRRIBERTO OSWALDO SANCHEZ<sup>5</sup>, SHAY ALLEN TEJALAL<sup>6</sup>

**ABSTRACT** - Mexican plum (*Spondias purpurea* L.) 'Cuernavaquesa' was harvested at four ripening stages, with the aim of evaluating the concentrations of bioactive compounds and antioxidant capacity in the pulp and the pips. The highest polyphenol production (14.42 µg/g) and total soluble solids concentrations (23.9 °Brix) was observed in the fully ripe stage. Oxidizable acidity was higher in green stage compared to other analyzed ripening stages in both pulp (0.48 %) and pips (0.71 %). Fully ripe plum pips presented the highest content of total phenols (24.6 µg/g), flavonoids (22.4 µg/g), and carotenoids (147) µg/g compared to other ripening stages. The antioxidant capacity was higher in the pips of the fully ripe fruit compared to the other ripening stages: DPPH (1087 µM TE / 100 g), ABTS (1574 µM TE / 100 g), and FRAP (1761 µM TE / 100 g). Significant correlations ( $r = 0.60^{***}$  to  $0.81^{***}$ ) between bioactive compounds concentrations and antioxidant activity were obtained.

**Index terms:** *Spondias purpurea*; bioactive compounds; antioxidant activity

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA AMEIXA  
 MEXICANA 'CUERNAVAQUESA' (*Spondias purpurea* L.) EM DIFERENTES  
 ESTÁGIOS DE AMADURECIMENTO**

**RESUMO** - A ameixa mexicana (*Spondias purpurea* L.) 'Cuernavaquesa' foi colhida em quatro estágios de amadurecimento com o objetivo de avaliar a concentração de compostos bioativos e capacidade antioxidante de polpa e do caroço. O maior produção de fenóis (14,42 µg/g) e concentração total de sólidos solúveis (23,9 °Brix) foi observado no estágio totalmente maduro. A acidez oxidável foi maior no estágio verde em comparação com outros estágios de amadurecimento analisados tanto no polpa (0,48%) como no caroço (0,71%). O grupo de ameixa totalmente madura apresentou o maior teor de fenóis totais (24,6 µg/g), flavonóides (22,4 µg/g) e carotenóides (147) µg/g em comparação com outros estágios de amadurecimento. A capacidade antioxidante foi maior no caroço de fruto totalmente maduro em comparação com os outros estágios de amadurecimento: DPPH (1087 µM TE / 100 g), ABTS (1574 µM TE / 100 g) e FRAP (1761 µM TE / 100 g). Foram obtidas correlações significativas ( $r = 0,60^{***}$  a  $0,81^{***}$ ) entre as concentrações de compostos bioativos e a atividade antioxidante.

**Termos para indexação:** *Spondias purpurea*; Compostos bioativos; atividade antioxidante

<sup>1</sup>PhD in Agronomy, Universidad de Murcia, Murcia, Spain  
<sup>2</sup>PhD in Food Science, Universidad de Murcia, Murcia, Spain  
<sup>3</sup>PhD in Food Science, Universidad de Murcia, Murcia, Spain  
<sup>4</sup>PhD in Food Science, Universidad de Murcia, Murcia, Spain  
<sup>5</sup>PhD in Food Science, Universidad de Murcia, Murcia, Spain  
<sup>6</sup>PhD in Food Science, Universidad de Murcia, Murcia, Spain