

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS



**EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS
EN CASCARA DE *RAMBUTÁN (Nephelium lappaceum)* PARA LA
IMPLEMENTACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA COMO UNA
INFUSIÓN (BEBIDA FUNCIONAL).**

POR:

HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ CRISTIAN

TESIS

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Diciembre 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS

EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN
CASCARA DE RAMBUTÁN (*nephelium lappaceum*) PARA LA
IMPLEMENTACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA COMO UNA
INFUSIÓN (BEBIDA FUNCIONAL).

Por:

HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ CRISTIAN

TESIS

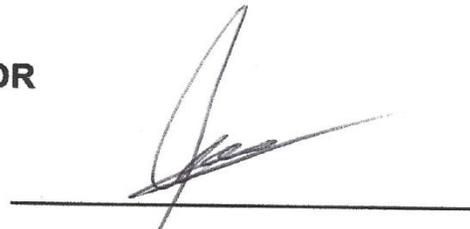
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS.

COMITÉ ASESOR



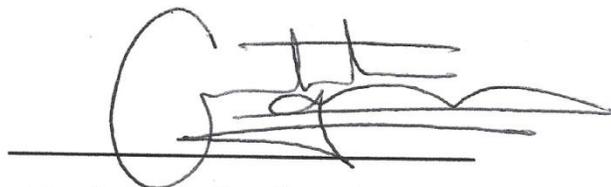
Dr. Heliodoro de la Garza Toledo.

Asesor principal.



Dr. Juan Alberto Ascacio Valdés.

Asesor principal externo.



Dr. Antonio Aguilera Carbó.

Coasesor.

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Diciembre 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN CASCARA DE RAMBUTÁN (*nephelium lappaceum*) PARA LA IMPLEMENTACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA COMO UNA INFUSIÓN (BEBIDA FUNCIONAL).

Por:

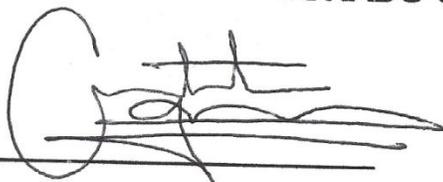
HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ CRISTIAN

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

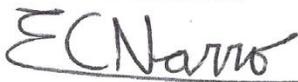
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS.

JURADO CALIFICADOR.



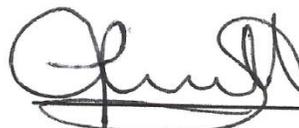
Dr. Antonio Aguilera Carbó.

Presidente



Dr. Efraín Castro Narro.

Vocal



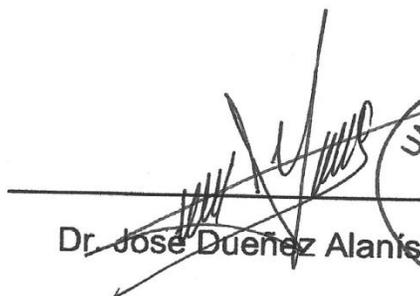
MC. Xóchitl Ruelas Chacón.

Vocal



Dr. Heliodoro De la Garza Toledo.

Vocal suplente



Dr. José Duñez Alanís



COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL.

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Diciembre 2015.

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor, por ayudarme a terminar este proyecto, gracias por darme la fuerza y el coraje para hacer este sueño realidad, por ponerme en este loco mundo, por estar conmigo en cada momento de mi vida. Por cada regalo de gracia que me has dado y que inmerecidamente he recibido, como la beca sin la cual no hubiera podido concluir mis estudios, una prueba más de tu fidelidad, prometiste una buena escuela y me diste algo que fue más allá de mis expectativas, por lo que me doy cuenta que te importa mi desarrollo, pero antes de ser un profesionalista quiero ser siempre tu hijo, ya que es el mayor privilegio que podemos tener, más valioso que todos los títulos de la tierra.

A Jesucristo por hacer algo tan brutal en mi vida con tu sacrificio en la cruz, gracias por haberme sacado de mi vida pasada para llevarme a lugares celestiales, ya que sin ti no existiría razón para vivir, me has dado hasta lo que ni siquiera he imaginado. El haberte conocido ha sido lo mejor que me ha pasado, ya que si no hubiera sido por ti no sé dónde estaría ahora y mi vida no sería emocionante.

A mi madre Areli

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, gracias por tu apoyo incondicional, por el desvelo que has tenido por nosotros, por estar conmigo en cada etapa de mi vida y por ser una amiga y comprenderme en los momentos más difíciles, como toda buena madre das la vida por tus hijos pero más que nada, por su amor que jamás me falta y que es un ejemplo y lo seguirá haciendo para mí una madre como ella no puedo pedir más, eres lo mejor mama en esta vida te amo.

A mi padre Jesús Oscar

Gracias por todo el apoyo que me has dado desde la infancia hasta ahora y porque siempre has trabajado para darnos lo mejor a mí y a mis hermanos. A través de estas líneas quiero decir lo mucho que te quiero, gracias por ser el mejor padre del mundo y por quitarte el pan de la boca con tal de que no nos faltara nada, además de un padre has sido un buen amigo y consejero, por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor, te amo papa.

A mis familiares

Mis hermanos Misael, Yoni, Arbey y todos mis sobrinos y cuñadas por ser el ejemplo de un hermano y del cual aprendí aciertos y de momentos difíciles, y por su paciencia que tuvieron conmigo; a mi tía Mabí, a mi tía Blanca, a mi tío Edi, a mis primos que siempre estuvieron conmigo y lo seguirán haciendo, y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis. ¡Gracias a ustedes!

A mis maestros

A mi “Alma Mater”, la gloriosa Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Por haberme formado académicamente. Gracias por todos los buenos momentos que viví en sus aulas y por las personas tan maravillosas que conocí.

Al Dr. Heliodoro, por ser un maestro que admiro y respeto, muchas gracias por su tiempo, paciencia y dedicación en este trabajo, no solo fue un profesor para mí si no como un amigo y padre que siempre confió en mí y en mi aprendizaje, gracias por haberme apoyado siempre. Eres el mejor.

Al Dr. Juan Ascacio, por su gran disponibilidad, dedicación y paciencia que brindo durante el desarrollo del presente trabajo y que sin sus conocimientos y técnicas no hubiese sido posible este trabajo. Gracias Ascacio por tus grandes aportaciones que nos llevaron a muchos logros.

Al Dr. Tony, por haber sido un gran maestro y amigo que me apoyo directa o indirectamente con los requerimientos necesarios para realizar las pruebas de laboratorio. Gracias Dr. Tony

A la MC. Xóchitl, gracias por su apoyo y dedicación en este trabajo es una gran maestra que admiro mucho.

Al T.L.Q. Carlos “Carlitos”, Gracias por ser parte del equipo de trabajo y apoyarme en el laboratorio con los equipos y reactivos. Gracias por su apoyo y disposición.

Al DIA (Departamento de Investigación en Alimentos) U A de C, por permitirme desarrollar parte del experimento en los laboratorios de posgrado. Gracias por su disposición.

SOY INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

A los maestros del Departamento del DCTA (Ciencia Y Tecnología De Alimentos) gracias por haberme formado profesionalmente.

A mis amigos

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora siguen siendo amigos, gracias generación XV de la carrera con los que estuve y no en la escuela a mi gran amigo y hermano del alma Carlitos y a su novia Bety por ser parte de mi historia en esta universidad, a la banda de pichi, mariano, Omar, Zavala, Marisol, Paty, Mariana, Lili, Karen, Ricardo, Fany, Gaby, Eunice, Dulce, Vane, Carmen Edith, Alducin, Ale, Yajan, Gerson, Samy, Hernán y Meli, por haber estado conmigo en esta carrera y formar parte de ella que Dios los bendiga siempre. Los extrañare.

DEDICATORIA

A mis padres quienes me apoyaron todo el tiempo.

A mi novia Miriam Karina que simplemente es una bendición que solo Dios me pudo enviar, que ha llegado a mi vida a consideración del padre, me conoce y sabe siempre que es lo mejor para mí, y que por eso permite que ella sea mi apoyo y mi compañera en el camino de la vida, y a través de estas frases de agradecimiento a mi novia hablaremos de cada detalle y de cómo es simplemente el complemento perfecto en mi vida, amo cada detalle de su ser, amo y agradezco a Dios por cada momento a su lado, ella es simplemente un todo dentro de mi finita existencia. Mi novia apoya cada pensamiento o decisión que yo decido tomar, siempre me da el mejor consejo y de la mejor manera para hacerme entender cuál es el mejor camino y como debo tomarlo, ella me trae paz y tranquilidad, los momentos a su lados no tienen que estar llenos de grandes hazañas o actividades, porque tenerla a ella ya es mi mayor hazaña, y no podría hacer nada mejor que estar a su lado.

A mis maestros quienes nunca desistieron al enseñarme, aun sin importar que muchas veces no ponía atención en clase, a ellos que continuaron depositando su esperanza en mí.

A los sinodales quienes estudiaron mi tesis y la aprobaron.

A todos los que me apoyaron para escribir y concluir esta tesis.

Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

INDICE DECONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	Justificación	3
1.2	Hipótesis	4
1.3	Objetivos	4
1.3.1)	Objetivo general.....	4
1.4.1)	Objetivos específicos.....	4
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1	Antecedentes	4
2.2	Ubicación	5
2.2.1	Ubicación de la producción del rambután.....	5
2.3	Características generales del rambután.....	6
2.4	Origen y distribución.....	7
2.5	Regiones productoras en México.....	8
2.6	Taxonomía	9
2.7	Características botánicas	10
2.7.1	Árbol	10
2.7.2	Fruto	10
2.7.3	Estructura de la semilla	10
2.7.4	Variedades	11
2.8	Paquete tecnológico alternativo	13
2.9	Cosecha	13
2.10	Índice de madurez para la cosecha de rambután	13
2.11	Conservación de la fruta	14
2.12	Enfriamiento y almacenamiento	15
2.13	Transporte.....	16
2.14	Condiciones para exportar	16
3	COMPUESTOS FENÓLICOS.....	17
3.1	Compuestos bioactivos en alimentos vegetales.....	18
3.2	Estructura química y clasificación	22
3.3	Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos fenilacéticos	22
3.4	Ácidos cinámicos, cumarinas e isocumarinas	22
3.5	Lignanós y neolignanós	23

3.6	Taninos	23
3.7	Flavonoides.....	24
3.8	Papel en enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares	27
3.9	Papel en el cáncer	28
3.10	Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos.	29
3.11	Medición de la actividad antioxidante.....	32
3.12	Contenido de fenoles totales por el reactivo de Folin-Ciocalteu (F-C)	34
4	DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES	35
4.1	Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)	35
4.2	Extracción de compuestos (sólido-líquido).....	35
5	TÉ O INFUSIÓN	36
5.1	Papel de los flavonoides del té en la protección cardiovascular	37
6	ALIMENTOS FUNCIONALES.....	37
6.1	Origen del concepto de alimento funcional	37
6.2	Términos relacionados.....	38
	Alimento funcional:	38
	Producto nutracéutico:.....	39
	Alimentos diseñado:	39
	Productos fitoquímicos:.....	40
6.3	Alimentos en el mundo.....	40
7	MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
7.1	Desarrollo experimental	42
7.2	Materia prima	43
7.3	Acondicionamiento del material del fruto en estudio	43
7.4	Etapa I: Obtención del extracto	43
7.5	Etapa II: Determinaciones de azúcares totales y reductores	44
7.5.1	Azúcares totales (Dubois 1959).....	44
7.5.2	Azúcares reductores (Miller 1959)	45
7.6	Determinación del contenido fenólico.....	46
7.6.1	Cuantificación de polifenoles hidrolizables por el método Folin-Ciocalteu (Makkar 1993).....	46
7.6.2	Cuantificación de polifenoles condensados	47
7.7	Etapa IV: Purificación de la muestra en cromatografía de columna.....	47

7.8	Etapa V: Separación e identificación de compuestos de las fracciones puras de la cascara de rambután en estudio HPLC.....	48
7.9	Etapa VI: Pruebas cualitativas.	49
7.9.1	Terpenos: prueba Liebermann-Burchard.....	49
7.9.2	Alcaloides: prueba de Warner	49
7.10	Etapa VIII: Aprovechamiento de la cascara de rambután para implementarlo en la industria alimentaria como una infusión (bebida funcional). 49	
8	ANÁLISIS SENSORIAL	49
8.1	Evaluación sensorial de la infusión	49
9	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
9.1	Cuantificación de azúcares totales y reductores	51
9.1.1	Cuantificación de azúcares totales	51
9.2.1	Cuantificación de azúcares reductores.....	52
9.1	Contenido de fenoles totales en cascara de rambután	53
9.2.1	Cuantificación de polifenoles hidrolizables	53
9.2.2	Cuantificación de polifenoles condensados	54
9.2.3	Contenido total de polifenoles	55
9.3	Identificación de compuestos de las fracciones puras de la cascara de rambután en estudio HPLC.....	56
9.4	Pruebas cualitativas	58
9.4.1	Terpenos: prueba Liebermann-Burchard.....	58
9.4.2	Alcaloides: prueba de Warner	58
10	ANÁLISIS SENSORIAL.....	58
10.1	Evaluación sensorial de la infusión	58
11	CONCLUSIONES.....	60
12	RECOMENDACIONES	60
13	BIBLIOGRAFÍA.....	61

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química de 100 g de arilo de una fruta de rambután.....	6
Cuadro 2. Composición química en base húmeda del arilo del Rambután.....	7
Cuadro 3. Cierre de la producción agrícola Rambután Soconusco, Chiapas. Cíclicos y Perennes. Riego + Temporal (SIAP-SAGARPA, 2012).....	9
Cuadro 4. Características de los principales clones de rambután cultivados en el mundo.....	11
Cuadro 5. Características de los frutos de rambután en algunas regiones de México y Costa Rica.....	12
Cuadro 6. Principales clases de compuestos fenólicos presentes en frutos.....	17
Cuadro 7. Radicales de algunos ácidos fenólicos.....	22
Cuadro 8. Flavonoides y taninos contenidos en algunos alimentos.....	27
Cuadro 9. Clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción ET o HAT.....	33
Cuadro10. Principales componentes funcionales.....	41
Cuadro 11. Datos para la preparación de la curva patrón.....	44
Cuadro 12. Datos para la preparación de soluciones.....	45
Cuadro 13. Curva de calibración (ácido gálico).....	46
Cuadro 14. Curva de calibración (catequina).....	47
Cuadro 15. Valores de concentración para la infusión de cascara de rambután...50	
Cuadro 16. Cantidad de azúcares totales presentes.....	51
Cuadro 17. Porcentaje promedio de azúcares reductores.....	52
Cuadro 18. Determinación de polifenoles hidrolizables (DPH).....	53
Cuadro 19. Determinación de polifenoles condensados (DPC).....	54
Cuadro 20. Polifenoles totales presentes en cascara de rambután.....	55
Cuadro 21. Todos los compuestos identificados en HPLC.....	57
Cuadro22. Prueba cualitativa de terpenos.....	58
Cuadro23. Prueba cualitativa de alcaloides.....	58

Cuadro24. Resultados concentrados del análisis sensorial mediante análisis de varianza	59
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Región del Soconusco (INEGI.....	5
Figura 2. Superficie cultivada de los principales países productores.....	8
Figura 3. Principales grupos de polifenoles de alimentos. (Tomás y Espín2000...20	
Figura 4. Estructuras de polifenoles poliméricos. 1. Procianidinas (taninos condensados) 2. Elagitaninos. 3. Punicalagina, un elagitanino de la granada. (Tomás y Espín 2000).....	21
Figura 5. Producción de flavonoides y estilbenos a partir de fenilpropanoides.....	25
Figura 6. Estructuras químicas de diversos compuestos C6-C3-C6 encontrados en alimentos y nutraceuticos. Adaptado de Shahidi y Naczk (2004).....	26
Figura 7. Estructura general y numeración de los flavonoides de alimentos. Adaptada de Shahidi y Naczk(2004).....	27
Figura 8. Consecuencias de las ERO en enfermedades y el papel preventivo de los polifenoles.....	29
Figura 9. Mecanismos de reacción por transferencia de electrones y transferencia de átomos de hidrógeno (Huang et al., 2005).....	33
Figura 10. Reacción de transferencia de electrones con el reactivo de Folin Ciocalteu (huang et al., 2005).....	34
Figura 11. Molino y frascos con muestra.....	43
Figura 12. Obtención del extracto crudo.....	44
Figura 13. Determinación de polifenoles hidrolizables.....	46
Figura 14. Determinación de Polifenoles condensados.....	47
Figura 15. Fracciones de la purificación en cromatografía de columna.....	48
Figura 16. Equipo HPLC (Cromatógrafo líquido de alta resolución).....	48
Figura 17. Panelistas evaluando la infusión.....	50
Figura 18. Curva para cuantificar los azúcares totales.....	51
Figura 19. Curva para cuantificar azúcares reductores.....	52

Figura 20. Curva de calibración de ácido gálico para determinación de fenoles hidrolizables.....	53
Figura 21. Curva de calibración de catequina para determinación polifenoles condensados.....	54
Figura 22. Cromatografía HPLC de la fracción etanólica de la cascara de rambután (<i>Nephelium lappaceum</i> L.). 1; geranina, 2; corilagina y 3; ácido elágico.....	56

RESUMEN

El rambután "*Nephelium lappaceum*" es una fruta tropical que se introdujo hace 55 años en el estado de Chiapas en donde se ha incrementado su cultivo por su aceptación en México y sus amplias perspectivas de exportación, sin embargo su cascara que forma un 15 % de la fruta no se comercializa, en este trabajo se buscó aprovechar su cáscara por las propiedades antioxidantes que posee. Se determinó en las cascara de rambután (*N. lappaceum*) el contenido de polifenoles totales mediante el método Folin Ciocalteu. Posteriormente se realizó una extracción alcohólica de las cáscaras para determinar azúcares totales y azúcares reductores. El extracto se purificó por medio de Cromatografía de columna utilizado Amberlita XAD-16. El análisis de los compuestos obtenidos se sometió a un análisis por HPLC. Los compuestos aislados fueron identificados como geranina (1), corilagina (2) y ácido eláxico (3). Los resultados sugieren que los elagitanos aislados, como componentes principales de la cáscara de rambután, podrían utilizarse en la industria alimentaria, por lo que las cáscaras se utilizaron para preparar una infusión acuosa que presentó una concentración de polifenoles totales de 177.4 mg /1 g de muestra. Para determinar la mejor concentración de plifenoles que tuviera un bebida tipo té y basándose en la legislación de los antioxidantes alimentarios se hicieron tratamientos con tres concentraciones (1) 10 mg/día, (2) 100 mg/día y (3) 190 mg/día. Se realizó un análisis sensorial de grado de aceptación usando una escala hedónica de 1 a 9 aplicado a 26 jueces semientrenados. De los 3 tratamientos realizados, la muestra (2) 100 mg/día fue la que presentó mayor aceptación, por lo tanto se reafirman las posibilidades de utilizar las cascara de rambután para elaborar una infusión (bebida funcional).

PALABRAS CLAVE: *Nephelium lappaceum*; antioxidantes; polifenoles;

Infusión.

Correo electrónico; Cristian Hernandez Hernandez, christianuaaan@hotmail.com

ABSTRACT

The rambutan "*Nephelium lappaceum*" is a tropical fruit that was introduced 55 years ago in the state of Chiapas where it has increased its culture by its acceptance in Mexico and their broad prospects for export, however its shell which form a 15 per cent of the fruit is not traded, in this work, we sought to take advantage its shell by the antioxidant properties it possesses. It was found in the rinds of rambután (*N. Lappaceum*) total polyphenol content through the Folin Ciocalteu's method. This was followed up by alcoholic extraction of the shells to determine total sugars and reducing sugars. The extract is purified by means of column chromatography used Amberlita XAD-16. The analysis of compounds obtained was subjected to an analysis by HPLC. The isolated compounds were identified as geranina (1), corilagina (2) and ellagic acid (3). The results suggest that the elagitanins isolated, as a major component of the shell of rambutan, could be used in the food industry, so that the shells were used to prepare an aqueous infusion that presented a concentration of total polyphenols of 177.4 mg /1 g of sample. To determine the best concentration of polyphenols that had a type of drink tea and based on the legislation of the antioxidant food treatments were made with three concentrations (1) 10 mg/day, (2) 100 mg/day and (3) 190 mg/day. There was a sensory analysis of degree of acceptance using a hedonic scale of 1 to 9 applied to 26 trained arbiters. Of the 3 treatments performed, the sample (2) 100 mg/day was the one greater acceptance, therefore reaffirms the possibilities of using the shells of rambután to develop different by using it as a functional beverage (infusion).

1 INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad. Englobando más de 8.000 compuestos distintos. Su forma más frecuente es la de polímeros o lignina insoluble, mientras que su presencia en los tejidos animales está relacionada con el consumo e ingestión de alimentos vegetales. La distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular. (Isabel Martínez *et al.*, 2000)

Sus principales funciones en las células vegetales son las de actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, y como agentes protectores frente a la acción de patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa.

Los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados. Su contribución a la pigmentación de los alimentos vegetales está claramente reconocida, a través de las antocianidinas, responsables de los colores rojo, azul, violeta, naranja y púrpura de la mayoría de las plantas y de sus productos. Además, la reacción de oxidación de los compuestos fenólicos hacia la formación de quinonas, catalizada por las enzimas polifenol oxidasas, produce un pardeamiento enzimático en los alimentos, fenómeno de vital importancia para asegurar la calidad de frutas y verduras durante el procesado. Igualmente los compuestos fenólicos, y en concreto los taninos condensados o proantocianidinas se asocian con la astringencia que presentan muchas de las frutas comestibles antes de la maduración. (Isabel Martínez *et al.*, 2000).

En la actualidad este grupo de compuestos fitoquímicos presentan un gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana. Así, muchas de las propiedades beneficiosas descritas en los alimentos de origen vegetal, asociadas principalmente a la actividad antioxidante y las propiedades anti nutritivas de estos compuestos, están relacionadas con la presencia y con el contenido de compuestos fenólicos (Isabel Martínez *et al.*, 2000).

Los antioxidantes son conocidas como moléculas que actúan antes o durante una reacción en cadena de los radicales libres; ya sea en la etapa de iniciación, propagación, terminación, descomposición o en la subsecuente oxidación de los productos (Cardoso *et al.*, 2005). Por otro lado, los prooxidantes son especies altamente reactivas de radicales libres o especies reactivas de

oxígeno que están presentes en los sistemas biológicos; provienen de una amplia variedad de fuentes (Carocho *et al.*, 2013) y se encuentran tanto en los alimentos como en los sistemas biológicos.

En los alimentos el proceso de auto-oxidación y generación de la rancidez es causado por radicales libres como consecuencia de la peroxidación lipídica y en los sistemas vivos los radicales libres atacan moléculas biológicas claves, produciendo muchas enfermedades degenerativas (Suja *et al.*, 2004). Un desequilibrio entre prooxidantes y antioxidantes en el organismo genera el fenómeno llamado estrés oxidativo, el cual es clave en el desarrollo de enfermedades crónicas tales como cáncer, arteriosclerosis, artritis reumatoidea, algunas formas de anemia, diabetes, entre otras (Tapia *et al.*, 2004; Celik *et al.*, 2010).

En los últimos años el interés por los antioxidantes naturales se ha incrementado dramáticamente, debido principalmente a tres razones: (1) la baja seguridad que ofrece el consumo de antioxidantes sintéticos, (2) la eficacia antioxidante de una variedad de agentes fitoquímicos, y (3) la idea generalizada de que el consumo de ciertos agentes fitoquímicos pueden afectar de manera positiva la patología de las enfermedades crónicas y el proceso de envejecimiento; además, la creencia de que los compuestos naturales son innatamente más seguros que los compuestos sintéticos y por consiguiente son comercialmente más aceptados (Dorman *et al.*, 2004).

Los antioxidantes derivados de las plantas desde el punto de vista fitoquímico pueden ser taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavones, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas los cuales debido a sus propiedades redox pueden actuar como donadores de hidrógenos y de esta manera prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas (Marwah *et al.*, 2007).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos tiene interés desde un punto de vista tecnológico y nutricional. Así, los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos, por lo que la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido en estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, a la vez que se obtienen alimentos más saludables, que incluso pueden llegar a englobarse dentro de los alimentos funcionales. Desde un punto de vista nutricional, esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y en el cáncer así como en procesos de envejecimiento por lo que está siendo intensamente estudiado mediante ensayos "in vivo" e "in vitro".

El objetivo de esta investigación es proporcionar una visión general del aspecto nutricional los principales grupos de compuestos fenólicos presentes en la cascara de rambután "*Nephelium Lappaceum*" mediante una infusión.

1.1 JUSTIFICACIÓN

Los compuestos fenólicos poseen importantes bioactividades, tales como: actividad antioxidante, propiedades antiinflamatorias, antialérgicas, anti Cáncer, antivirales y presentan protección contra enfermedades degenerativas.

La relación entre radicales libres, antioxidantes y otros cofactores es importante en la conservación de la salud, el envejecimiento y los problemas relacionados con la edad. Los radicales libres inducen el estrés oxidativo, que es equilibrado por antioxidantes endógenos, mediante la ayuda de cofactores y por la ingesta de antioxidantes exógenos (Rahman K. 2007).

Actualmente existe un interés por el estudio de alimentos con un alto contenido en antioxidantes naturales, como son los compuestos fenólicos los cuales están ampliamente distribuidos en la naturaleza y cuyo consumo se ha asociado con una disminución en la aparición de enfermedades cardiovasculares así como el cáncer y otras enfermedades crónico-degenerativas que actualmente están en crecimiento.

El interés que se tiene por estudiar la cascara del fruto rambután introducido a México hace 55 años, es el investigar sus propiedades nutricias que aporten beneficios a nuestra salud y que se retomen en nuestra dieta diaria dichos alimentos, por lo cual hace que una infusión de cascarilla de rambután sea un alimento idóneo para este estudio.

Esta investigación tiene por objetivo caracterizar la cascarilla de rambután cultivada en el estado de Chiapas, en la región del Soconusco, con relación a los compuestos polifenólicos presentes en la misma y los que contengan en el té extraído de la cascara, mediante la cuantificación de polifenoles totales debido a que es una técnica actual y muy eficiente en cuanto al análisis químico se refiere, las cantidades de muestra y reactivos que se utilizan son en cantidad mínima comparándolas con otras técnicas que son costosas, tardadas y con menor eficiencia.

Es por toda esta problemática que esta investigación se centrará en el estudio de los compuestos fenólicos como antioxidantes en la cascara de rambután de la familia *Sapindaceae*, que fueron recolectadas en la región del soconusco Chiapas, en los que se podría considerarse como una alternativa natural que reduciría o retrasaría la formación de especies reactivas del oxígeno (ROS); mencionando que sería una gran riqueza por sus compuestos antioxidantes.

1.2 HIPÓTESIS

La cascara de rambután posee compuestos fenólicos que aportan beneficios a la salud humana al ser consumidos en forma de una infusión (bebida funcional).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1) Objetivo general

Extraer, identificar y cuantificar de los compuestos fenólicos mayoritarios contenidos en la cáscara de rambután, cultivado en la región soconusco, Chiapas, para implementarlo en la industria alimentaria con una infusión (bebida funcional).

1.4.1) Objetivos específicos

- Extraer compuestos fenólicos en la cascara del rambután en condiciones de extracción predeterminadas.
- Determinar el contenido de polifenoles totales por los métodos de Folin-Ciocalteu y taninos condensados en las fracciones de las muestras.
- Separar e identificar los compuestos fenólicos de la cáscara del rambután por medio de estudios por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).
- Determinar la concentración de polifenoles totales en una taza de té o infusión.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Antecedentes

El rambután cuyo nombre proviene del vocablo malayo “rambut” que significa “pelo”, en referencia a las espinas largas y suaves que cubren la superficie del fruto, pertenece a la familia de las *sapindaceae*. Siendo también miembros de esta familia otros frutales asiáticos como el longan (*Dimocarpus longan Lour*), el litchi (*Litchi chinesis Sonn*) y el mamoncillo (*Melicocca bijuga Linn*). Sin embargo, el rambután es el más difundido a nivel mundial en las zonas tropicales, debido a su gran capacidad de adaptación en una amplia diversidad de suelos. (Luciano *et al.*, 2006).

El rambután fue introducido a México en los años 50's y 60's en la región del Soconusco, como una planta atractiva por sus frutos, pero no fue hasta principios de los 90's cuando empieza a tener auge en dicha zona, hasta llegar a ocupar en la actualidad una superficie aproximada de 200 has, siendo los municipios de

Cacahoatán, Metapa de Domínguez, Huehuetán y Tuxtla Chico los principales productores.

La región del Soconusco se ha caracterizado como una zona altamente productiva, por lo homogéneo del clima, lo que se hace que se desarrollen diferentes cultivos, como los ornamentales, hortalizas y frutales, dentro de estos últimos se encuentra el rambután, que en conjunto conllevan un fuerte impacto ambiental, económico y social.

El fruto de rambután tiene una composición y propiedades que lo hacen especialmente importante como alimento, sin mencionar sus propiedades medicinales y terapéuticas. Entre sus propiedades nutritivas figura su alto valor contenido de vitamina C. Es un fruto prácticamente libre de grasas y colesterol. Es rico en minerales como el hierro y el calcio.

En los últimos años se ha convertido en una de las frutas más atractivas de los mercados más importantes del país. El color atractivo, la apariencia característica de la fruta, el exquisito sabor de su pulpa, y la relativa rusticidad y capacidad productiva de los árboles de esta especie, hacen que este cultivo se esté transformando poco a poco en uno de los cultivos atractivos para los productores frutícolas de las zonas tropicales húmedas del país. (Luciano *et al.*, 2006)

2.2 Ubicación

2.2.1 Ubicación de la producción del rambután

La región del Soconusco se encuentra dentro de la Provincia fisiográfica de la cordillera centroamericana.

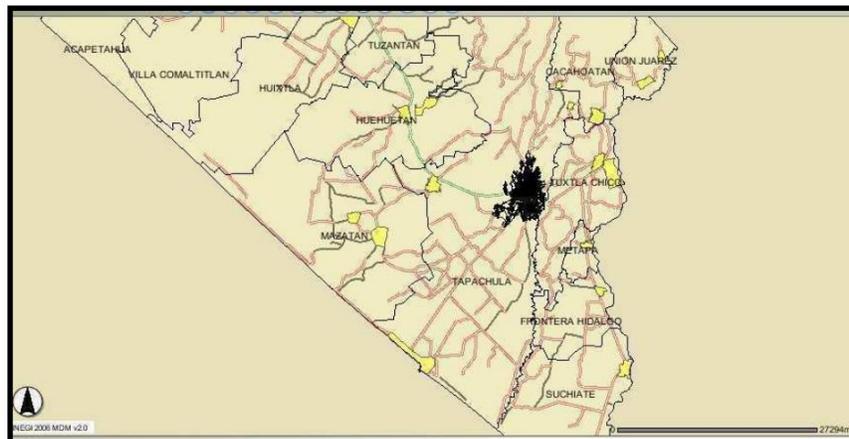


Figura 1.-Región del Soconusco (INEGI)

Es una región del estado de Chiapas, ubicada en el extremo sur del estado, con límites con la República de Guatemala, así como las regiones Costa, Sierra y Fraylesca de Chiapas, y con litoral al Océano Pacífico. (INEGI 2006).

Se localiza entre los paralelos 16°11'24" – 14°31'48" Latitud y 93°56'24" – 92°04'12" Longitud W y tiene una extensión de 9,314.63 Km². (INEGI 2006).

2.3 Características generales del rambután

El rambután (*Nephelium lappaceum Lappaceum*) es considerado como un fruto exótico, por su escasez y desconocimiento en el mercado, ya que es un fruto de introducción reciente en el país. Sin embargo, es apreciado como uno de los frutos más finos del mundo por su agradable sabor y apariencia, además de su alto contenido de vitamina C, características que lo hacen altamente demandando en los mercados. También ya se comercializa como conserva en Centroamérica y en sus países de origen.

Cuadro 1.-Composición química de 100 g de arilo de una fruta de rambután

componente	(g)		(mg)	
Agua	82.1	c	Niacina	0.5 c
Proteína	0.9	c	Caroteno	0 c
Grasas	0.3	c	Fósforo	0 c
cenizas	0.3	c	Calcio	15 c
Glucosa	2.8	b	Hierro	(0.1, 2.5) b,a
Fructosa	3.0	b	Vitamina C	70 c
Sacarosa	9.9	b	Tiamina	0.01 c
Almidón	0	b	Riboflavina	0.07 c
Fibras dietéticas	2.8	b	Potasio	140 c
Ácido málico	0.005	b	Sodio	2 c
Ácido cítrico	0.31	b	Magnesio	10 c
Energía	297 KJ	b		

Fuente: (Tee 1982).

Nota: Un arilo (o arillus) es una cobertura carnosa de ciertas semillas formado a partir de la expansión del funículo (punto de unión de la semilla al ovario).

Cuadro 2.-.Composición química en base húmeda del arilo del Rambután

Componente %	Estado de madurez		
	Verde	Amarillo	Rojo
Sólidos totales	13.95	14.75	17.10
Proteína	0.40	0.75	0.60
Ceniza	0.40	0.35	0.35
Fibra	0.55	0.55	0.50
Grasa	0.10	0.10	0.10
Acidez	1.70	1.50	1.10
° Brix	16.0	17.75	19.75
p. H	3.25	3.40	3.60
Azúcar total	12.90	14.65	16.60
Azúcar reductor	4.70	4.95	5.70

Fuente: (JICA 1999)

2.4 Origen y distribución

El rambután (*Nephelium lappaceum L.*), es un frutal tropical exótico, perteneciente a la familia sapindaceae, y es nativo de la región de Malasia e Indonesia (Tindall H. 1994). El rambután se ha difundido desde tiempos prehistóricos en la mayoría de los países tropicales del Sureste de Asia. Sin embargo, son introducciones de materiales seleccionados durante el siglo XX, las que han permitido el desarrollo del cultivo en escala comercial en países como Malasia, Indonesia, Tailandia Filipinas, Singapur, entre otros (Aister, M. 2005). El fruto de rambután presenta características específicas en su sabor que lo hacen atractivo para su consumo en fresco o de manera procesada. Entre sus componentes nutritivos figuran su alto contenido de proteínas y vitamina C; además presenta cantidades importantes de minerales como Potasio, Calcio y Magnesio; y carbohidratos como la sacarosa, glucosa y fructosa (Tindall H. 1994).

A nivel mundial los principales países productores a nivel comercial de Rambután son: Tailandia, Malasia, e Indonesia y a Nivel de auto consumo en otros países tropicales. En la siguiente figura se indican los principales países productores de rambután.

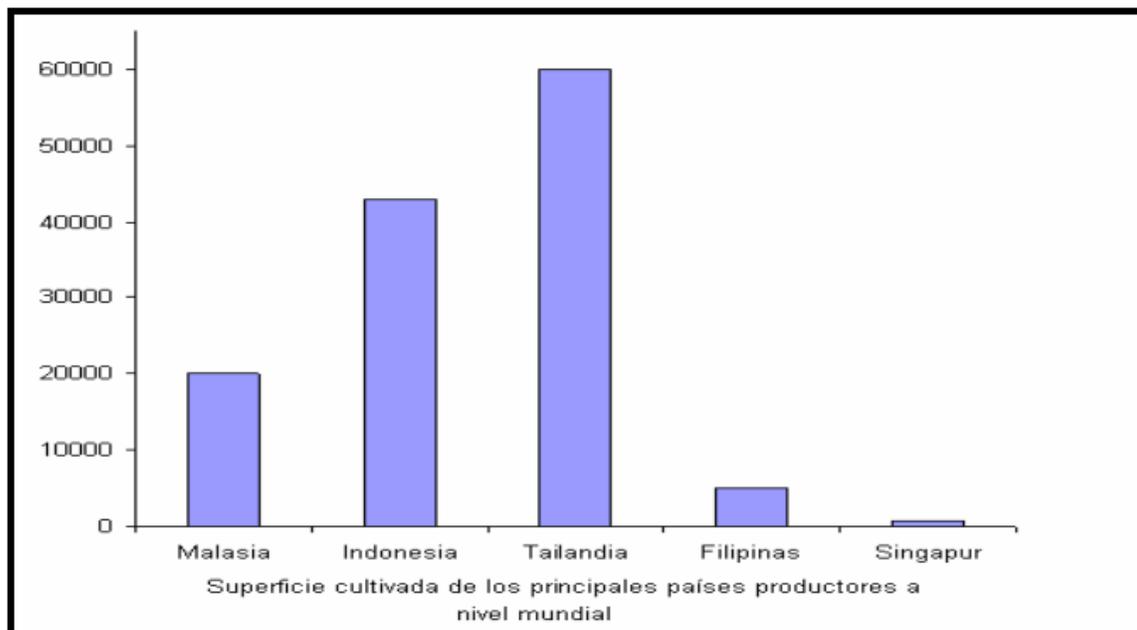


Figura 2.-Superficie cultivada de los principales países productores.

Fuente: (Tindall 1994)

2.5 Regiones productoras en México

En México, el rambután es un fruto poco conocido, a pesar de tener un claro potencial de desarrollo en las regiones del trópico y en específico el Soconusco, gracias a unas condiciones agroecológicas favorables para la producción de este fruto. El rambután fue introducido a México en los años 1950 y 1960. En la región del Soconusco se cultivan alrededor de 200 ha con plantaciones comerciales; sin embargo existen huertos de traspatio, calculándose que existen unos 50,000 plantas en producción, lo que equivaldría a una superficie compactada de 500 hectáreas (Vanderlinden *et al.*, 2004). Por otra parte, existen pequeñas plantaciones de rambután en el estado de Tabasco, y Nayarit, cuya tendencia es incrementar la superficie actual del Rambután en México.

Cuadro 3.-Cierre de la producción agrícola Rambután Soconusco, Chiapas. Cíclicos y Perennes. Riego y Temporal (SIAP-SAGARPA, 2012).

	Municipio	Sup. Sembrada	Sup. Cosechada	Producción	Rendimiento	PMR	Valor Producción
		(Ha)	(Ha)	(Ton)	(Ton/Ha)	(\$/Ton)	(Miles de Pesos)
1	Cacahoatán	45	45	540	12	10,888.89	5,880.00
2	Frontera Hidalgo	24	21	168	8	14,000.00	2,352.00
3	Huehuetán	18	18	144	8	12,000.00	1,728.00
4	Metapa	30	30	350	11.67	10,000.00	3,500.00
5	Tapachula	49.5	49.5	440	8.89	6,559.36	2,886.12
6	Tuzantán	8	8	80	10	12,000.00	960
	TOTAL	174.5	171.5	1,722.00	10.04	10,050.01	17,306.12

Los rendimientos reportados por SIAP-SAGARPA (2008), son de 9.81 t·ha⁻¹, mientras que en Tailandia son de 15.81 t·ha⁻¹. En 2008 la producción de rambután en México fue de 865.6 toneladas, con un valor total de 11.10 millones de pesos (SIAP-SAGARPA, 2008). La aceptación en los mercados regionales, nacionales y la cercanía con Norte América y Sudamérica están posicionando al cultivo como alternativa económica en zonas frutícolas y cafetaleras del estado de Chiapas (Pérez y Jürgen, 2004).

2.6 Taxonomía

Reino	<i>Vegetal</i>
Clase	<i>Dicotiledónea</i>
Orden	<i>Sapindales</i>
Familia	<i>Sapindáceae</i>
Genero	<i>Nephelium</i>
Especie	<i>lappaceum L.</i>

2.7 Características botánicas

2.7.1 Árbol

Son de porte mediano que alcanzan de 15 a 25 m de altura, de 40 a 60 cm de diámetro, de copa abierta y ramificada. En el caso de árboles injertados, llegan a medir de 10 a 12 metros altura como máximo (Fraire V., 2001).

En condiciones naturales alcanza una altura de 12 a 20 m de altura en plena edad productiva, pero en arboles de clones crecen hasta 12 metros de altura, el diámetro del tronco va de 40 – 60 cm de color oscuro o café grisáceo. Las ramas tienen una forma de crecimiento de corona relativamente compacta, está cubierta con numerosas lenticelas. Las ramas secundarias son frágiles y rugosas, con una pubescencia rojiza.

Las plantas provenientes de semillas tiene hábitos de crecimiento erectas, con troncos rectos y gruesos, de ramas con estructura compactas. Las propagadas vegetativamente pueden ser erectas o no muy erectas y de formas extensas; los arboles masculinos comparados con árboles injertados, desarrollan ensanchando sus ángulos y son más propagados. Los clones son más cultivados generalmente porque son menos vigorosos que los obtenidos por plántulas o semillas (Tindall H., 1994).

2.7.2 Fruto

El fruto de rambután puede ser de diferente tamaño, calidad y forma; así pueden ser ovoides o globosos, con el pericarpio cubierto de espinas blandas de apariencia pilosa, y pueden ser de color amarillo, anaranjado o rojo. Los frutos pueden reproducirse de manera libre o agrupada en panículas de 10 a 20 frutos suspendidos sobre una rama leñosa (Pérez R. y Jürgen P.; 2004).

Desde la floración hasta la cosecha transcurren de 100 a 120 días: el rambután en un fruto no climatérico y debe madurar completamente en el árbol, y cosecharse cuando el pericarpio cambia de verde a rojo o amarillo. Por lo general los frutos de la misma panícula maduran al mismo tiempo, pero no forzosamente al mismo tiempo sobre las ramas o sobre el mismo árbol, dando una cosecha escalonada.

2.7.3 Estructura de la semilla

Las flores del rambután son estructuralmente bicarpelados, solamente tienen desarrollado un carpelo, con semillas masculinas. Estas son rectangulares o elípticas, delgadas de 20 a 35 mm de largo y de 12 a 22 mm de ancho (Tindall H., 1994).

2.7.4 Variedades

Cuadro 4.-Características de los principales clones de rambután cultivados en el mundo.

CARACTERISTICA	Variedad					
	Jit Lee 1	Binjai 1	R3 1	R9 1	R137 1	Rongrien 1
Sinónimo 1	Deli		Peng Ting Ching	Tau Po Cheng	Gajah Mati	Roengrean
Vigor 1	Medio	Medio/grande	Medio	Medio/grande	Medio/grande	Medio/grande
Peso del fruto (g) 1, 2	30 –55	32- 41	22 – 33	40 – 51	40 – 45	40 – 50
Parte comestible (%) 1	35	41	46	36	49	41
TSS 1	20 –22	18 –21	22.5	20 – 23	22 – 23	18 – 21
Color del pericarpio 1	Naranja/roja, espiranetes verdes	Naranja/roja espiranetes verdes	Rojas	Rosa/rojo carmesí	Rojo	Rojo oscuro, espiranetes verdes
tamaño medio del fruto (mm) 3	60/40 3	48/40 3		65/40 3		53/36 3
color de espiranetes 3, 2	Verdes 3	Verdes 3		Rojas 3		Verdes 3
grados Brix a la madurez 3	20 – 22 3	18 – 21 3		20 – 23 3		19 – 21 3
Liberación de la semilla 3,2	Libres 3	Adheridos 3		Libres 3		Libres 3
Jugosidad o frescura del arilo 3	Ambas 3	Fresca 3		Ambas 3		Fresca 3
Peso del arilo g 2						
% de arilo 2						
Peso fruto sin cáscara g 2						
Largo del fruto cm 2						
Ancho del fruto cm 2						
Peso de la semilla g 2						
Largo de la semilla cm 2						
Ancho de la semilla cm 2						
Peso de la cáscara g 2						
Grosor de la cáscara cm 2						
Alternancia en la producción 2						
Periodo de floración 2						
Periodo de cosecha 2						
Sabor 2						
Espaciamiento por árbol (m) 3	10 x 10 3	10 x 10 3		12 x 10 3		12 x 10 3

CARACTERISTICA	Variedad				
	Chompoo 1	RI – 104 2	RI – 133 2	RI – 148 2	Silengkeng 3
Sinónimo 1	Seechompoo				
Vigor 1	Pequeño				
Peso del fruto (g) 1, 2	28 – 35	27.5 2	25.94 2	25.93 2	
Parte comestible (%) 1	40				
TSS 1	18 - 20				
Color del pericarpio 1	Naranja	Rojo 2	Rojo 2	Rojo 2	
tamaño medio del fruto (mm) 3					65/40 3
color de espiranetes 3, 2					Verdes 3
grados Brix a la madurez 3					19 – 21 3
Liberación de la semilla 3,2		Fácil 2	Fácil 2	Fácil 2	Baja 3
Jugosidad o frescura del arilo 3					Jugosa 3
Peso del arilo g 2		11.67	12.22	11.32	
% de arilo 2		42.43	47.1	43.65	
Peso fruto sin cáscara g 2		13.54	14.62	13.07	
Largo del fruto cm 2		4.31	4.22	4	
Ancho del fruto cm 2		3.19	3.01	3.16	
Peso de la semilla g 2		1.91	2.4	1.74	
Largo de la semilla cm 2		2.13	2.35	2.14	
Ancho de la semilla cm 2		0.91	0.96	0.94	
Peso de la cáscara g 2		14.01	11.32	12.86	
Grosor de la cáscara cm 2		0.35	0.31	0.36	
Alternancia en la producción 2		Poco alternante	Poco alternante	Poco alternante	
Periodo de floración 2		Enero-abril	Enero-abril	Enero-abril	
Periodo de cosecha 2		Junio-agosto	Junio-agosto	Junio-agosto	
Sabor 2		dulce	Dulce	Dulce	

Cuadro 5.-Características de los frutos de rambután en algunas regiones de México y Costa Rica.

Variables	Municipios del estado de Chiapas, México 2				38 clones de rambután en la zona sur de Costa Rica 1
	Metapa	Huehuetán	Cacahoatán	Tuxtla chico	
Largo del pelo (cm) 1					0.6 – 1.9
Diámetro mayor (cm) 1					3.2 – 4.5
Diámetro menor (cm) 1					2.7 – 4
° Brix 1					17 -25
Grosor de la semilla 1					1 – 1.5
Diámetro (cm) del fruto	3.17	3.40	3.21	3.28	
Longitud del fruto (cm) 1, 2	-	4.26	4.11	3.74	3.8- 5.7 1
Peso del fruto (g)	23.10	30.32	27.35	24.98	
Diámetro del arilo (cm) 1, 2	2.36	2.59	2.51	2.63	0.4 – 1.6 1
Longitud del arilo (cm)	-	3.34	3.28	3.05	
Peso del arilo (g)	11.06	14.98	13.90	14.06	
Color (1: amarillo, 5: rojo)	3.73	3.49	3.54	3.07	
Enfermedades	19%	73%	50%	35%	
Insectos	22%	25%	20%	7%	
Frutos chicos pegados	32%	19%	10%	8%	
Color de las espinas y grado de deshidratación (0: fresca, 6: deshidratados)	1.13	2.76	2.05	0.54	
Sabor (1: dulce, 4: ácido)	1.50	2.24	2.60	2.29	
Jugosidad y carnosidad (1: muy jugoso y carmoso, 5: seco)	2.27	1.60	1.50	2.57	
Adherencia de la pulpa (1: ninguna, 5: muy fuerte)	2.88	2.63	2.40	1.71	

2.8 Paquete tecnológico alternativo

En la región del soconusco se dispone de un paquete tecnológico recomendado por el INIFAP (campo experimental Rosario Izapa), apoyándose de la investigación que a lo largo de 20 años han desarrollado. Más aparte se integraron algunos conceptos e información en base a una revisión de literatura, destacando aspectos importantes de manejo.

La propagación vegetativa de la planta garantiza la producción de la planta, el mantenimiento de la calidad del fruto y acelerar la producción; ante esto el injerto es una de las mejores alternativas de propagación (Vanderlinden E., *et al.*, 2004)

2.9 Cosecha

La floración del rambután no se presenta al mismo en el árbol y la cosecha se realiza de forma escalonada, y en huertos de 200 a 300 árboles, la cosecha se debe hacer tres veces por semana durante el periodo más productivo (Fraire V., 2001).

La cosecha debe realizarse en las primeras horas de la mañana o en las horas frescas de la tarde cuando la temperatura ambiente ha bajado. Las frutas deben cosecharse con tijeras, haciendo uso de escaleras, ayudándose de bolsas de tela o de plástico. Es muy importante en esta operación evitar la caída al suelo y dejar expuestas las frutas al sol. También, en el caso de usar bolsas o sacos de plástico para bajar las frutas, es importante no dejarlas mucho tiempo en ellos para evitar su calentamiento. Luego, los racimos son colocados en canastas plásticas y llevados a los lugares de empaque para la preparación y tratamiento (Ramírez T. y Rafie., 2003).

Durante esta labor, se procura no causar daño a las ramas; si los frutos se separan, conviene dejar el pedúnculo, evitar golpearlos y no exponerlos al sol, es aconsejable separarlos por el grado de madurez y eliminar los frutos dañados o deformes (Fraire V., 2001).

Los frutos de rambután son altamente perecederos se almacenan bajo condiciones normales, lo que hace difícil su comercialización después de tres días de cosechado (Fraire V., 2001).

2.10 Índice de madurez para la cosecha de rambután

El rambután es una fruta no climatérica y no continúa madurando después que se ha cosechado, razón por la cual la fruta debe cosecharse cuando ha alcanzado las óptimas condiciones de calidad comestible y apariencia visual. De otra parte, los consumidores prefieren los rambutanes cuando han alcanzado su óptimo estado de desarrollo y composición química interna. Sin embargo, muchos productores

cosechan las frutas en un estado inmaduro para obtener los precios más altos, por no tener las condiciones apropiadas de almacenamiento o por la influencia de los compradores (Fraire V. 2001).

Los productores generalmente cosechan el rambután en base a la experiencia acumulada por varios años o por la observación directa del estado de madurez de la fruta en el campo. Un parámetro muy importante y que puede ayudar a definir el estado de madurez de la fruta es el conteo del número de días después de la floración. Por ejemplo, en países como Tailandia, la cosecha entre los 90 y 120 días de la floración; en Indonesia, se cosecha entre los 90 y 100 días y en Malasia entre los 100 y 130 días. Sin embargo, el color de la fruta constituye la principal guía, principalmente cuando se tienen diferentes variedades en la misma finca. Normalmente las frutas tienen una aceptable apariencia para el mercado entre los 16 y los 28 días después del inicio del cambio de color (de verde al color definitivo de madurez de la variedad al nivel de la cascara y los espinaretes) (Ramírez T., y A. Rafie, 2003).

La desuniformidad en la madurez de la fruta, en un árbol o en un racimo, constituye un problema al momento de la cosecha porque obliga al productor a realizar varias cosechas, alargando el tiempo de cosecha e incrementando los costos de producción (Ramírez T., y A. Rafie, 2003).

Sin embargo, es bueno considerar que varias cosechas permiten una mejor distribución de la oferta, evitando tener un exceso de fruta en el pico de producción (Ramírez T., y A. Rafie, 2003).

2.11 Conservación de la fruta

Con el propósito de estudiar la mejor forma de conservación de la fruta. Se evaluaron algunos materiales para el empaque y efecto de diferentes temperaturas sobre la calidad de la fruta. La conclusión del estudio indica que las bolsas de polietileno no perforadas mantuvieron a la fruta con mejor apariencia y calidad de consumo después de nueve días de almacenamiento a 15 ° C (Ramírez T., y A. Rafie, 2003).

Las pérdidas de peso de las frutas después de cosechadas, pueden reducirse si los frutos se cubren con cera, si son empacados con aserrín o almacenados en cámaras frías a 10 ° C con 70-95% de humedad relativa y en sacos de polietileno cerrados (Fraire V.; 2001).

Además para una temperatura superior a los 30 °C es preferible usar bolsas perforadas principalmente si los frutos son tratados con Benomyl (100 ppm), antes de ser empacados, de esta forma los frutos se comercializan durante 12 días en bolsas de polietileno cerradas; y 10 días en bolsas perforadas (Fraire V.; 2001).

Las frutas deben empacarse, enfriarse y enviarse al mercado de distinto inmediatamente después de la cosecha para que lleguen a su destino en un buen

estado. Tiempos largos entre la cosecha y el empaque causan pérdidas de agua y disminuyen drásticamente la calidad. Las facilidades de empaque deben arreglarse linealmente e incluir tanques con agua en circulación, esponjas para secado de la fruta y mesas de selección y empaque. Generalmente no se utilizan fungicidas para el tratamiento de las frutas, si no cloro a una concentración de 100 ppm que se mezcla en los empaques de agua (Fraire V., 2001).

Al llegar a la empacadora, los racimos de frutas deben colorarse con cuidado en los tanques con agua y luego, se separan las frutas de los racimos con tijeras, dejando una sección de 1 cm del péndulo para evitar la deshidratación y la entrada de bacterias u hongos en la fruta.

Las frutas pequeñas, de color no uniforme, con signo de daños de insectos, enfermedades o con daños mecánicos deben eliminarse en este punto. Aquí cabe mencionar que es preferible clasificar las frutas por tamaño, antes de colocarlas en el tanque de agua. Por ello, se considera oportuno, tener dos secciones en el tanque: una para las frutas grandes y otra para las frutas pequeñas. Los tanques deben ser rectangulares y largos y de un mínimo de 30 cm de profundidad para que haya un constante flujo de frutas. Se recomienda tanques de fibra de vidrio, los cuales son fáciles de mantener limpios y pueden ser movidos a otros lugares, pero deben tener paredes lisas para no causar daños mecánicos a las frutas. El tanque debe tener, en un extremo, una entrada de agua con presión que permite un movimiento hacia el otro extremo opuesto para que la fruta se mueva lentamente. Generalmente, se considera que la fruta necesita un tiempo de 5 a 10 minutos sumergida en el agua para bajar su temperatura, remover el polvo e insectos. Al llegar al final del tanque, las frutas se remueven y se dejan escurrir en cestas de plástico. Luego se colocan sobre una mesa cubierta con una esponja y un plástico claro. Aquí se recomienda pasarlas bajo una corriente de aire para terminar de secarlas, teniendo el cuidado de no producir un exceso de secado que podría deshidratarlas (Ramírez T., y A. Rafie, 2003).

2.12 Enfriamiento y almacenamiento

Como el rambután es una fruta no climatérica, no se produce un incremento en la respiración y producción de etileno después de la cosecha. El rápido enfriado de la fruta ayuda a prolongar la calidad: las condiciones óptimas de almacenamiento son de 10 a 12 ° C, con 85 a 95% de humedad relativa. El uso de aire forzado por 2 a 3 horas remueve el calor de campo si las cajas son paletizadas verticalmente, con orificios de ventilación compatibles. Después del enfriamiento, las cajas deben colocarse en cuartos fríos de almacenamiento. Si se utilizan cuartos fríos normales para el enfriamiento, las cajas deben colocarse de manera que el aire frío circule por cada caja. Con este método el enfriamiento toma entre 8 a 12 horas. Preferiblemente el rambután cosechado debe enviarse al mercado de destino el

mismo día. El enfriamiento es recomendado si la fruta se queda una noche antes del envío (Ramírez T., y A. Rafie, 2003).

2.13 Transporte

El transporte de la finca o empacadora al aeropuerto debe ser en carros refrigerados, si la fruta ha sido preefriada. En todos los casos la fruta debe de estar protegida del viento, lluvia y sol. Los envíos aéreos son hechos en contenedores y paletas. Es importante mencionar que las frutas antes de ser embarcadas o después de ser descargadas deben colocarse sombra o en cuartos fríos antes de realizar otro movimiento (Ramírez T., y A. Rafie, 2003).

Para el mercado nacional y regional, se recomienda también que las frutas se transporten en camiones refrigerados por las altas temperaturas ambientales de la zona y el sobrecalentamiento dentro de las cajas cerradas de los contenedores, considerando la alta susceptibilidad de las frutas de rambután a ser dañadas por el calor (cambio de color y pérdida de peso) (Ramírez T., y A. Rafie, 2003).

2.14 Condiciones para exportar

Los frutos destinados al mercado internacional son empacados en cajas de cartón, conformadas por un fondo y una tapa. La caja integrada mide 34 kilogramos de fruta por caja. El empaque se realiza de la siguiente forma (Pérez R., y Jürgen., 2004).

1.- Se coloca en el fondo de la caja una tira de papel de china color blanco de 30 cm de ancho por 70 cm de largo, de tal manera que los extremos de la tira de papel salgan a ambos lados de la caja.

2.- Inmediatamente se colocan en forma alineada los frutos, con una previa inspección ocular para evitar algún tipo de basurilla, frutos dañados y deterioros.

3.- Una vez llena la caja se coloca encima de los frutos otra tira de papel de 34 x 30 cm, y sobre esta se coloca un segundo nivel de frutos, de la misma forma que el primer nivel.

Cuando se ha concluido con las dos capas de frutos, se tapa la caja con los extremos de la tira de papel sobrantes y posteriormente se tapa con la tapa de la caja (Pérez R., y Jürgen., 2004).

3 COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales. Originan una de las clases más importantes de metabolitos secundarios en plantas, en su mayoría derivados de la fenilalanina y en menor cantidad de la tirosina (López, 2008). Estos compuestos constituyen un amplio grupo de sustancias, presentes en las plantas con diferentes estructuras químicas y actividades metabólicas. Existen más de 8,000 compuestos fenólicos identificados (Shahidi y Nazk, 1995).

Los compuestos fenólicos están relacionadas con la calidad sensorial de los alimentos de orígenes vegetales, frescos y procesados. Actualmente este grupo de compuestos fotoquímicos es de gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana (Clifford, 1992).

Además los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales en los alimentos, por lo que la obtención y preparación de productos con un alto contenido de estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, pudiendo incluso englobarlos dentro de los llamados alimentos funcionales. Desde un punto de vista nutricional, esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (Barrera *et al.*, 1995; Posada *et al.*, 2003).

El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales, ya sea manteniendo o incrementando su actividad catalítica o reduciéndolos (Decker, 1997).

Se pueden clasificar estructuralmente estos compuestos de acuerdo al Cuadro 6, la mayoría de los cuales se pueden encontrar en las frutas, siendo estos una excelente fuente de polifenoles mayor a las verduras (Macheix *et al.*, 1990), siendo la mejor fuente algunas bebidas como el vino tinto, café y té (Scalbert y Williamson., 2000).

Cuadro 6.- Principales clases de compuestos fenólicos presentes en frutos.

Átomos de carbono	Estructura Básica	Clase	Ejemplo	Fruto (Ejemplo)
7	C ₆ – C ₁	Ácido hidroxibenzoico	p- hidroxibenzóico	Fresa
9	C ₆ – C ₃	Ácido hidroxicinámico Cumarinas	cafeico scopolina	Manzana Cítricos
10	C ₆ – C ₄	Naftoquinonas	Juglona	Nuez
13	C ₆ – C ₁ – C ₆	Xantonas	Mangiferina	Mango
14	C ₆ – C ₂ – C ₆	Estilbenos	Resveratrol	Uva
15	C ₆ – C ₃ – C ₆	Flavonoides Isoflavonoides Ligninas Taninos	quercetina, cianidina daidzeína	Cereza Frijol de soya Frutos con hueso.

Fuente: (Macheix et al. 1990).

Sólo algunos polifenoles se consideran importantes en los alimentos y en la misma alimentación, estos compuestos son el ácido gálico, sináptico, ferúlico, cafeico, p-cumárico, y sus derivados así como los flavonoides y sus glucósidos. Las antocianinas y flavonoles son pigmentos importantes en una gran variedad de frutas y verduras. (Lee, 1992).

Algunos de los efectos de los polifenoles en la calidad de los alimentos son los siguientes (St-Onge, 2005):

1. Causan astringencia indeseable en algunas frutas y deseable astringencia en sidras y vinos.
2. En el desarrollo del color final, sabor y aroma en productos como cocoa, en donde la condensación de los productos de las catequinas juegan un papel importante.
3. La formación de precipitados en jugos de manzana, cervezas y vinos se atribuye a la interacción de proteínas y polímeros fenólicos.
4. El desarrollo de decoloración café debido a la oxidación de sustancias fenólicas mediante enzimas polifenolasas.

La identificación, cuantificación y extracción de los flavonoides ha despertado un gran interés debido a que se ha encontrado que poseen propiedades benéficas para la salud del ser humano, tales como actividades anti cancerígenas, antiinflamatorias, antivirales, antialérgicas, protección contra enfermedades del corazón y propiedades antioxidantes ya que retardan los cambios oxidativos en los alimentos, mejorando así la calidad y el valor nutricional de estos. Todos estos efectos en la salud atraen la atención de incorporar éstos compuestos a los productos alimenticios. (Maeda Y amamoto *et al.*, 1999).

3.1 Compuestos bioactivos en alimentos vegetales

En el reino vegetal podemos distinguir cuatro grandes grupos de compuestos fitoquímicos: sustancias fenólicas, sustancias terpénicas, sustancias azufradas y sustancias nitrogenadas (alcaloides). De estos cuatro grupos, son los tres primeros los que tienen mayor importancia como constituyentes de las frutas y hortalizas y los alimentos derivados con relevancia en la alimentación humana y los polifenoles son los que se encuentran de forma general en todos los alimentos de origen vegetal. Los compuestos nitrogenados suelen ser biológicamente muy activos, pudiendo dar lugar a problemas de toxicidad aun en cantidades muy bajas. Por esta razón, en general, los programas de mejora y selección de vegetales se han dirigido a tratar de reducir el contenido en estos compuestos potencialmente tóxicos (es, por ejemplo, el caso del alcaloide solanina presente en la patata).

Las sustancias fenólicas o polifenoles constituyen un grupo muy numeroso de sustancias que incluyen familias de compuestos con estructuras diversas, desde

algunas relativamente simples, como los derivados de ácidos fenólicos, hasta moléculas poliméricas de relativamente elevada masa molecular, como los taninos hidrolizables y condensados. Los polifenoles pueden ser divididos en varios subgrupos atendiendo a su estructura básica. Los flavonoides, con estructura básica C6-C3-C6, incluyen a las antocianinas, los flavonoles y flavonas, las flavanonas, chalconas y dihidrochalconas, las isoflavonas y los flavan-3-oles. Otro subgrupo importante es el de los fenil propanoides que incluye los derivados de ácidos hidroxicinámicos (cafeico, ferúlico, sinápico, p-cumárico). También tienen importancia los estilbenoides (resveratrol) y los derivados del benzoico (ácido gálico y elágico, etc.). Sólo de flavonoides y se conocen más de 5,000 compuestos diferentes en la naturaleza. Muchos compuestos fenólicos son en parte responsables de las propiedades organolépticas de los alimentos de origen vegetal y por tanto tienen importancia en la calidad de los mismos. Así, entre éstos hay pigmentos como las antocianinas, responsables de los tonos rojos, azules y violáceos característicos de muchas frutas (fresas, ciruelas, uvas, etc.), hortalizas (berenjena, lombarda, rábano, etc.) y del vino tinto, o los flavonoles, de tonalidad crema-amarillenta, que están presentes principalmente en las partes externas de frutas y hortalizas. Hay polifenoles que tienen sabor amargo, como determinadas flavanonas de los cítricos (naringina de los pomelos, neohesperidina de las naranjas amargas) o la oleuropeína en aceitunas. Las proantocianidinas (taninos condensados) y los taninos hidrolizables confieren astringencia a los frutos y algunos fenoles sencillos, tienen importancia en el aroma de determinadas frutas, como el eugenol en los plátanos. Los derivados de ácidos hidroxicinámicos, están presentes en frutas, hortalizas y alimentos derivados, y en algunos casos constituyen los polifenoles mayoritarios; aunque no tienen un impacto directo sobre las características organolépticas de los alimentos que los contienen, indirectamente pueden afectar de modo negativo a la calidad si son oxidados por las enzimas oxidativas que se encuentran naturalmente en los tejidos vegetales, y dan lugar a la formación de polímeros pardos que imparten al producto un aspecto no siempre deseable (Tomás y Espín 2000).

Desde el punto de vista de su actividad biológica muchos polifenoles tienen propiedades captadoras de radicales libres, lo que les confiere actividad antioxidante, que podría estar relacionada con la prevención de enfermedades cardiovasculares y de algunos de cáncer. Existen también sustancias con actividad estrogénica (fitoestrógenos), como las isoflavonas, los lignanos y el estilbeno resveratrol, mientras que otros, como los taninos, son capaces de fijar metales y proteínas, lo que afecta a la biodisponibilidad de éstos y puede estar en el origen de algunos efectos inespecíficos (por ejemplo, antimicrobianos), o prevención de enfermedades neurodegenerativas (Tomás y Espín 2000).

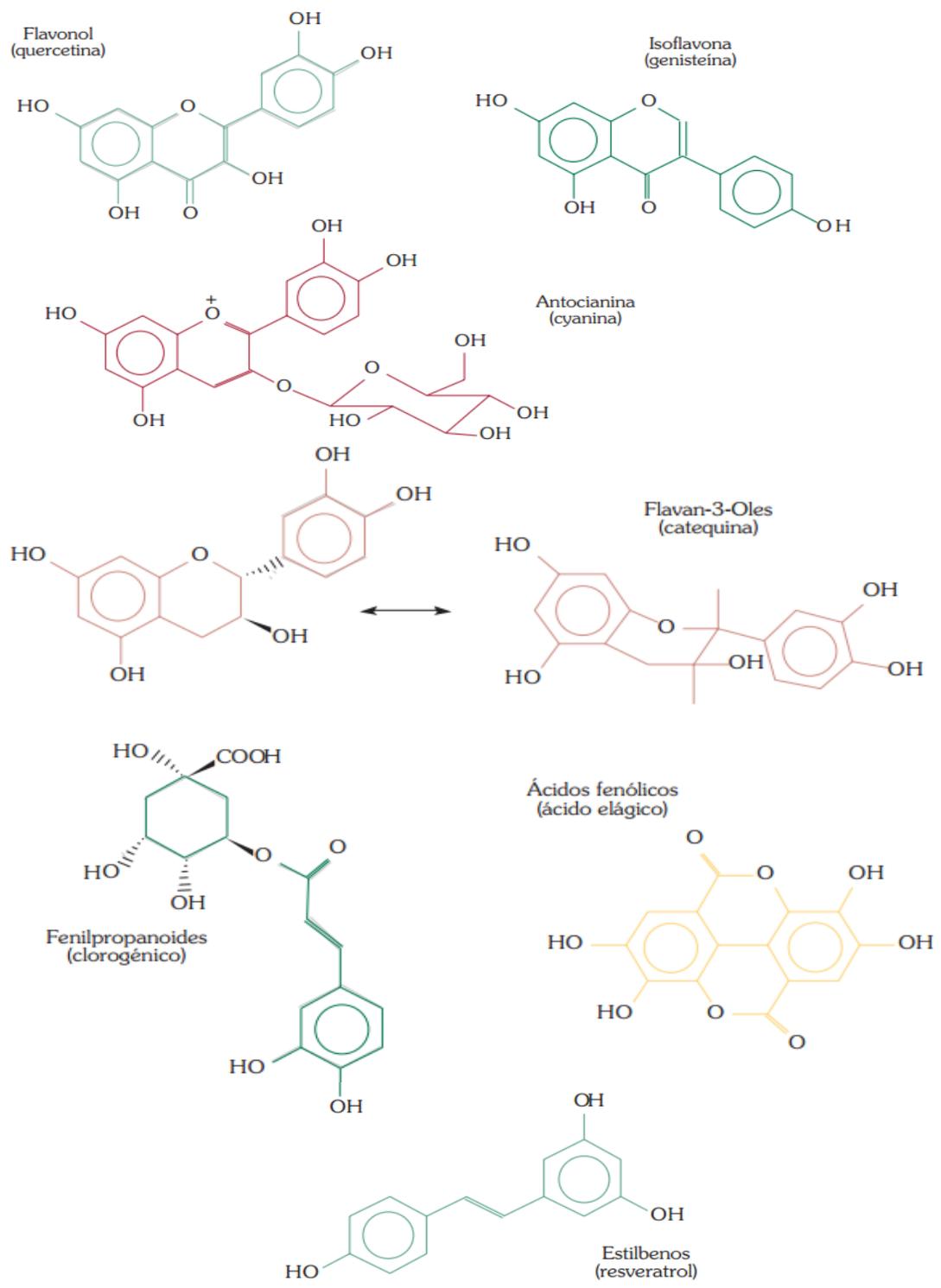


Figura 3.-Principales grupos de polifenoles de alimentos.

(Tomás y Espín 2000).

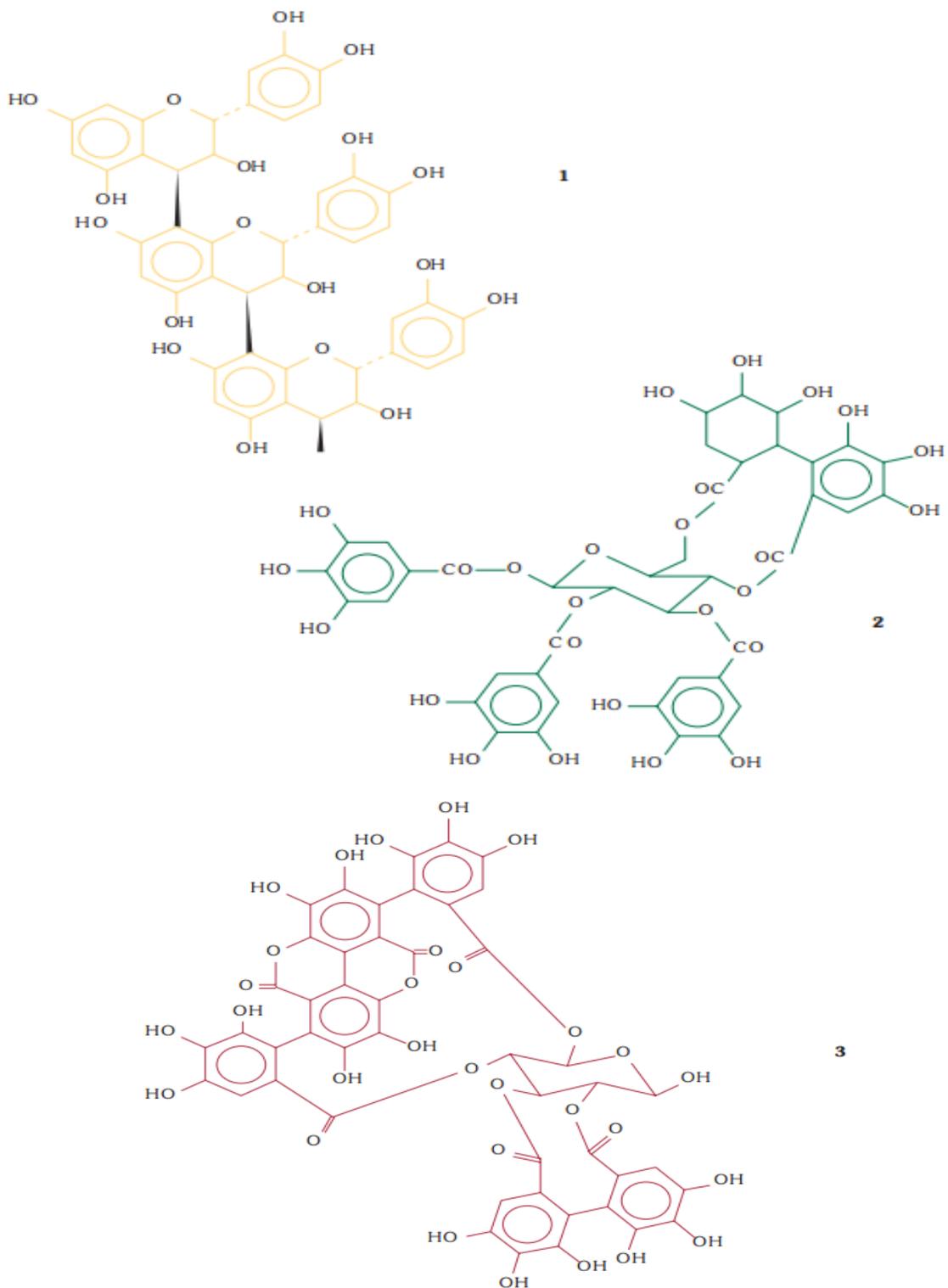


Figura 4.-Estructuras de polifenoles poliméricos. 1. Procianidinas (taninos condensados). 2. Elagitaninos. 3. Punicalagina, un elagitanino de la granada (Tomás y Espín 2000).

3.2 Estructura química y clasificación

Los tres grupos más importantes en los que se dividen los compuesto fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles. Químicamente los fenoles y polifenoles pueden ser definidos como sustancias que poseen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, incluyendo a sus derivados funcionales.

Las plantas y alimentos contienen una amplia variedad de derivados fenólicos incluyendo fenoles simples, fenilpropanoides, derivados del ácido benzoico, flavonoides, estilbenos, taninos, lignanos y ligninas; además los fenoles unidos a una cadenas larga de ácidos carboxílicos son componentes de la suberina y de la cutina; estas sustancias son esenciales para el crecimiento y la reproducción de plantas. Dentro de otras propiedades que se les confiere a los fenoles son la función de antibióticos, uso como pesticidas naturales, agentes protectores de los rayos UV y aislados con las paredes celulares (Shahidi, F. y Naczki, M. 1995).

Lo anterior ha generado el interés de estudiar y cuantificar los compuestos y la generación de metabolitos a partir de los grupos fenólicos, midiendo su capacidad antioxidante entre otras propiedades (Gil *et al.*, 2002).

3.3 Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos fenilacéticos

Los fenoles simples como el fenol, cresol, timol y resorcinol están ampliamente distribuidos entre todas las especies vegetales. Igualmente, los ácidos fenólicos como el gálico, vainillínico, p-hidroxibenzoico, y los aldehídos como la vainillina, también son abundantes en plantas superiores y helechos. Por el contrario, existe poca información en la literatura científica sobre los ácidos fenilacéticos en los vegetales

Los ácidos fenólicos presentan generalmente actividad antioxidante en frutas, verduras y otras plantas (Zheng y Wang, 2001). En el cuadro 7, se muestran algunos alimentos, con sus respectivos radicales.

Cuadro 7. Radicales de algunos ácidos fenólicos

Ácido	Nombre científico	Radical 1	Radical 2	Radical 3
p-Hidroxibenzoico	4-Hidroxibenzoico	H	OH	H
Protocatecoico	3,4-Dihidroxibenzoico	OH	OH	H
Vainillínico	4-Hidroxí-3-Metoxibenzoico	OCH ₃	OH	H
Siríngico	3,5-Dimetoxibenzoico	OCH ₃	OH	OCH ₃
Gálico	3,4,5-Trihidroxibenzoico	OH	OH	OH

Shahidi y Naczki (2004)

3.4 Ácidos cinámicos, cumarinas e isocumarinas

Los ácidos cinámicos (cafeico, ferúlico, p-cumárico y sináptico) se encuentran raramente libres, ya que por regla general, se hallan presentes en forma de

derivados. Así por ejemplo, el ácido cafeico se encuentra esterificado con el ácido quínico como ácido clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico. Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósidos, mientras que los cromonoles son menos conocidos y se forman a partir de las antocianidinas entre el incremento del pH del medio (Martínez *et al.*, 2000).

3.5 Lignanos y neolignanos

Los lignanos, otra subclase de polifenoles biológicamente activos, tienen un puente de cuatro carbonos y dan origen a muchas y diferentes estructuras químicas presentes en la naturaleza (Sarria, 2005).

Estos son metabolitos de plantas de bajo peso molecular formados por el acoplamiento oxidativo de unidades de hidroxifenilpropano, las cuales se unen mediante puentes de hidrógeno. Los lignanos constituyen monómeros y dímeros del ácido hidroxicinámico y también del alcohol cinámico, propenilbenceno y alibenceno. El término lignano se aplica cuando el compuesto está formado a partir de uniones entre ácido y/o el alcohol, mientras que cuando se unen las moléculas de propenilbenceno y/o alibenceno la molécula resultante se denomina neolignano (Martínez *et al.*, 2000).

3.6 Taninos

Muchos flavonoides de los alimentos se polimerizan en las propias plantas o como resultado del procesamiento de los alimentos. Estos polímeros se conocen como taninos, los cuales son responsables de precipitar algunas proteínas y alcaloides para convertir la piel del animal en cuero (Sarria, 2005).

Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular comprendido entre 500 a 300 Da (Daltons, unidad de masa atómica). Estos compuestos contienen un número importante de grupos hidroxilos entre otros grupos funcionales, siendo capaces de unirse a proteínas y otras macromoléculas (Martínez *et al.*, 2000).

Los taninos se clasifican en dos grupos hidrolizables y no hidrolizables o condensados, estos últimos tienen como núcleo central a un glucósido (un alcohol polihídrico como la glucosa) y grupos hidroxilo que se encuentran esterificados parcial o completamente ya sea con el ácido gálico o el ácido hexahidroxi-difénico, formando los galotaninos y elagitaninos respectivamente (Chung *et al.*, 1998). Los taninos condensados también llamados proantocianidinas constan de unidades monoméricas de flavonos ligados por medio de carbono-carbono y uniones éter. Se han identificado quince clases de proantocianidinas (catecina y sus polímeros), prodelphinidinas (galocatecina y sus derivados) y propelargonidinas (afselecina y sus polímeros) o sus mezclas. En estos taninos, las unidades monoméricas están primariamente unidas por medio de uniones 4 → 6 o 4 → 8 carbono-carbono

(unión β), o por medio de las uniones 4 \rightarrow 8 carbono-carbono y 2 \rightarrow 7 uniones aisladas en plantas no alimenticias o constituyendo compuestos menores en algunos alimentos. Los taninos pueden variar desde dímeros hasta grandes polímeros. Se encuentran en una amplia variedad de alimentos como manzanas, bayas, chocolate, vinos rojos, frutos secos y otros (Sarría, 2005).

Una segunda clase de taninos presentes en alimentos son los derivados que se forman principalmente bajo condiciones enzimáticas oxidativas y atmosféricas o durante el procesamiento de los alimentos, como por ejemplo lo que se encuentran en vinos rojos, té y café. A causa de la complejidad de los compuestos, ha sido difícil utilizar una estricta denominación química y con frecuencia se les han asignado nombres populares (Clifford, 1992). De los té oolong y negro se derivan las teoflavinas y derivados del flavanol. La característica de las teoflavinas es un anillo de siete miembros.

Otra clase de taninos en los alimentos, constan de ácido gálico o ácido elágico, al que esterifica un poliol no aromático, como el azúcar o el ácido quínico. En esta clase de taninos, también pueden producirse otras uniones (C-C o C-O-C), para formar dímeros y complejos superiores, que tienen varios grados de resistencia a la fractura química. Se ha demostrado el efecto de la mejora en las características sensoriales de los vinos, derivado de la acción de los taninos hidrolizables (Sarría, 2005).

3.7 Flavonoides

En la Figura 5 se presentan algunos compuestos bioactivos de tipo flavonoides presentes en alimentos, también denominados fitonutrientes. Son una subclase de los polifenoles que se caracterizan por poseer estructuras C6-C3-C6 y dos o más anillos aromáticos, y por tener cada uno, al menos un hidroxilo aromático y conectar con un puente de carbono. Para los flavonoides, este puente consta de tres carbonos que se combinan con un oxígeno y dos carbonos de uno de los anillos aromáticos (anillo A) para formar un tercer anillo de 6-miembros (anillo C).

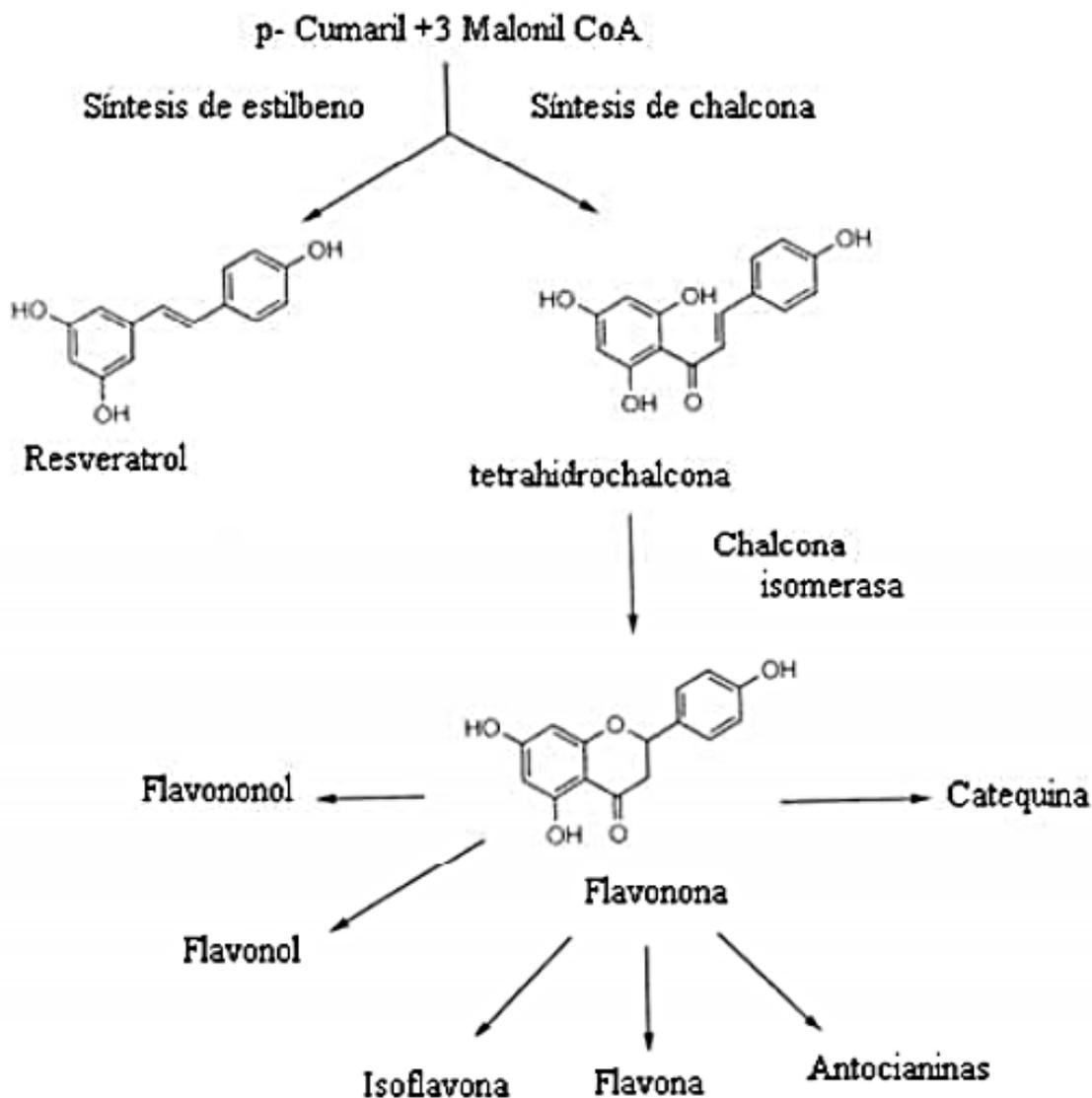


Figura 5.- Producción de flavonoides y estilbenos a partir de fenilpropanoides. Adoptado de Shahidi y Naczk (2004).

Existen también dímeros de flavonoides, denominados diflavonoides (Sarria, 2005). En general los flavonoides que contienen múltiples grupos hidroxilo tienen mayor actividad antioxidante que los ácidos fenólicos contra los radicales libres peróxidos. Sin embargo el flavonoide glicosidasa posee una baja capacidad antioxidante (Zheng y Wang, 2001).

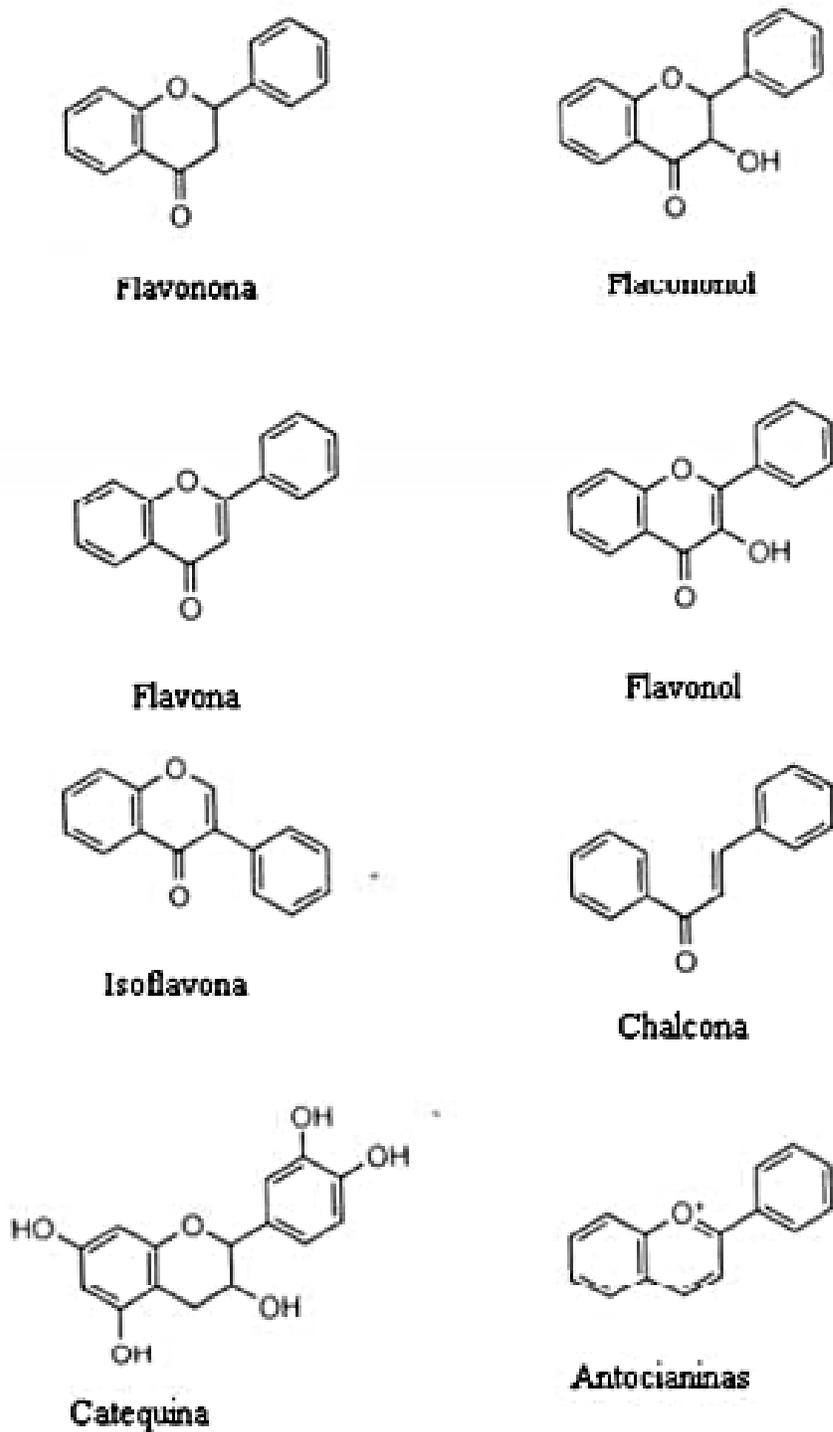


Figura 6.- Estructuras químicas de diversos compuestos C6-C3-C6 encontrados en alimentos y nutraceuticos.

Adaptado de Shahidi y Naczk (2004).

En el cuadro 8 se presenta el contenido en flavonoides y taninos de algunos alimentos. En general estos datos muestran que una porción de frutas de manzanas o arándanos, de chocolate negro y de vino rojo tienen un contenido, de moderado alto, en flavonoides y/o taninos (Sarría, 2005).

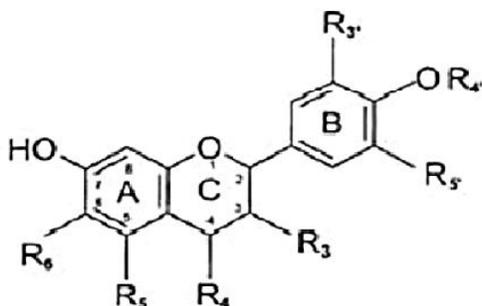


Figura 7.- Estructura general y numeración de los flavonoides de alimentos. Adaptada de Shahidi y Naczk (2004).

Cuadro 8. Flavonoides y taninos contenidos en algunos alimentos

Alimento	Proantocianidinas	Antocianidinas	Flavan-3-oles	Flavonoles	Flavanonas	Tearubiginas
Árandano	131	82	1	3	-	-
Brócoli Crudo	-	-	0	3	-	-
Chocolate negro	165	-	24	-	-	-
Manzana con piel	147	-	13	6	-	-
Naranja, zumo	-	-	-	>1	28	-
Té negro, infusión	-	-	6	10	-	116
Té verde, infusión	-	-	304	12	-	3
Vino blanco	2 a 3	-	3 a 12	-	-	-
Vino rojo	77 a 103	9 a 405	10 a 20	10	-	-

Adoptado de Serría (2005)

3.8 Papel en enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares

Durante los últimos 25-30 años, se han llevado a cabo diferentes estudios epidemiológicos en diferentes países en un intento de evaluar el efecto de los hábitos dietéticos en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Estos estudios han examinado la dieta de individuos en la década de los sesenta y han registrado la mortalidad por infarto de miocardio durante los 25 años siguientes. En uno de estos estudios, utilizando técnicas analíticas modernas, se ha evaluado el promedio de la ingesta de flavonoides y otras sustancias fenólicas en 16 grupos que participaban en el conocido como Estudio de los Siete Países.

En un estudio reciente se ha confirmado que las personas con mayor ingesta de quercetina (un flavonol muy abundante en cebollas, pero también presente en manzanas, té, vino y muchas otras frutas y hortalizas) tienen menor tasa de mortalidad por infarto de miocardio, y la incidencia de enfermedades cerebrovasculares fue menor en aquellas personas con un mayor consumo de kaempferol (abundante en brócoli y en muchas frutas y hortalizas), naringenina y hesperetina (muy abundantes en cítricos) (Knekt *et al.*, 2002).

Otros estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto una relación directa entre el consumo de té y las enfermedades cardiovasculares. En estos casos también se ha considerado que los efectos antioxidantes de los flavonoides del té, que incluyen la prevención del daño oxidativo del LDL, están entre los mecanismos potenciales que pueden estar detrás de este efecto protector (Kris-Etherton y Keen 2002). Otros posibles mecanismos que se han sugerido para estos efectos beneficiosos incluyen la atenuación de los procesos inflamatorios en la aterosclerosis, una reducción de la trombosis, la promoción de una función normal del endotelio, y un bloqueo de la expresión de las moléculas que controlan la adhesión celular. Los flavonoides del chocolate y del té (flavan-3-oles) también tienen un efecto antioxidante *in vitro* e *in vivo* aumentando la capacidad antioxidante del plasma y la reactividad de las plaquetas. Los datos disponibles parecen indicar que 150 mg de estos flavonoides (cantidad presente en una taza de té de 235 mL hervida durante 2 min) son suficientes para producir un rápido efecto antioxidante en el plasma y cambios en la prostaciclina *in vivo* (Kris-Etherton y Keen 2002).

Sin embargo, las evidencias sobre el papel de los flavonoides en la prevención de enfermedades cardiovasculares es todavía motivo de conflicto. En un estudio reciente se ha estudiado la asociación entre la ingesta de flavonoides del té y la incidencia de infarto de miocardio en la población holandesa. Los resultados han indicado que la ingesta de flavonoles (quercetina + kaempferol + miricetina) está inversamente asociada con el infarto de miocardio fatal, sólo cuando se comparan los de mayor ingesta con los de menor ingesta. En este estudio se concluye que una mayor ingesta de flavonoides puede contribuir a la prevención primaria de las enfermedades cardíacas isquémicas (Geleijnse *et al.*, 2002).

3.9 Papel en el cáncer

Los mecanismos a través de los que las sustancias fitoquímicas de los alimentos ejercerían su actividad anticarcinógena y preventiva de enfermedades no están aun definitivamente establecidos en la mayoría de los casos. En estudios de laboratorio o con animales experimentación se han puesto de manifiesto efectos y actividades biológicas muy variadas, como cabe esperar para un grupo tan amplio y diverso de estructuras químicas. Así, hay sustancias que poseen propiedades antioxidantes y neutralizadoras de radicales libres, otras que influyen sobre los procesos de diferenciación celular, aumentan la actividad de enzimas relacionados

con la detoxificación de carcinógenos (enzimas de Fase II), bloquean la formación de nitrosaminas cancerígenas, actúan sobre el metabolismo de los estrógenos, modifican el medio colónico (flora bacteriana, composición de ácidos biliares, pH, volumen fecal), preservan la integridad de las células, ayudan a mantener los mecanismos de reparación del ADN, aumentan la apoptosis (muerte controlada) de las células cancerígenas o disminuyen la proliferación celular (CEBAS 2003).

3.10 Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos.

A lo largo de los años, algunos beneficios han sido atribuidos a los compuestos fenólicos, y un gran número de estudios han sugerido que el consumo de frutas y verduras pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y de cáncer, potencialmente a través de la actividad biológica de los compuestos fenólicos así como de las vitaminas como antioxidantes (Proteggente *et al.* 2003). Por lo que los polifenoles pueden prevenir a la oxidación lipídica, la mutación del DNA y el daño del tejido (Figura 8).

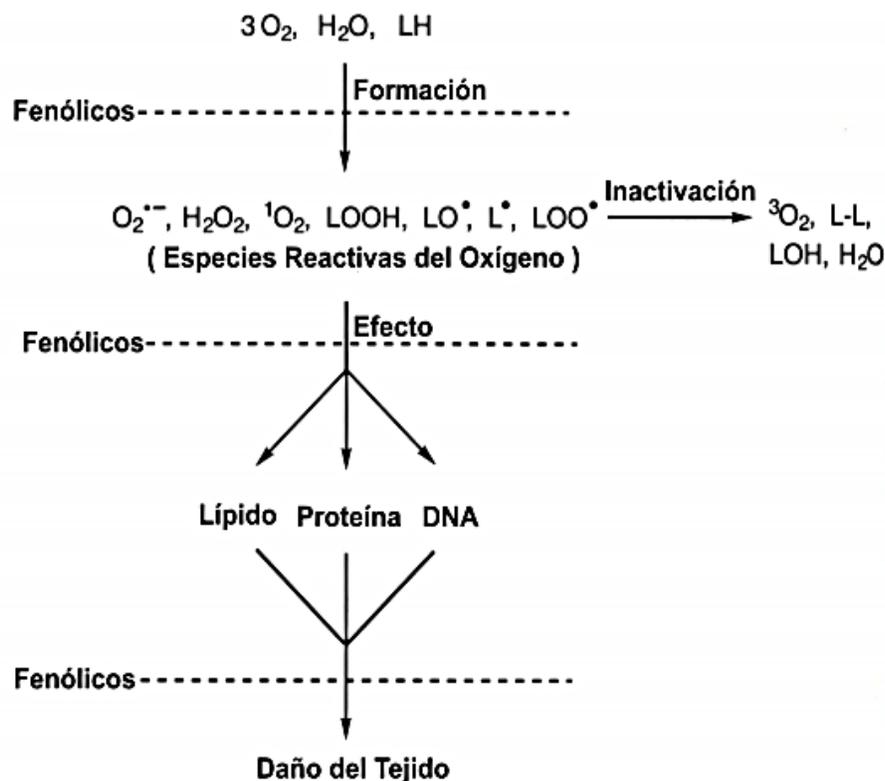


Figura 8.- Consecuencias de las ERO en enfermedades y el papel preventivo de los polifenoles

Fuente; Shahidi y Naczk, 2004.

Un antioxidante es un compuesto químico que hallándose presente a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato. Igualmente se definen como compuestos que protegen el sistema celular de efectos potencialmente perjudiciales en los procesos que puedan causar una oxidación excesiva (Posada *et al.*, 2003).

Se producen reacciones de oxidación cuando un átomo o grupos de átomos ceden electrones, y para cada oxidación existe la correspondiente reducción que conlleva la adición de electrones. La actividad antioxidante es aquella que permite neutralizar los átomos de oxígeno. El átomo de oxígeno en estado libre tiene 4 pares de electrones y se torna inestable cuando pierde un electrón. El radical libre es un átomo de oxígeno con 7 electrones, que al quedar libre toma un electrón de la membrana de un tejido corporal y produce otro radical libre. Esto resulta en una cascada de oxidaciones en todos los tejidos corporales (Imeh y Khokhar, 2002).

Los compuestos antioxidantes poseen la facultad de proteger a las células contra el daño oxidativo, el cual provoca envejecimiento y enfermedades degenerativas, tales como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y diabetes.

En el organismo existen sistemas biológicamente activos conocidos como antioxidantes que actúan para proteger y contribuir al equilibrio fisiológico garantizando la vida. Los estudios epidemiológicos, experimentales y clínicos han demostrado que los antioxidantes proveen una eficiencia biológica en la prevención y en la disminución de los efectos negativos de las enfermedades producidas por el estrés oxidativo (Posada *et al.*, 2003).

Los antioxidantes deben estar presentes en el organismo en una concentración suficiente que permita prevenir la acumulación de elementos prooxidantes, estado conocido como estrés oxidativo. El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil no tóxico, que en algunos casos como el de la vitamina E, puede regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes (Posada *et al.*, 2003).

Un radical libre es una molécula que en su estructura atómica presenta un electrón no apareado, altamente reactivo y que genera una reacción REDOX. Los radicales libres son altamente inestables y generan reacciones en cadena. (Cano y Arnao, 2004).

Algunos ejemplos de tipos de radicales libres son los siguientes:

- ✓ Óxido nítrico (NO•)
- ✓ Superóxido (O₂•-)
- ✓ Hidroxilo (HO•)
- ✓ Peroxihidrido (HOO•)
- ✓ Peroxilo (RO•)
- ✓ Peróxido de hidrógeno (genera HO•)

Las reacciones de oxidación que causan estos radicales libres, son una de las causas de enfermedades crónicas degenerativas. Algunas enfermedades asociadas a los radicales libres son: arterioesclerosis, diabetes mellitus, envejecimiento, cáncer, enfermedades respiratorias, hepatopatías, artritis, enfermedades inflamatorias crónicas del intestino, entre muchas otras más (Fennema, 1985; Abeysinghe *et al.*, 2006).

Un antioxidante es una sustancia que tiene las siguientes características:

- Hallándose presente a bajas concentraciones respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato.
- Previene la formación de radicales libres en cantidades perjudiciales para el organismo.
- Estimula los mecanismos de reparación endógena al daño causado por el ataque de radicales libres.
- Suministra entidades químicas que aumentan la capacidad endógena de secuestro de radicales libres.

Los cambios en la oxidación de los alimentos son los responsables de la pérdida del sabor debido a la formación de compuestos que reducen la calidad sensorial y nutricional de éstos (Middleton y Kandaswami 1994; Matthaus, 2002).

Para evitar estos cambios, en la industria de alimentos, normalmente se utilizan antioxidantes sintéticos, tales como el butil hidroxianisol (BHA), y butil hidroxitolueno (BHT), que han sido muy utilizados en los alimentos para prevenir la oxidación, sin embargo, el uso de éstos antioxidantes está siendo limitado debido a que se ha encontrado que son tóxicos y que tienen efectos cancerígenos en el ser humano. Por esta razón, los antioxidantes naturales han despertado gran interés, ya que pueden remover o atrapar los radicales libres. Los antioxidantes naturales como los flavonoides, taninos, cumarinas, fenoles y terpenoides, se encuentran en diversas frutas, vegetales, hojas, semillas y aceites (Pereira y Mancini, 1994, Bur low, 1990).

Para poder comprender mejor la actividad fisiológica de los fenólicos, se debe tener en cuenta que la capacidad antioxidante varía en función del grupo de compuestos estudiados y de su solubilidad en fase acuosa o lipídica. Asimismo, la gran diversidad de métodos empleados proporciona diferentes resultados difíciles de comparar. Para solventar este problema en la mayoría de los estudios científicos en los que se valora la actividad antioxidante, ya sea de compuestos puros o de extractos vegetales, se utiliza el Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7 S-tetrametilcroman-2-carboxilo), como patrón, sustancia que se caracteriza por ser un análogo hidrosoluble de la vitamina E (Owen *et al.*, 2000). Todas las clases de fenoles han demostrado ser antioxidantes potentes, como se muestra en el aceite de oliva, relacionándolo con la actividad anti cancerígena (Owen *et al.*, 2000).

A los compuestos fenólicos se les ha atribuido actividades farmacológicas y médicas relacionadas con la prevención y/o mejora del estado de salud, destacando sus efectos vasodilatadores, anticarcinogénicos, antiinflamatorios, bactericidas, estimuladores de la respuesta inmune, antialérgicos, antivirales, efectos estrogénicos e inhibidores de la fosfolipasa A2, de la ciclooxigenasa, lipoxigenasa, glutatión reductasa y xantina oxidasa (Jiang y Dusting 2003).

Estudios epidemiológicos han demostrado que la dieta que incluye compuestos fenólicos provenientes de plantas reduce el riesgo de enfermedades coronarias del corazón. La actividad antioxidante e hipolipidémica de estos compuestos tienen importantes funciones en la prevención de la oxidación lipoproteica y en lesiones arterioscleróticas. Los compuestos fenólicos tienen efectos antiinflamatorios incluyendo la inhibición del proceso de adición de la molécula citosina y quemoquina y supresión suave de la actividad muscular entre otros efectos pro-inflamatorios. Sin embargo la evidencia terapéutica de los beneficios de estos compuestos es aun dispersa (Jiang y Dusting 2003).

Los alimentos de origen vegetal, poseen una gran diversidad de compuestos fenólicos, que pueden significar una fuente natural de antioxidantes como los flavonoides, otros como las antocianinas que mejoran las características sensoriales de color en los alimentos procesados y los taninos que contribuyen a mejorar los padecimientos de origen cardiovascular. La importancia de consumir estos productos como parte de la dieta, beneficiara a la población debido a los antioxidantes que poseen los grupos fenólicos. Con base a lo anteriormente expuesto, es importante continuar con las investigaciones relacionadas con aspectos químicos, estudios sobre la biodisponibilidad y los efectos *in vivo* de los diferentes compuestos fenólicos presentes en la gran diversidad de alimentos endémicos de México.

3.11 Medición de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante no puede ser medida directamente, pero puede determinarse por los efectos del compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlado. Según Clarkson, (1995), la medición de una muestra oxidante, pueden usarse intermediarios o productos finales para valorar la actividad antioxidante.

La actividad antioxidante de una muestra no puede ser determinada basándose solo en un ensayo de prueba. En la práctica se realizan muchos modelos de test *in vitro* (cuadro 9) para evaluar la actividad antioxidante de la muestra de interés; sin embargo, es necesario considerar que los modelos presenten diferentes variaciones puede dificultar un poco la comparación de los resultados entre un método y otro.

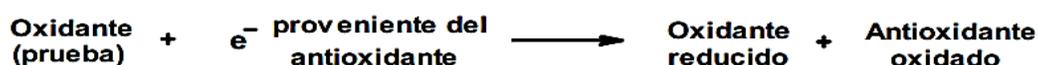
Con base a las reacciones químicas, la gran mayoría de los ensayos para determinar de capacidad antioxidante pueden ser divididos en dos categorías: (1) Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y (2) Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrones (ET) (Huang *et al.*, 2005).

Cuadro 9. Clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción ET o HAT

ENSAYO	CATEGORIA
Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS ^{•+})	Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)
1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH [•])	
Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP)	
N,N- dimetil- <i>p</i> -fenilendiamina (DMPD)	
Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)	
Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC)	Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)
Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP)	
Inhibición de la oxidación del ácido linoleico	
Inhibición de la oxidación de los lipido de baja densidad (LDL)	

Los ensayos basados en la transferencia de electrones (ET) involucran una reacción redox con el oxidante como un indicador del punto final de reacción. La mayoría de los ensayos basados en HAT monitorean una reacción cinética competitiva, generalmente están compuestos de un generador de radical libre sintético, una prueba molecular oxidable y un antioxidante. Los ensayos basados en HAT y ET fueron desarrollados para medir la capacidad de atrapar radicales libres, en lugar de la capacidad preventiva antioxidante de una muestra (Huang *et al.*, 2005). En la figura 9 se muestran las reacciones específicas para los ensayos basados en la transferencia de electrones y en la transferencia de átomos de hidrógeno.

Ensayos ET



Ensayos HAT

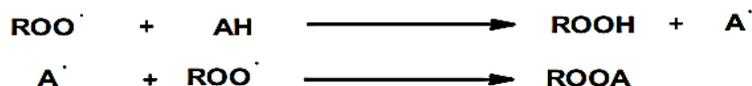


Figura 9.- Mecanismos de reacción por transferencia de electrones y transferencia de átomos de hidrógeno (Huang *et al.*, 2005)

3.12 Contenido de fenoles totales por el reactivo de Folin-Ciocalteu (F-C)

El ensayo de Folin-Ciocalteu (F-C) es un método comúnmente utilizado en el área de agroquímica e industrias alimenticias, por su simplicidad, por la disponibilidad comercial del reactivo y por ser un procedimiento ya estandarizado (Singleton *et al.*, 1999). Inicialmente, fue aplicado al análisis de proteínas tomando como ventaja la actividad del reactivo frente al residuo de proteína, tirosina (que contiene un grupo fenol). Muchos años después este ensayo se extendió al análisis de fenoles totales en vino y desde entonces se le ha encontrado muchas aplicaciones.

El reactivo de F-C utiliza un mecanismo de reacción de oxidación/reducción, que no es específico para fenoles. De hecho, el ensayo de F-C mide la capacidad para reducir el reactivo de ácido fosfomolibdico/fosfotungstico a un complejo azul que es monitoreado espectrofotométricamente, donde el molibdeno es reducido en el complejo y se da la reacción de transferencia de electrones entre el Mo(IV) y el reductor como se muestra en la figura 10 (Huang *et al.*, 2005). El método implica la oxidación de fenoles en solución alcalina por el heteropolianión molibdotungstofosfórico amarillo y la medición colorimétrica del molibdotungstofosfato azul resultante. Este complejo azul tiene su máxima absorción dependiendo de su composición fenólica, además del pH de las soluciones implicadas (Cicco *et al.*, 2009).



Figura 10.- Reacción de transferencia de electrones con el reactivo de FolinCiocalteu (huang *et al.*, 2005).

En el ensayo F-C original, se usa el buffer de carbonato para ajustar el pH y el punto final de reacción se alcanza a los 120 min aproximadamente a temperatura ambiente. Aunque es un tiempo demasiado extenso y dificulta la implementación de un análisis de rutina, aún es utilizado por algunos investigadores. En diferentes trabajos se ha variado concentración del reactivo, alcalinidad y temperatura, buscando una reducción significativa del tiempo necesario para llegar a un estado estacionario. Magalhães *et al.*, (2010) adaptó el método, en el cual se varia la alcalinidad, al reemplazar el buffer de carbonato por una solución de hidróxido de sodio logrando disminuir el tiempo de reacción a 4 min y conseguir resultados altamente confiables. Al final se debe tener muy presente la concentración alcohólica en la mezcla, puesto que

según Singleton *et al.*, (1999) el incluir solventes diferentes al agua en las muestras, algunas veces puede interferir la formación de la solución azul.

4 DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

4.1 Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

En la detección de flavonoides por HPLC analítico generalmente se utilizan sistemas de elución binarios, con un solvente polar acuoso acidificado con: ácido acético, ácido fórmico, ácido fosfórico, ácido perclórico y un solvente orgánico menos polar como metanol y/o acetonitrilo posiblemente acidulado (Merken *et al.*, 2000) variando las condiciones según el tipo de flavonoide y en su gran mayoría las corridas se hacen con una columna de ODS (RP-18 o C₁₈).

En gran parte su detección está basada en la absorción UV-Vis y una sola longitud de onda no es ideal para todas las clases de flavonoides, puesto que estos muestran máximos de absorción a diferentes longitudes de onda. Es muy común el uso de un detector de arreglo de diodos DAD (el cual permite la cuantificación simultánea a diferentes longitudes de onda) (Matilla *et al.*, 2000).

4.2 Extracción de compuestos (sólido-líquido)

Muchas sustancias biológicas, así como compuestos inorgánicos y orgánicos, se encuentran como mezclas de diferentes componentes en un sólido. Para separar el soluto deseado, o eliminar un soluto indeseable de la fase sólida, ésta se pone en contacto con una fase líquida. Ambas fases entran en contacto íntimo y el soluto o los solutos se difunden desde el sólido a la fase líquida, lo que permite una separación de los componentes originales del sólido. Este proceso se llama lixiviación líquido-sólido, o simplemente, lixiviación. La operación unitaria se puede considerar como una extracción. Cuando la lixiviación tiene por objeto eliminar con agua un componente indeseable de un sólido, el proceso recibe el nombre de lavado. En la industria de procesos biológicos y alimenticios, muchos productos se separan de su estructura natural original por medio de una lixiviación líquido-sólido (Geankoplis, 1998).

En la lixiviación de materiales solubles del interior de una partícula por acción de un disolvente, el proceso general consiste en los siguientes pasos: el disolvente se transfiere del volumen de solución a la superficie del sólido. Después, dicho solvente penetra o se difunde en el sólido. El soluto se disuelve en el disolvente. Entonces, el soluto se difunde a través de la mezcla de sólido y disolvente hasta la superficie de la partícula. Finalmente, el soluto se transfiere a la solución general. Los numerosos fenómenos que se presentan en este proceso hacen poco práctico y casi imposible aplicar una teoría definida a la acción de lixiviación. En general,

la velocidad de transferencia del disolvente de la solución genera la superficie del sólido es bastante rápida y la velocidad hacia el interior del sólido puede ser rápida o lenta. (Geankoplis, 1998).

La velocidad de difusión del soluto a través del sólido y la del disolvente hasta la superficie del sólido, suelen ser la resistencia que controla el proceso global de lixiviación y dependen de diversos factores, tales como el tamaño de partícula del sólido, la concentración del disolvente, la temperatura del medio, el tiempo de contacto, el número de extracciones, la proporción sólido-disolvente, entre otros.

La extracción sólido-líquido tiene gran importancia en un gran número de procesos industriales. En metalurgia, en la industria farmacéutica y en la industria alimenticia. Muchos productos orgánicos naturales se separan de sus estructuras originales mediante lixiviación. Por ejemplo el azúcar se separa por lixiviación de la remolacha con agua caliente; los aceites vegetales se recuperan a partir de semillas, como las de soya y algodón mediante lixiviación con disolventes orgánicos; el tanino se disuelve a partir de raíces y hojas de plantas. El té y el café se preparan mediante técnicas y equipo muy similares a los utilizados en las verdaderas operaciones de lixiviación (Geankoplis, 1998).

5 TÉ O INFUSIÓN

Como té se entiende a la bebida obtenida de las infusiones de las hojas de la planta *Camellia sinensis*. Esta definición se extiende a otras especies no relacionadas con esta, llamado simplemente infusión. Entre estos podemos citar a la cascara del fruto del rambután como una infusión.

Una infusión es una hierba obtenida de las hojas secas, y/o frutos a las cuales se les vierte o se los introduce en agua a punto de hervir. Los principales compuestos con actividad biológica presentes en estas bebidas son los polifenoles, los cuales son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en sus estructuras varios grupos bencénicos sustituidos por grupos hidroxilos (Apak *et al.*, 2007). Los polifenoles se consideran constituyentes importantes en la dieta del humano ya que su consumo provee efectos positivos a la salud.

El té es la bebida popular y es la segunda más consumida a nivel mundial después del agua, con un consumo per cápita de 120 mL/día (Katiyar y Mukhtar, 1996).

5.1 Papel de los flavonoides del té en la protección cardiovascular

El té es una de las bebidas más antiguas, y es la segunda más consumida por detrás del agua. Aunque existen muchas variedades, es el té verde el que contiene mayor cantidad de derivados polifenólicos gracias a su método de fabricación: las hojas no son sometidas a un proceso de fermentación, por lo que contienen mayor cantidad de antioxidantes. De los polifenoles totales del té, el 59,9 % lo constituyen las catequinas. Las catequinas (flavanoles) tienen dos núcleos fenólicos (A y B) que están unidos por tres átomos de carbono que forman parte, junto con un átomo de oxígeno, del anillo C. Los carbonos 2 y 3 del anillo C son asimétricos y según la posición espacial de los sustituyentes del C3, las catequinas pueden ser enantiómeros (+) o (-). Se han definido ocho catequinas diferentes, siendo las mayoritarias el (-) –galatodeepigalo catequina (EGCG) y (+)-galocatequina (GC), que representan el 51,8% de las ocho catequinas (Williamson y Manach 2005).

La composición del té puede variar según la especie, el medio de cultivo, la estación del año y edad de la planta. Por ejemplo, en el té verde las catequinas representan un 80-90% de los flavonoides, mientras que en el té negro esta proporción es de 20-30%. En general, las hojas más jóvenes tienen menos catequinas. La forma de preparar la infusión también influye, ya que temperaturas elevadas producen una disminución de la concentración de catequinas, por lo que es preferible dejar enfriar el agua antes de introducir las hojas del té. Las catequinas del té verde son solubles en agua, por lo que el grado de extracción de éstas depende del tiempo de contacto de las hojas con el agua.

En cuanto a la biodisponibilidad de las catequinas, diversos estudios señalan que la leche que en ocasiones es añadida al té, contrarresta los efectos saludables de las catequinas, probablemente porque la caseína de la leche quelan las catequinas, sin embargo los resultados son contradictorios (Reddy *et al.*, 2005).

6 ALIMENTOS FUNCIONALES

6.1 Origen del concepto de alimento funcional

El término Alimento Funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80's con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos para uso específico de salud" ("Foods for specified health use" o FOSHU) y que se refiere a aquellos alimentos procesados los cuales contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutricional. Los alimentos de este tipo son reconocidos porque llevan un sello de aprobación del Ministerio de Salud y Bienestar del gobierno japonés. Algunas de las principales funciones son las relacionadas con un óptimo crecimiento y desarrollo, la función del sistema cardiovascular, los antioxidantes, el metabolismo dextenobioticos, el sistema gastrointestinal, entre otros (Palou y Serra 2000).

En los países occidentales la historia de este tipo de alimentos se remonta a las primeras prácticas de fortificación con vitaminas y minerales, así como también a la práctica de incluir ciertos componentes en los alimentos procesados con el objeto de complementar alguna deficiencia de la población. La búsqueda de terapias alternas para algunas enfermedades, el envejecimiento de la población mundial, los avances en la tecnología, así como los cambios reglamentarios de diversos países han provocado un gran interés en el desarrollo de los alimentos funcionales alrededor del mundo. En opinión de los expertos, muchas de las enfermedades crónicas que afligen a la sociedad de un modo particular (cáncer, obesidad, hipertensión, trastornos cardiovasculares) se relacionan de un modo muy estrecho con la dieta alimenticia (Jones, P. 2002).

En la actualidad, se observa una clara preocupación en nuestra sociedad por la posible relación entre el estado de salud personal y la alimentación que se recibe. Incluso se acepta sin protesta que la salud es un bien preferentemente controlable a través de la alimentación, por lo que se detecta en el mercado alimentario marcada preferencia por aquellos alimentos que se anuncian como beneficios para la salud. Las técnicas de investigación en el campo de la epidemiología y la dietética permiten establecer ciertas relaciones entre los estilos de vida y los hábitos alimentarios, a la vez que es posible destacar la incidencia de algunas enfermedades en la mortalidad de la sociedad occidental. Algunos trabajos científicos han puesto de relieve que ciertos ingredientes naturales de los alimentos proporcionan beneficios y resultan extraordinariamente útiles para la prevención de enfermedades e incluso para su tratamiento terapéutico (Bello, J.2000).

6.2 Términos relacionados

La oferta de nuevos alimentos que reportan algún beneficio para la salud aparece por primera vez en la década de los años 60's. Desde entonces surge en el mercado un nuevo tipo de alimentos diseñados para ser incluidos en dietas muy estrictas exentas de gluten, bajas en sodio, pobres en calorías, etc.

Además, estos alimentos comienzan a recibir nombres tan variados que surge la necesidad de uniformar la terminología empleada (Vasconcellos J. 2000). Los términos más empleados son:

Alimento funcional: (Functional food): Cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona. El calificativo de funcional se relaciona con el concepto bromatológico de "propiedad funcional", o sea la característica de un alimento, en virtud de sus componentes químicos y de los sistemas fisicoquímicos de su entorno, sin referencia a su valor nutritivo. En Europa se define alimento funcional a "aquel que

satisfactoriamente ha demostrado afectar benéficamente una o más funciones específicas en el cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados en una forma que resulta relevante para el estado de bienestar y salud o la reducción de riesgo de una enfermedad" (Roberfroid M. 2000).

Aunque el término alimentos funcionales no es una categoría de alimento legalmente reconocida por la Administración de alimentos y Drogas (FDA) de los Estados Unidos, recientemente sucedieron algunos cambios legislativos acerca de la información que deben contener las etiquetas de los productos relacionados con beneficios funcionales de los alimentos. Las regulaciones e la NLEA (Ley de Etiquetado y Regulación Nutricional) y de la DSHEA (Ley de Suplementos Dietéticos Salud y Educación) se encaminan a preparar el camino legal en que se debe fundamentar el uso de estos productos (Vasconcellos J. 2000). La posición oficial de la U.S. Food & Drugs Administration (FDA) es: "Las sustancias específicas de los alimentos pueden favorecer la salud como parte de una dieta variada" (Bello J. 1995). La asociación respalda la investigación de los beneficios y riesgos de estas sustancias, los profesionales de la dietética seguirán trabajando con la industria alimentaria, y el gobierno para asegurar que el público tenga suficiente información científica precisa en este campo en surgimiento.

Por su parte, la Asociación Americana de Dietistas (ADA), reconoce el papel potencialmente benéfico de los alimentos funcionales al enfatizar que estos alimentos "...deben ser consumidos como parte de una dieta variada, en una forma regular y a niveles efectivos" (American Dietetic Association. 1999), definición que lo delimita definitivamente del término alimento nutraceutico como se verá posteriormente.

Finalmente, en México, aunque el término de alimentos funcionales se utiliza familiarmente entre la comunidad científica a la fecha no hay leyes que reglamenten específicamente el uso de estos alimentos.

Producto nutraceutico: (Nutraceutical): Cualquier producto que pueda tener la consideración de alimento, parte de un alimento, capaz de proporcionar beneficios saludables, incluidos la prevención y el tratamiento de enfermedades (Astiasarán *et al.*, 1999). El concepto de alimento nutraceutico ha sido recientemente reconocido como "aquel suplemento dietético que proporciona una forma concentrada de un agente presumiblemente bioactivo de un alimento, presentado en una matriz no alimenticia y utilizado para incrementar la salud en dosis que exceden aquellas que pudieran ser obtenidas del alimento normal" (Zeisel S. 1999).

Alimentos diseñado: (Designer food): Alimento procesado, que es suplementado con ingredientes naturales ricos en sustancias capaces de prevenir enfermedades. Este término se utiliza frecuentemente como sinónimo de alimento funcional.

Productos fitoquímicos: (Phytochemical): Sustancias que se encuentran en verduras y frutas, que pueden ser ingeridas diariamente con la dieta en cantidades de gramos y muestran un potencial capaz de modular el metabolismo humano (Astiasarán y Martínez 1995). Ya que los alimentos funcionales generalmente son de origen vegetal, se utilizaban indistintamente ambos términos, sin embargo actualmente se consideran como alimentos funcionales también a los microorganismos probióticos y en este concepto no estarían incluidos.

6.3 Alimentos en el mundo

Actualmente existen muchos alimentos funcionales en el mundo. En el cuadro se presentan algunos ejemplos de componentes de alimentos funcionales (Hasler C. 2000). Siendo Estados Unidos uno de los países que tiene muy claro el objetivo de los alimentos funcionales para llegar a prevenir enfermedades en la población, por ejemplo, resulta fácil encontrar barras de cereales destinadas a mujeres de mediana edad, suplementadas con calcio para prevenir la osteoporosis, o por proteína de soya para reducir el riesgo de cáncer de mama y con ácido fólico, para un corazón más sano, panecillos energizantes y galletas adicionadas con proteínas, zinc y antioxidantes.

En Europa se utilizan rótulos que indican "Valor aumentado", así como en Alemania se comercializan golosinas adicionadas con vitamina Q₁₀ y vitamina E. En Italia las góndolas de los supermercados ofrecen yogures con omega 3 y vitaminas y Francia ofrece azúcar adicionada con fructo-oligosacaridos para fomentar el desarrollo de la flora benéfica intestinal (Bello J. 1995).

Cuadro10. Principales componentes funcionales

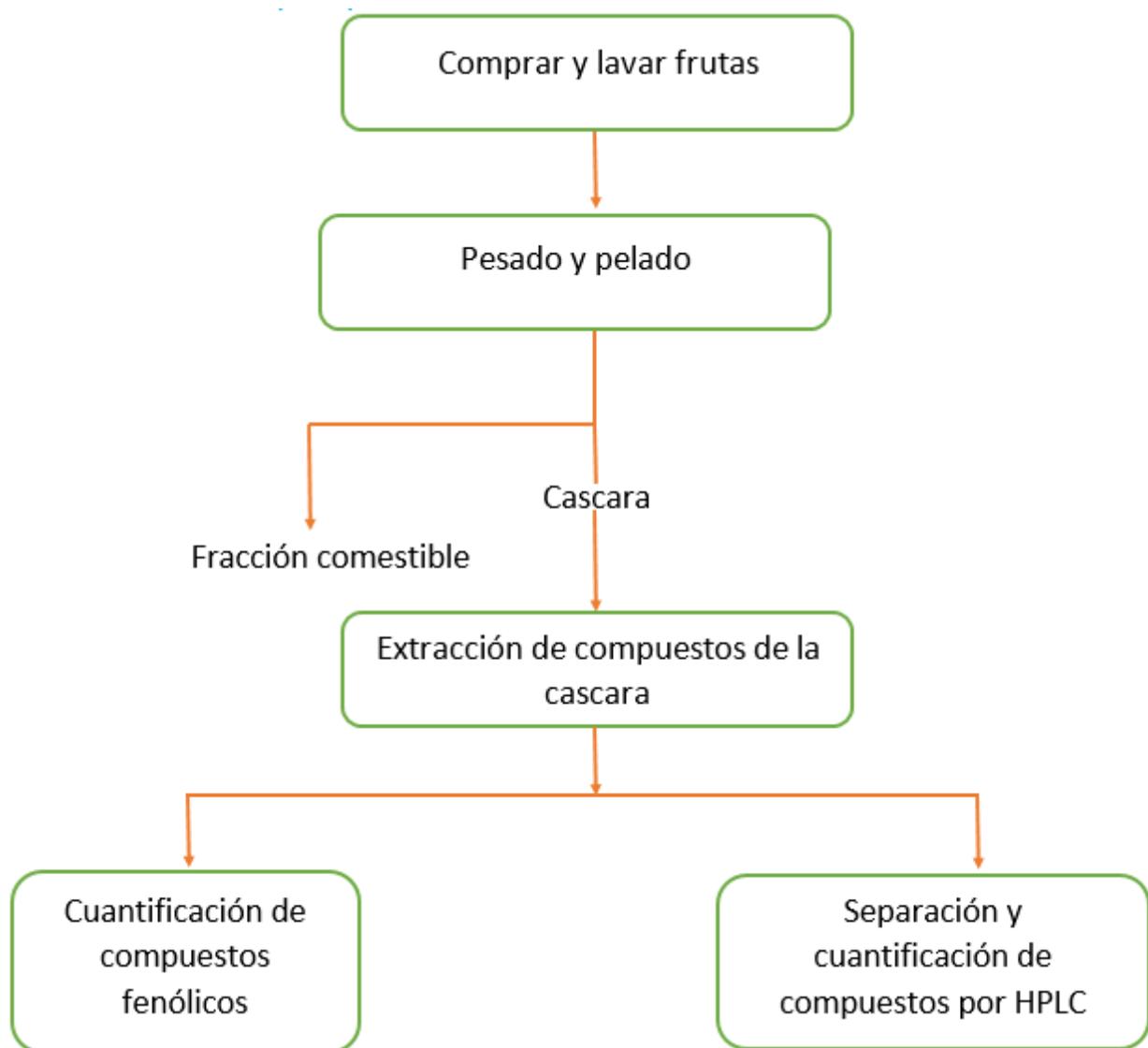
Clase/Componente	Origen	Beneficio potencial
<u>Carotenoides</u>		
Beta caroteno	Zanahoria	Neutraliza los radicales libres que podrían dañar a las células
Luteína	Vegetales verdes	Contribuye a una visión sana
Licopeno	Tomate	Podría reducir el riesgo de cáncer de próstata
<u>Fibras dietéticas</u>		
Fibra insoluble	Cáscara de trigo	Podría reducir el riesgo de cáncer de colon
Beta glucano	Avena	Reduce el riesgo de enfermedad Cardiovascular
<u>Ácidos grasos</u>		
Omega 3, ácido graso DHA	Aceites de peces	Podrían reducir el riesgo de enf. Cardiovascular y mejorar funciones mentales y visuales
Ácido linoléico	Queso, productos Cárnicos	Podrían mejorar la composición corporal, podrían reducir el riesgo de ciertos tipos de cáncer
<u>Flavonoides</u>		
Catequinas	Té	Neutraliza radicales libres, podría reducir el riesgo de cáncer
Flavonas	Cítricos	Neutraliza radicales libres, podría reducir el riesgo de cáncer
<u>Esteroles vegetales</u>		
Ester etanol	Maíz, soya, trigo	Reduce los niveles de colesterol Sanguíneo
<u>Prebióticos/Probióticos</u>		
Fructooligosacáridos	Achicoria, cebolla	Podría mejorar la salud gastrointestinal
Lactobacilos	Yogurt	Podría mejorar la salud gastrointestinal
<u>Fitoestrógenos</u>		
Isoflavonas con	Alimentos con soja	Podrían reducir los síntomas de la menopausia

(Alicia Alvidrez *et al.*, 2002)

7 MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Nutrición y Alimentos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Así como en los laboratorios del Departamento de Investigación en Alimentos (DIA), de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila, ubicados todos en la Ciudad de Saltillo, Coahuila, México.

7.1 Desarrollo experimental



7.2 Materia prima

Las frutas de Rambután (*Nephelium Lappaceum*) se compraron en la central de Abastos de la Ciudad de Comitán, Chiapas, México.

7.3 Acondicionamiento del material del fruto en estudio

Las frutas se lavaron con agua, se pesaron, se retiraron las cáscaras y se deshidrataron en una estufa de secado a 60 °C por un tiempo de 48 horas, luego se procedió a moler las cascavas ya secas en un molino del laboratorio de Nutrición y Alimentos, Thomas-Wiley modelo 4 Arthur H. Thomas Company (Philadelphia, PA, U.S.A). Posteriormente se almacenaron en frascos de vidrios de 250 mL (figura 11).



Figura 11.-Molinoy frascos con muestra

7.4 Etapa I: Obtención del extracto

Se hizo una extracción de la muestra por filtración para obtener el extracto crudo (Figura 12), en una relación Masa/ Volumen, el cual fue utilizado para realizar las determinaciones posteriores.

Se pesaron 20 gr de la muestra y se pusieron en 100 mL de agua a 60 ° C por 30 minutos, agitando cada 5 minutos hasta alcanzar los 30 minutos. Luego se procedió a filtrar la muestra con una tela y hacer una percolación en un vaso de precipitado (figura 12).



Figura 12.- Obtención del extracto crudo.

7.5 Etapa II: Determinaciones de azúcares totales y reductores

7.5.1 Azúcares totales (Dubois 1959)

La concentración de azúcares totales se determinó a través de una curva de calibración de la absorbancia en función de la concentración, para la cual se preparó una dilución 1: 200 utilizando sacarosa (1,000 ppm) como estándar.

Como blanco para las lecturas se utilizó agua destilada aplicándole el mismo tratamiento. Para la aplicación del método Dubois (Método Fenol-Sulfúrico), se mezclaron 1 mL de muestra a dilución 1/100, con 2 mL de fenol al 5% (2.5 gr en 50 mL de H₂O) en tubos digestores y se colocaron en una gradilla sumergida en un baño de agua fría. A los tubos se les añadieron 1 mL de H₂SO₄, se dejaron reposar por 15 min., y luego se puso a hervir por 5 minutos y se analizaron en un espectrofotómetro (Genesys 10vis) a una longitud de onda de 480 nm.

Datos

Se utilizó una solución patrón de sacarosa (1,000 pm) En el cuadro 11 se muestra las cantidades de volumen de solución de sacarosa, agua destilada y la solución Fenol Sulfato necesarias para la realización de las 5 soluciones y el blanco (que es la referencia de 0 para la toma de absorbancia en el espectrofotómetro), para proceder a la toma de datos en el espectrofotómetro.

Cuadro 11. Datos para la preparación de la curva patrón

Tubo	0	1	2	3	4	5
Solución Madre (mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
Agua Destilada(mL)	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0
Fenol Sulfato (mL)	2	2	2	2	2	2
Volumen total (mL)	3	3	3	3	3	3

7.5.2 Azúcares reductores (Miller 1959)

Según el método Miller, para la aplicación del método DNS se necesita preparar el reactivo DNS, disolviendo 0,8 g de NaOH en agua destilada, luego se adicionan 15 g de tartrato de sodio y potasio tetra hidratado y 0.5 g de DNS (ácido 3,5-dinitrosalisílico).

Esta mezcla se afora a 50 mL con agua destilada, la concentración de azúcares reductores se determina utilizando una curva de calibración absorbancia en función de concentración. Para obtener esta curva se preparó una dilución 1:400, utilizando fructosa como estándar. A esta solución se le aplicó el método DNS y se leyó la absorbancia de cada una de ellas en un espectrofotómetro (Genesys 10vis) a una longitud de onda 540 nm. Una vez construida la curva patrón se aplicó el método DNS a cada una de las muestras, para lo cual se mezclaron 0.5 mL de cada una con 0.5 mL del reactivo DNS, se colocaron a ebullición por 5 minutos en baño de maría e inmediatamente se detuvo la reacción con baño de agua y hielo por 2 minutos. Se reconstruyeron las muestras con 5 mL de agua destilada, se agitaron, se dejaron en reposo por 15 min, y se determinó su absorbancia a 540 nm. El mismo tratamiento se realizó para el blanco con agua destilada. Leyendo la absorbancia de cada una de las muestras en la curva patrón se determinó la concentración de azúcares reductores.

Datos

Se utilizó una solución patrón de fructosa. En el cuadro 12 se muestra las cantidades de volumen de solución de fructosa, agua destilada y solución DNS necesarias para la realización de las 5 soluciones y el blanco (que es la referencia de 0 para la toma de absorbancia en el espectrofotómetro), para proceder a la toma de datos en el espectrofotómetro.

Cuadro 12.Datos para la preparación de soluciones.

Tubo	0	1	2	3	4	5
Solución Madre (mL)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Agua Destilada (mL)	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0
D.N.S (mL)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Volumen Total (mL)	1	1	1	1	1	1

7.6 Determinación del contenido fenólico

7.6.1 Cuantificación de polifenoles hidrolizables por el método Folin-Ciocalteu (Makkar 1993)

En esta prueba se hicieron diluciones en base a la cantidad de sólidos presentes y con la finalidad de que las muestras tuvieran concentraciones bajas y pudieran ser leídas por el espectrofotómetro en la cuantificación de polifenoles. Se empleó la fórmula $C_1V_1=C_2V_2$, para el cálculo de las concentraciones donde C_1 =Concentración 1, V_1 =Volumen 1, C_2 =Concentración 2 y V_2 = Volumen 2.

Se determinó la técnica de cuantificación de polifenoles hidrolizables por el método de Folin-Ciocalteu descrita por Makkar (1992).

La cuantificación de compuestos fenólicos se logró usando el reactivo de Folin-Ciocalteu (FC). Se colocaron 400 μ L de la muestra dilución 1:80 en 3 tubos para tener 3 repeticiones. Posteriormente se añadieron 400 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu, se agito y se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se colocaron 400 μ L de carbonato de sodio Na_2CO_3 (0.01 M), se agito y se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente. Por último la mezcla fue diluida con 2 mL de agua destilada, la absorbancia de las muestras se leyó a 750 nm, comparándola contra un blanco que contenía la mezcla de reactivos disueltos en agua. Se hizo una curva de calibración preparada con ácido gálico.

Cuadro 13.Curva de calibración (Ac. Gálico)

Concentración ppm	Solución Madre (Ac. Gálico)	Agua
0	0 μ L	400 μ L
100	80 μ L	320 μ L
200	160 μ L	240 μ L
300	240 μ L	160 μ L
400	320 μ L	80 μ L
500	400 μ L	0 μ L



Figura 13.-Determinación de polifenoles hidrolizables

7.6.2 Cuantificación de polifenoles condensados

En la cuantificación de polifenoles condensados, se tomaron 500 μL de la muestra dilución 1:100, en 3 tubos para tener 3 repeticiones. Posteriormente Se colocaron 3 mL HCl- terbutanol 1:9. Posteriormente se colocó 0.1 mL reactivo Ferrico, se cerraron tubos y se calentaron por 1 hora en baño hirviendo a 100 ° C. Por último se dejó enfriar a temperatura ambiente. La absorbancia de las muestras se leyó a 460 nm, comparándola contra un blanco que contenía la mezcla de reactivos disueltos en agua. Se hizo una curva de calibración preparada con catequina.

Cuadro 14. Curva de calibración (Catequina)

Concentración ppm	Solución Madre (Catequina)	Agua
0	0 μL	500 μL
100	100 μL	400 μL
200	200 μL	300 μL
300	300 μL	200 μL
400	400 μL	100 μL
500	500 μL	0 μL



Figura 14.- Determinación de Polifenoles condensados

7.7 Etapa IV: Purificación de la muestra en cromatografía de columna

Para la purificación de la muestra se utilizó Amberlita modelo XAD-16. Se empaco a la columna las Amberlita, luego se agregó la muestra a la columna. Posteriormente se purifico con agua hasta obtener un líquido más claro. Por último se purifico con etanol, para obtener la muestra pura que es de interés.

Se obtuvieron diferentes fracciones acuosas y etanolicas las cuales son: Fracción acuosa, Fracción acuosa 2, Fracción acuosa 3, Fracción etanol 1, Fracción etanol 2 y Fracción agua/etanol.



Figura 15.-Fracciones de la purificación en cromatografía de columna.

7.8 Etapa V: Separación e identificación de compuestos de las fracciones puras de la cascara de rambután en estudio HPLC.

La Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) ha sido una herramienta muy útil para la identificación de compuestos fenólicos en frutas, vegetales y plantas. Usualmente se utilizan sistemas de elución binarios con un disolvente acuoso acidificado polar, como puede ser ácido acético, ácido perclórico, ácido fosfórico, o ácido fórmico (disolvente A), y un disolvente orgánico menos polar como el metanol o acetonitrilo, acidificado (disolvente B) (Ding *et al.*, 2001).

En este análisis se incorporaron los viales con la muestra purificada de cascara de rambután al equipo HPLC.

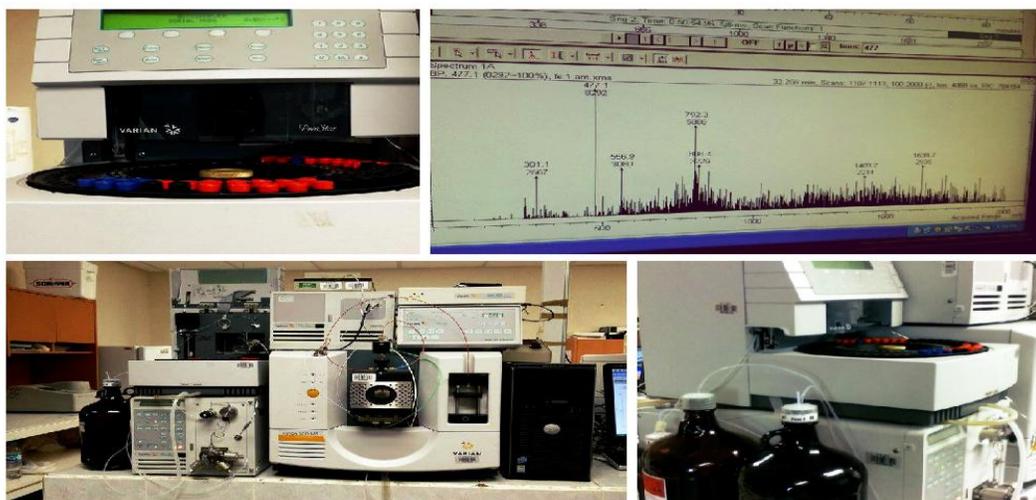


Figura 16.- Equipo HPLC (Cromatógrafo líquido de alta resolución)

7.9 Etapa VI: Pruebas cualitativas.

7.9.1 Terpenos: prueba Liebermann-Burchard

Para esta prueba se tomaron 100 μL de muestra dilución 1:100, disuelta en una solución etanólica 10 % y 20 μL del reactivo, se agitaron las muestras y se observan los cambios de coloración. Si en una hora cambia entonces se tendrá los siguientes colores: Azul verde- esteroides y Rojo violeta o morado- terpenos.

7.9.2 Alcaloides: prueba de Warner

En esta prueba se tomaron 100 μL de muestra dilución 1:100, disuelta en etanol 10 % y 20 μL del reactivo, adicionado con 20 μL de HCl. Si se forma un precipitado floculento cobre-marrón tiene alcaloides.

7.10 Etapa VIII: Aprovechamiento de la cascara de rambután para implementarlo en la industria alimentaria como una infusión (bebida funcional).

Para el aprovechamiento de cascara se pensó en una infusión (bebida funcional), de acuerdo a la legislación de los antioxidantes alimentarios. Basados en el Codex Alimentarius, Normativa sobre antioxidantes en la Unión Europea (UE), Normativa sobre los antioxidantes en los Estados Unidos y Normativa de antioxidantes en Japón.

De acuerdo a esta legislación se pretendió establecerla una dosis adecuada y no sobrepasarse más de lo permitido, realizando los cálculos adecuados de los polifenoles totales obtenidos de la muestra para hacer la concentración de la infusión.

Con el propósito de tener una medida en la ingesta de antioxidantes se planteó que para una infusión y con los datos disponibles parecieron indicar que 150 mg de flavonoides (cantidad presente en una taza de té de 235 mL de agua hervida durante 2 min) son suficientes para producir un rápido efecto antioxidante en el plasma y cambios en la prostaciclina in vivo (Kris y Keen 2002).

8 ANÁLISIS SENSORIAL

8.1 Evaluación sensorial de la infusión

Se realizó una prueba hedónica para las tres concentraciones de la infusión que se determinaron mediante los polifenoles totales calculados de la muestra.

El análisis sensorial ha demostrado ser un instrumento de gran eficacia para el control de calidad y aceptabilidad de un alimento. El análisis sensorial se ha definido como una disciplina científica usada para medir, analizar e interpretar las reacciones percibidas por los sentidos de las personas hacia ciertas características intrínsecas de un alimento como son su sabor, olor, color y textura,

que son los indicadores organolépticos de aceptación o rechazo de un producto, por lo que el resultado de este complejo de sensaciones captadas e interpretadas son usadas para medir la calidad de los mismos. La valoración sensorial es útil además para el control del proceso, tanto como adaptación del alimento a su perfil final, como para realizar modificaciones o correcciones; permitiendo obtener condiciones para conseguir datos que posteriormente serán tratados estadísticamente. Con lo cual se realizó la evaluación sensorial con 26 jueces semientrenados de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en las instalaciones del laboratorio de Evaluación Sensorial del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, como se muestra en la figura 18.

Las muestras partieron de 1 gramo para poder obtener los valores en peso de la muestra que se necesitan para 10, 100 y 190 mg de polifenoles al día, como se muestra en el Cuadro 15, esto basándose en la legislación de los antioxidantes alimentarios.

La prueba que se aplicó fue una prueba hedónica con una escala de nueve puntos. El diseño del experimento fue en bloques completamente al azar. Los resultados obtenidos se analizaron con el paquete estadístico JMP versión 5.0.1

aplicando un análisis de varianza y en caso de existir diferencia significativa se realizó la prueba de Tukey para comparación de medias.

Cuadro 15.Valores de concentración para la infusión de cascara de rambután

Muestra de cascara de rambután	Concentración (mg)	Muestra
1 g	10	1
1 g	100	2
1 g	190	3



Figura 17.- Panelistas evaluando la infusión

9 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Cuantificación de azúcares totales y reductores

9.1.1 Cuantificación de azúcares totales

El contenido de azúcares totales se determinó aplicando el método Dubois (1959), utilizando sacarosa como estándar. En la Figura 18 puede verse la curva patrón construida para cuantificar los azúcares totales y en el cuadro 16 los resultados para la muestra, las cuales fueron diluidas para su lectura y luego multiplicadas por el factor de dilución. Estos resultados indican que la concentración de azúcares totales que se encuentra en la cascara de rambután, tiene una concentración elevada.

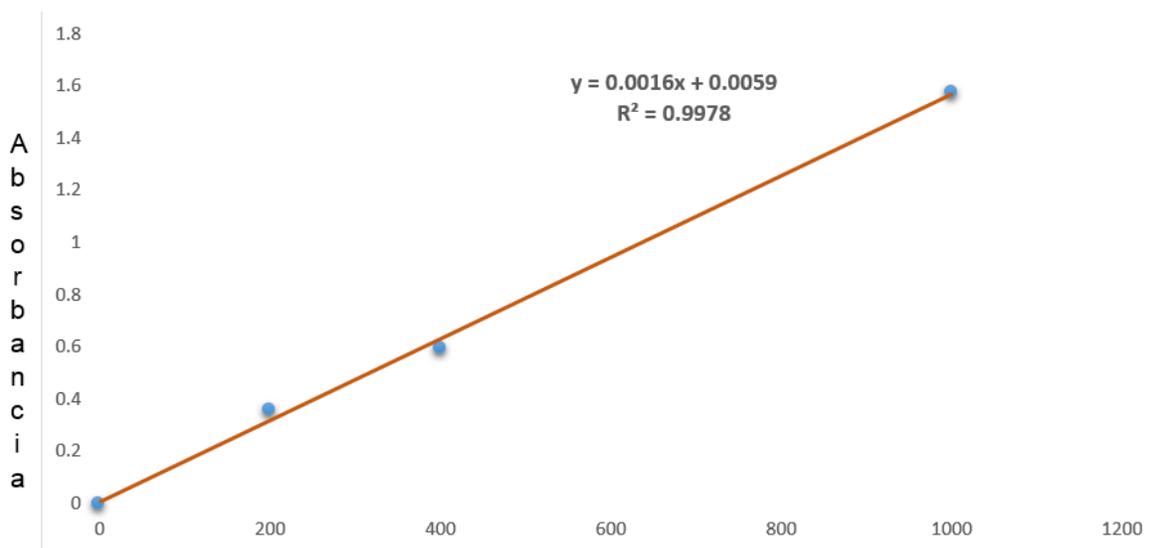


Figura 18.- Curva para cuantificar los azúcares totales.

Cuadro 16. Cantidad de azúcares totales presentes.

Muestra	g/g de cascara de rambután
Extracto de cascara de rambután	0.662 ± 0.021

Los resultados muestran que la concentración de azúcares totales que se encuentra en las cascara de rambután tiene una concentración elevada al obtener un una cantidad de 0.662 g/g cascara de rambután deshidratada y molida, equivalente a un porcentaje del 66.2 %, y de acuerdo a la falta de publicaciones dónde podamos comparar con otros autores, podemos decir que este trabajo contribuye con una de las primeras pruebas del análisis de azúcares totales en casaras de rambután.

9.2.1 Cuantificación de azúcares reductores

La Figura 19 muestra la Gráfica utilizando fructosa como patrón para determinar el contenido de azúcares reductores y en el cuadro 17 pueden verse los resultados considerando también los respectivos factores de dilución. Los resultados para azúcares totales y reductores coinciden que en ambas pruebas tienen mayor contenido de azucares, esto resulta lógico, puesto que se tuvo que hacer una dilución más grande. El contenido promedio de azúcares reductores presentes indican que la cascara de rambután contienen una alta concentración de azucares.

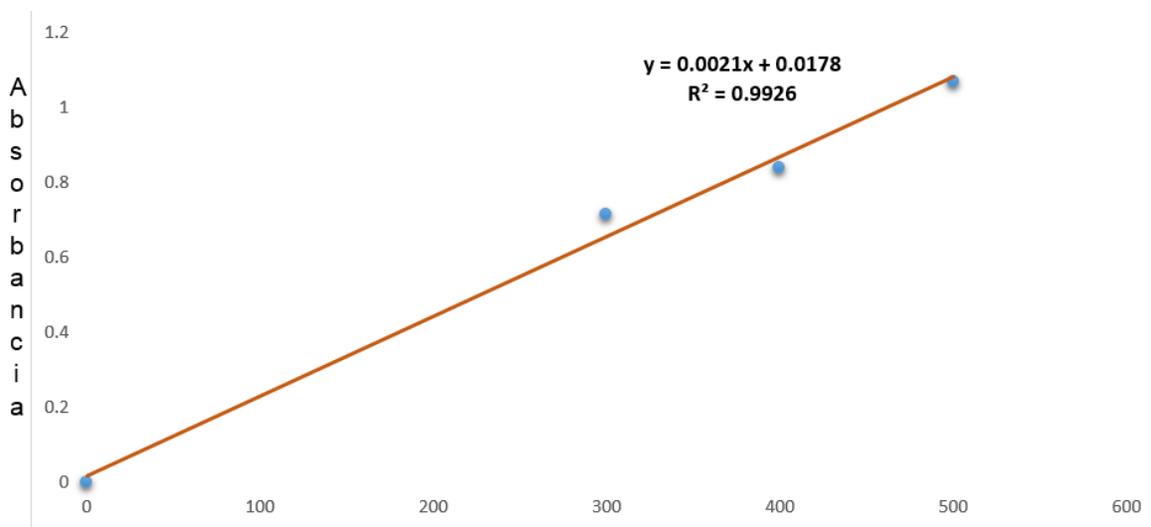


Figura 19.- Curva para cuantificar azúcares reductores.

Cuadro 17. Porcentaje promedio de azúcares reductores.

Muestra	g/g de cascara de rambután
Extracto de cascara de rambután	0.641 ± 0.028

Al igual que los azucares totales, los resultados muestran que la concentración de azúcares reductores que se encuentra en las cascara de rambután tiene una concentración elevada al obtener una cantidad de 0.641 g/g de cascara de rambután molida y deshidratada, equivale a un porcentaje de 64.1 %, y de acuerdo a que no hay reportes en el cual indiquen o se compraren con la de otros autores se podría decir que es de las primeras pruebas en hacer un análisis de azucares reductores en cascara de rambután.

9.1 Contenido de fenoles totales en cascara de rambután

9.2.1 Cuantificación de polifenoles hidrolizables

La determinación de los polifenoles hidrolizables presentes en los extractos de la cascara de rambután se realizó por el método de Folin-Ciocalteu (Makkar 1993).

En la Figura 20, se presenta la curva estándar que se utilizó para la cuantificación de compuestos fenólicos hidrolizables, presentes en los extractos de la muestra de la cascara de rambután, tomando como referencia ácido gálico.

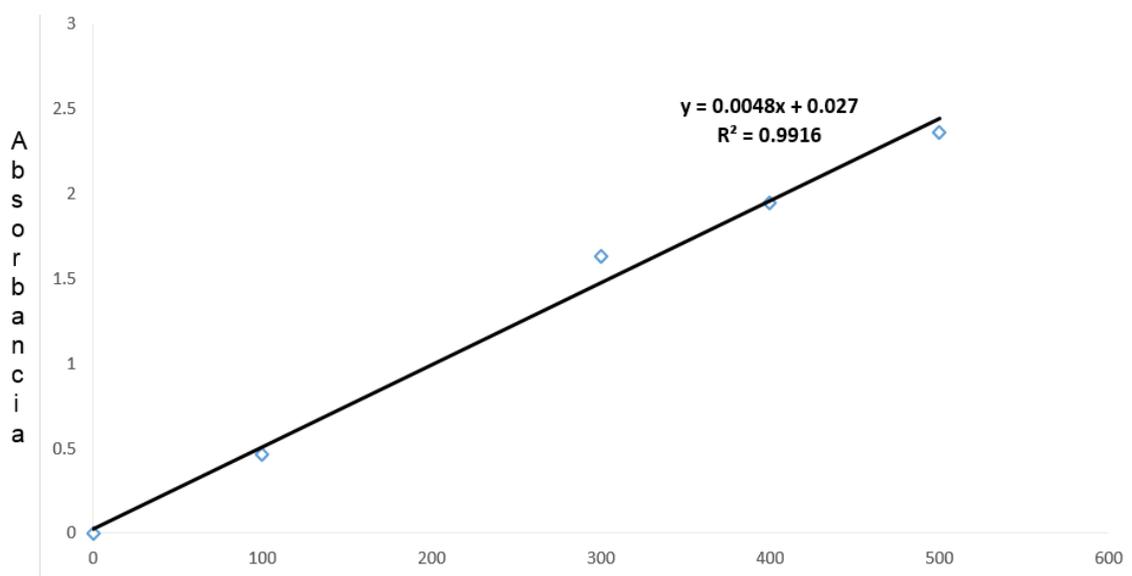


Figura 20.- Curva de calibración de ácido gálico para determinación de fenoles hidrolizables.

El contenido total de polifenoles en la cascara de rambután fueron evaluados con el reactivo Folin-Ciocalteu, con ácido gálico como estándar. El contenido de fenoles totales de los cascara de rambután estudiada se observa en la Cuadro 18.

Cuadro 18. Determinación de polifenoles hidrolizables (DPH).

Muestra	g/g de cascara de rambután
Extracto de cascara de rambután	0.156 ± 0.006

Los resultados obtenidos muestran una cantidad de compuestos fenólicos hidrolizables en el extracto acuoso de la cascara de rambután fue de 0.156 g/g que comparándolo con Lai Teng *et al.*, (2010), quienes trabajaron con extracto acuoso reportaron un 0.212 g/g en el extracto de cascara del rambután, mientras,

lo cual quiere decir que el extracto de cascara de rambután de esta investigación tiene una diferencia de 0.056 g/g de cascara de rambután con lo reportado de Lai Teng *et al.*, (2010), con respecto a el extracto acuoso, ya que puede diferenciarse al realizar la técnica o tener algunas diferencias también en cuanto a los pesos de los reactivos.

Todo esto es posible porque las condiciones de extracción pudiesen ser distintas, empleando un tiempo más corto y temperaturas más altas. Se observa que el tiempo y la temperatura son variables y que afectan la obtención de compuestos fenólicos, la temperatura alta en tiempos cortos promueve una mayor extracción.

9.2.2 Cuantificación de polifenoles condensados

En la Figura 21, se presenta la curva estándar que se utilizó para la cuantificación de polifenoles condensados presentes en los extractos de la muestra de la cascara de rambután, tomando como referencia catequina.

Se determinaron de los polifenoles condensados presentes en los extractos de la cascara de rambután obteniendo resultados que se muestran en el cuadro 19.

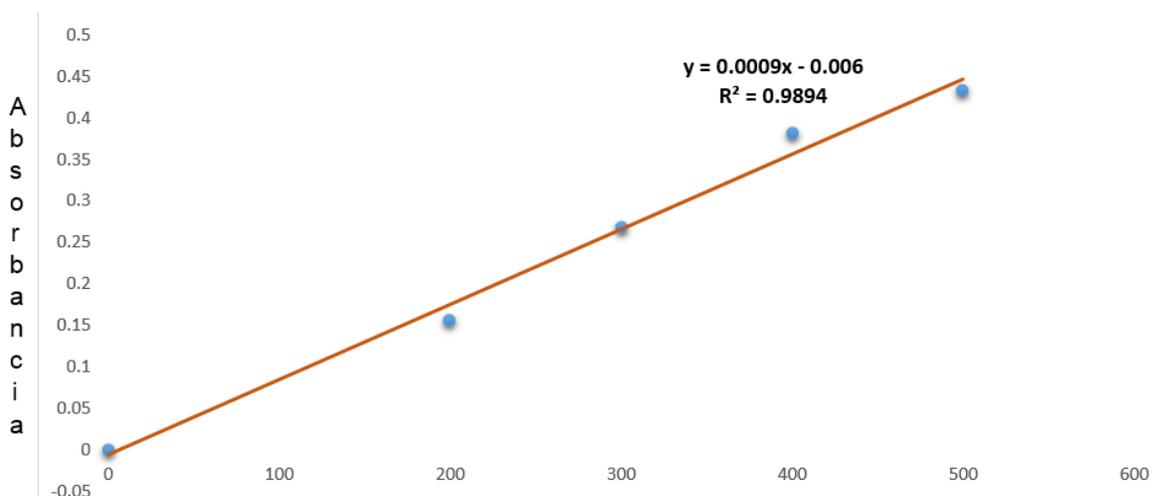


Figura 21.- Curva de calibración de catequina para determinación polifenoles condensados.

Cuadro 19. Determinación de polifenoles condesados (DPC).

Muestra	g/g de cascara de rambután
Extracto de cascara de rambután	0.020 ± 0.009

En la determinación de polifenoles condensados (DPC), se obtuvieron 0.020 g/g de extracto de cascara de rambután, lo cual no se ha encontrado reporte alguno sobre polifenoles condensados en cascara de rambután, pero si en algunos frutos y especialmente se ha reportado que la mayor concentración de polifenoles condensados se encuentran en las cascara de los frutos según Alma A. *et al.*, (2012). También han revelado que la presencia de proantocianidinas (taninos condensados) varía según la parte del fruto que se analiza, siendo habitualmente más abundante en la piel de frutas como uvas y manzanas. Cabe mencionar que uno de los hallazgos más importantes sobre estos estudios, es que las frutas con mayor contenido de taninos condensados son las bayas salvajes del bosque, seguidas de los arándanos todo esto con lo reportado de Alma A. *et al.*, (2012).

La naturaleza química de los taninos condensados ha permitido un mayor monitoreo de su presencia en alimentos, puesto que para su determinación todos pueden ser degradados a antocianidinas (flavonoides) de fácil identificación por HPLC.

9.2.3 Contenido total de polifenoles

En el cuadro 20 se muestra la suma de polifenoles hidrolizables y condensados para obtener los polifenoles totales, los cuales fueron el resultado encontrado al hacer las pruebas en esta investigación en la cascara de rambután.

Cuadro20. Polifenoles totales presentes en cascara de rambután

g/g de cascara de rambután	
Polifenoles hidrolizables	0.156
Polifenoles condensados	0.020
Polifenoles totales	0.177

Las suma de los polifenoles totales (hidrolizables y condesados) que determinamos fue de 0.177 g/g de cascara de rambután que convirtiéndolo a mg obtenemos un total de polifenoles de 177 mg/g de cascara de rambután en extracto acuoso, que comparado con Nont Thitilertdecha *et al.*, (2008), quienes trabajaron con extracto acuoso reportaron que en la cascara del rambután obtuvieron 393.2 mg/g de en extracto acuoso de cascara de rambután liofilizado, lo cual quiere decir que el extracto de cascara de rambután de esta investigación reporta una diferencia menor de polifenoles totales en cascara de rambután, con lo reportado de Nont Thitilertdecha *et al.*, (2008). Todo esto es posible ya que el utilizar la técnica de liofilización para el extracto de la cascara de rambután la hace más efectiva en la investigación de Nont Thitilertdecha *et al.*, (2008), lo que puede diferenciarse al

realizar la técnica y también se pueden diferenciar en cuanto a los pesos de los reactivos.

Sin embargo, las condiciones de extracción pudiesen ser distintas, empleando un tiempo más corto y temperaturas altas. Se observa que el tiempo y la temperatura son variables y que afectan la obtención de compuestos fenólicos, la temperatura alta en tiempos cortos promueve una mayor extracción.

9.3 Identificación de compuestos de las fracciones puras de la cascara de rambután en estudio HPLC.

Los compuestos fenólicos en el extracto etanol de la cascara de rambután se cuantificaron mediante HPLC.

Como se ilustra en la Figura 22, las fracciones etanolicas analizadas de la cascara de rambután (*Nephelium lappaceum*L.) mostraron que se obtuvo varios compuestos de los cuales los tres principales aislados fueron geranina, corilagina y ácido elágico.

Los compuestos principales 1, 2 y 3 fueron identificados como geranina, corilagina y ácido elágico, respectivamente.

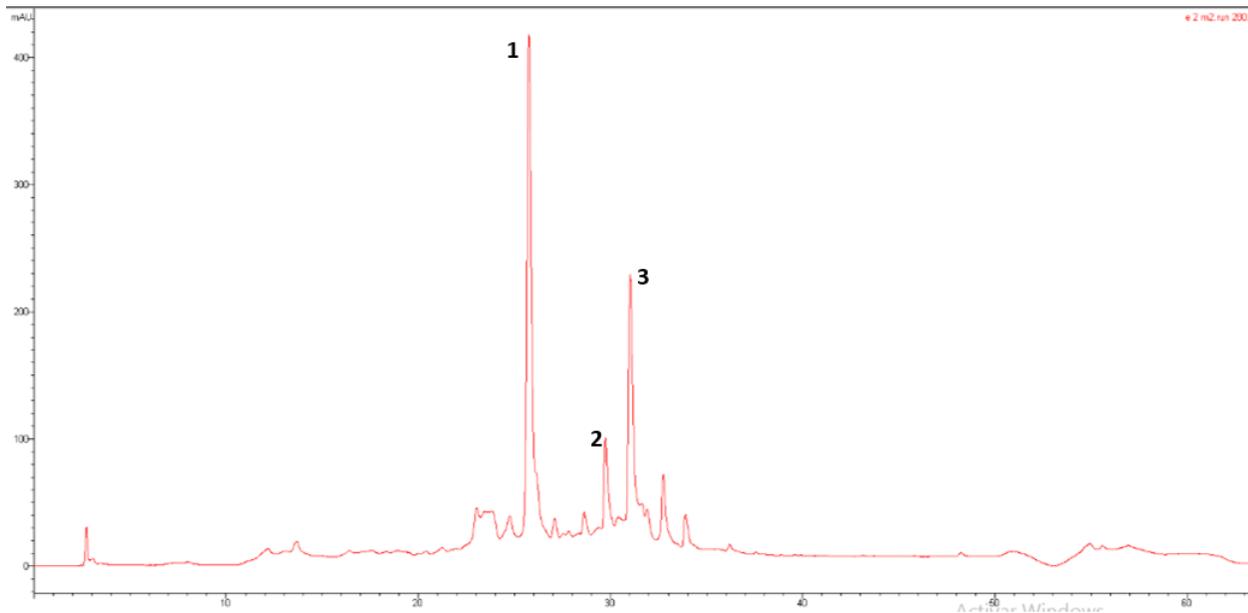


Figura 22.-Cromatografía HPLC de la fracción etanolic de la cascara de rambután (*Nephelium lappaceum*L.). 1; geranina, 2; corilagina y 3; ácido elágico.

De acuerdo con lo reportado por Nont T. *et al.*, (2010), identificaron tres compuestos con fracciones puras mediante una cromatografía en columna Sephadex LH-20 y utilizando como solvente metanol para el extracto de cascara de rambután, los cuales también analizados por cromatografía de líquidos de alta

resolución HPLC, mediante fracciones metanolicas obtuvieron tres compuestos bioactivos principales identificados como: 1; Ácido elágico, 2; corilagina y 3; geranina, los tiempos en que se encontraron los compuestos por Nont T. *et al.*, (2010), fueron de ácido elágico a los (29.6 min), corilagina (18.5 min), y geranina (21.8 min), mientras que los obtenidos en este trabajo fueron: ácido elágico (31.2 min), corilagina (29.7 min), y la geranina (26.1 min).

El tiempo de retención es muy parecido, solo en el compuesto geranina se observa una diferencia más amplia en cuanto al tiempo de retención esto puede deberse al tipo de cromatografía de columna y el tipo de solvente, esto de acuerdo a lo reportado anteriormente. También se puede comparar que en cuanto a los compuestos identificados principales que fueron la geranina (1), corilagina (2) y ácido elágico (3), estos son iguales y en cuanto a los picos mostrados en el HPLC son similares a lo reportado con Nont T. *et al.*, (2010) teniendo como compuesto mayoritario la geranina en ambos trabajos.

Todos los compuestos que se identificaron se muestran en el cuadro 21.

Cuadro 21. Todos los compuestos identificados en HPLC.

Id	Compuestos	[M-H] ⁻ (m/z)	Grupo
1	Ácido Vinílico 4-sulfato	247	Ácido Hidroxibenzoico
2	Galangina	269	Flavonoles
3	Pelargonidina	270	Antocianina
4	Ácido carboxílico Brevifolin	291	Elagitaninos
5	Ácido Elágico	301	Elagitaninos
6	Ácido p-cumárico	325	Ácido Hidroxicinámico
7	Ácido vanílico hexóxido	329	Ácido Hidroxibenzoico
8	ácido elágico pentoside	433	Elagitaninos
9	Vitisina A	560	Antocianina
10	Apigenina arabinósido-glucósido	563	Flavonoles
11	Phloretin 2-O-xilosilo-glucósido	568	Dihidrochalcona
12	Corilagina	633	Elagitaninos
13	Castalagina / Vescalagina	933	Elagitaninos
14	Galoil-bis-HHDP-hexoside (Casuarina)	935	Elagitaninos
15	Geranina	951	Elagitaninos
16	Desconocido	979	Desconocido

Estos compuestos fueron identificados por HPLC, teniendo en cuenta que un solo pico fue que demostró ser el compuesto mayoritario en la cascara de rambután este compuesto conocido como geranina, que mediante una base de datos fue identificado. Estos picos analizados fueron del extracto etanolico de la muestra por HPLC.

9.4 Pruebas cualitativas

9.4.1 Terpenos: prueba Liebermann-Burchard

En las pruebas cualitativas realizadas mostraron que respecto a los terpenos y esteroides la prueba dio negativo como se muestra en el cuadro 22.

Cuadro 22. Prueba cualitativa de terpenos.

Color	Prueba	Resultado
Azul verde	Esteroides	Negativo
Rojo violeta o morado	Terpenos	Negativo

9.4.2 Alcaloides: prueba de Warner

En las pruebas cualitativas realizadas mostraron que en cuanto a alcaloides la prueba dio negativo como se muestra en el cuadro 23.

Cuadro 23. Prueba cualitativa de alcaloide.

Color	Prueba	Resultado
cobre-marrón	Alcaloides	Negativo

10 ANÁLISIS SENSORIAL

10.1 Evaluación sensorial de la infusión

Para esta prueba sensorial se determinó el peso de la muestra para cada una de las concentraciones que se sugirieron los cuales fueron de 10, 100 y 190 mg de polifenoles al día. Los valores de los pesos se obtuvieron mediante regla de tres partiendo de la concentración de polifenoles totales obtenido de la muestra de la

casaca de rambután de 177 mg/g de casaca. El cual el peso de estas concentraciones fueron designados como: (1) 0.05 gr, (2) 0.566 gr y (3) 1.071 gr.

Al realizar la prueba hedónica para las tres concentraciones de la infusión, determinado mediante los polifenoles totales calculados de la muestra, los resultados sugirieron que una concentración de 0.566 gr en 240 mL de agua es la más aceptada para los consumidores, ya que esta muestra resulto ser la menos astringente que la muestra 3 y con mayor coloración que la muestra 1 esto referente al sabor y que no tuvo diferencias significativas en cuanto a sabor. Al no haber una evaluación sensorial de alguna infusión de casaca de rambután reportado o en el que se pueda comparar, se puede decir que es la primera en hacerse para la casaca de rambután.

Cuadro 24. Resultados concentrados del análisis sensorial mediante análisis de varianza

Tratamiento	Atributo			
	Color	Aroma	Sabor	Apariencia global
Infusión concentración de 0.05 g (519)	4.57 ± 1.52 c	4.69 ± 1.10 b	5.26 ± 1.05 a	4.88 ± 1.18 b
Infusión concentración de 0.56 g (278)	6.57 ± 1.27 b	5.88 ± 1.25 a	6.26 ± 1.48 a	6.61 ± 1.33 a
Infusión concentración de 1.07 g (436)	7.61 ± 1.07 a	6.34 ± 1.20 a	5.73 ± 1.67 a	6.69 ± 1.57 a

Los valores son las medias y ± DS de los juicios de 26 jueces semientrenados. Las letras iguales en la misma indican que no hubo diferencias significativas estadísticamente ($P < 0.05$).

11 CONCLUSIONES

El determinar azúcares totales y reductores obteniendo un porcentaje de 62.2% en azúcares totales y 64.1% azúcares reductores, cantidades casi similares, lo cual indica que la cascara de rambután contiene un buen porcentaje de concentración de azúcares.

El estudio del contenido de fenoles totales, en la cáscara de rambután (*N. lappaceum*) demostró tener una buena concentración de polifenoles totales con 177.4 mg/g de muestra en extracto acuoso y que además de aprovechar la cascara se obtienen buenos beneficios a la salud al consumirlo como una infusión.

Por medio de la técnica de HPLC se determinaron tres compuestos principales geranina (1), corilagina (2) y ácido elálgico (3), el compuesto mayoritario es la geranina. Los resultados muestran que estos compuestos antioxidantes que están en la cascara de rambután pueden ser utilizadas para la industria alimentaria, farmacéutica y futura investigación de otras aplicaciones, así como la importancia que tienen estos antioxidantes en este caso elagitaninos en la sociedad.

En las pruebas cualitativas para la determinación de esteroides, terpenos y alcaloides los resultados dieron negativo, dado que al no tener estos compuestos presentes nos indica que el extracto de la cascara de rambután no es tóxico.

En el análisis sensorial se determinó la concentración adecuada y mediante una prueba hedónica de preferencia se estableció que la concentración (2) 0.5636 g, es la de preferencia en cuanto a su sabor y que no tiene diferencia significativa, el cual tendrá una ingesta de 100 mg/día.

12 RECOMENDACIONES

Como puede observarse en el cuadro 21, los compuestos obtenidos del extracto etanólico obtenidos a partir de la cascara de rambután son varios de los cuales solo se reportan tres geranina, corilagina y ácido elálgico como principales, pero en los demás estudios no muestran los demás, y es necesario hacer más estudios sobre la identificación de todos los compuestos encontrados en la cascara de rambután como en este estudio.

Se debe mantener un control de los factores (temperatura y tiempo) que se presentan en los métodos de extracción, con la finalidad de que los compuestos fenólicos no pierdan su potencial para el cual vayan hacer probados.

concluyendo con Nont T. *et al.*, (2010), en el cual también concluyo en que el rambután presenta un elevado contenido de compuestos bioactivos en

comparación con otras frutas tropicales, y que por su potencial funcional y tecnológico, sus subproductos requieren una atención e investigación más exhaustiva.

13 BIBLIOGRAFÍA

Alma A. Vázquez Flores., Emilio Álvarez Parrilla., José Alberto López Díaz., Abraham Wall Medrano., Laura de la Rosa. Taninos Hidrolizables y Condensados: Naturaleza Química, Ventajas y Desventajas de su Consumo. Alimentos Artículo arbitrado. 2012.

Alfonso Pérez Romero y H. Alfred Jürgen Pohlan. Prácticas de cosecha y poscosecha del Rambután en el Soconusco, Chiapas, México. LEISA Revista de Agroecología • diciembre 2004.

Aister, M. y H. Hollands. 2005. Sustentabilidad y Campesinado. *Seis experiencias agroecológicas en Latinoamérica*. Mundi Prensa. México. 262 p.

Alam Md. N., Bristi N.J., Rafiquzzaman Md. (2012). Review on in vivo and invitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal; 21: 143-152.

Andersen Q.M., Markhan K.R. (2006). Flavonoids-chemistry, biochemistry and applications. Tailor and Francis Group, Boca raton.

Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Esin Çelik, M., Bektaşoğlu, S., İşil, B., Beker, K., Özyurt, D. Comparative evaluation of various Total Antioxidant Capacity assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*, 2007, 12:1496-1547.

Astiasarán I y A. Martínez 1995. Alimentos Ecológicos y Transgénicos.1ª.Ed. en Alimentos, composición y propiedades Cap16: 357-364

Astiasarán I, et al.1999. Op. Cit.

American Dietetic Association. 1999. Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. *J. Am. Diet. Assoc.* 99: 1278-1285.

Alicia Alvídrez-Morales, Blanca Edelia González-Martínez, Zacarias Jiménez-Salas. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. Facultad de Salud Pública y Nutrición. Universidad Autónoma de Nuevo León (México). 2002.

Arai S. 1996. Studies on functional foods in Japan. State of the art. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60: 9-15.

- Barrera, B., Caruso, D., Cortesi, N., Fedeli, E., Rasetti, M. F. y Galli G. 1995. Antioxidant properties of minor polar components of olive oil on the oxidative processes of cholesterol in human LDL. *Revista Italiana Sost Grasse*. 72:285-291.
- Bello, J. 2000. Alimentos con propiedades saludables especiales. En *Alimentos composición y propiedades*. Ed. Mc.Graw-Hill.
- Bello J. 1995. Los alimentos funcionales o nutraceuticos. Nueva gama de productos en la industria alimentaria. *Alimentaria*. 265: 25-29.
- Cardoso C.L., Silva H.S, Castro-Gamboa Ian., Bolzani V.S. (2005). New Biflavonoid and Other Flavonoids from the Leaves of *Chimarrhis turbinata* and their Antioxidant Activity. *Journal of Brazilian Chemical Society*; 16: 1353-1359.
- Carocho M., Ferreira I. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*; 51: 15–25.
- Clifford, M. N. 1992. Sensory and Dietary properties of phenols. *Proceedings of the 16th international conference of grape polyphenol*. 16(11)18-23.
- Cicco N., Lanorte M.T., Paraggio M., Viggiano M., Lattanzio V., (2009). A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. *Microchemical Journal*; 91: 107–110.
- Crozier A., Jensen E., Lean M., Mcdonal M. (1997). Quantitative analyses of flavonoids by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Journal of chromatography*; 761: 315-321.
- Carrol, K.K., Kurowska, E.M., Guthrie, N., 1999, Use of citrus limonoids and flavonoids as well as tocotrienols for the treatment of cancer, en *International Patent WO 9916167*.
- Cano, A., Arnao, M.B. 2004. Actividad antioxidante hidrofílica y lipofílica y contenido en vitamina C en zumos de naranja comerciales: relación con sus características organolépticas. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, Vol. 4, No. 3, 185-189.
- Dorman H.J.D, Hiltunen R. (2004). Fe (III) reductive and free radical scavenging properties of summer savory (*Satureja Hortensis L.*). Extract and subfractions. *Food chemistry*; 88:193-199.
- Decker, E. A. 1997. Phenolics: prooxidants or antioxidants? *Nutritional Reviews*. 55(1):396-398.
- Duthie, G y Crozier, A. 2000. Plant derived phenolic antioxidants. *Current Opinion on Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 3(6):44-51.

Deng J., Cheng W., Yang G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*; 125: 1430–1435.

DuffySJ, KeaneyJF, Holbrook M, Gokce N, Swerdloff PL, Frei B, Vita JA. Short-and Long-Term Black Tea Consumption Reverses Endothelial Dysfunction in Patients With Coronary Artery. *Dis Circulation* 2001; 104: 151-6.

Ding, C., Chachin, K., Ueda, Y., Imahori, Y., Wang, C.Y., 2001, Metabolism of Phenolic Compounds during Loquat Fruit Development. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 49, 2883-2888.

Entrada T., O.; Salas M. A. 1998. Calidad del fruto de rambután (*Nephelium lappaceum* L.) en el soconusco, Chiapas. Tesis profesional, C-IV, UNACH, Huehuetán, Chiapas.

Fennema, O.R., 1985. Introducción a la ciencia de los alimentos. Editorial Reverté, Barcelona, España. 27-45, 570-571.

Gil, I. M., Barberán A. F., Hess, P, B. y Kader, A. 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Agricultural Food Chemistry* 17. (50):4976-4982.

Galati, G. y O'Brien, P. J. 2004. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radical Biology & Medicine*. 37(3):287-303.

Gil del Valle L. (2011). Oxidative stress in aging: theoretical outcomes and clinical evidences in humans. *Biomedicine and aging pathology*; 1: 1-7.

Geankoplis, C.J. 1998. Procesos de transporte y operaciones unitarias, 3ª ed., editorial CECSA.

Geleijnse JM, Launer LJ, Van-der Kuip DAM, Hofman A, Witteman JCM. Inverse association of tea and flavonoid intakes with incident myocardial infarction: the Rotterdam study. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 880-6.

Grupo de investigación en calidad, seguridad y bioactividad de alimentos de origen vegetal, cebs (csic). Murcia. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentos nutrición y salud* Copyright © 2003 INSTITUTO DANONE Vol. 10, Nº 2, pp. 41-53, 2003.

Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the Seven Countries Study. *Arch Intern Med* 1995; 155: 381-6.

Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *The Lancet* 1993; 342: 1007-11.

Hertog MGL, Sweetman PM, Fehily AM, Elwood PC, Kromhout D. Antioxidant flavonols and ischaemic heart disease in a Welsh population of men. The Caerphilly study. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1489 - 94.

Hasler CM. 2000. The changing face of functional foods. *J. Am. Coll. Nutr.* 19: 499S-506S.

Isabel Martínez -Valverde, I., Periago, M., & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S000406222000000100001&script=sci_art_text.

Interamericana España, 1ª edición. Astiasarán I, Martínez A. Cap15: 343-355.

Jiang, F. y Dusting, G. J. 2003. Natural phenolic compounds as cardiovascular therapeutics: potential role of their antiinflammatory effects. *Current Vascular pharmacology*.. 1(22):135-156.

JessupW, RankinSM, DeWhalley CV, Houlst JR, Scott J, Leake DS. Alpha-tocopherol consumption during low-density-lipoprotein oxidation. *Biochem J* 1990; 265:399-405.

Jones, PJ. 2002. Clinical nutrition: 7 Functional foods – more than just nutrition. *Can. Med. Assoc. J.* 166 (12): 1555.

Kumarappan C.T., Thialagam E., Mandal S. (2012). Antioxidant activity of polyphenolic extracts of *Ichthocarpus frutescens*. *Saudi Journal of Biological Sciences*; 19: 349-355.

Kang, H.J., Chawla,S.P., Jo,C., Kwon, J.H., Byun, M.W. 2006, Studies on the development of functional powder from citrus peel, *Bioresource Technology* 97: 614-620.

Knekt P, Järvinen R, Reunanen A, Maatela J. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: A cohort study. *Brit Med J* 1996; 312: 478-81.

Keli S, Hertog M, Feskens E, Kromhout D. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke: the Zutphen study. *Arch Int Med* 1996; 156: 637-42.

Knekt P, Kumpulainen J, Jarvinen R, Rissanen H, Heliovaara M, Reunanen A, et al. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 560-8.

Kris -Etherton PM, Keen CL. Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13: 41-9.

Katiyar, S.K., and Mukhtar, H. 1996. Tea in chemoprevention of cancer: epidemiologic and experimental studies. *Int J Oncol*, 8:221-238.

Luciano M.B., Marcial C.A., Virginia E. R. L., (2006). "Diagnóstico del sistema de producción de rambután (*Nephelium lappaceum* L.) En la región del soconusco, Chiapas."

López, J. 2008 Importancia. Los alimentos Funcionales: Importancia y Aplicaciones. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. Chile.

Lee, C.Y. 1992. Phenolic Compounds en Encyclopedia of food Science and Technology. Vol 3. Hui, Y. H. (Editor), pp. 2055-2061. Wiley & Sons Inc., New York, EUA.

Li Z-y., Yang Y., Ming M., Liu B. (2011). Mitochondrial ROS generation for regulation of autophagic pathways in cancer. Biochemical and Biophysical Research Communications; 414: 5–8.

León de Fernandez O.S. (2004). Estrés oxidativo teoría. EN: Rosas A.R (ed). Nuevas fuentes de antioxidantes naturales. CYTEC. Caracas.

Lai Teng Ling, Ammu Kutty Radhakrishnan, Thavamanithevi Subramaniam, Hwee Ming Cheng and Uma D. Palanisamy. Assessment of Antioxidant Capacity and Cytotoxicity of Selected Malaysian Plants. Molecules ISSN 1420-3049. Molecules 2010. 15, 2139-2151. www.mdpi.com/journal/molecules.

Marwah R.G., Fatope M.O., Mahrooqi R.A., Varma G.B., Abadi H.A., Khamis S., Burtamani-Al. (2007) Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman. Food chemistry; 101:465-470.

Martínez, V. I., Periago, M. J. y Ros. G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 50(1):1-19.

Macheix, J., Fleuriet, A. and Billiot, J.1990. Fruit Phenolics. CRC Press, Inc. Boca Raton, Fl. EUA.

Magalhães L.M., Santos F., Segundo M.A., Reis S., Lima J. (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. Talanta; 83: 441–447.

Matilla P., Astal J., Kumpdanen J. (2000). Determination of flavonoids in plant material by HPLC with diodo-array and electro-array detection. Journal of Agricultural and Food Chemistry; 48: 5834-5841.

Merken M., Beecher R. (2000). Measurement of food flavonoids by high performance liquid chromatography: A review. Journal of agricultural and food chemistry; 48: 577-599.

Maeda-Yamamoto, M., Kawahara, H., Tahara, N., Tsuji, K., Hara, Y., Isemura, M., 1999, Effect of tea polyphenols on the invasión and matr ix metalloproteinas

activities of human fibrosarcoma HT1080 cells. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 47: 2350-2354.

Middleton Jr., E. and Kandaswami, C. Nov. 1994. Potential Health-Promoting Properties of Citrus Flavonoids. *Food Technology*, 48, (11): 115-119.

Nont Thitilertdecha, Aphiwat Teerawutgulrag, Nuansri Rakariyatham., Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extract., *LWT - Food Science and Technology* 41 (2008) 2029e2035.

Nont Thitilertdecha. Aphiwat Teerawutgulrag., Jeremy D. Kilburn., Nuansri Rakariyatham. Identification of Major Phenolic Compounds from *Nephelium lappaceum* L. and Their Antioxidant Activities. *Molecules* 2010, 15, 1453-1465. www.mdpi.com/journal/molecules.

Owen, R. W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W. E., Spiegelhalder, B. y Bartsch, H. 2000. Phenolic compounds and squalene in olive oils; the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids y lignans and squalene. *Food Chemistry and Toxicology*. 38(8):647-659.

Ojha H., Mishra K., Chaudhury N.K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*; 130:1036–1043.

Pérez R. A. y Jürgen P. A. 2004. Prácticas de cosecha y poscosecha del Rambután en el Soconusco, Chiapas, México. *LEISA revista de agroecología*. Volumen 20, N.3 pp 24-26.

Posada Jaramillo, M., Pineda-Salinas, V. y Agudelo-Ochoa, G. M. 2003. Los antioxidantes de los alimentos y su relación con las enfermedades crónicas. http://chocolatecorona.com.co/docs/libro_antioxidantes.pdf, accesada.

Proteggente, A. R., Pannala, A. S., Paganga G., Van Buren L., Wagner E., Wiseman, S., Van de Put F., Dacombe C. and Rice-Evans, C.A. 2002. The oxidant activity of a regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free radicals Research* 36 (2): 217-233.

Pereira, R.B., Mancini-Filho. 1994. Antioxidant activity of citrus seeds. *Cien. Tecnol. Aliment.*, 14: 160-167.

Palou A y F. Serra 2000. Perspectivas europeas sobre alimentos funcionales. *Alimentación, Nutrición y Salud*. 7 (3): 76-90

Palou A, et al Op. Cit.

Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Journal of Clinical Interventions in Aging*. 2007 June; 2(2):219-36.

Ramírez T., Ch. Alix y A. Rafie, 2003. Guía para la propagación del rambután en Honduras. FHIA, San Pedro Sula, Honduras.

Rimm EB, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willet WC. Relation between intake of flavonoids and risk of coronary heart disease in male health professionals. *Ann Intern Med* 1996; 125: 384-9.

Renaud S, De Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *The Lancet* 1992; 339: 1523-5.

Reddy VC, Vidya Sagar GV, Sreeramulu D, Venu L, Raghunath M. Addition of milk does not alter the antioxidant activity of black tea. 2005; 49(3):189-95.

Riemersma RA, Rice-Evans CA, Tyrrell RM, Clifford MN, Lean MEJ. Tea flavonoids and cardiovascular health. *QJM* 2001; 94:277-82.

Roberfroid MB. 2000. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(6): 1669S-1664S.

Suja K.P., Jayalekshmy A., Arumughan C. (2004). Free radical Scavenging behavior of Antioxidant Compounds of Sesame (*Sesamum indicum* L.) in DPPH System. *Journal of agricultural and food chemistry*; 52: 912-915.

Sarría, C. A. 2005. Flavonoides: compuestos bioactivos de los alimentos. *Boletín Pediátrico de la Sociedad Argonesa*. 34:88-92.

Scalbert, A. And Williamson, G. 2000. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *Journal of Nutrition*. 130: 2073s-2085s.

Singleton V.L., Orthofer R.O., Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*; 299: 152–178.

Spácil Z., Novóková L., Solich P. (2008). Analysis of phenolic compounds by high performance liquid chromatography. *Talanta*; 76:189-199.

Samprieto D.A., Catalan C., Valtuone M. (2009). Isolation, identification and characterization of allelochemicals/natural products. Science publishers.

St-Onge, M.P., 2005. Diet and fats, teas, dairy and nuts: potential functional foods for weight control. *Am.J.Clinical.Nutrition*. 81: 7-15.

Vanderlinden E., H.; A. J. Pohan and M. J. J. Janssens. 2004. Culture and fruit quality of Rambután (*Nephelium lappaceum* L.) in the Soconusco, Chiapas, México. *Fruits*, 59 (5).

Vasconcellos JA. 2000. Alimentos funcionales. Conceptos y beneficios para la salud. *World food science*.

Vasconcellos JA. Op cit

Williamson G, Manach CI. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 243S -255.

Zheng, W. y Wang, S. Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Agricultural and Food Chemistry*. 49(11):5165-5170.