



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA  
AGROINDUSTRIAL

POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

**EXTRACTOS ANTIOXIDANTES DE SEMILLAS DE *Renealmia alpinia* COMO UNA ALTERNATIVA DE USO NUTRACEÚTICO**

**TESIS**

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA  
AGROALIMENTARIA**



Presenta:

**ING. BRENDA ESCUTIA MONROY**

Bajo la supervisión de: **DR. BENITO REYES TREJO**



Chapingo, Estado de México, noviembre de 2021

**EXTRACTOS ANTIOXIDANTES DE SEMILLAS DE *Renealmia alpinia* COMO UNA ALTERNATIVA DE USO NUTRACEÚTICO**

Tesis realizada por **Brenda Escutia Monroy** bajo la supervisión del comité asesor indicando, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA  
AGROALIMENTARIA**

DIRECTOR:



---

Dr. Benito Reyes Trejo

CO-DIRECTORA:



---

Dra. Ma. Magdalena Rojas Rojas

ASESORA:



---

Dra. Diana Guerra Ramirez

ASESOR:



---

Dr. Juan Guillermo Cruz Castillo

## ÍNDICE

LISTA DE CUADROS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
AGRADECIMIENTOS .....	ix
DEDICATORIAS .....	x
DATOS BIOGRÁFICOS .....	xii
RESUMEN GENERAL .....	xiii
GENERAL ABSTRACT .....	xiv
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	xvi
2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	18
2.1. Plantas comestibles silvestres.....	18
2.2.1. X'kijit ( <i>Renealmia alpinia</i> ).....	19
2.2. Extractos naturales.....	22
2.2.1. Importancia y uso .....	22
2.2.2. Métodos de extracción.....	23
2.3. Compuestos antioxidantes .....	25
2.3.1. Fenoles.....	25
2.3.2. Flavonoides .....	27
2.3.3. Métodos de determinación de capacidad antioxidante .....	28
2.4. Aceites esenciales.....	31
2.4.1. Perfil de volátiles.....	31
2.5 Alimentos nutraceuticos .....	32

2.5.1	Clasificación de los nutraceuticos.....	33
2.5.2	Disposición a pagar por alimentos nutraceuticos.....	34
2.4	Bibliografía .....	36
3.	PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE SEMILLA DE <i>Renealmia alpinia</i> .....	44
	ANTIOXIDANT PROPERTIES OF ALCOHOLIC EXTRACTS FROM THE SEED OF <i>Renealmia alpinia</i> .....	45
3.1.	Introducción.....	46
3.2.	Materiales y métodos .....	47
3.2.1.	Materiales .....	47
3.2.2.	Determinación del contenido de fenoles totales (CFT) .....	47
3.2.7.	Análisis estadístico .....	49
3.3.	Resultados y discusión.....	50
3.4	Conclusiones.....	56
3.5	Literatura citada .....	57
4.	PERFIL QUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL DE SEMILLAS <i>Renealmia alpinia</i> 59	
	CHEMICAL PROFILE OF <i>Renealmia alpinia</i> SEED ESSENTIAL OIL.....	60
4.1.	Introducción.....	62
4.2	Materiales y métodos .....	62
4.2.1	Obtención de aceite esencial.....	62
4.2.2	Capacidad antioxidante por ensayo FRAP .....	63
4.2.3	Capacidad antioxidante por método ABTS .....	63
4.2.4	Perfil químico de compuestos volátiles del aceite esencial de <i>Renealmia alpinia</i> .....	63

4.2.5. Identificación del aceite esencial de <i>Renealmia alpinia</i> por Resonancia magnética nuclear e infra-rojo .....	64
4.3. Resultados y discusión.....	64
4.3.1. Capacidad antioxidante .....	64
4.3.3. Análisis del aceite esencial por Resonancia magnética nuclear.....	67
4.4 Conclusiones.....	73
4.5 Literatura citada .....	74
5. DISPOSICIÓN A PAGAR POR UN PRODUCTO NUTRACEÚTICO A BASE DE SEMILLA DE XKIJIT.....	75
5. WILLINGNESS TO PAY FOR AN XKIJIT SEED-BASED NUTRACEUTIC PRODUCT.....	76
5.1. Introducción.....	77
5.2. Materiales y métodos .....	78
4.2.1. Método de muestreo.....	78
4.2.2. Estructura de la encuesta .....	78
4.2.3. Análisis de la información .....	79
5.3. Resultados y Discusión.....	79
5.4 Conclusiones.....	86
5.5 Literatura citada .....	87

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de los compuestos fenólicos en plantas.....	26
Cuadro 2. Ensayos basados en la eliminación de las principales especies reactivas de oxígeno (ROS) y el potencial REDOX. ....	29
Cuadro 3. Capacidad antioxidante de extractos de semilla de x'kijit ( <i>Renealmia alpinia</i> ) .....	50
Cuadro 4. Proporción de los eluyentes y fracciones en columna.....	53
Cuadro 5. Capacidad antioxidante de las fracciones en columna del extracto etanólico.....	55
Cuadro 6. Capacidad antioxidante por ensayo FRAP y ABTS para aceite de semilla de <i>R. alpinia</i> .....	64
Cuadro 7. Composición química del aceite esencial de semilla de x'kijit ( <i>R. alpinia</i> ). ....	65
Cuadro 8. Características sociodemográficas de los encuestados.....	80
Cuadro 9. Significancias de regresiones probit de la disposición a pagar en tres rubros.....	82
Cuadro 10. Modelo econométrico de la DAP por un alimento adicionado con un nutraceutico según los hábitos de consumo y patrones de compra.....	83
Cuadro 11. Modelo econométrico de la DAP por un alimento adicionado con un nutraceutico según el consumo de estos. ....	85

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Planta de <i>Renealmia alpinia</i> .....	19
Figura 2. Fruto inmaduro de <i>Renealmia alpinia</i> .....	19
Figura 3. Fruto maduro de <i>Renealmia alpinia</i> .....	20
Figura 4. Cáscara, arilo y semillas .....	20
Figura 5. Sopa de x'kt .....	20
Figura 6. Tamales envueltos en hoja de x'kijit .....	20
Figura 7. Estructura genérica de una molécula de flavonoides.....	27
Figura 8. Estructuras moleculares de los componentes detectados por cromatografía de gases que pudieran estar presentes en el aceite esencial de <i>Renealmia alpinia</i> . .....	66
Figura 9. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , TMS, 400 MHz) del aceite de semillas de x'kijit hidrodestilado. ....	68
Figura 10. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , TMS, 400 MHz) del aceite de semillas de x'kijit hidrodestilado. ....	69
Figura 11. Diterpeno aislado del extracto hexánico de semillas de <i>Renealmia alpinia</i> .....	70
Figura 12. Expansiones de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , TMS, 400 MHz), Trazo inferior a) Del aceite esencial de semillas de x'kijit, trazo superior b) Del dialdehído puro aislado por cromatografía en columna. ....	70
Figura 13. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) publicado por la empresa Sigma-Aldrich-Merck del $\alpha$ -pineno .....	71
Figura 14. Expansión del espectro de RMN de $^1\text{H}$ del aceite esencial de <i>Renealmia alpinia</i> , donde se observan las señales que indican la presencia de $\alpha$ -pineno en este aceite.....	71

Figura 15. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 300 MHz ( $\text{CDCl}_3$ , TMS), publicado por la empresa Sigma-Aldrich-Merck del $\beta$ -pineno. ....	72
Figura 16. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ a 75 MHz ( $\text{CDCl}_3$ , TMS), publicado por la empresa Sigma-Aldrich-Merck del $\beta$ -pineno (Trazo superior) y a 100 MHz del aceite esencial de <i>Renealmia alpinia</i> (Trazo inferior). ....	73

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento otorgado para realizar los estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por la oportunidad y las facilidades brindadas para la formación académica y de investigación.

Al Laboratorio de Productos Naturales del Departamento de Preparatoria Agrícola por facilitar el acceso a sus instalaciones y poner a nuestra disposición lo necesario para el desarrollo de la fase de campo y experimental.

Al Dr. Benito Reyes Trejo por su disposición, orientación, aportes y paciencia brindadas en este trabajo de investigación.

A la Dra. Diana Guerra Ramírez por el apoyo, la confianza, enseñanzas y su invaluable amistad brindadas durante el camino.

A la Dra. Ma. Magdalena Rojas Rojas por explorar nuevas rutas tomados por la contingencia sanitaria, por la apertura, el seguimiento y atenciones brindadas en el transcurso de estos dos años.

Al Dr. Juan Guillermo Cruz Castillo por el asesoramiento, alegría y consejos para llevar a cabo este proyecto.

A la M.C. Magali Anabel Cañarejo Antamba por la capacitación técnica en laboratorio y sus enseñanzas en cromatografía en columna. A la M.C. Guillermina Hernández Rodríguez por las asesorías en el manejo de los equipos y metodologías de capacidad antioxidante. A la M.C. Rosa González Tepale por el adiestramiento impartido para el cromatógrafo de gases, así como a la M.C. Graciela Ávila Uribe para el manejo del software de este. A la M.C. Carla Zulema Jauregui García por su instrucción en el programa estadístico XLSTAT y sus pertinentes observaciones en los resultados de disposición a pagar.

## DEDICATORIAS

Dedicado al dador de vida, Dios, quién me concedió y sostuvo en esta aventura.

A mi tribu, por construir con el cauce del tiempo un nido firme y cálido, dónde detenemos la lluvia con el estruendo alegre de nuestros corazones. A ustedes por ser las raíces que sostienen mi ser, y la rama en la que me apoyo para los planos de vuelo que realizo. Cada uno con su particular cariño, han estado, guiando y dejándome explorar el mundo, con la certeza de la seguridad en la red bajo los pies del equilibrista.

Con quién escuché las estrellas en el césped frío y me sostuvo para no caer en la oscura calzada, ni en los remolinos de la mente. Aquella persona que me enseñó y procuró que fuera mejor, pero siempre trató de que mi sonrisa no se quedara sin gasolina. Llegar hasta aquí, en parte, ha sido porque no dejó que me rindiera en el primer round. Por su compañía, afectos y apoyo incondicional.

Para aquella navegante que, aunque los trazos en el mapa fueron distintos a las rutas tomadas, me ha compartido su luz, como faro a galeón, siendo mi Polaris en la oscuridad. Entre tesoros y naufragios, puertos y mareas, ha sido cómplice e incitadora del zarpar itinerante de mi curiosidad.

A quienes me brindaron el cálido cobijo de un abrazo, con oído atento y corazón dispuesto, por sus bellas palabras que dieron soporte en varios tramos donde los pasos desfallecieron. Aunque el distanciamiento fue inminente en estos años, las estrellas siguen iluminando a pesar de la distancia, gracias por construir conmigo constelaciones y galaxias.

Para el círculo virtuoso, que con amabilidad enseñó a estas manos a trabajar entre objetos de vidrio, coloridos líquidos y aparatos magistrales. A ellas, quienes

sembraron conocimientos en el campo mental dando como resultado el presente trabajo. Inyectamos las mañanas de café, pan y risas; compartimos hábitat y atardeceres. Caminamos por la sierra, donde los cerros se vistieron de cempaxúchitl, oímos reír los ríos desde la neblinosa cima y por unos días fuimos parte de una familia.

## **DATOS BIOGRÁFICOS**

### **Datos personales**

Nombre: Brenda Escutia Monroy

Fecha de nacimiento: 7 de febrero de 1987

Lugar de nacimiento: Distrito Federal, México

CURP: EUMB870207MDFSNR08

Profesión: Ingeniera Agrícola

Cédula Profesional: 9671109



### **Desarrollo académico**

Preparatoria: CECyT 1 “Gonzalo Vázquez Vela”. Instituto Politécnico Nacional

Licenciatura: Ingeniería Agrícola. Universidad Nacional Autónoma de México

## RESUMEN GENERAL

### Extractos antioxidantes de semillas de *Renealmia alpinia* como una alternativa de uso nutraceutico

El x'kjit (*Renealmia alpinia*) pertenece a la familia Zingiberaceae, y en México tiene una distribución en las zonas de la Sierra de Oaxaca, Puebla, Veracruz y Chiapas. En Ecatlán, Puebla se emplea en la elaboración de un platillo tradicional de temporada, sin embargo, las semillas residuales se desechan, cuyo valor agregado radica entre otras propiedades en la capacidad antioxidante de las mismas. Se prepararon extractos de hexano, etanol y metanol de las semillas, resultando el extracto metanólico el de mayor capacidad antioxidante, seguido por el extracto de metanol-agua al 80% (v/v), ambos ajustados a pH=3. El extracto etanólico desarrolló capacidad antioxidante moderada, por lo que se recomienda este extracto como aditivo de alimentos como una alternativa a los pobladores de Ecatlán, Puebla. Así mismo se obtuvo el aceite esencial de estas semillas, por hidrodestilación, empleando un destilador clewenger, este aceite fue analizado por cromatografía de gases, con detección por espectrometría de masas, el cromatograma obtenido indicó la presencia de al menos 10 componentes cuya identidad molecular puede asociarse con; Acetato de isoamilo, 2-tujeno, 3-bencilsulfonil-2,6,6-trimetilbicyclo (3.1.1) heptano,  $\beta$ -Pineno, acetato de mirtenoil, D-limoneno, 2-careno, pinocarveol, acetato de bornilo y óxido de aloaromandreno. Al comparar los componentes minoritarios de este aceite esencial con las fracciones obtenidas por cromatografía en columna del extracto de hexano utilizando la técnica de Resonancia Magnética Nuclear, se identificó un diterpeno de tipo dialdehído, previamente descrito. Como parte de esta investigación se determinó la disposición a pagar de los consumidores por productos nutraceuticos o alimentos adicionados con ellos, con la finalidad de ofrecer algún producto con base en semilla de x'kjit, resultando significativo que los consumidores están interesados en pagar un precio extra por nutraceuticos sin tomar en cuenta el origen o condiciones de la planta.

**Palabras clave:** *Renealmia alpinia*, antioxidantes, volátiles, disposición a pagar

## GENERAL ABSTRACT

### Antioxidant extracts from *Renealmia alpinia* seeds as an alternative of nutraceutical use

The x'kjit (*Renealmia alpinia*) belongs to the Zingiberaceae family, and in Mexico it is distributed in the areas of the Sierra de Oaxaca, Puebla, Veracruz and Chiapas. In Ecatlán, Puebla it is used in the preparation of a traditional seasonal dish, however, the residual seeds are discarded, whose added value lies among other properties in their antioxidant capacity of the same. Extracts of hexane, ethanol and methanol from the seeds were prepared, resulting in the methanolic extract being the one with the highest antioxidant capacity, followed by the extract of methanol-water at 80% (v / v), both adjusted to pH = 3. The ethanolic extract developed moderate antioxidant capacity, so this extract is recommended as a food additive as an alternative to the inhabitants of Ecatlán, Puebla. Likewise, the essential oil of these seeds was obtained by hydrodistillation, using a clevenger distiller, this oil was analyzed by gas chromatography with detection by mass spectrometry, the chromatogram with detection by mass spectrometry, the chromatogram obtained indicates the presence of at least 10 components whose molecular identity can be associated with: Isoamyl acetate, 2-tujene, 3-benzylsulfonyl-2,6,6-trimethylbicyclo (3.1.1) heptane,  $\beta$ -Pinene, myrtenyl acetate, D-limonene, 2-carene, pinocarveol, bornyl acetate and alloaromandrene . By comparing the minority components of this essential oil with the fractions obtained by column chromatography of the hexane extract using the Nuclear Magnetic Resonance technique, a diadehyde-type diterpene, previously described, was identified. As part of this research, the consumers' willingness to pay for nutraceutical products or foods added with them was determined, in order to offer a product based on x'kjit seed. It was found that consumers are interested in paying an extra price for nutraceuticals regardless of the origin or conditions of the plant.

**Keywords:** *Renealmia alpinia*, antioxidants, volatiles, willingness to pay



## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

En los países en desarrollo, como México, las plantas comestibles silvestres son un recurso importante para la alimentación de diversas comunidades rurales (Chaudhury et al., 2018). Los alimentos tradicionales son una fuente de nutrientes esenciales en una dieta balanceada, el consumo de este tipo de alimentos trae beneficios a los consumidores principalmente en los ámbitos de salud y longevidad (Hristov et al., 2017; Roche et al., 2017; Díaz et al., 2019). Se ha documentado que el valor nutricional y nutracéutico de los alimentos no convencionales, como las plantas silvestres de uso tradicional, es comparable y en algunos casos superior, al valor de los alimentos convencionales. (Chaudhury et al., 2018).

La biodiversidad de los ecosistemas en diferentes comunidades rurales propicia el desarrollo de una gran variedad de especies vegetales, que satisfacen, entre otras, las necesidades alimenticias de las personas que habitan estos espacios (Díaz et al, 2018). En particular, las características edafoclimáticas de la comunidad de Ecatlán, Municipio de Jonotla, Puebla, México, favorecen el crecimiento de *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maass, planta perteneciente a la familia Zingiberaceae (Negrelle, 2015) cuyos frutos son conocidos como x'kijit (masa rica, en el idioma Totonaco). De acuerdo con diversos estudios, *R. alpinia* también se localizan en las comunidades rurales de Veracruz, Oaxaca y Chiapas y se utiliza con fines medicinales y culinarios (Maas, 1977). Los arilos del fruto de x'kijit contienen proteína y grasa (4.2 y 8.6 %, respectivamente), vitamina C y compuestos fenólicos, mientras que el exocarpo es rico en antocianinas (Luna et al., 2018). En la comunidad de Ecatlán, los arilos del fruto de *R. alpinia* son aprovechados para preparar de un platillo tradicional, sin embargo, las semillas que representan un 48 % del fruto, la mayoría de las veces son desechadas y en algunas ocasiones su aceite se utiliza para preparar frituras (Martínez et al.,

1995). Cabe mencionar, que a partir de semillas del género *Renealmia* se han aislado e identificado flavonoides derivados de la narigenina y la catequina (Gilli et al., 2014), diarilheptanoides (Sekiguchi et al., 2002) y diterpenoides tipo labdano (Sekiguchi et al., 2001). Tanto los diarilhepanoides como los flavonoides son compuestos fenólicos, cuyas propiedades antioxidantes han sido extensamente estudiadas, por lo tanto, las semillas podrían ser utilizadas para preparar alimentos enriquecidos en compuestos bioactivos (Luna et al., 2018; Sandí, 2019).

Actualmente existe una tendencia de consumo de materiales vegetales nutraceuticos, que contienen sustancias bioactivas (Vasudevaiah et al., 2017). La adición de estos alimentos nutraceuticos a otro producto base ayuda a que tenga el consumidor una percepción y aceptación positiva del producto final. El consumidor basa su opinión en el origen del componente nutraceutico, y es probable que adquiera un producto si este componente tiene su origen de manera natural, sin embargo, las características sensoriales como el sabor, olor, color y textura determinan la elección y el éxito de los productos, dando las bases a que tenga disposición a pagar por el mismo (Kraus et al., 2017; Boccia & Punzo, 2020).

El objetivo de este proyecto fue determinar la capacidad antioxidante del aceite y extractos de semillas de x'kijit (*Renealmia alpinia*) para proponer un uso alternativo a la semilla y ser empleada por los pobladores de Ecatlán en un producto de fácil elaboración y de interés para los consumidores.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Plantas comestibles silvestres

Las poblaciones nativas de México han mantenido una estrecha relación las culturas que las rodean, desde tiempos prehispánicos (Lascurain et al., 2010). Actualmente en se pueden encontrar en nuestro país alrededor de 23 500 especies de plantas silvestres (Gerique, 2006), sin embargo, Lascurain et al., (2010) indican que el aprovechamiento de estos recursos vegetales se encuentra intrínsecamente ligado con las comunidades rurales, ya que el uso de estas especies vegetales permiten la supervivencia y dan les dan identidad ya que forman parte de sus tradiciones (vestimenta y festividades), teniendo también usos nutricionales y medicinales, generando recursos económicos ya que en algunas regiones son utilizadas como materia prima para la elaboración productos gastronómicos tradicionales, así como, artesanías (Lara, 2013).

Actualmente las plantas silvestres comestibles se enfrentan a una serie de problemas, como consecuencia de la actividad humana y la globalización, entre estos problemas destacan los ecológicos y sociales: Pérdida de la biodiversidad, del paisaje natural y el cambio del manejo de los recursos naturales; mientras que la reducción de conocimientos y saberes empíricos, así como la extinción de las lenguas indígenas (Boege 2006; Ramírez, 2007). En la zona de montaña del estado de Puebla, región totonaca, existe gran variedad de ejemplares vegetales que se están estudiando y son usadas popularmente por los habitantes, como el caso de las diferentes variedades de uvas silvestres (*Vitis* spp.) cuyo fruto ha sido aprovechado en consumo directo y, también en la elaboración de bebidas frescas y licores, mientras que las hojas se utilizan en el tratamiento de fiebre y como antifúngico podológico; dichas uvas silvestres han sido agrupadas por coordenadas geográficas y características fisiológicas (Gaona et al. 2010).En la presente

investigación se aborda un estudio agroalimentario y nutraceútico del X'kijit (*Renealmia alpinia*), planta silvestre comestible arraigada en la Sierra Norte de Puebla.

### 2.2.1. X'kijit (*Renealmia alpinia*)

El género *Renealmia* L. f (Zingiberaceae) se distribuye por las regiones tropicales de América y África, consta de 85 especies, de las cuales en México se han identificado cuatro especies: *Renealmia cenua*, *Renealmia mexicana*, *Renealmia occidentalis* y *Renealmia alpinia* (MASS, 1997). En este trabajo se estudió *Renealmia alpinia*, también conocida como X'kijit (en lengua totonaco), es una planta silvestre comestible que crece y se aprovecha en el estado de Puebla, México (Jimenez et al., 2018). El X'kijit es una planta rizomatosa aromática con una altura de 2 a 6 m, con hojas elípticas, inflorescencia basal de 0.12 a 0.55 m y sus frutos son capsulas de color rojizo a morado, éstos son comestibles, la pulpa de sus semillas es de color amarillo y es utilizada en la gastronomía local, sin embargo, el pericarpio y las semillas se desechan (Barco, 2002).



Figura 1. Planta de *Renealmia alpinia*  
Fuente: Propia



Figura 2. Fruto inmaduro de *R. alpinia*  
Fuente: Propia



Figura 3. Fruto maduro de *Renealmia alpinia*  
Fuente: Propia



Figura 4. Cáscara, arilo y semillas  
Fuente: Propia



Figura 5. Sopa de x'kijit  
Fuente: Propia



Figura 6. Tamales envueltos en hoja de x'kijit  
Fuente: Propia

### 2.1.1.1 Usos del x'kijit

Al ser una planta silvestre comestible tiene usos tradicionales, en x'kijit es utilizado por la etnia Totonaca de la Sierra Norte de Puebla, en comunidades como Ecatlán, Municipio de Jonotla, las personas preparan una especie de sopa a partir de los arilos de *Renealmia alpinia*. Este platillo se acompaña de tortillas o guisos tradicionales. Las hojas de *R. alpinia* son utilizadas para envolver tamales o empanadas, así mismo, las vainas foliares se utilizan de manera rudimentaria en la agricultura en la siembra de maíz (Macia, 2003); el x'kijit es base de platillos tradicionales alrededor del mundo, por ejemplo, en Ecuador se elabora un platillo tradicional denominado Tonga (Van den Veerle et al., 2004); Espinosa, (2014) reportó que en Perú se utiliza para preparar un platillo denominado Patarash, también se ha innovado en la industria alimentaria del país inca para elaborar una bebida alcohólica tipo Ginebra seco a partir de la maceración de las semillas de x'kijit, con enebro (*Juniperus communis*) y semillas de cilantro (*Coriandrum sativum*).

A partir del pericarpio del X'kijit se pueden obtener colorantes naturales, los cuales pueden variar su color de acuerdo con los cambios de pH y diferentes disolventes, obtenido colorantes con tonalidad de amarillo a naranja, mientras que de las raíces se han identificado tonos de color rosa, marrón, hasta azul oscuro (Noriega et al., 2011). Por otra parte, Gómez & Benjumea (2014), han determinados efectos analgésicos significativos en extractos acuosos y metanólicos obtenidos de las hojas de *Renealmia alpinia*, debido al contenido de ciertos flavonoides que proporcionan estas propiedades.

*Renealmia alpinia* ha sido estudiada por su actividad analgésica (Patiño et al., 2013); mientras que Gomez-Betancour et al., (2014) han identificado a la flavanona pinostrobin como el principal compuesto que posee propiedades inhibitorias contra el veneno de víbora (*Bothrops atrox-asper*); mientras que Patiño et al., (2013) han investigado la producción de planta de *Renealmia alpinia* en cultivo a condiciones controladas y a gran escala, con la finalidad de propagar el material vegetal para próximas investigaciones.

## **2.2. Extractos naturales**

Los extractos naturales son preparaciones obtenidos a partir de material vegetal, tienen consistencia líquida, semi sólida y sólida; se elaboran a partir de la base de un material vegetal triturado, el cual se pone en contacto con un líquido o disolvente de extracción (Ortuño, 2006), sin embargo, cuando los extractos se obtienen con un fin específico se utiliza una o más partes del material vegetal y técnicas específicas que permitan detectar, determinar o cuantificar ciertos metabolitos secundarios o principios activos (Moncayo, 2020).

En los últimos años el estudio de extractos obtenidos a partir de plantas ha tomado relevancia científica, ya que se han identificado diferentes compuestos obtenidos a partir de plantas, frutos y materia vegetal, como es el caso de: ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -Tocoferol (vitamina E), compuestos fenólicos, carotenoides, y flavonoides, los cuales son una fuente de antioxidantes naturales y se utilizan en las industrias: farmacéutica, alimentos y medicina (Keeton et al., 2001).

Para la obtención de extractos se utilizan generalmente disolventes orgánicos que penetran en la materia vegetal y disuelven los metabolitos. Posteriormente los disolventes se eliminan por evaporación a baja temperatura, obteniendo la fracción deseada, uno de los disolventes orgánicos de mayor uso en este tipo de técnicas es el etanol, ya que permite extraer una amplia gama de principios activos de gran interés en la determinación de un perfil fitoquímico que justifique la actividad biológica de cualquier planta (Sharapin, 2000).

### **2.2.1. Importancia y uso**

Los extractos vegetales tienen una gran importancia en las investigaciones actuales, ya que, al provenir de plantas medicinales con principios activos identificados, los vuelve seguros sin efectos secundarios para el medio ambiente y además de costos económicos, a diferencia de los extractos comunes (Van Hai, 2015). En los últimos años tiene gran relevancia el estudio en la prevención de enfermedades humanas y su relación con los compuestos bioactivos de origen

natural, en extractos de especies vegetales, se han identificado terpenos y compuestos terpenoides asociados a los neuroprotectores (Sánchez et al., 2021), los cuales son relacionados con las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, y los mecanismos de acción de dicha actividad biológica (do Nascimento et al., 2018).

Los compuestos antioxidantes obtenidos a partir de extractos vegetales son los compuestos más atractivos para las investigaciones actuales, en frutas se han realizado numerosos estudios relacionados con el potencial antioxidante de ciruela, extracto de semilla de uva, arándano, granada y gayuba, y sus efectos sobre productos cárnicos (Karre et al., 2013). Por su parte, Baharvand, & Asadi, (2017) ha identificado compuestos con actividad antihipertensiva en planta medicinales nativas de Irán, mientras que, Meresa, et al., (2017) identificaron beneficios antihipertensivos en extractos de plantas nativas de Etiopia.

#### 2.2.2. Métodos de extracción

Actualmente existen diversas metodologías empleadas en la obtención de extractos naturales con fines de identificación de compuestos bioactivos, todos los métodos tienen como objetivo presentar alta eficiencia de extracción, ser factibles tecnológicamente, reproducibles y conservar la bioactividad de los extractos (Bernal, 2012), sin embargo, no existe un método estandarizado para la extracción de todos los compuestos fitoquímicos de las plantas, ya que éstos dependen de la naturaleza del compuesto en estudio (Palmer & Chaguturu, 2017). Los métodos de extracción tradicional son: Maceración, extracción Soxhlet e hidrodestilación (Azmir et al., 2013).

La maceración surge a partir de técnicas rudimentarias en la elaboración de tónicos caseros, por sus bondades se ha convertido en una técnica económica y popular de obtener aceites esenciales y compuestos bioactivos, consta de sencillos pasos: comenzando por la trituración de materiales vegetales en partículas pequeñas, esta operación es útil para aumentar el área de superficie del material vegetal y para mezclar adecuadamente con el disolvente; como siguiente paso se agrega el disolvente apropiado denominado menstuo en un recipiente cerrado; y finalmente

el líquido se filtra, el residuo sólido de este proceso de extracción, se prensa para recuperar una gran cantidad de soluciones ocluidas. Al líquido colado obtenido se separan de las impurezas por filtración (Azmir et al., 2013).

Extracción mediante Soxhlet creado por (Soxhlet, 1879), consiste en un instrumento que tiene como objetivo la extracción de lípidos, sin embargo, actualmente se utiliza para la extracción de valiosos compuestos bioactivos de diversas fuentes vegetales (Azmir et al., 2013).

Hidrodestilación es un método tradicional para la extracción de compuestos bioactivos y aceites esenciales de plantas, no intervienen disolventes orgánicos. Este procedimiento se puede aplicar antes de la deshidratación de los materiales vegetales; existen tres tipos de hidrodestilación: Destilación de agua, destilación de agua y vapor y destilación de vapor directo (Vankar, 2004). El instrumento Clevenger es el más utilizado en la hidrodestilación de acuerdo con las técnicas dadas en el AOAC (Ertl, 1997). En la hidrodestilación, en primer lugar, los materiales vegetales se envasan en un compartimento de destilación; en segundo lugar, se agrega agua en cantidad suficiente y luego se lleva a ebullición; alternativamente, se inyecta vapor directo en la muestra de vegetal. El agua caliente y el vapor actúan como los principales factores que influyen en la liberación de compuestos bioactivos del tejido vegetal. El enfriamiento indirecto por agua condensa la mezcla de vapor de agua y aceite. La mezcla condensada fluye del condensador a un separador, donde el aceite y los compuestos bioactivos se separan automáticamente del agua (Silva et al., 2005). La hidrodestilación implica tres procesos fisicoquímicos principales; Hidrodifusión, hidrólisis y descomposición por calor. A una temperatura de extracción alta se pueden perder algunos componentes volátiles. Este inconveniente limita su uso para la extracción de compuestos termolábiles (Azmir, et al., 2013).

### **2.3. Compuestos antioxidantes**

La oxidación es uno de los procesos más comunes en los seres vivos, es una de las causas de enfermedades y patogénesis, en los seres humanos. Durante los procesos de oxidación se producen moléculas llamadas radicales libres, las cuales están en continua formación en el interior de las células, éstos son neutralizados de manera natural por el organismo, sin embargo, un desequilibrio de los radicales libres pueden producir diversas enfermedades (Bray, 2000). Entre las cuales se tienen: Alzheimer, enfermedades intestinales y ciertos tipos de cáncer (Stadtman 2006). La OMS (1990) recomienda la ingesta de alimentos que contengan sustancias antioxidantes como, la fuente principal de estos compuestos. Los estudios para caracterizar fuentes naturales ricas en antioxidantes han tomado importancia en los últimos años (Granato et al., 2017). Se han realizado diversas investigaciones para identificar compuestos con actividad antioxidante en alimentos (Girgih et al., 2014). Como resultado se han aislado péptidos antioxidantes de productos alimenticios como chícharo, soya, linaza, pescado, caseína, suero de leche, quesos, huevo, entre otros (Bhandari et al., 2020). La principal función de los compuestos con capacidad antioxidante es inducir o participar en reacciones de transferencia de electrones (Huang et al., 2005), por lo que se considera que las cadenas de aminoácidos tienen la capacidad de transferir electrones a un pH fisiológico evitando los procesos de oxidación (Poljsak et al., 2013)

#### **2.3.1. Fenoles**

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, cuya biosíntesis deriva de las vías de la pentosa fosfato, éstos son de los grupos de fitoquímicos más comunes en las plantas, tienen una importancia fisiológica; los fenoles juegan un papel importante en el crecimiento y la reproducción, ya que brindan protección contra patógenos y depredadores (Bravo, 1998). Además de contribuir al color y características sensoriales de frutas y verduras (Alasalvar et al., 2001), los compuestos fenólicos presentan un sin número de propiedades fisiológicas, tales como efectos antialérgicos, antiinflamatorios, antimicrobianos, antioxidantes, antitrombóticos, cardioprotectores y vasodilatadores (Mazur, et al., 2005; Middleton

et al. 2000; Puupponen-Pimiä et al., 1999). Los efectos beneficiosos derivados de los compuestos fenólicos se han atribuido a su actividad antioxidante (Heim et al., 2002).

Bravo (1998) describe que la estructura de los compuestos fenólicos se encuentra conformada principalmente por un anillo aromático, que contiene uno o más sustituyentes hidroxilo; éstos van desde moléculas fenólicas simples hasta compuestos complejos, altamente polimerizados. La mayoría de los compuestos fenólicos de origen natural, se encuentran conjugados con mono y polisacáridos unidos a uno o más grupos fenólicos, así mismo, pueden encontrarse derivados funcionales, ésteres y ésteres metílicos (Puri & Hall, 1998). Los ácidos fenólicos, los flavonoides y los taninos se consideran los principales compuestos fenólicos de la dieta (King & Young, 1999), en el Cuadro 1, se muestra la principal clasificación de los compuestos fenólicos obtenidos en plantas.

Cuadro 1. Clasificación de los compuestos fenólicos en plantas.

<b>Clase</b>	<b>Estructura</b>
Fenólicos simples, benzoquinonas	$C_6$
Ácidos hidroxibenzoicos	$C_6 - C_1$
Acetofenonas, ácidos fenilacéticos	$C_6 - C_2$
Ácidos hidroxicinámicos, fenilpropanoides (cumarinas, isocumarinas, cromonas, cromenos)	$C_6 - C_3$
Naftoquinonas	$C_6 - C_4$
Xantonas	$C_6 - C_1 - C_6$
Estilbenos, antraquinonas	$C_6 - C_2 - C_6$
Flavonoides, isoflavonoides	$C_6 - C_3 - C_6$
Lignanós, neolignanós	$(C_6 - C_3)_2$
Biflavonoides	$(C_6 - C_3 - C_6)_2$
Lignanós	$(C_6 - C_3)_n$
Taninos condensados (proantocianidinas o flavolanos)	$(C_6 - C_3 - C_6)_n$

Fuente: Puri & Hall (1998).  
Elaboración propia.

### 2.3.2. Flavonoides

Los flavonoides constituyen el grupo más grande de fenoles vegetales (Puri & Hall, 1998), pertenecen a la clasificación del grupo de los polifenoles, son metabolitos secundarios originados en plantas, su estructura general consta de 15 átomos de carbono, los cuales se encuentran distribuidos en dos anillos bencénicos fijados al anillo heterocíclico (Brodowska, 2017); están predispuestos a una configuración  $C_6 - C_3 - C_6$ , su estructura está compuesta por dos anillos aromáticos A y B, unidos entre sí por un puente de tres carbonos que forman el anillo heterocíclico, C

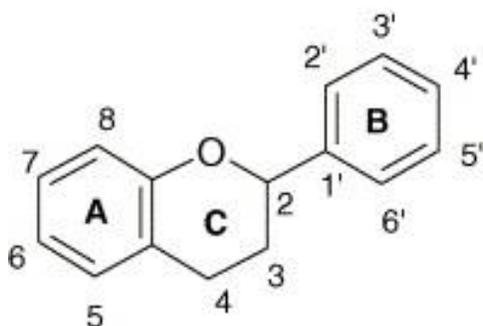


Figura 7. Estructura genérica de una molécula de flavonoides.  
Fuente: (Balasundram, Sundram, & Samman, 2006).

El anillo aromático A se deriva de la vía del acetato - malonato, mientras que el anillo B se deriva de la fenilalanina a través de la vía del shikimato (Merken & Beecher, 2000). Las variaciones en los patrones de sustitución del anillo C dan como resultado las principales clases de flavonoides: flavonoles, flavonas, flavanonas, flavonoides (o catequinas), isoflavonas, flavanoles y antocianidinas (Hollman & Katan, 1999). Los flavonoides son los precursores y responsables del brindar sabor dulce a alimentos (cítricos, vino, cerveza, etc.), debido a la presencia de complejos con azúcares (carotenoides glicosídicos y antocianinas), además que pueden ser utilizados como colorantes naturales en el caso de las antocianinas con flavonas (Brodowska, 2017). Di Majo et al., (2014), han reportado que los grupos hidroxilo pertenecientes a la estructura de los flavonoides son los responsables de la actividad antioxidante, ya sea por formación de complejos quelantes de metales o por captación de radicales libres.

### 2.3.3. Métodos de determinación de capacidad antioxidante

La determinación de la capacidad antioxidante de los extractos naturales se realiza principalmente mediante metodologías de captación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en Ingles, *reactive oxygen species*), dependiendo de las reacciones químicas involucradas, estos ensayos se clasifican en dos categorías: Transferencia de átomos de hidrogeno (HAT) y reacción de transferencia de un solo electrón (ET); por lo tanto, los resultados finales dependerán del mecanismo involucrado (Shahidi, & Zhong, 2015). En el Cuadro 2, se observan en los ensayos químicos más utilizados para la medición de actividad antioxidante.

Cuadro 2. Ensayos basados en la eliminación de las principales especies reactivas de oxígeno (ROS) y el potencial REDOX.

Nombre del ensayo	TIPO de ensayo	Mecanismo dominante	Oxidante	Investigación	Detección	Referencia
ORAC	Eliminación de ROS	HAT	Radical peroxilo generado por AAPH	Fluoresceína	Fluorometría	Prior et al., 2005
Quimioluminiscencia	Eliminación de ROS	HAT	Peróxido de hidrógeno	Luminol	Fluorometría	Papadopoulos et al., 2003
Eliminación de DPPH	Eliminación de ROS	ET	Radical DPPH	Radical DPPH	Espectrofotometría o EPR	Blois, 1958
TEAC	Eliminación de ROS	ET	Catión radical ABTS	Catión radical ABTS	Espectrofotometría	Miller et al., 1993
FRAP	Potencial REDOX	ET	Fe <sup>3+</sup>	Ferricianuro	Espectrofotometría	Pascual-Reguera et al., 1998

CUPRAC	Potencial REDOX	ET	Cu <sup>2+</sup>	Neocuproína	Espectrofotometría	Apak et al., 2004
Ag <sup>+</sup> reductor	Potencial REDOX	ET	Ag <sup>+</sup>	Nanopartícula de Ag	Resonancia de plasmones superficiales	de Özyürek et al., 2012
Au <sup>3+</sup> reductor	Potencial REDOX	ET	Au <sup>3+</sup>	Nanopartícula de Au	Voltametría cíclica	Andreu-Navarro et al., 2011
CERAC	Potencial REDOX	ET	Ce <sup>4+</sup>	Tinte carmín índigo	Espectrofotometría	Ozyurt et al., 2010
CHROMAC	Potencial REDOX	ET	Cr <sup>6+</sup>	Complejo Cr <sup>3+</sup>	Espectrofotometría	Isik et al., 2013

---

AAPH, diclorhidrato de 2,2'-azobis (2-amidinopropano); DPPH, 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo; ABTS, ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico).

Elaboración propia.

## 2.4. Aceites esenciales

Los aceites esenciales (AE) son compuestos derivados del metabolismo vegetal de las plantas, son fracciones líquidas que proporcionan aromas y sabores característicos a la planta, éstos están almacenados en las glándulas o vesículas secretoras en los tejidos de las plantas: hojas, flores, corteza o pericarpio y semillas (Torrenegra et al., 2015). Un aceite esencial puede tener alrededor de 50 a 300 compuestos químicos, los cuales pertenecen a los grupos: compuestos fenólicos, terpénicos, éteres, aldehídos, cetonas, ésteres, hidrocarburos, alcoholes, fenilpropanoides, entre otros (Moreno et al., 2006). Diversas investigaciones han demostrado que los aceites esenciales poseen diversas propiedades medicinales, por su actividad antimicrobiana, antiviral, antiinflamatoria, anticancerígena, antioxidante, insecticida, entre otras (García et al., 2017).

Los principales métodos de extracción de AE son: hidrodestilación (HD), destilación por arrastre con vapor de agua, destilación-extracción con disolvente (DES), *Head-Space* (HS), hidrodestilación asistida por la radiación con microondas (MWHD) y destilación con fluidos supercríticos (FSC), ; este último método ha adquirido gran importancia debido a la utilización de CO<sub>2</sub> como disolvente, debido a que no es tóxico, ni explosivo, además es fácil de remover y no deja residuos tóxicos en el AE (Matiz et al., 2012; Torrenegra et al., 2015),

### 2.4.1. Perfil de volátiles

Las plantas sintetizan y emiten una gran variedad de compuestos orgánicos volátiles, los cuales poseen funciones ecológicas importantes. En la mayoría de los casos, a temperatura ambiente los compuestos orgánicos volátiles de las plantas son gases (Dong et al., 2016). Los compuestos orgánicos volátiles son importantes para las plantas, como mecanismos de defensa para repeler insectos o detener la colonización por bacterias y hongos patógenos, para promover la reproducción, al atraer polinizadores o dispersores de semillas, son mensajeros intraespecíficos e interespecíficos (Dicke et al., 2017). La mayoría de los

compuestos orgánicos volátiles de las plantas son productos o subproductos de rutas metabólicas primarias, con base en su origen biosintético, los compuestos orgánicos volátiles se dividen en cuatro principales vías metabólicas: 1) del shikimato-fenilalanina; 2) del ácido mevalónico (MVA); 3) del metileritritol fosfato (MEP); y 4) de la lipoxigenasa (LOX), estas vías regulan la emisión de compuestos benzenoides, penilpropanoides, sesquiterpenos, monoterpenos, hemiterpenos, diterpenos, volátiles derivados de carotenoides y metil jasmonato, así como volátiles de hoja verde (Dudareva et al., 2013).

Los terpenos representan el grupo más diverso de compuestos volátiles, los cuales se clasifican de acuerdo con el número de carbonos en su cadena, incluidos hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpeno (C15), homoterpenos (C11 y C16), algunos diterpenos (C20) y triterpeno (C30), también están los compuestos de azufre orgánicos volátiles como el dimetilsulfuro y el metanotiol (Vivaldo et al., 2017). Los terpenos son los principales compuestos volátiles reportados en semilla de *Renealmia alpinia*, los componentes que se encuentran en mayor proporción son 88 % de monoterpenos hidrocarbonados de los cuales, el  $\beta$ -pineno (22 %), limoleno (18.4 %), y  $\beta$ -felandreno (38 %) fueron los predominantes (Lognay et al., 1991).

## **2.5 Alimentos nutraceuticos**

El término nutraceutico se le atribuye a Stephen De Felice, quien definía que era un alimento o parte de este que aporta beneficios a la salud, procurando que con su ingesta se prevengan enfermedades o ayuden a los pacientes a su recuperación, sin embargo, no curan estas, solo aumentan la inmunidad. (Vainio & Mutanen, 2000; Ernst, 2001).

Los nutraceuticos son concentrados de sustancias bioactivas aisladas y que se presenten y obtienen de los alimentos, pero en una concentración mayor de la que se hayan en ellos. La diferencia entre un medicamento y un nutraceutico es el origen de la sustancia activa, ya que en el medicamento se obtiene por síntesis en un laboratorio y el segundo es de origen biológico y natural. Son un

complemento dietético que se encuentran en el mercado en una matriz no alimenticia, como puede ser encapsulados, en polvo, etc. (Martin, 1999; Basdevant et al., 2000; Kalra, 2003).

### 2.5.1 Clasificación de los nutraceúticos

Los nutraceúticos se pueden clasificar como tradicionales, no tradicionales, sustancias con funciones nutricionales establecidas, hierbas o productos botánicos, reactivos derivados de otras fuentes, probióticos y prebióticos, ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas antioxidantes, polifenoles y especias.

Un nutraceútico tradicional es aquél que ya viene dentro de un alimento, como el licopeno en el jitomate, aportando activamente beneficios por su capacidad antioxidante como preventivo del cáncer. El nutraceútico no tradicional es aquél que complementa la dieta con la adición de nutrientes, tal es el caso de los micronutrientes.

Las sustancias con funciones nutricionales establecidas incluyen a las vitaminas, las más comunes son la vitamina A, B, C, D y E; y los minerales como Calcio, Zinc y Hierro.

Las hierbas o productos botánicos son la planta propiamente dicha o extractos y concentrados de ellas. Como reactivos derivados de otras fuentes se cuenta con la glucosamina, condroitina, flavonoides, fibra dietética y fitoquímicos. Los prebióticos y probióticos son benéficos para la flora intestinal, ya que los probióticos son los microorganismos que habitan en sitios específicos del colon y que con las fibras prebióticas que son su alimento reducen la población de patógenos.

Los ácidos poliinsaturados como el omega-3 y omega-6 no son sintetizados en el cuerpo humano, pero se obtienen de fuentes como el pescado y algunas semillas. Los antioxidantes son la defensa contra los radicales libres que originan el cáncer. Los polifenoles, como los ácidos fenólicos y los flavonoides se obtienen de fuentes vegetales, y son metabolitos secundarios que cumplen la misión de

protección en las plantas. Por último, las especias son fuente de sabor y aroma en la gastronomía, y suelen ser usadas por las comunidades como medicinales, colorantes, plaguicidas y para elaborar artículos de higiene personal (Rajat et al., 2012.).

### 2.5.2 Disposición a pagar por alimentos nutraceuticos

La Disposición A Pagar (DAP) pondera la valoración de los consumidores por los atributos de los productos, determinando el sobreprecio que pagaría por dicho producto (Hanemann, 1991). Atributos específicos en los alimentos como los beneficios a la salud, son de interés en la toma de decisiones del área de marketing en la industria alimentaria y en las políticas públicas de salud en determinado país por su impacto social (Dolgopolova & Teuber, 2018). Sin embargo, existen otras motivaciones, además de la salud, porque los consumidores prefieren los dichos alimentos, y tienen que ver con aspectos sociales, al ser considerados productos de lujo y, hedónicos, relacionados a la motivación de autocontrol (Barauskaite, et al., 2018).

La disposición a pagar y las decisiones de compra de alimentos nutraceuticos están relacionados con las características sensoriales del producto, el precio, nivel de vida de los compradores, la marca y, los distintivos en el empaque sobre las propiedades benéficas. Otros factores de influencia son las prescripciones médicas, la relación entre el producto y el ingrediente nutraceutico, así como las técnicas de elaboración (Plasek & Temesi, 2019).

Se tienen ideas preconcebidas sobre el perfil consumidor de alimentos saludables, tales como, un grado de estudios a nivel licenciatura, en su mayoría del sexo femenino por ser las encargadas de las compras de alimentos, o consumidoras de la tercera edad. La creencia de que los alimentos benéficos a la salud se correlacionan positivamente con los alimentos nutraceuticos y funcionales. El conocimiento de los beneficios a la salud, las creencias acerca de este tipo de alimentos y la presencia de al menos un familiar enfermo en las familias, superan las condiciones sociodemográficas de los consumidores. Se ha notado que el impacto de los conocimientos para la aceptación de productos

nutraceúticos va declinando con respecto a la edad, teniendo su cúspide entre edades juveniles (Verbeke, 2005).

En Canadá se realizó un estudio para identificar quienes consumían alimentos funcionales y nutraceúticos, clasificando a dos tipos de consumidores, en uno de ellos, personas mayores, de un nivel de ingresos bajos, nivel educativo menos formal; representado por habitantes de zonas rurales. El otro tipo de consumidor no estaba tan receptivo a los alimentos funcionales y nutraceúticos, si no a “alimentos para el bienestar general”, siendo estos jóvenes, niveles altos de educación formal por lo tanto con un nivel de ingresos alto; representado por habitantes de zonas urbanas. El segundo tipo de consumidores no está realmente preocupado por problemas a la salud, teniendo a su favor mayores conocimientos acerca de enfermedades, eligiendo otras opciones de alimentación benéficas a través de alimentos convencionales (Herath et al., 2008).

Por esta razón se decidió hacer una investigación que aprovechara el desperdicio de una fruta consumida en la Sierra Norte de Puebla, conocida como x'kjit, de la cual se ha estudiado la capacidad antioxidante del fruto en cuanto a cáscara y arilo, teniendo la semilla poco protagonismo en investigaciones, por lo que se determinó la capacidad antioxidante del aceite y del extracto alcohólico de semilla, para ser aprovechada por los pobladores de Ecatlán, Puebla y ofrecer un producto en base a la semilla, por ello también se investigó a cerca de la disposición a pagar de un producto adicionado con el extracto o semilla molida del x'kjit.

## 2.4 Bibliografía

- Alasalvar, C., Grigor, J. M., Zhang, D., Quantick, P. C., & Shahidi, F. (2001). Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1410-1416.
- Andreu-Navarro, A., Fernández-Romero, J. M., & Gómez-Hens, A. (2011). Determination of antioxidant additives in foodstuffs by direct measurement of gold nanoparticle formation using resonance light scattering detection. *Analytica chimica acta*, 695(1-2), 11-17.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Baharvand-Ahmadi, B., & Asadi-Samani, M. (2017). A mini-review on the most important effective medicinal plants to treat hypertension in ethnobotanical evidence of Iran. *Journal of nephro pharmacology*, 6(1), 3.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.
- Barauskaite, D., Gineikiene, J., Fennis, B. M., Auruskeviciene, V., Yamaguchi, M., & Kondo, N. (2018). Eating healthy to impress: How conspicuous consumption, perceived self-control motivation, and descriptive normative influence determine functional food choices. *Appetite*, 131, 59-67.
- Barco, M. J. M. (2002). "*Renealmia alpinia*" (Rottb.) Maas (Zingiberaceae): planta comestible de la Sierra Norte de Puebla (México). *In Anales del Jardín Botánico de Madrid* (Vol. 60, No. 1, pp. 183-188). Real Jardín Botánico.
- Basdevant A, Cudennec CA, Lehner JP. (2000). Health foods: definitions, status, public health. Round table no. 4. XV. *Thérapie*; 55:555-60.
- Bernal-Rodríguez, C. A. (2012). Contribución al estudio farmacotécnico del extracto estandarizado de frutos de *Physalis peruviana* L. con miras a la obtención de un producto fitoterapéutico. Departamento de Farmacia.
- Bhandari, D., Rafiq, S., Gat, Y., Gat, P., Waghmare, R. y Kumar, V. (2020). A review on bioactive peptides: physiological functions, bioavailability and safety. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26 (1), 139-150. doi.org/10.1007/s10989-019-09823-5.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Boccia, F., & Punzo, G. (2020). Nutraceuticals: Some remarks by a choice experiment on food, health and new technologies. *Food Research International*, 130, 108888.

- Boege, E. (2006). Territorios y diversidad biológica. Luciano Concheiro y Francisco López Bárcenas (coords.) Biodiversidad y conocimiento tradicional en la sociedad rural, México: Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.
- Bray, T. M. (2000). Dietary antioxidants and assessment of oxidative stress. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif.), 16 (7-8), 578-581. doi.org/10.1016/S0899-9007(00)00365-8.
- Brodowska, K. M. (2017). Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *European Journal of Biological Research*, 7(2), 108-123.
- Chaudhury, S., Rahaman, C. H., Singh, H., Chaudhuri, K., Pillai, B., & Seal, T. (2018). *Dioscorea alata*: A potent wild edible plant consumed by the Lodha Tribal community of West Bengal, India. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(2), 654-663.
- D. Ozyurt, B. Demirata, R. Apak. (2010). Modified cerium(IV)-based antioxidant capacity (CERAC) assay with selectivity over citric acid and simple sugars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 pp. 282-288
- Díaz, S., Pascual, U., Stenseke, M., Martín-López, B., Watson, R. T., Molnár, Z., ... Shirayama, Y. (2018). *Assessing nature's contributions to people*. *Science*, 359(6373), 270–272.
- Díaz-José, J., Guevara-Hernández, F., Morales-Ríos, V., & López-Ayala, J. L. (2019). Traditional Knowledge of Edible Wild Plants Used by Indigenous Communities in Zongolica, Mexico. *Ecology of Food and Nutrition*, 1–16.
- Dicke, M. and Baldwin, I. T. (2010). The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help'. *Trends Plant Sci.* 15(3):167-175.
- do Nascimento, K. F., Moreira, F. M. F., Santos, J. A., Kassuya, C. A. L., Croda, J. H. R., Cardoso, C. A. L. & Formagio, A. S. N. (2018). Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. *Journal of ethnopharmacology*, 210, 351-358.
- Dolgoplova, I., & Teuber, R. (2018). Consumers' Willingness to Pay for Health Benefits in Food Products: A Meta-Analysis. *Applied Economic Perspectives and Policy*, 40(2), 333-352.
- Dong, F.; Fu, X.; Watanabe, N.; Su, X. and Yang, Z. (2016). Recent advances in the emission and functions of plant vegetative volatiles. *Molecules*. 21(2):1-10.
- Dudareva, N.; Klempien, A.; Muhlemann, J. K. and Kaplan, I. (2013). Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytol.* 198(1):16-32.
- Ernst E. (2001). Functional foods, nutraceuticals, designer foods: innocent fad or counterproductive marketing ploy? *Eur J Clin Pharmacol*; 57: 353-5.

- Ertl, F. (1997). Procedure modification of AOAC official method 962.17, volatile oils in spices. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists International*, 80(4), 901–910
- Espinosa, L., González A., & Hernández, L. (2014) RECETARIO GASTRONOMICO DEL MUNICIPIO DE PUERTO NARIÑO – AMAZONAS Y SUS COMUNIDADES ALEDAÑAS “Preparaciones Culinarias Tradicionales de los pueblos Ticunas, Cocamas y Yaguas”.
- Gaona, G. L., Castillo, J. G. C., Portilla, E. P., Vargas, A. L., Sánchez, M. S., & Mora, O. F. (2010). Distribución geográfica y aprovechamiento de las uvas silvestres (*Vitis* spp.) de la región Totonaca en la Sierra Norte de Puebla. *Revista de geografía agrícola*, (45), 39-47.
- García, L. T., Leal, A. F., Moreno, É. M., Stashenko, E. E., & Arteaga, H. J. (2017). Differential anti-proliferative effect on K562 leukemia cells of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils produced under diverse growing, collection and extraction conditions. *Industrial Crops and Products*, 96, 140-148.
- Gerique, A. (2006). An introduction to ethnoecology and ethnobotany: Theory and methods. Integrative assessment and planning methods for sustainable agroforestry in humid and semiarid regions. *Advanced Scientific Training*. Loja.
- Gilli, C., Orlowska, E., Kaiser, D., Steyrer, J., Rathgeb, A., Lorbeer, E., Schinnerl, J. (2014). Diarylheptanoids, flavonoids and other constituents from two neotropical *Renealmia* species (Zingiberaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 56, 178-184.
- Girgih, A. T., He, R., Malomo, S., Offengenden, M., Wu J., Aluko, R. E. (2014) Structural and functional characterization of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein-derived antioxidant and antihypertensive peptides. *Journal Functional Foods*, 6: 384–394. doi.org/10.1016/j.jff.2013.11.005.
- Gómez-Betancur, I., & Benjumea, D. (2014). Traditional use of the genus *Renealmia* and *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas (Zingiberaceae)-a review in the treatment of snakebites. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S574-S582.
- Granato, D., Nunes, D. S., & Barba, F. J. (2017). An integrated strategy between food chemistry, biology, nutrition, pharmacology, and statistics in the development of functional foods: A proposal. *Trends in Food Science & Technology*, 62, 13-22. doi.org/10.1016/j.tifs.2016.12.010.
- Hanemann, W.M. 1991. Willingness to Pay and Willingness to Accept: How Much Can They Differ? *The American Economic Review* 81 (3): 635-47.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism, and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572-584.
- Herath, D., Cranfield, J., & Henson, S. (2008). Who consumes functional foods and nutraceuticals in Canada?: results of cluster analysis of the 2006 survey of Canadians’ Demand for Food Products Supporting Health and Wellness. *Appetite*, 51(2), 256-265.

- Hollman, P. H., & Katan, M. B. (1999). Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food and chemical toxicology*, 37(9-10), 937-942.
- Hristov, D. S., Velikov, S. K., Vodenicharov, V. E., Tsanova-Savov, S. P., & Ribarova, F. T. (2017). Evaluation of chemical composition, energy and biological value of typical Bulgarian traditional foods. *Bulg Chem Commun*, 49(4), 782-786.
- Huang D., Ou B. & Prior R.L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays *Journal Agricultural Food and Chemistry*. 53 (6): 1841–1856. doi.org/10.1021/jf030723c.
- Işık, E., Şahin, S., & Demir, C. (2013). Development of a new chromium reducing antioxidant capacity (CHROMAC) assay for plants and fruits. *Talanta*, 111, 119-124.
- Jimenez-Gonzalez, O., Ruiz-Espinosa, H., Luna-Guevara, J. J., Ochoa-Velasco, C. E., Vital, D. L., & Luna-Guevara, M. L. (2018). A potential natural coloring agent with antioxidant properties: Microencapsulates of *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas fruit pericarp. *NFS journal*, 13, 1-9.
- Kalra, E. K. (2003). Nutraceutical-definition and introduction. *Aaps Pharmsci*,; 5(3): 27-28.
- Karre, L., Lopez, K., & Getty, K. J. (2013). Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat science*, 94(2), 220-227.
- Keeton, J. T., Rhee, K. S., Boleman, R. M., & Nunez, M. T. (2001). Antioxidant properties of dried plum ingredients in fresh and precooked pork sausage. Final report, *California Dried Plum Board*.
- King, A. M. Y., & Young, G. (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association*, 99(2), 213-218.
- Kraus, A., Annunziata, A., & Vecchio, R. (2017). Sociodemographic factors differentiating the consumer and the motivations for functional food consumption. *Journal of the American College of Nutrition*, 36(2), 116-126.
- Lara Vázquez, F. (2013). Conocimiento micológico tradicional en una comunidad campesina otomí: San Pedro Arriba, municipio de Temoaya, Estado de México. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Lascurain, M., Avendaño, S., Uterra, E., Niembro, A., Del Amo, S., López, C., Covarrubias, M. (2010). Guía de Frutos Silvestres Comestibles en Veracruz. Xalapa, Veracruz: Fondo Sectorial para la Investigación, el Desarrollo y la Innovación Tecnológica Forestal, Conafor-Conacyt.
- Lognay, G., Marlier, M., Severin, M., Haubruge, E., Gibon *Renealmia alpinia*, V., Trevejo, E. (1991). On the characterization of some terpenes from Rott. (Maas) oleoresin. *Flav. Fragr. J.* 6: 87-91.
- Luna, G. M. L., Ochoa, V. C. E., Hernández, C. P., Contreras, C.L. E. U., & Luna G. J. J. (2018). Composition, physico-chemical properties and antioxidant capacity of *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas fruit. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 50(2).

- Maas, P. J. M. (1977). *Reinealmia* (Zingiberaceae-Zingiberoideae) and *Costoideae* additions (Zingiberaceae), Flora Neotropica, monograph no. 18, New York Botanical Garden, Bronx, New York, USA.
- Macía, M. J. (2003). *Reinealmia alpinia* (rottb.) maas (Zingiberaceae): Planta comestible de la Sierra Norte de Puebla (México). *Anales Jardín Botánico de Madrid*, 60(1), 183– 187.
- Manach, C., Mazur, A., & Scalbert, A. (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current opinion in lipidology*, 16(1), 77-84.
- Martin A. (1999) Les "alicaments" [Nutriceuticals]. *Rev Prat.* Oct 15;49(16):1721-2. French. PMID: 10578600.
- Martínez A., M., A., Evangelista, O. V., M., Mendoza, C. M., Morales, G. G. Toledo O. G., Wong, L. A. (1995). Catálogo de plantas útiles de la Sierra Norte de Puebla, México, Jardín botánico, Instituto de biología UNAM, México, D.F.
- Matiz, G., Osorio, M. R., Camacho, F., Atencia, M., & Herazo, J. (2012). Effectiveness of antimicrobial formulations for acne based on orange (*Citrus sinensis*) and sweet basil (*Ocimum basilicum* L) essential oils. *Biomedica*, 32(1), 125-33.
- Meresa, A., Fekadu, N., Degu, S., Tadele, A., & Geleta, B. (2017). An ethno botanical review on medicinal plants used for the management of hypertension. *J. Clin. Exp. Pharmacol*, 7, 1-16.
- Merken, H. M., & Beecher, G. R. (2000). Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(3), 577-599.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science*, 84(4), 407-412.
- Moncayo Miño, A. E. (2020). Caracterización de metabolitos secundarios de naturaleza esteroidea presentes en el aceite esencial y extractos etanólico y clorofórmico de la especie *Clinopodium tomentosum* (Kunth) Govaerts (Lamiaceae) (Bachelor's thesis).
- Moreno, S. M., Crescente, O. E., Ortiz, S., & Quintero, M. (2006). Composición química y actividad tóxica del aceite esencial de *Simsia pubescens* Triana. *Interciencia*, 31(10), 745-747.
- Negrelle, R.R.B (2015). *Reinealmia* L.f.: aspectos botánicos, ecológicos, farmacológicos e agronômicos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s 17 (2), 274-290.
- Noriega Rivera, P., Coba Santamaría, P., Naikiai, J., & Abad, J. (2011). Extracción, pruebas de estabilidad y análisis químico preliminar de la fracción colorante obtenida a partir del exocarpo del fruto de *Reinealmia Alpinia*. *La Granja*. 13(1): 13-20.
- Organización Mundial de la Salud, OMS (1990) Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Organización Mundial de la Salud. *Serie de Informes Técnicos*. 797, 123.

- Ortuño-Sánchez, M. F. (2006). Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. aiyana ediciones.
- Özyürek, M., Güngör, N., Baki, S., Güçlü, K., & Apak, R. (2012). Development of a silver nanoparticle-based method for the antioxidant capacity measurement of polyphenols. *Analytical chemistry*, 84(18), 8052-8059.
- Palmer, M., & Chaguturu, R. (2017). Academia–pharma partnerships for novel drug discovery: essential or nice to have?. *Expert opinion on drug discovery*, 12(6), 537-540.
- Papadopoulos, K., Triantis, T., Yannakopoulou, E., Nikokavoura, A., & Dimotikali, D. (2003). Comparative studies on the antioxidant activity of aqueous extracts of olive oils and seed oils using chemiluminescence. *Analytica chimica acta*, 494(1-2), 41-47.
- Pascual-Reguera, M. I., Ortega-Carmona, I., & Molina-Díaz, A. (1997). Spectrophotometric determination of iron with ferrozine by flow-injection analysis. *Talanta*, 44(10), 1793-1801.
- Patiño, A. C., Benjumea, D. M., & Pereañez, J. A. (2013). Inhibition of venom serine proteinase and metalloproteinase activities by *Renalmia alpinia* (Zingiberaceae) extracts: Comparison of wild and in vitro propagated plants. *Journal of ethnopharmacology*, 149(2), 590-596.
- Plasek, B., & Temesi, Á. (2019). The credibility of the effects of functional food products and consumers' willingness to purchase/willingness to pay—review. *Appetite*, 143, 104398.
- Poljsak, B. & Milisav, I. (2013). Aging, oxidative stress and antioxidants. In: Morales-González J. A. (Ed). *Oxidative stress and chronic degenerative diseases-a role for antioxidants*, (pp 331-353). London: TechOpen.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Puri, B., & Hall, A. (1998). *Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants*. CRC press.
- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Stricker, T., Saarela, M., Hopia, A., & Oksman-Caldentey, K. M. (1999). Antimicrobial properties of phenolic compounds from Finnish berries. In *2000 Years of natural products research-past, present, and future*.
- Rajasekaran A, Sivagnanam G, Xavier R. (2008) Nutraceuticals as therapeutic agents: A Review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 1(4): 328-40.
- Rajat, S., Manisha, S., Robin, S., & Sunil, K. (2012). Nutraceuticals: A review. *International research Journal of pharmacy*, 3(4), 95-99.
- Ramirez, C. R. (2007). Etnobotánica y la Pérdida de Conocimiento Tradicional en el Siglo XXI. *Ethnobotany Research and Applications*, 5, 241-244.

- Roche, M. L., Ambato, L., Sarsoza, J., & Kuhnlein, H. V. (2017). Mothers' groups enrich diet and culture through promoting traditional Quichua foods. *Maternal & Child Nutrition*, 13, e12530.
- Sánchez-Martínez, J. D., Bueno, M., Alvarez-Rivera, G., Tudela, J., Ibañez, E., & Cifuentes, A. (2021). In vitro neuroprotective potential of terpenes from industrial orange juice by-products. *Food & Function*, 12(1), 302-314.
- Sandí, D. A. (2019). *Renalmia alpinia*: un pariente neotropical del jengibre, la cúrcuma y el cardamomo. *Revista de Biología Tropical*, Blog-Blog.
- Sekiguchi, M., Shigemori, H., Ohsaki, A. & Kobayashi, J. (2001). Pacovatinins A-C, New Labdane Diterpenoids from the Seeds of *Renalmia exaltata*. *Journal of Natural Products*, 64, 1102-1106.
- Sekiguchi, M., Shigemori, H., Ohsaki, A. & Kobayashi, J. (2002). Diarylheptanoids with a Tetrahydrofuran Ring from the Seeds of *Renalmia exaltata*. *Journal of Natural Products*, 65, 375-376.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods*, 18, 757-781.
- Sharapin, N. (2000). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos (Vol. 78). CAB.
- Silva, L. V., Nelson, D. L., Drummond, M. F. B., Dufossé, L., & Glória, M. B. A. (2005). Comparison of hydrodistillation methods for the deodorization of turmeric. *Food Research International*, 38(8-9), 1087-1096.
- Soxhlet, F. V. (1879). Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes. *Dingler's Polytechnisches Journal*, 232, 461-465.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- Stadtman, E. R. (2006). Protein oxidation and aging. *Journal Free Radical Research*, 40 (12), 1250-1258, doi.org/10.1080/10715760600918142.
- Torrenegra, M. E., Granados, C., Osorio, M. R., & León, G. (2015). Comparación de la Hidro-distilación Asistida por Radiación de Microondas (MWH) con Hidro-distilación Convencional (HD) en la Extracción de Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. *Información tecnológica*, 26(1), 117-122.
- Vainio H, Mutanen M. (2000). Functional foods-blurring the distinction between food and medicine. *Scand J Work Environ Health*; 26: 178-80.
- Van den Veerle, E., Cueva, E., & Cabrera, O. (2004). Edible Palms of Southern Ecuador. *Palms*, 48(3), 141-147.
- Van Hai, N. (2015). The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture*, 446, 88-96.
- Vankar, P. S. (2004). Essential oils and fragrances from natural sources. *Resonance*, 9(4), 30-41.

- Vasudevaiah, A. M., Chaturvedi, A., Kulathooran, R., & Dasappa, I. (2017). Effect of green coffee extract on rheological, physico-sensory and antioxidant properties of bread. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1827-1836.
- Verbeke, W. (2005). Consumer acceptance of functional foods: socio-demographic, cognitive and attitudinal determinants. *Food quality and preference*, 16(1), 45-57.
- Vivaldo, G.; Masi, E.; Taiti, C.; Caldarelli, G. and Mancuso, S. (2017). The network of plants volatile organic compounds. *Scientific Reports*. 7:1-18.

### 3. PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE SEMILLA DE *Renealmia alpinia*

#### RESUMEN

México es rico en plantas comestibles silvestres que llegan a tener un uso tradicional, como es el caso del x'kijit (*Renealmia alpinia*) conocido por formar parte de un platillo que sólo se elabora en día de muertos, en la Sierra Norte de Puebla. El uso de esta planta es al arilo del fruto para elaborar sopa y a las hojas de la planta que se usan para envolver tamales. Se han estudiado con anterioridad las propiedades nutraceuticas del fruto en arilo y cáscara, este estudio se enfocó en determinar la capacidad antioxidante de los extractos alcohólicos con etanol y metanol (puro, al 80 % y con ajuste de pH = 3) también con el disolvente de la semilla, por medio de fenoles totales, flavonoides y los ensayos FRAP y ABTS. La mayor capacidad antioxidante fue observada en los extractos metanólicos en cualquiera de sus variantes. Se realizó una cromatografía por columna y se determinó la capacidad antioxidante de cada fracción obtenida, sin embargo, las metodologías no fueron las adecuadas pues se tuvo problemas con la formación de flóculos al ir agregando los reactivos a las muestras. Solo se pudieron comparar datos para ABTS en el que la fracción de hexano/acetato de etilo 80:20, 90:10 y la mezcla 50:50 con 30:70 fueron superiores a las demás.

**Palabras clave:** *Renealmia alpinia*, antioxidantes, fenoles, flavonoides, FRAP, ABTS, cromatografía por columna.

---

Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. Universidad Autónoma Chapingo  
Autor: Brenda Escutia Monroy  
Director de tesis: Dr. Benito Reyes Trejo  
Co-directora de tesis: Dra. Ma. Magdalena Rojas Rojas

# ANTIOXIDANT PROPERTIES OF ALCOHOLIC EXTRACTS FROM THE SEED OF *Renealmia alpinia*

## ABSTRACT

Mexico is rich in wild edible plants that come to have a traditional use, as is the case of x'kijit (*Renealmia alpinia*) known for being part of a dish that is only made on the day of the dead, in the Sierra Norte de Puebla. The use of this plant is to the aril of the fruit to make soup and to the leaves of the plant that are used to wrap tamales. The nutraceutical properties of the fruit in aril and peel have been studied previously, this study focused on determining the antioxidant capacity of alcoholic extracts with ethanol and methanol (pure, at 80% and with pH = 3 adjustment) also with the solvent of the seed, by means of total phenols, flavonoids and the FRAP and ABTS tests. The highest antioxidant capacity was observed in methanolic extracts in any of its variants. A column chromatography was carried out and the antioxidant capacity of each fraction obtained was determined, however, the methodologies were not adequate because there were problems with the formation of flocs when adding the reagents to the samples. Data could only be compared for ABTS in which the hexane / ethyl acetate fraction 80:20, 90:10 and the mixture 50:50 with 30:70 were superior to the others.

**Keywords:** *Renealmia alpinia*, antioxidants, phenols, flavonoids, FRAP, ABTS, column chromatography.

---

Thesis de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. Universidad Autónoma Chapingo

Author: Brenda Escutia Monroy

Advisor: Dr. Benito Reyes Trejo

Co-director: Dra. Ma. Magdalena Rojas Rojas

### 3.1. Introducción

El x'kijit (*Renalmia alpinia*) es una de las 23,000 especies de plantas en México que son usadas en comunidades rurales como medicina, alimento, bebidas alcohólica y no alcohólicas, utensilios, combustible, papel y fibra. Siendo el x'kijit un fruto de clima tropical, las condiciones edafoclimáticas de las sierras de Veracruz, Chiapas, Oaxaca y Puebla son propicias para el crecimiento de *R. alpinia* (Guevara et al., 2018). La parte comestible del fruto de esta planta es el arilo, que tiene una coloración amarilla, mientras que el pericarpio y las semillas se desechan (Jiménez et al., 2018).

*R. alpinia* es una especie perteneciente a la familia botánica Zingiberaceae, de quien se han estudiado algunas especies demostrando la actividad analgésica de ciertos extractos y aceites esenciales. (Gómez, et al., 2019). Los compuestos bioactivos se extraen por dos tipos de métodos, los tradicionales y los novedosos, dentro de los tradicionales están la hidrodestilación, maceración, Soxhlet y maceración; mientras que los novedosos consisten en el uso de fluidos super críticos, microondas, asistidos por ultrasonido y enzimas (Vega et al., 2017).

La extracción de compuestos fenólicos, de distintas partes de las plantas, se realiza con disolventes que, dependiendo del tipo de soluto que se quiera disolver, se selecciona el más conveniente, ya que es por afinidad de polaridades con sus análogos. Los disolventes más utilizados son agua, metanol, acetona, acetato de etilo, cloroformo y hexano, los cuales están ordenados crecientemente por su polaridad, siendo el agua el menos polar y el hexano el más polar (Altemimi et al., 2017).

En la presente investigación se encontró la capacidad antioxidante de la semilla de x'kijit realizando extractos alcohólicos de etanol y metanol, incluyendo extracción con hexano, para averiguar el mejor método de extracción.

## 3.2. Materiales y métodos

### 3.2.1. Materiales

Las semillas de x'kijit (*Renealmia alpinia*), se obtuvieron en la temporada de otoño de 2020 en Ecatlán, Puebla, México. Se lavaron, limpiaron, y se secaron usando un horno de secado por aire forzado a 40 ° C (24 h), después fueron molidas en nutribulet. A partir de las semillas molidas se obtuvieron los extractos etanólico, metanólico, metanólico a pH = 3, metanólico al 80%, metanólico al 80% con pH = 3 y hexánico (Hernández, et al., 2019).

Los reactivos de Folin-Ciocalteu, carbonato de sodio anhidro, catequina, los ácidos 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox) y gálico, fueron adquiridos con Sigma Aldrich. La medición de absorbancias para cuantificar los fenoles totales, flavonoides y para evaluar la capacidad antioxidante se medieron en un lector de microplacas Synergy 2 Microplate reader, Biotek International, software Gen5, Biotek Instruments Inc., Winooski, VT, USA.

### 3.2.2. Determinación del contenido de fenoles totales (CFT)

El contenido de fenoles totales fue cuantificado siguiendo el método de Folin-Ciocalteu (Singleton, et al., 1999) adaptado a microplacas. Primero se prepararon los extractos del polvo de x'kijit. 1 g de muestra se mezcló en cada uno de los disolventes o mezclas de disolventes. Para la extracción de los compuestos fenólicos se siguió el método de Hernández-Rodríguez, et al., 2019. Cada muestra se agitó en vortex por 3 minutos a 1500 rpm (Vortex Synergy, WVR International), después fue sonicada 15 min (Ultrasonic Cleaner 8890, Cole-Palmer), incubadas por 30 min a 130 rpm (Orbital incubators Prendo INO-650M) y sonicadas nuevamente. Finalmente, las mezclas fueron centrifugadas (15 min, 1277 G) y los sobrenadantes recuperados, se llevaron a un volumen final de 10 mL con la mezcla de extracción. En el pozo de una microplaca, una alícuota (25 µL) de extracto se mezcló con agua (125 µL), reactivo de Folin-Ciocalteu (20 µL) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% (30 µL). Después de 30 min, se midió la absorbancia de la mezcla

de reacción a una longitud de onda 750 nm. La curva de ácido gálico se preparó en el intervalo de concentraciones de 2.5–29.0  $\mu\text{g}$  ácido gálico/ mL. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico de ácido gálico por gramo de muestra seca ( $\text{mg EAG g}^{-1}$ ).

### 3.2.3. *Flavonoides totales (FT)*

Los flavonoides totales se determinaron de acuerdo al método de Kubola & Siriamornpun (2011) adaptado a microplacas. El extracto de cada muestra (0.5 mL) se mezcló con agua destilada (2.5 mL) y  $\text{NaNO}_2$  al 5% (0.15 mL). Después de 5 min se adicionaron 0.3 mL de  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  al 10 %. La mezcla se dejó reposar durante 5 min y enseguida se adicionó 1 mL de NaOH al 5%; las muestras se agitaron en vortex (3,000 rpm, 3 min). De cada una de las mezclas de reacción se tomó una alícuota de 200  $\mu\text{L}$ , y se transfirió a los pozos de una microplaca para medir posteriormente las absorbancias a 510 nm. La curva de calibración de catequina se preparó en el intervalo de concentraciones de 0 a 130.2  $\mu\text{M}$ . Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de catequina por gramo de muestra en base seca ( $\text{mg EC g}_{\text{bs}}^{-1}$ ). Todas las muestras se analizaron por triplicado.

### 3.2.4. *Capacidad antioxidante por ensayo FRAP*

De acuerdo con la metodología de Benzie & Strain, (1999) para la determinación de la capacidad antioxidante por el ensayo FRAP adaptado a microplacas, se prepararon disoluciones: 100 mL de buffer de acetato 300 mM, 10 mL de 2, 4, 6 Tripiridil-s triazinas (TPTZ) 10 mM usando como disolvente HCl 40 mM, y por último, 10 mL de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20mM. La solución FRAP es una mezcla de 10 mL de buffer de acetato con 1 mL de solución TPTZ y 1 mL de solución de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Se realizó una curva de calibración de Trolox.

### 3.2.5. Capacidad antioxidante por método ABTS

Siguiendo el método de Re et al., (1999) se determinó la capacidad antioxidante por el ensayo ABTS adaptado a microplacas. Se mezclaron 10 mL de una disolución ABTS 7.4 Mm con 10 mL de una disolución de persulfato de sodio 2.6 mM, dicha mezcla se dejó incubar 16 horas en refrigeración. Culminadas las 16 horas, se tomó una alícuota de 600  $\mu$ L de mezcla y se aforó a 10 mL con metanol puro, formando la disolución ABTS<sup>•+</sup>. En cada pozo de la microplaca se transfirieron 20  $\mu$ L de la curva o de los extractos, y 180  $\mu$ L de la disolución ABTS<sup>•+</sup>, como blanco se ocupó una alícuota de 200  $\mu$ L de la disolución ABTS<sup>•+</sup>. La disminución de la absorbancia se registra a 734 nm por espacio de 10 minutos. Los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base seca ( $\mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$ ).

### 3.2.6. Separación del extracto etanólico de semilla de *R. alpinia*

Por medio de una cromatografía en columna se purificó el extracto etanólico de semilla de *R. alpinia*, utilizando como la fase estacionaria el gel de sílice y como la fase móvil primero el hexano, después mezclas de hexano/acetato de etilo de polaridad creciente (90: 10, 80: 20, 70: 30, 50: 50, 30: 70), y finalmente acetato de etilo y metanol.

### 3.2.7. Análisis estadístico

Los tratamientos se hicieron por triplicado. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un diseño completamente al azar, utilizando InfoStat versión estudiantil (2020). Mediante la prueba de Tukey se compararon medias con una significancia  $P < 0.05$ .

### 3.3. Resultados y discusión

Se estudió la capacidad antioxidante de extractos etanólico, metanólico, metanólico a pH = 3, metanólico al 80%, metanólico al 80% a pH = 3 y hexánico; de la semilla de x'kijit (*Renealmia alpinia*). Como se observa en el Cuadro 1, los extractos metanólicos en cualquiera de sus variantes, mostraron la mayor capacidad antioxidante.

Cuadro 3. Capacidad antioxidante de extractos de semilla de x'kijit (*Renealmia alpinia*)

Disolvente de extracción	CFT mg EAG g <sup>-1</sup> <sub>bs</sub>	FLAV mg EC g <sup>-1</sup> <sub>bs</sub>	FRAP μmol ET g <sup>-1</sup> <sub>bs</sub>	ABTS μmol ET g <sup>-1</sup> <sub>bs</sub>
Etanol	1.73 a <sup>z</sup>	1.36 b	9.66 a	21.26 bc
Metanol	1.58 a	1.01 ab	11.63 bc	24.84 c
Metanol (pH=3)	1.66 a	1.01 ab	12.13 bc	19.36 b
Metanol al 80%	2.84 b	1.24 b	15.81 d	21.50 bc
Metanol al 80% (pH=3)	4.46 c	0.78 a	14.72 cd	13.15 a
Hexano	-----	-----	1.04 a	-----

<sup>z</sup> Medias con la misma letra (a, b, c, d) dentro de columnas son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey (P≤0.05).

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con Guevara et al., (2018), los compuestos nutrimentales y bioactivos de la pulpa y de la cáscara de x'kijit (*Renealmia alpinia*), reportaron un contenido flavonoides para pulpa (567.80 mg de catequina · 100 g<sup>-1</sup>) y para cáscara (55.80 mg de catequina · 100 g<sup>-1</sup>), al ser comparados con los resultados obtenidos en este estudio (Cuadro 1), se aprecia que los extractos de semilla de x'kijit (*Renealmia alpinia*), tienen el contenido más bajo de flavonoides en el fruto.

En un estudio acerca de las propiedades bioquímicas y antioxidantes del jengibre y la cúrcuma, pertenecientes a la familia Zingiberaceae, en los extractos etanólico y acuoso del polvo del rizoma de cúrcuma, jengibre y mezcla cúrcuma jengibre, se encontró una mayor concentración de flavonoides totales en la mezcla de

cúrcuma - jengibre ( $4.27 \pm 0.05$  mg CE·100 g<sup>-1</sup>), seguida por cúrcuma en polvo ( $3.88 \pm 0.25$  mg CE·100 g<sup>-1</sup>), y después por el polvo de jengibre ( $2.25 \pm 0.06$  mg CE·100 g<sup>-1</sup>). Cotejando dicho estudio en cuanto a los extractos etanólicos de cúrcuma y jengibre (Mushtaq et al., 2019) con el presente estudio de semilla de x'kijit, para el mismo tipo de extracto, la semilla presenta menor contenido de flavonoides.

En cuanto al contenido de fenoles totales en la semilla de x'kijit, el extracto metanólico al 80 % (pH = 3) presentó mayor contenido ( $4.46$  mg EAG<sub>bs</sub><sup>-1</sup>) que el resto de los extractos. En contraste con el resto del fruto, pulpa ( $102.40$  mg de EAG·100 g<sup>-1</sup>) y cáscara ( $59.90$  mg de EAG·100 g<sup>-1</sup>) (Guevara et al., 2018), se tiene un menor contenido fenólico en los extractos de semilla que en lo reportado para pulpa y cáscara.

Retomando el estudio de los extractos de polvo de cúrcuma, jengibre y mezcla de ambas, se mantiene el orden de mayor a menor que para flavonoides, mezcla de cúrcuma jengibre ( $103.39$  mg CE·100 g<sup>-1</sup>), cúrcuma ( $76.14$  mg EAG 100 g<sup>-1</sup>) y jengibre ( $69.11$  mg EAG 100 g<sup>-1</sup>) (Mushtaq, et al., 2019). El extracto etanólico de semilla de x'kijit es inferior a los valores reportados en este estudio.

Los flavonoides son el subgrupo polifenólico más abundante en la cuantificación de los fenoles totales (Yang et al., 2020; Rehman et al., 2019), Los flavonoides constituyen alrededor dos terceras partes de los fenólicos en los alimentos de origen vegetal (Robbins, 2003) y tienen excelente capacidad antioxidante (Musialik et al., 2009). Existe una relación positiva entre flavonoides y fenoles totales con la capacidad antioxidante, ya que, a concentraciones más altas de flavonoides totales y compuestos fenólicos totales, se tienen niveles más altos de actividad antioxidante (Mushtaq, 2019). En el caso de semilla de x'kijit, para los extractos etanólico, metanólico y metnalóico (pH = 3), la cantidad de flavonoides totales representa arriba del 50% de los fenoles totales ( $75.14$  %,  $63.92$  % y  $63.12$  % respectivamente), mientras que para los extractos metanólico al 80% y

metanólico al 80% (pH = 3), los flavonoides representan menos del 50% en el contenido de fenoles totales (43.66 % y 17.48 %).

Se observó que el tipo de disolvente influye en la extracción de compuestos bioactivos, como los compuestos fenólicos y los flavonoides, así como también el tipo de disolvente afecta a la capacidad antioxidante. Esto debido a que cada tipo de disolvente influye diferente en la solubilidad, cinética de difusión y transferencia de masa de los compuestos bioactivos (Vega, et al., 2017).

Para fines alimenticios es recomendable utilizar extractos obtenidos con disolventes, como el etanol, que no representen riesgos al consumidor al poseer una baja toxicidad (Escorsim, et al., 2018). El etanol posee alta polaridad lo que implica interacciones fuertes con moléculas polares, extrayendo eficazmente compuestos no glicéridos (esteroles, tocoferoles, fosfátidos y pigmentos) (Sbihi et al., 2018). Por lo anterior, aunque el extracto etanólico tiene un menor contenido fenólico, su contenido de flavonoides fue el más alto y estadísticamente igual al del extracto obtenido con metanol al 80 % a (pH = 3).

Capacidad antioxidante de las fracciones de columna del extracto etanólico

El extracto etanólico de semilla de x'kijit se obtuvo de la rotaevaporación de la inmersión etanólica de semilla molida. Obteniendo un peso de 4.9 g de extracto, el cual se disolvió con un poco de hexano para poder aplicarse en la columna siguiendo la relación 1:20 (extracto: gel de sílice). La columna se empacó mezclándola con el gel de sílice con el hexano posteriormente se colocó el extracto etanólico y finalmente, en la parte superior, sulfato de sodio anhidro. El volumen de cambio fue de 500 mL, se ocuparon 4 volúmenes de cambio para eluir cada fracción.

La primera elución de la columna se hizo con hexano, después con mezclas de hexano y acetato de etilo, las cuales iban incrementando en polaridad, la penúltima elución se realizó con acetato de etilo y la última con metanol (Cuadro 4)

Cuadro 4. Proporción de los eluyentes y fracciones en columna.

<b>Eluyente</b>	<b>Porcentaje (%)</b>	<b>Fracciones</b>
Hexano	100	500
Hexano / Acetato de etilo	90 / 10	450 – 50
Hexano / Acetato de etilo	80 / 20	400 – 100
Hexano / Acetato de etilo	70 / 30	350 – 150
Hexano / Acetato de etilo	50 / 50	250 – 250
Hexano / Acetato de etilo	30 / 70	150 - 350
Acetato de etilo	100	500
Metanol	100	500

Fuente: Elaboración propia.

Por cada una de las fracciones obtenidas, se determinó la capacidad antioxidante. En el caso de la fracción eluída con hexano, no se logró rescatar material, ya que quedó una película transparente en el fondo del frasco, en el caso de las fracciones 50:50 y 30:70 la cantidad de material obtenido por cada fracción no fue la requerida para obtener tres repeticiones de cada una, ya que se requería un aproximado de 20 mg por cada repetición, por lo que se decidió juntarlas al encontrar similitudes en sus cromatografías de capa delgada.

De acuerdo con la metodología usada para la obtención de capacidad antioxidante, en el caso de determinación de fenoles totales (Cuadro 5), no se logró determinar este parámetro debido al enturbiamiento de las muestras al colocarles el reactivo Folin-Ciocalteu, se cambió la parte metodológica de agregar 125 µL de agua por propanol, lo que ocasionó que se formaran flóculos azules en la parte inferior de la placa y una fase líquida amarilla en la parte superior.

La determinación de flavonoides de cada fracción (ver Cuadro 5), indica que las fracciones 80:20, la mezcla 50:50 con 30:70 y el acetato de etilo son estadísticamente similares, la fracción 90:10 y metanol son similares entre sí, pero comparten ciertas similitudes con el grupo estadístico anteriormente mencionado, así como la fracción 80:20 que es estadísticamente diferente e

inferior al resto. Cabe resaltar que la cantidad de flavonoides obtenida en cada fracción es menor a una unidad de  $\text{mg EC g}_{\text{bs}}^{-1}$

En FRAP, las fracciones 90:10, 80:20 y 70:30 no pudieron ser ensayadas debido a que no hubo coloración y sólo se enturbio al colocar el reactivo FRAP, para fracciones de mezcla 50:50 con 30:70 y acetato de etilo fue necesario hacer diluciones, mientras que la fracción de metanol no requirió dilución.

Para el ensayo ABTS, se lograron obtener resultados de todas las fracciones, determinando que la fracción 80:20 tuvo mayor capacidad antioxidante, seguido de la mezcla 50:50 con 30:70 y 90:10. Las diferencias encontradas entre los ensayos FRAP y ABTS pueden estar fundamentadas en el mecanismo de acción de cada ensayo, la actividad antioxidante determinada por FRAP conlleva la reducción de  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ , mientras que el ensayo ABTS determina la capacidad de estabilización de radicales libres mediante la donación de protones (Sukweenadhi et al., 2020).

Cuadro 5. Capacidad antioxidante de las fracciones en columna del extracto etanólico.

<b>FRACCIÓN</b>	<b>FT</b>	<b>FLAV</b>	<b>FRAP</b>	<b>ABTS</b>
	<b>mg EAG g<sub>bs</sub><sup>-1</sup></b>	<b>mg EC g<sub>bs</sub><sup>-1</sup></b>	<b>μmol ET g<sub>bs</sub><sup>-1</sup></b>	<b>μmol ET g<sub>bs</sub><sup>-1</sup></b>
90:10 (Hexano/Acetato de Etilo)	ND	0.01 ab <sup>z</sup>	ND	21.26 bc
80:20 (Hexano/Acetato de Etilo)	ND	4.2E-04 a	ND	24.84 c
70:30 (Hexano/Acetato de Etilo)	ND	0.01 b	ND	19.67 b
Mezcla 50:50 y 30:70 (Hexano/Acetato de Etilo)	ND	0.01 b	0.05 b	21.55 bc
Acetato de Etilo	ND	0.02 b	0.05 c	13.27 a
Metanol	ND	0.01 ab	0.04 a	ND

<sup>z</sup> Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey (P≤0.05)

ND = No Determinado.

Fuente: Elaboración propia.

### **3.4 Conclusiones**

Los extractos de semilla de x'kijit (*R. alpinia*) en disolventes metanólicos al 80% con y sin ajuste de pH mostraron la mejor capacidad antioxidante, seguidos del extracto etanólico. El etanol es un disolvente inócuo, por lo tanto, el extracto etanólico de las semillas de x'kijit (*R. alpinia*) se podría usar como un ingrediente para el diseño de alimentos funcionales, sin representar riesgos para los consumidores.

### 3.5 Literatura citada

- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6(4), 42.
- Escorsim, A. M., da Rocha, G., Vargas, J. V., Mariano, A. B., Ramos, L. P., Corazza, M. L., & Cordeiro, C. S. (2018). Extraction of *Acutodesmus obliquus* lipids using a mixture of ethanol and hexane as solvent. *Biomass and Bioenergy*, 108, 470-478.
- Gómez Betancur, I. C., Benjumea Gutiérrez, D. M., Mejía, N., León, J. F., & Gómez, J. E. (2019). Antinociceptive activity of essential oils from wild growing and micropropagated plants of *Renalmia alpinia* (Rottb.) maas.
- Guevara, M. L. L., Velasco, C. E. O., Carranza, P. H., Cortes, L. E. U. C., & Guevara, J. J. L. (2018). Composition, physico-chemical properties and antioxidant capacity of *Renalmia alpinia* (Rottb.) Maas fruit. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, 50(2), 377-385.
- Hernández-Rodríguez, G., Espinosa-Solares, T., Pérez López, A., Salgado-Escobar, I., & Guerra-Ramírez, D. (2019). Antioxidant capacity of capulin (*Prunus serotina* subsp. *capuli* (Cav). McVaugh) fruit at different stages of ripening. *Ecosistemas y Recursos Naturales*, 6, 35-44.
- Jimenez-Gonzalez, O., Ruiz-Espinosa, H., Luna-Guevara, J. J., Ochoa-Velasco, C. E., Vital, D. L., & Luna-Guevara, M. L. (2018). A potential natural coloring agent with antioxidant properties: Microencapsulates of *Renalmia alpinia* (Rottb.) Maas fruit pericarp. *NFS journal*, 13, 1-9.
- Kubola, J. & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*, 127, 1138-1145.
- Mushtaq, Z., Tahir Nadeem, M., Arshad, M. U., Saeed, F., Ahmed, M. H., Bader Ul Ain, H., ... & Hussain, S. (2019). Exploring the biochemical and antioxidant potential of ginger (*Adric*) and turmeric (*Haldi*). *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1642-1651.
- Musialik, M., Kuzmicz, R., Pawłowski, T. S., & Litwinienko, G. (2009). Acidity of hydroxyl groups: An overlooked influence onantiradical properties of flavonoids. *Journal of Organic Chemistry*, 74, 2699–2709.
- phenolic compounds and antioxidant capacity of *Renalmia alpinia* (Rottb.) Maas peel. *Czech Journal of Food Sciences*, 35(5), 456-465.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rehman, T., Arshad, M. U., Ahmad, R. S., Rasool, B., Hussain, G., Saeed, F., Shahbaz, M., Ahmed, A., Imran, M., Khan, M. A., Faiz, F., Bano, Y., Munir,

- R., Nadeem, M., Jabeen, F., & Imran, A. (2019). Reconnoitring the impact of different extraction techniques on ginger bioactive moieties extraction, antioxidant characterization and physicochemical properties for their therapeutic effect. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 32(5(Supplementary)), 2223–2236.
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2866–2887.
- Sbihi, H. M., Nehdi, I. A., Mokbli, S., Romdhani-Younes, M., & Al-Resayes, S. I. (2018). Hexane and ethanol extracted seed oils and leaf essential compositions from two castor plant (*Ricinus communis* L.) varieties. *Industrial Crops and Products*, 122, 174-181.
- Sukweenadhi, J., Setiawan, F., Yunita, O., Kartini, K., & Avanti, C. (2020). Antioxidant activity screening of seven Indonesian herbal extract. *Biodiversitas*, 21(5), 2062-2067.
- Vega, A. J. D., Hector, R. E., Jose, L. G. J., Paola, H. C., Raúl, Á. S., & Enrique, O. V. C. (2017). Effect of solvents and extraction methods on total anthocyanins,
- Yang, D., Dunshea, F. R., & Suleria, H. A. (2020). LC-ESI-QTOF/MS characterization of Australian herb and spices (garlic, ginger, and onion) and potential antioxidant activity. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(7), e14497.

## 4. PERFIL QUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL DE SEMILLAS

### *Renealmia alpinia*

#### RESUMEN

*Renealmia alpinia* es una planta perteneciente a la familia Zingiberaceae cuyos ejemplares más representativos es el jengibre (*Zingiber officinale*), la cúrcuma (*Curcuma longa*) y el cardamomo (*Elettaria cardamomum*). En el x'kjit (*R. alpinia*) se han estudiado los compuestos volátiles en hojas, ramas y frutos, por lo que el propósito de esta investigación fue determinar los compuestos volátiles por cromatografía de gases y la composición química por Resonancia Magnética Nuclear del aceite esencial de semilla de *R. alpinia*. A partir del aceite esencial de las semillas de *R. alpina*, obtenido por hidrodestilación, se identificaron 10 compuestos volátiles, los cuales tienen cierto porcentaje de corresponder con la encontrado en la biblioteca del espectrómetro de gases Agilent Technologies 7890. Los compuestos que coinciden con otras investigaciones son el  $\beta$ -pineno y el D-limoneno, señales que se detectaron también en los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN de  $^1\text{H}$ ) del aceite estudiado.

**Palabras clave:** *aceite esencial, Renealmia alpinia, compuestos volátiles, cromatografía de gases, Resonancia Magnética Nuclear*

# CHEMICAL PROFILE OF *Renealmia alpinia* SEED ESSENTIAL OIL

## ABSTRACT

*Renealmia alpinia* is a plant belonging to the Zingiberaceae family, the most representative examples of which are ginger (*Zingiber officinale*), turmeric (*Curcuma longa*) and cardamom (*Elettaria cardamomum*). In the x'kjit (*R. alpinia*) the volatile compounds in leaves, branches and fruits have been studied, so the purpose of this research was to determine the volatile compounds by gas chromatography and the chemical composition by Nuclear Magnetic Resonance of the oil essential seed of *R. alpinia*. From the essential oil of the seeds of *R. alpina*, obtained by hydrodistillation, were identified 10 volatile compounds, which have a certain percentage of corresponding to the Agilent Technologies 7890 gas spectrometer library. Compounds that coincide with other investigations are  $\beta$ -pinene and D-limonene, signals that were also detected in the hydrogen nuclear magnetic resonance spectra ( $^1\text{H NMR}$ ) of the oil studied.

**Keywords:** *essential oil, Renealmia alpinia, volatile compounds, gas chromatography, Nuclear Magnetic Resonance*



## 4.1. Introducción

Los aceites esenciales son líquidos oleosos aromáticos que se extraen de cualquier parte de las plantas, siendo mezclas de compuestos no polares, volátiles, incoloros la mayoría de las ocasiones y solubles en solventes orgánicos. Las propiedades estudiadas de los aceites esenciales son: antioxidantes, antifúngicos, antibacterianos, antivirales, antiinflamatorios, analgésicos y suelen ser usados como aditivos alimentarios por sus propiedades contra patógenos (Chouhan et al., 2017; Nazzaro et al., 2017).

La familia *Zingiberaceae* se caracteriza por sus plantas rizomáticas, tales como *Zingiber officinale* Rosc., *Z. cassumunar* Roxb., *Z. zerumbet* Herrero, *Curcuma aeruginosa* Roxb., *C. mangga* Valetton y van Zyp, *C. xanthorrhiza* Roxb., *Kaempferia galanga* Linn., *Alpinia galanga* Swartz y *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlecht, de las que se extraen aceites esenciales para el control de enfermedades (Gevú et al., 2019).

El género *Renealmia* (Zingiberaceae) ha sido poco estudiado en cuanto a la composición química de sus especies, aún con estudios de su importancia botánica, agroecológica y farmacéutica (Gevú et al., 2019). El objetivo de esta investigación es identificar los compuestos volátiles por cromatografía de gases y la composición química del aceite por Resonancia Magnética Nuclear de la semilla de *R. alpinia*.

## 4.2 Materiales y métodos

### 4.2.1 Obtención de aceite esencial

Se molió la semilla de *Renealmia alpinia* por medio de un procesador de alimentos Nutribullet, posteriormente se colocaron aproximadamente 50 g de semilla molida en matraces de fondo plano con un agitador magnético. Se agregó agua previamente calentada (1.5 L) y se conectó al aparato Clevenger para llevar a cabo la hidrodestilación y una obtención del aceite esencial.

#### 4.2.2 Capacidad antioxidante por ensayo FRAP

De acuerdo con la metodología de Benzie & Strain, (1999) para la determinación de la capacidad antioxidante por el ensayo FRAP adaptado a microplacas, se prepararon disoluciones: 100 mL de buffer de acetato 300 mM, 10 mL de 2, 4, 6 Tripiridil-s triazinas (TPTZ) 10 mM usando como disolvente HCl 40 mM, y por último, 10 mL de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20mM. La solución FRAP es una mezcla de 10 mL de buffer de acetato con 1 mL de solución TPTZ y 1 mL de solución de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Se realizó una curva de calibración de Trolox.

#### 4.2.3 Capacidad antioxidante por método ABTS

Siguiendo el método de Re et al., (1999) se determinó la capacidad antioxidante por el ensayo ABTS adaptado a microplacas. Se mezclaron 10 mL de una disolución ABTS 7.4 Mm con 10 mL de una disolución de persulfato de sodio 2.6 mM, dicha mezcla se dejó incubar 16 horas en refrigeración. Culminadas las 16 horas, se tomó una alícuota de 600  $\mu\text{L}$  de mezcla y se aforó a 10 mL con metanol puro, formando la disolución  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ . En cada pozo de la microplaca se transfirieron 20  $\mu\text{L}$  de la curva o de los extractos, y 180  $\mu\text{L}$  de la disolución  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ , como blanco se ocupó una alícuota de 200  $\mu\text{L}$  de la disolución  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ . La disminución de la absorbancia se registra a 734 nm por espacio de 10 minutos. Los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base seca ( $\mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$ ).

#### 4.2.4 Perfil químico de compuestos volátiles del aceite esencial de *Renealmia alpinia*

Para la separación de los componentes del aceite esencial se utilizó el cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890A acoplado a un detector selectivo de masas Agilent Technologies 240 de baja resolución usando la

técnica de ionización por impacto electrónico (IE) a 70 eV y un rango de escaneo de masa de 40-500 m/z.

#### 4.2.5. Identificación del aceite esencial de *Reinealmia alpina* por Resonancia magnética nuclear e infra-rojo

El aceite esencial de *Reinealmia alpina* se analizó utilizando la técnica de Resonancia Magnética Nuclear de hidrogeno y carbono 13 (RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) en un equipo operado a 400 MHz marca Agilent a 400 MHz se determinaron los espectros de MRN de protón ( $^1\text{H}$ ) y carbono ( $^{13}\text{C}$ ). El aceite se diluyo en cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) y como referencia interna se utilizó el tetrametilsilano (TMS). El ( $\delta$ ) se encuentra reportado en partes por millón (ppm).

### 4.3. Resultados y discusión

#### 4.3.1. Capacidad antioxidante

Se determinó la capacidad antioxidante por triplicado del aceite esencial de semilla de *R. alpina* por los ensayos FRAP y ABTS (Cuadro 4).

Cuadro 6. Capacidad antioxidante por ensayo FRAP y ABTS para aceite de semilla de *R. alpina*.

MUESTRA	FRAP $\mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$	ABTS $\mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$
Aceite Esencial	7.5008	25.3398

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

#### 4.3.2. Perfil de volátiles

La composición química del aceite fue determinada por triplicado usando el Tiempo de Retención Lineal, sin embargo, en la biblioteca NIST no se tienen datos de los CAS obtenidos, por lo que se decidió obtener los posibles nombres de acuerdo con la probabilidad más alta que establece el programa del espectrómetro de masas (Cuadro 7).

Cuadro 7. Composición química del aceite esencial de semilla de x'kjit (*R. alpinia*).

No.	Compuesto	Probabilidad (%) *
1	Acetato de isoamilo (aceite de plátano)	52.16
2	2-Tujeno	53.96
3	2,6,6-trimetil-3-(fenilsulfoni)byciclo (3.1.1) heptano	5.45
4	$\beta$ -Pino	10.12
5	Acetato de mirtenilo	3.24
6	D-Limoneno	12.16
7	2-Careno	13.65
8	Pinocarveol	44.03
9	Acetato de bornilo	40.7
10	Óxido de aloaromandreno- (1)	14.26

\*: Porcentaje de probabilidad de que el pico coincida con el compuesto anotado.  
Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Las estructuras moleculares de los componentes detectados en cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se muestran en la Figura 8, mismos de los que es posible comparar o cotejar sus datos de sus espectros publicados de Resonancia Magnética Nuclear con el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del aceite esencial de *Renealmia alpinia*, principalmente las señales de los hidrógenos olefinicos del tipo R-CR=C-H, observables en la zona de 5 a 7 ppm de dichos espectros.

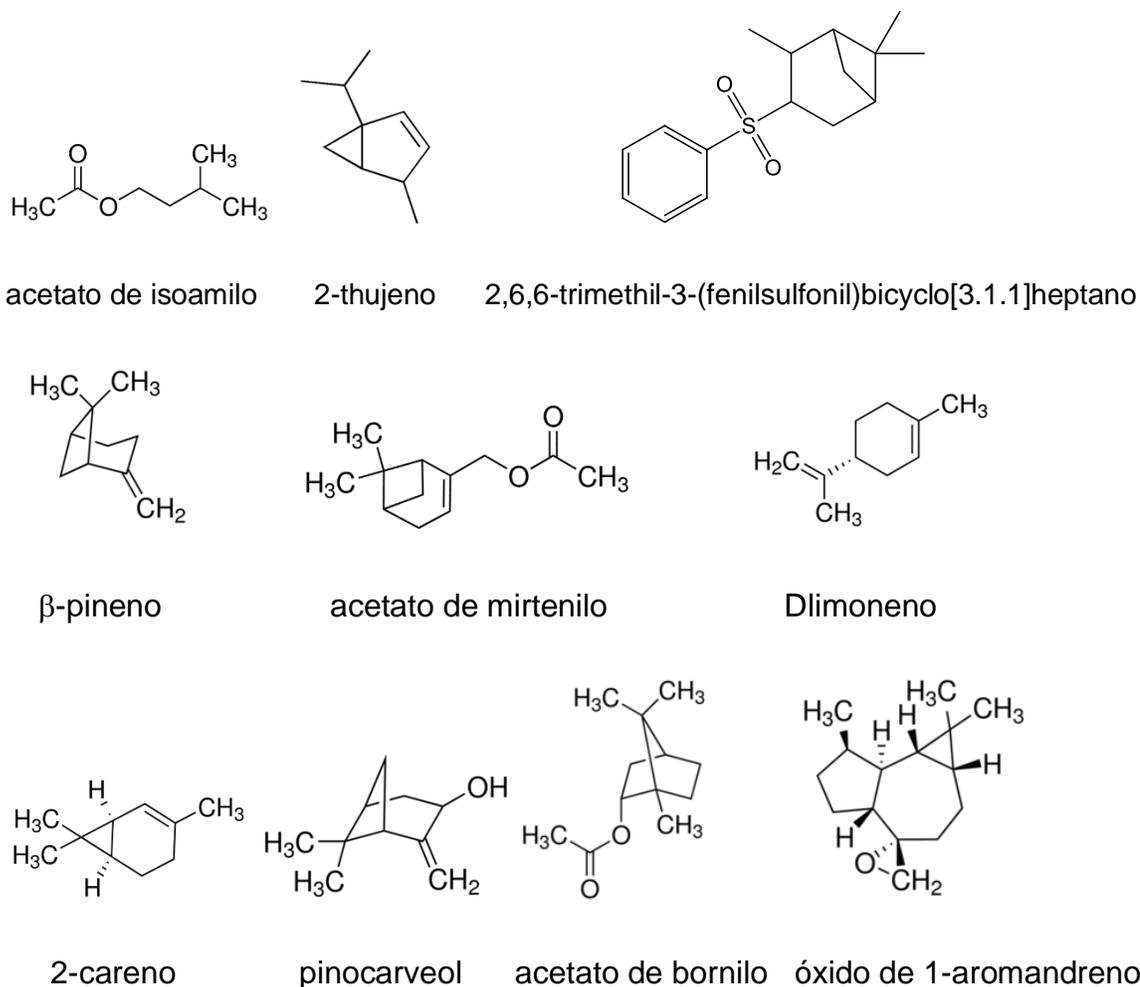


Figura 8. Estructuras moleculares de los componentes detectados por cromatografía de gases presentes en el aceite esencial de *Renealmia alpinia*.

Lognay et al (1991), estudiaron la composición química del aceite hidrodestilado de semillas de *R. alpinia*, mediante técnicas cromatográficas y espectrométricas, hallando que la mayoría de los compuestos volátiles que lo conforman son hidrocarburos monoterpénicos: 38 %  $\beta$ -felandreno, 22.3 %  $\beta$ -pineno y 18.4 % limoneno mayoritariamente. Tanto el  $\beta$ -pineno como el limoneno se encuentran como posibles compuestos identificados en la cromatografía de gases (Cuadro 7). Hasta ahora no se tiene un estudio reciente de la composición química de la semilla de *R. alpinia*, colectada de Ecatlan y Jonotla, Puebla.

Se ha estudiado el aceite de hoja de *Renealmia* sp., donde los mayores constituyentes son:  $\beta$ -pineno (31.9 %), 1,8-cineol (21.3 %) y alcanfor (10.5 %)

(Leclercq et al., 2000). Otros compuestos presentes en la hoja, pero de la especie *Renealmia thyrsoides* son terpinoleno (26.32 %),  $\alpha$ -felandreno (17.16 %),  $\gamma$ -terpineno (6.55 %),  $\beta$ -pineno (5.97 %), p-cymol (4.70 %) (Noriega et al., 2016).

Comparando los resultados obtenidos con una especie perteneciente a la familia *Zingiberaceae*, pariente del x'kijit, tenemos al cardamomo (*Elettaria cardamomum*), del cual el aceite esencial de la semilla se ha estudiado por ser la parte consumible de la planta. En un estudio realizado para determinar la composición química y los efectos insecticidas del aceite esencial de cardamomo, se encontraron como componentes principales en un 36.61 % al  $\alpha$ -acetato de terpineol, 30.42 % de 1,8-cineol, 5.79 % de acetato de linalilo y 4.84 % de sabineno (Goudarzvand et al., 2017). Sin embargo, otro estudio reporta al  $\alpha$ -ionona, eucaliptol y alcohol santonila (29.29 %, 18.85 % y 9.23 % respectivamente) como compuestos mayoritarios (Ahmed et al., 2019). Con estas investigaciones se puede notar que no comparten constituyentes químicos de manera mayoritaria la semilla de cardamomo con la de x'kijit, aunque habría que considerar que las diferencias que se reportan para la composición química aún para la misma especie son debidas a las condiciones edafoclimáticas de donde se extrajo el material vegetal, puesto que los estímulos abióticos promueven distintas vías biosintéticas dando origen a una gran variedad de metabolitos secundarios (Gómez et al., 2019), Esto explica que la composición química de las semillas de *R. alpinia* que se obtuvieron de la comunidad de Ecatlán, México, aunque algunos compuestos hayan coincidido con la investigación de Lognay, et al., pueden ser diferentes debido a que ese estudio utilizó material vegetal peruano.

#### 4.3.3. Análisis del aceite esencial por Resonancia magnética nuclear

Con la finalidad de corroborar la información obtenida en el espectrómetro de gases, se llevó a cabo la caracterización de compuestos a través de espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , del aceite de semilla de x'kijit. En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  se presentan hidrógenos de alqueno aproximados a 5 y 5.6 ppm, una zona de  $\text{CH}_2$  y doble enlace entre 1.8 y 3,

además de varias señales de CH<sub>3</sub>, entre 1 y 1.6 aproximadamente (Figura 9). Algunas señales coincidiendo a la estructura del limoneno y también del pineno.

Con la finalidad de corroborar la información obtenida en el espectrómetro de gases, se realizó la caracterización de compuestos a través de espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, del aceite de semilla de x'kijit. En el espectro de RMN de <sup>1</sup>H se presentan hidrógenos de alqueno aproximados a 5 y 5.6 ppm, una zona entre 1.8 y 3.0 ppm, de hidrógenos tipo CH y CH<sub>2</sub> que corresponden a los hidrógenos α- a los enlaces dobles, además de varias señales de CH<sub>3</sub>, entre 1.0 y 1.6 ppm (Figura 9).

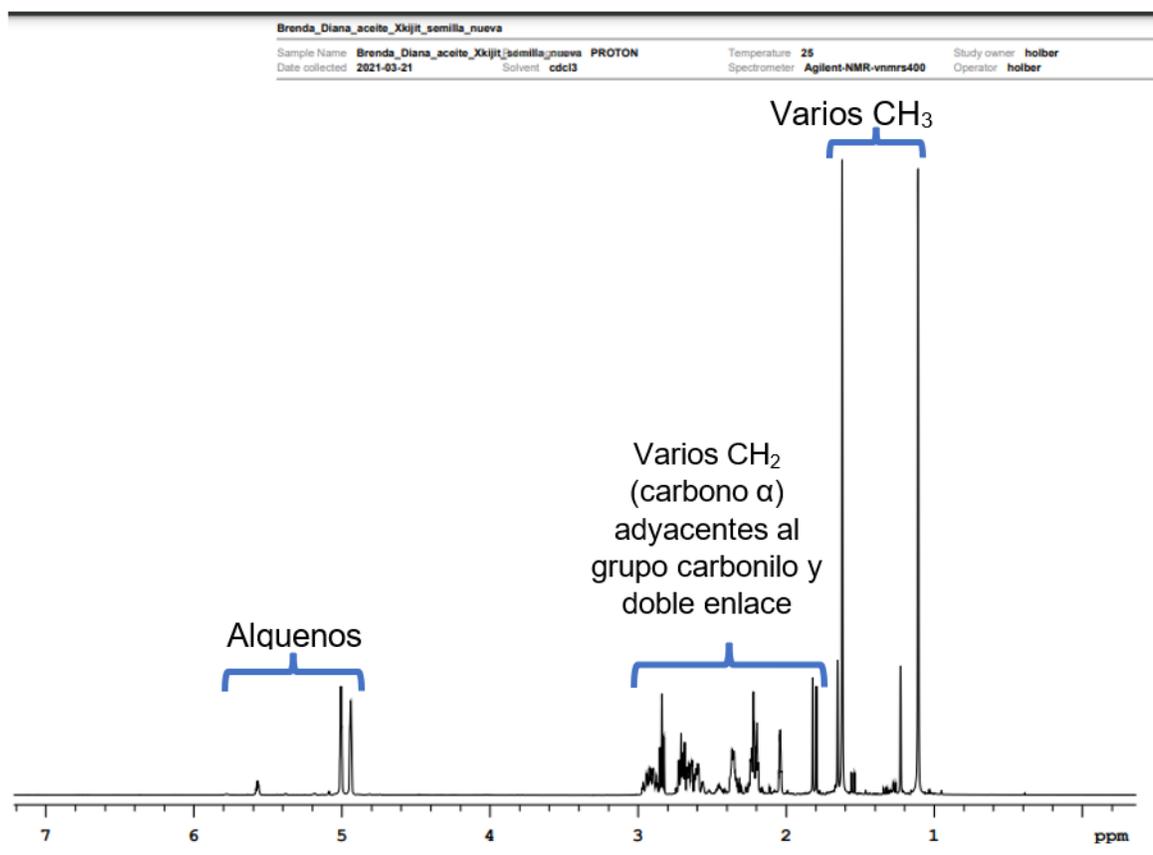


Figura 9. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, TMS, 400 MHz) del aceite de semillas de x'kijit hidrodestilado.  
Fuente: elaboración propia con datos experimentales.

En cuanto al espectro de RMN de <sup>13</sup>C, tenemos la presencia de grupos carbonilo (C=O) entre 140 y 160 ppm, carbonos con doble enlace (R-CH=CH-R) entre 108

y 114 ppm, y carbonos saturados entre 20 y 52 (Figura 10) con señales similares al pineno.

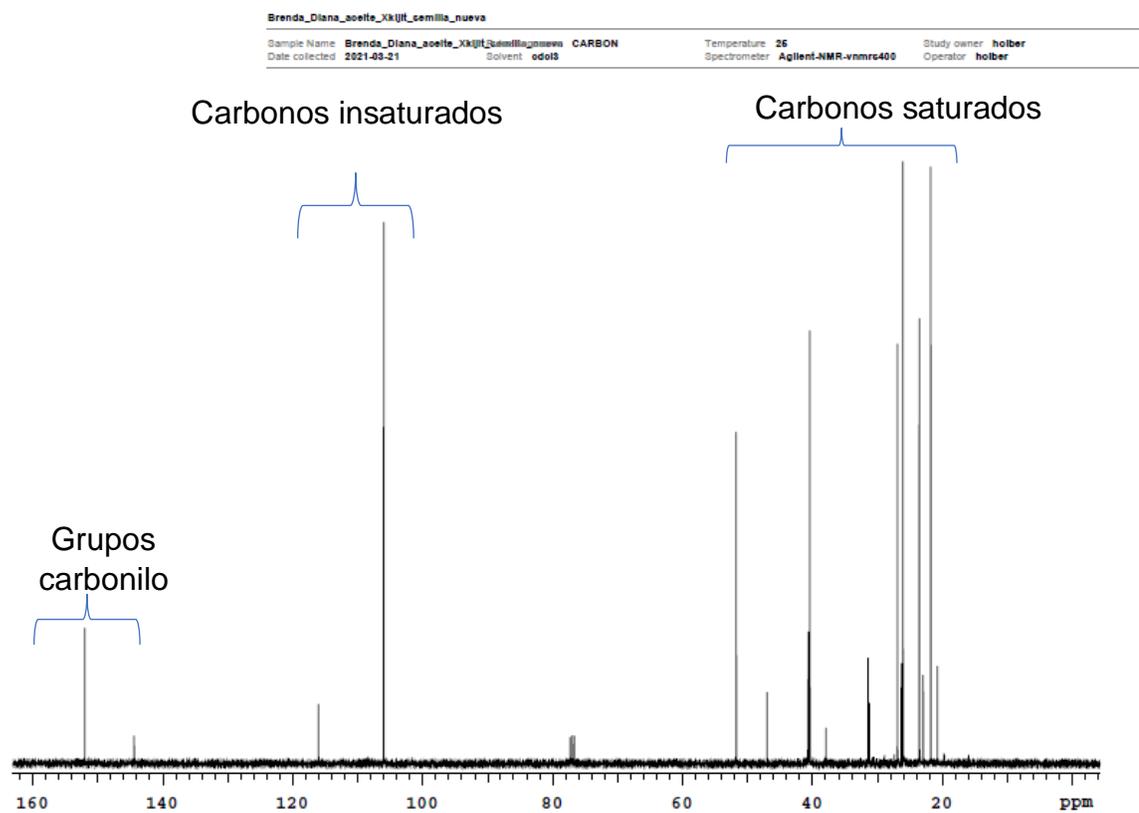


Figura 10. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , TMS, 400 MHz) del aceite de semillas de xkijit hidrodestilado.

Fuente: elaboración propia con datos experimentales.

Continuando con el análisis del aceite esencial, en la expansión mostrada en la Figura 12, es posible observar un grupo de señales a altas frecuencias y específicamente en la zona de protones de grupo aldehído en 9.40 y 9.64 ppm que precisamente corresponden a los protones aldehídicos de un diterpeno conocido aislado previamente de *Renalmia alpina*, otras señales confirmatorias de la presencia del diterpeno mencionado son las señaladas en el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del aceite esencial, que coinciden con las de un grupo metileno exocíclico a 4.89 y 4.40 ppm (Figura 12b).

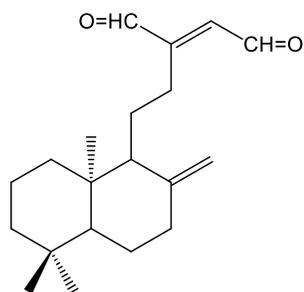


Figura 11. Diterpeno aislado del extracto hexánico de semillas de *Renalmia alpina*

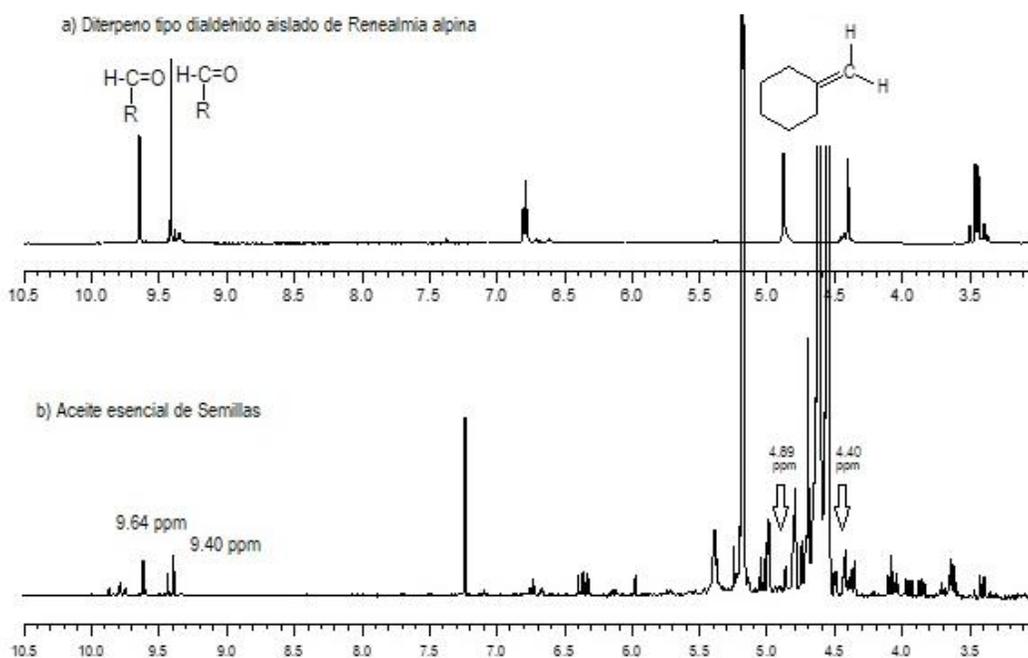


Figura 12. Expansiones de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , TMS, 400 MHz), Trazo inferior a) Del aceite esencial de semillas de x'kijit, trazo superior b) Del dialdehído puro aislado por cromatografía en columna.

En el mismo espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del aceite esencial, es posible encontrar un conjunto de señales simples a 0.84 y 1.26 ppm que corresponden a los grupos *gem*-dimetilo ( $\text{CH}_3$ ) y otro metilo de tipo vinílico ( $\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$ ) en 1.65 ppm que en conjunto con la señal de hidrógeno vinílico ( $-\text{CR}=\text{CR}-\text{H}$ ) en 5.18 ppm, permiten deducir que  $\alpha$ -pineno está presente en este aceite esencial (Figura 13)

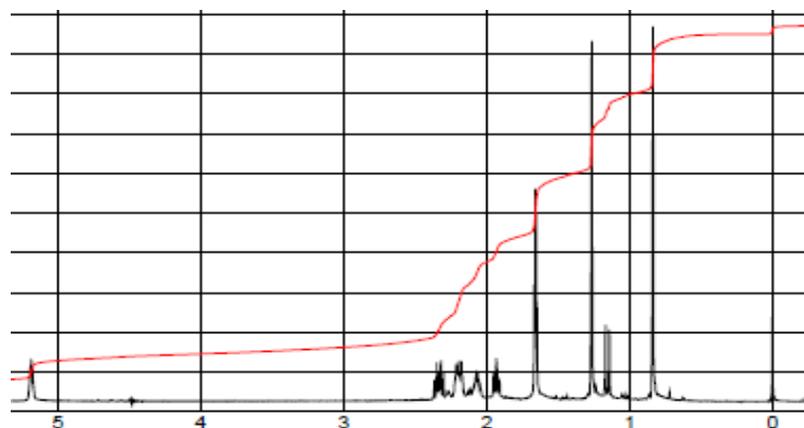


Figura 13. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) publicado por la empresa Sigma-Aldrich-Merck del  $\alpha$ -pineno

El grupo de señales descritas en el espectro publicado por la empresa Sigma-Aldrich-Merck, se pueden observar en la expansión del espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del aceite esencial de *Renalmia alpinia* (Figura 14), confirmando así, la presencia de  $\alpha$ -pineno, aunque no este señalado como uno de los 10 principales componentes de este aceite.

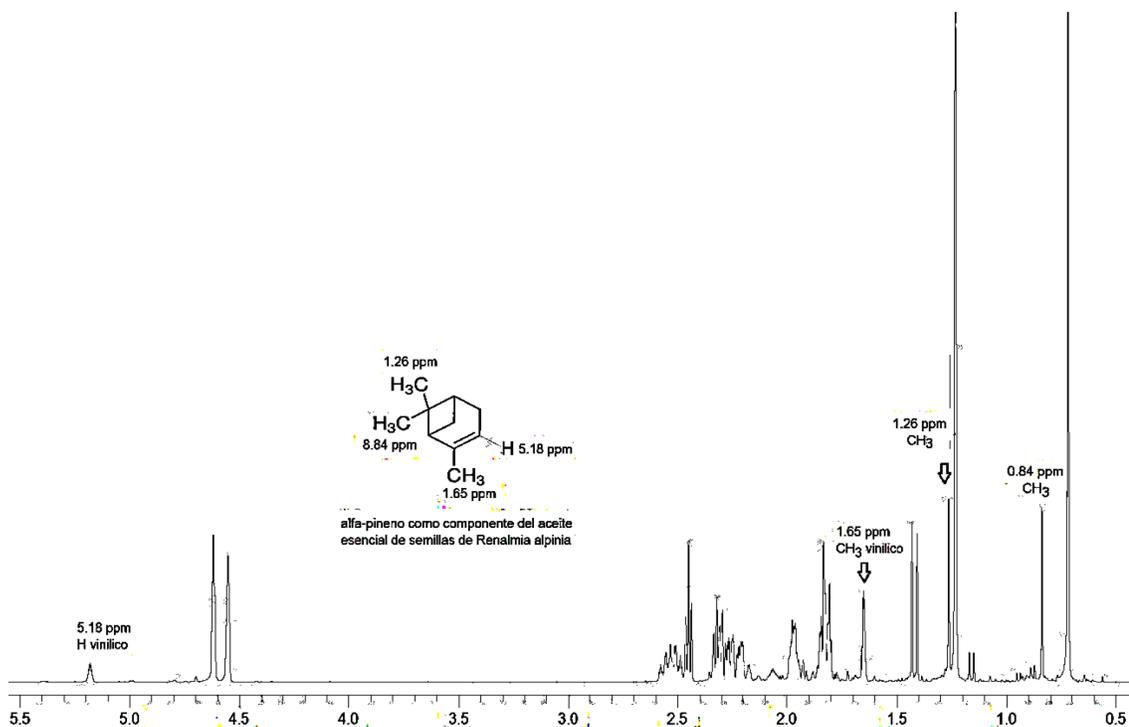


Figura 14. Expansión del espectro de RMN  $^1\text{H}$  del aceite esencial de *Renalmia alpinia*, donde se observan las señales que indican la presencia de  $\alpha$ -pineno en este aceite.

Finalmente, cabe señalar la observación de dos señales intensas en el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del aceite esencial de *Renealmia alpinia*, en 4.61 y 4.55 ppm que son característicos de los hidrógenos metilénicos de un sistema exocíclico, semejante al publicado para los isómeros *cis*- y *trans*- del pinocarveol, cuyos desplazamientos químicos publicados para los hidrógenos del metileno exocíclico son de 4.75 y 5.05 ppm, sin embargo no corresponde a esta molécula, pero resulta muy interesante este monoterpenoide y sería posible purificarlo utilizando complejos de transferencia de carga como por ejemplo, emplear una columna cromatográfica cuya fase estacionaria sea Silica gel impregnada con nitrato de plata.

Otro monoterpenoide que podría estar presente en el aceite esencial de semillas de *Renealmia alpinia* es el  $\beta$ -pineno, que también muestra un grupo metileno exocíclico en su estructura, sus desplazamientos químicos aunque difieren un poco con los de los hidrógenos observados en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del aceite esencial (4.61 y 4.55 ppm) y los publicados por la empresa Sigma-Aldrich-Merck (Figura 15), los dos grupos metilo ( $-\text{CH}_3$ ) en cabeza de puente 0.71 y 1.23 ppm confirman la presencia de este metabolito en el aceite esencial mencionado.

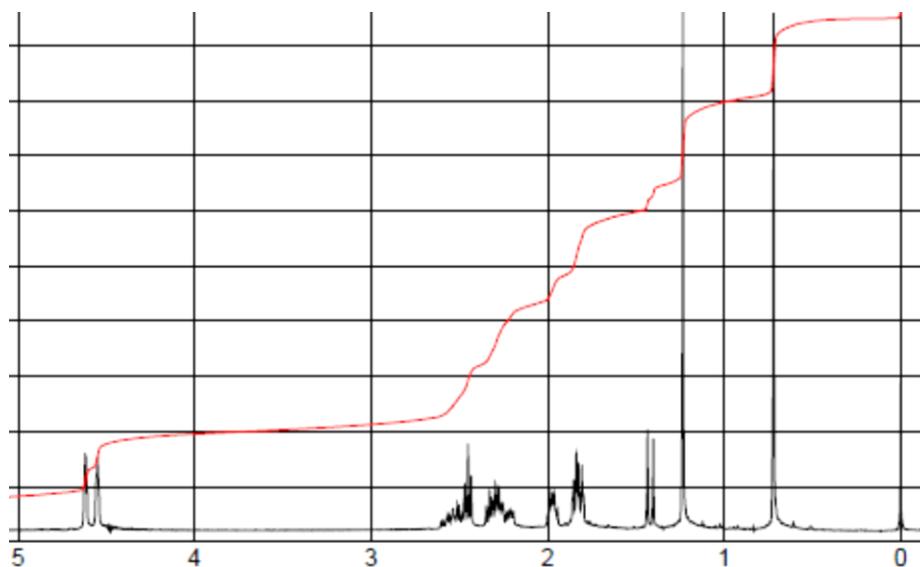


Figura 15. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz ( $\text{CDCl}_3$ , TMS), publicado por la empresa Sigma-Aldrich-Merck del  $\beta$ -pineno.

Al observar el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  publicado por la empresa Sigma-Aldrich-Merck (Figura 16, trazo superior), es posible corroborar la presencia del  $\beta$ -pineno en el aceite esencial, cuyos datos de desplazamientos químicos son comparables a los observados en este aceite (Figura 16, trazo inferior).

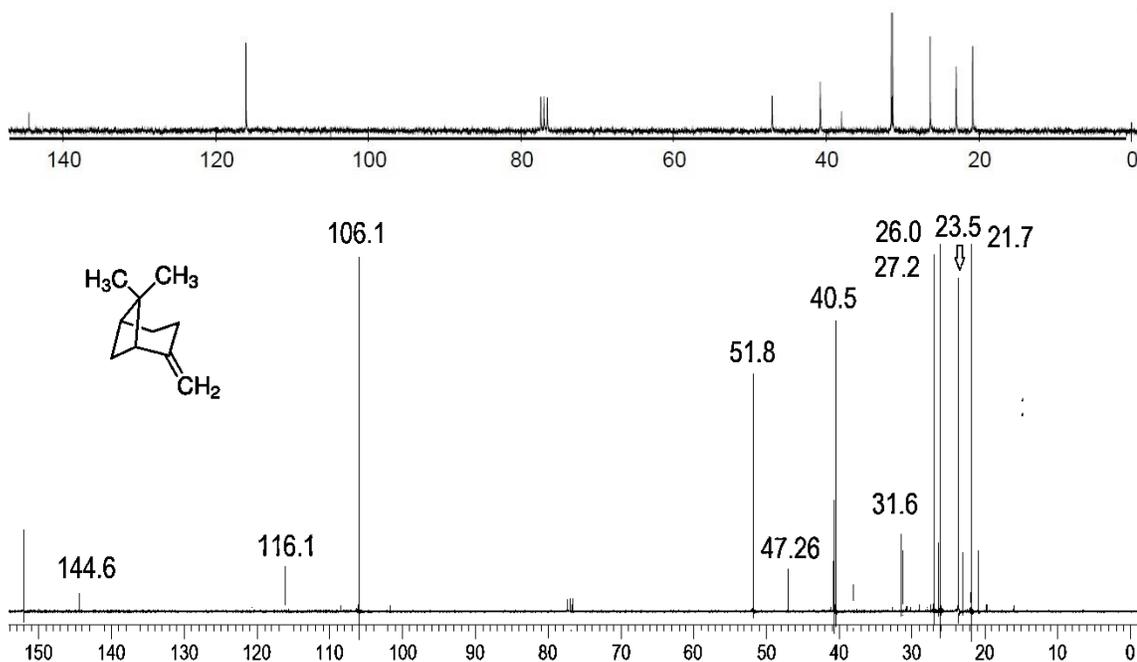


Figura 16. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 75 MHz ( $\text{CDCl}_3$ , TMS), publicado por la empresa Sigma-Aldrich-Merck del  $\beta$ -pineno (Trazo superior) y a 100 MHz del aceite esencial de *Renealmia alpinia* (Trazo inferior).

#### 4.4 Conclusiones

En una aproximación de los compuestos químicos que contiene el aceite esencial de semilla de *R. alpinia* se encontraron 10 compuestos volátiles, de los cuales, por medio de Resonancia Magnética Nuclear, se identificaron  $\alpha$  y  $\beta$ -pineno, así como minoritariamente el aldehído diterpeno previamente aislado en extractos hexánicos de *R. alpinia*.

#### 4.5 Literatura citada

- Ahmed, H. M., Ramadhani, A. M., & Erwa, I. Y. (2019). Phytochemical screening, chemical composition, and antibacterial activity of essential oil of cardamom. *World J. Pharm. Res*, 8(9), 1166-1175.
- Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
- Gevú, K. V., Lima, H. R., Neves, I. A., Mello, É. O., Taveira, G. B., Carvalho, L. P., ... & Da Cunha, M. (2019). Chemical Composition and Anti-Candida and Anti-Trypanosoma cruzi Activities of Essential Oils from the Rhizomes and Leaves of Brazilian Species of *Renealmia* L. fil. *Records of Natural Products*, 13(3), 280.
- Gómez Betancur, I. C., Benjumea Gutiérrez, D. M., Mejía, N., León, J. F., & Gómez, J. E. (2019). Antinociceptive activity of essential oils from wild growing and micropropagated plants of *Renealmia alpinia* (Rottb.) maas.
- Goudarzvand Chegini, S., & Abbasipour, H. (2017). Chemical composition and insecticidal effects of the essential oil of cardamom, *Elettaria cardamomum* on the tomato leaf miner, *Tuta absoluta*. *Toxin reviews*, 36(1), 12-17.
- Leclercq, PA, Delgado, HS, García, J., Hidalgo, JE, Cerrutti, T., Mestanza, M., & Menéndez, R. (2000). Aceites Vegetales Aromáticos de la Amazonía Peruana. Parte 2. *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., *Renealmia* sp., *Hyptis recurvata* Poit. y *Tynanthus panurensis* (Bur.) Sandw. *Revista de investigación de aceites esenciales*, 12 (1), 14-18.
- Lognay, G., Marlier, M., Severin, M., Haubruge, E., Gibon, V., & Trevejo, E. (1991). On the characterization of some terpenes from *Renealmia alpinia* Rott.(Maas) oleoresin. *Flavour and fragrance journal*, 6(1), 87-91.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & Feo, V. D. (2017). Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, 10(4), 86.
- Noriega, P. F., Paredes, E. A., Mosquera, T. D., Díaz, E. E., Lueckhoff, A., Basantes, J. E., & Trujillo, A. L. (2016). Chemical Composition antimicrobial and free radical scavenging activity of essential oil from leaves of *Renealmia thyrsoidea* (Ruiz Pav.) Poepp. Endl. *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(33), 553-558.

## 5. DISPOSICIÓN A PAGAR POR UN PRODUCTO NUTRACEÚTICO A BASE DE SEMILLA DE XKIJIT

### RESUMEN

En años recientes las personas están más interesadas en cuidar su salud debido al incremento en enfermedades crónico-degenerativas, buscando opciones preventivas para dichas problemáticas, tal es el caso de consumir alimentos con ciertas cualidades benéficas que los mantengan saludable e incrementen el sistema inmunológico. Se han encontrado propiedades antioxidantes en el fruto conocido como x'kjit, (*R. alpinia*) una planta que crece en la Sierra Norte de Puebla, y con la finalidad de aprovechar la semilla del fruto, que después de la elaboración de un platillo típico es considerado como desecho, buscando un uso alternativo como nutraceutico que puedan ofrecer los pobladores de la Sierra Norte de Puebla como opción de fuente de ingresos. Se identificó la disposición a pagar de los consumidores por nutraceuticos por medio de una encuesta realizada en Google Forms y analizada con regresiones logísticas modelo Probit, en donde se obtuvo información de que los consumidores están dispuestos a pagar un precio adicional por algún producto nutraceutico o adicionado con él, sin importar el origen o las condiciones en que crece la planta.

**Palabras clave:** *Renealmia alpinia*, disposición a pagar, producto nutraceutico, Sierra Norte de Puebla, modelo probit.

## 5. WILLINGNESS TO PAY FOR AN XKIJIT SEED-BASED NUTRACEUTIC PRODUCT

### ABSTRACT

In recent years, people are more interested in taking care of their health due to the increase in chronic degenerative diseases, looking for preventive options for these problems, such as the case of consuming foods with certain beneficial qualities that keep them healthy and increase the immune system. Antioxidant properties have been found in the fruit known as x'kjit (*R. alpinia*), a plant that grows in the Sierra Norte de Puebla and, so that take advantage of the fruit's seed, which after making a typical dish is considered waste, looking for alternative use as a nutraceutical that the inhabitants of the Sierra Norte de Puebla can offer as an option of source of income. The willingness to pay of consumers for nutraceuticals was identified through a survey carried out in Google Forms and analyzed with model logistic regressions. Probit, where information was obtained that consumers are willing to pay an additional price for a nutraceutical product or added to it, regardless of the origin or conditions in which the plant grows.

**Keywords:** *Renealmia alpinia*, willingness to pay, nutraceutical product, Sierra Norte de Puebla, probit model.

## 5.1. Introducción

Existe la tendencia de buscar opciones alimenticias con contenidos menores de sustancias químicas como aditivos o suplementos sintéticos (Moldes et al., 2017), regresando al principio hipocrático de “que el alimento sea tu medicina y tu medicina sea tu alimento” (Chanda et al., 2019), cumpliendo también con las expectativas de las personas asociando alimentos con buena salud y prevención de enfermedades (Farid et al., 2019).

De aquí surge el concepto de nutraceutico, atribuido a Stephen De Felice en 1979, que es la combinación de la palabra nutriente y farmacéutico, siendo alimentos o partes de estos que conservan y modifican los procesos metabólicos para el buen funcionamiento fisiológico de los seres humanos (Rajat et al., 2012).

Dependiendo del uso de los nutraceuticos, estos se clasifican en: tradicionales, no tradicionales, fortificados, recombinantes, potenciales y establecidos, fitoquímicos, hierbas suplementos y fibras dietéticas, probióticos y prebióticos (Sharma et al., 2017).

Las personas al buscar alimentos de calidad, y si contribuyan al cuidado de su salud, tienden a tener la motivación a pagar un precio superior por éstos, a esto se le llama disposición a pagar (DAP), que es un indicador de la demanda como un intercambio de mayor pago por mejor calidad (Hanemann, 1991).

En México, enfermedades crónicas como las cardiovasculares, diabetes, artritis y cáncer, son atribuidas a una mala alimentación entre otros factores, por lo que para contrarrestar o minimizar estas afecciones se recomienda una alimentación saludable y llevar a cabo actividades físicas (Meléndez et al, 2020). Entre las recomendaciones alimenticias son las raciones específicas de carnes, frutas, verduras, así como compuestos aislados respaldados por conocimientos científicos como las fibras y los antioxidantes (Santana, 2019).

Las plantas silvestres comestibles son una fuente de nutrientes y están siendo empleadas en la alta cocina, se han investigado sus propiedades benéficas como

antioxidantes y antiinflamatorias (Pereira et al., 2020). En México existen más de 250 especies de plantas silvestres, son parte de la dieta básica de las comunidades en donde crecen o se semicultivan, siendo de fácil recolección para las personas (Mateos et al., 2020). En la Sierra Norte de Puebla crece una planta rizomática aromática conocida como x'kjit (*R. alpinia*), que en totonaco significa “masa rica”, cuyas hojas son usadas como envoltura de tamales y empanadas (Barco, 2002). El fruto es una fuente de colorantes y compuestos antioxidantes (Jimenez et al., 2021). En este estudio se identificó la disposición a pagar por subproductos nutraceuticos derivados de la semilla del x'kjit.

## **5.2. Materiales y métodos**

### **4.2.1. Método de muestreo**

Se aplicó un muestreo no probabilístico tipo bola de nieve, en donde los participantes respondieron la encuesta por medio de Google Forms y de tener la posibilidad compartir la encuesta con sus contactos para ser llenada. Los encuestados fueron convocados vía Facebook y Whatsapp. La recopilación de datos fue en los meses de septiembre y octubre de 2021.

### **4.2.2. Estructura de la encuesta**

Se hizo una adaptación de la metodología propuesta por Szakály et al. (2019), dividiendo la encuesta en cuatro bloques. El primer bloque titulado “hábitos de consumo y patrones de compra”, constaba de una escala Likert de 5 puntos, donde a través de una serie de enunciados se invitaba a marcar el enunciado que mejor describiera sus prácticas de compra, así como sus creencias sobre los alimentos. El segundo bloque, “consumo de nutraceuticos”, invitaba al participante a elegir, entre una serie de opciones, el nutraceutico que consume con mayor frecuencia, la repetición mensual de consumo y presentación de compra, incluyendo el ordenamiento, de acuerdo con sus hábitos, de los atributos presentados para sus decisiones de compra. El tercer bloque, “escenarios hipotéticos”, contenía preguntas de disposición a pagar, así como del porcentaje

extra, de dichos supuestos y, el cuarto bloque recopilaba las características demográficas del participante.

#### 4.2.3. Análisis de la información

Se propusieron tres variables dependientes dicotómicas para determinar la disposición a pagar, las cuales fueron formuladas como las siguientes preguntas: ¿estarías dispuesto a pagar un % extra por un alimento adicionado con un nutraceutico?, ¿estarías dispuesto a pagar un costo adicional por un producto elaborado por pobladores de la Sierra Norte de Puebla? y, ¿estarías dispuesto a pagar un costo adicional por un producto alimenticio obtenido de una planta que conservan en México y que te aporta beneficios a la salud?. Se aplicó el modelo Probit (Munene,2006) para la regresión logística (fuente), donde las variables independientes fueron agrupaciones denominadas: características sociodemográficas, hábitos de consumo y patrones de compra, consumo de nutraceuticos y decisiones de compra de estos. También se obtuvo la máxima verosimilitud para la estimación de valores de parámetros desconocidos y tener la explicación más probable de los datos empleando el software XLSTAT versión 2014 (Addinosoft, U.S.A.). Los encuestados podían elegir el rango que ellos consideraban como el porcentaje extra a pagar cada una de las variables dependiente, teniendo como opciones menos del 5 %, de 6 al 25 %, de 26 al 35 %, arriba del 35 %, obteniendo, al cerrar la encuesta, el porcentaje de personas que estuvieron dispuestas a pagar por cada uno de los rangos de los porcentajes presentados.

### **5.3. Resultados y Discusión**

Se obtuvieron 337 respuestas de la encuesta electrónica titulada “Hábitos de consumo de nutraceuticos”, recabando información acerca de características sociodemográficas, hábitos de consumo alimentario y patrones de compra, consumo de nutraceuticos y decisiones de compra; para determinar la disposición a pagar y el porcentaje máximo extra que se pagaría en tres rubros (variables dependientes): por un alimento adicionado con un nutraceutico, por un

producto elaborado por pobladores de la Sierra Norte de Puebla y, por un producto alimenticio obtenido de una planta que conservan en México y que aporta beneficios a la salud.

Se tuvo una participación mayoritariamente de tres entidades federativas del país: 43.9 % del Estado de México, 16.9 % de la Ciudad de México y el 11.3 % de Oaxaca. Una participación importante del sexo femenino (65.3 %), el rango de edad predominante fue de 26 a 40 años (50.4 %), siendo empleados como principal ocupación (43.9 %). Solteros en su generalidad (58.8 %), la licenciatura fue el nivel de estudios destacado (55.5 %), con ingresos mensuales menores de \$5 000 (29.1 %) y 28.8 % entre \$10 000 - \$19 999 (Cuadro 8).

Cuadro 8. Características sociodemográficas de los encuestados

Variable	Categorías	% de participantes
Sexo	Femenino	65.3
	Masculino	34.7
Edad	≤ 25 años	23.4
	26-40 años	50.4
	41-55 años	20.5
	56-75 años	5.6
	> 76 años	0
Ocupación	Estudiante	29.4
	Empleado	43.9
	Emprendedor	17.8
	Ama de casa	7.7
	Jubilado o pensionado	1.2
Estado civil	Soltero(a)	58.8

	Casado(a)	25.2
	Divorciado(a)	4.7
	Viudo(a)	0.9
	Concubinato o unión libre	10.4
	Sin escolaridad	0.3
Nivel educativo	Primaria	0.6
	Secundaria	3.3
	Preparatoria	12.2
	Licenciatura	55.5
	Posgrado	28.2
	Menos de \$5 000	29.1
	\$5 000 - \$ 9 999	24
	\$10 000 - \$19 999	28.8
Ingreso mensual	\$20 000 - \$29 999	11.3
	\$30 000 \$39 999	3.3
	\$40 000 - \$49 999	3
	\$50 000 - \$59 999	0
	Más de \$60 000	0.6

Fuente: Elaboración propia

Se observa en las regresiones probit (¡Error! La autoreferencia al marcador no es válida.) que hábitos de consumo con patrones de compra y, consumo de nutraceuticos son significativas para la disposición a pagar por un alimento adicionado con un nutraceutico. Se tuvo un 62.9 % de los consumidores dispuestos a pagar un porcentaje extra por un alimento adicionado por un nutraceutico, en donde el 45.6 % de ellos pagaría 6 a 15 % más. Los consumidores tienen mayor preferencia a los nutraceuticos cuando existe

evidencia científica a la que ellas pudieran acceder, siendo ésta de fácil comprensión y así tener seguridad en su decisión de compra (Teoh et al., 2021).

Cuadro 9. Significancias de regresiones probit de la disposición a pagar en tres rubros

Variables independientes	Disposición a pagar		
	Nutraceuticos	Productores de la Sierra Norte de Puebla	Planta conservada y nutraceutica en México
Características sociodemográficas	0.973	0.990	0.995
Hábitos de consumo y patrones de compra	<b>&lt;0.0001</b>	0.097	0.074
Consumo de nutraceuticos	<b>0.003</b>	0.489	0.615
Decisiones de compra	0.290	0.212	0.350

Fuente: Elaboración propia

El x'kjit es una planta que ha crecido en la Sierras de Puebla, Oaxaca, Veracruz y Chiapas, conocida a nivel regional por usar el arilo del fruto en platillos, las hojas para envolver tamales y también son usadas para usos medicinales. Los pobladores de la región dejan secar la semilla al sol para esparcirlas posteriormente en sus traspatios. Al no ser una planta tradicional mexicana es poco conocida por el resto de los estados del país, explicando el que no sea significativo el origen del alimento en esta investigación. A diferencia del maíz, cultivo ampliamente reconocido en México, en dónde se ha investigado que los consumidores sí estuvieron dispuestos a pagar un sobreprecio en elotes al conocer su origen, si es cultivado en un sistema orgánico y por pequeños productores (Jauregui et al., 2021).

De manera individual se analizaron las variables independientes significativas: hábitos de consumo con patrones de compra y, consumo de nutraceúticos, con la probabilidad asociada de  $\chi^2$ . Los hábitos de consumo significativos para tener disposición a pagar por un alimento adicionado por un nutraceútico (Cuadro 10) son: evito los alimentos con alto contenido de sal ( $p = 0.031$ ), evito los alimentos con alto contenido de azúcar ( $p = 0.015$ ) y los alimentos enriquecidos con ingredientes que mejoran la salud valen los costos adicionales ( $p = <0.0001$ ).

Cuadro 10. Modelo econométrico de la DAP por un alimento adicionado con un nutraceútico según los hábitos de consumo y patrones de compra.

Parámetros del modelo				Verosimilitud
Variable	Coefficiente ( $\beta$ )	Error estándar	Pr $> \chi^2$	
Intersección	-0.834	0.704	0.236	400.65
1	-0.041	0.120	0.735	$\chi^2 = 43.81$
2	0.009	0.091	0.924	<i>.g.l.</i> = 16, 320
3	0.055	0.080	0.493	$p = < 0.0001$
4	0.116	0.070	0.100	
5	0.242	0.112	<b>0.031</b>	
6	-0.076	0.124	0.542	
7	-0.265	0.109	<b>0.015</b>	
I	0.045	0.068	0.502	
II	-0.087	0.067	0.192	
III	-0.015	0.070	0.826	
IV	0.038	0.063	0.544	
V	-0.118	0.070	0.090	
VI	0.119	0.108	0.269	
VII	0.067	0.090	0.459	
VIII	0.304	0.077	<b>&lt; 0.0001</b>	
IX	-0.102	0.060	0.089	

Fuente: Elaboración propia

- 1 = Intento comer alimentos saludables
- 2 = Como cinco o más porciones de frutas y verduras al día
- 3 = Compró alimentos a base de hierbas, naturales u orgánicos
- 4 = Compró suplementos dietéticos
- 5 = Evito los alimentos con alto contenido de sal
- 6 = Evito los alimentos con alto contenido de colesterol
- 7 = Evito los alimentos con alto contenido de azúcar
- I = Confío en alimentos que prometen mejorar mi salud
- II = Los alimentos que mejoran la salud son económicamente accesibles
- III = Los alimentos que mejoran la salud están destinados solo para las personas enfermas y ancianos
- IV = Los alimentos saludables saben tan bien como los alimentos convencionales
- V = Algunos nutraceuticos pueden tener efectos nocivos
- VI = Comer alimentos que mejoran la salud es beneficioso para mí
- VII = Todas las tiendas de comestibles deben vender productos alimenticios que mejoren la salud
- VIII = Los alimentos enriquecidos con ingredientes que mejoran la salud valen los costos adicionales
- IX = Podemos obtener sustancias que mejoran la salud de los alimentos existentes. Por lo tanto, no es necesario desarrollar nuevos productos enriquecidos con sustancias que mejoran la salud

La inclinación de compra de los consumidores por alimentos bajos en sodio o en azúcar están relacionados al consumo previo de los mismos, pero también existen otro tipo de consumidores influenciados por las campañas publicitarias que indican daños a la salud con el exceso de sal y azúcar en los alimentos, por lo que sus elecciones de compra son sesgadas, ya que este tipo de consumidores prefieren alimentos regulares (Park et al., 2020). Por lo que se sugeriría sacar al mercado un producto con estas indicaciones de bajo contenido de sodio y azúcar, pues forma parte de las prácticas de compra de los consumidores, incluyendo su disposición a pagar un costo adicional por alimentos enriquecidos con ingredientes que mejoren su salud.

Cabe señalar que el bajo contenido de algún ingrediente no es una garantía de mejor calidad nutricional, pues los alimentos y bebidas señalados con bajo o nulo contenido de sodio o azúcar suelen tener densidades medias de contenido total de calorías, azúcar, grasas y sodio en concentraciones (Taillie et al., 2017).

La DAP por un alimento adicionado con un nutraceutico de acuerdo con el consumo de estos, tiene como características significativas el tipo de nutraceutico consumido ( $p = 0.041$ ), así como su frecuencia mensual de consumo ( $p = 0.008$ )

(Cuadro 11). El 66.8 % de los encuestados prefiere a las hierbas como primera opción nutraceútica, seguida por los antioxidantes y los nutrientes (vitaminas y omegas). Con un 47.8 % los encuestados consumen menos de 2 veces al mes nutraceúticos.

Cuadro 11. Modelo econométrico de la DAP por un alimento adicionado con un nutraceútico según el consumo de estos.

Variable	Parámetros del modelo			Verosimilitud
	Coefficiente ( $\beta$ )	Error estándar	Pr > $\chi^2$	
Intersección	0.236	0.211	0.263	430.52
Cual nutraceútico consume.	-0.098	0.048	<b>0.041</b>	$\chi^2 = 13.93$
Frecuencia mensual de consumo	0.165	0.062	<b>0.008</b>	.g.l. = 3, 333
Cantidad promedio mensual	0.013	0.042	0.759	$p = 0.003$

Fuente: Elaboración propia

En la disposición a pagar por un alimento adicionado con un nutraceútico, tanto la variable independiente características sociodemográficas como decisiones de compra no fueron significativas.

Como parte de la encuesta se les proporcionaron tres posibles presentaciones para un producto alimenticio adicionado con semilla de x'kijit, indicando que el sabor de esta era similar al jengibre, el 46.3 % se inclinó por una presentación en tisana, mientras que un 43 % preferiría probar la semilla como parte de pan artesanal. La finalidad de esta pregunta estuvo enfocada en las posibilidades de elaboración por los pobladores de Ecatlán, Puebla en un producto que aprovechara la semilla de x'kijit, para ofrecer un alimento que pudieran comprar locales y turistas. Sin embargo, esta investigación arrojó que los consumidores tendrían la disposición a pagar extra por un alimento benéfico para su salud, pero

no por un producto en apoyo a pobladores de zonas marginadas y desigualdad social, como lo es la Sierra Norte de Puebla, ni pagar extra por un producto de una planta que conservan en esa región.

#### **5.4 Conclusiones**

Se encontró que existe un interés en los consumidores por alimentos benéficos para su salud, evitando alimentos azucarados o con alto contenido de sal, estando de acuerdo en pagar un precio extra por los nutraceuticos, de los cuales se consume más nutrientes como vitaminas y omegas, comprando menos de dos veces al mes estos productos. Al ser el x'kjit una planta conocida regionalmente, en el consumidor no genera un impacto en su disposición a pagar un porcentaje extra al conocer el origen de los productores o si es una planta conservada en la Sierra Norte de Puebla. Por lo tanto, como futuro aprovechamiento de un producto elaborado con semilla de x'kjit es mejor indicar que aporta beneficios a la salud como producto nutraceutico para atraer la atención de los consumidores.

## 5.5 Literatura citada

- Barco, M. J. M. (2002). " *Renealmia alpinia*"(Rottb.) Maas (Zingiberaceae): planta comestible de la Sierra Norte de Puebla (México). In *Anales del Jardín Botánico de Madrid* (Vol. 60, No. 1, pp. 183-188). Real Jardín Botánico.
- Chanda, S., Tiwari, R. K., Kumar, A., & Singh, K. (2019). Nutraceuticals inspiring the current therapy for lifestyle diseases. *Advances in pharmacological sciences, 2019*.
- Farid, M., Kodama, K., Arato, T., Okazaki, T., Oda, T., Ikeda, H., & Sengoku, S. (2019). Comparative study of functional food regulations in Japan and globally. *Global Journal of Health Science, 11*(6), 132-132.
- Hanemann, W. M. (1991). Willingness to pay and willingness to accept: how much can they differ?. *The American Economic Review, 81*(3), 635-647.
- Jauregui García, C. Z., Espejel García, A., & Hernández Montes, A. (2021). Valoración y disposición a pagar por los consumidores de elote en México. *Revista De La Facultad De Agronomía De La Universidad Del Zulia, 38*(2), 441-461.
- Jimenez-Gonzalez, O., Luna-Guevara, J. J., Ramírez-Rodrigues, M. M., Luna-Vital, D., & Luna-Guevara, M. L. (2021). Microencapsulation of *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas pulp pigment and antioxidant compounds by spray-drying and its incorporation in yogurt. *Journal of Food Science and Technology, 1-11*.
- Mateos-Maces, L., Chávez-Servia, J. L., Vera-Guzmán, A. M., Aquino-Bolaños, E. N., Alba-Jiménez, J. E., & Villagómez-González, B. B. (2020). Edible leafy plants from Mexico as sources of antioxidant compounds, and their nutritional, nutraceutical and antimicrobial potential: A review. *Antioxidants, 9*(6), 541.
- Meléndez-Sosa, M. F., García-Barrales, A. M., & Ventura-García, N. A. (2020). Perspectivas e impacto en la salud del consumo de los alimentos funcionales y nutraceuticos en México. *RD-ICUAP, 6*(1), 114-136.
- Moldes, A. B., Vecino, X., & Cruz, J. M. (2017). Nutraceuticals and food additives. In *Current developments in biotechnology and bioengineering* (pp. 143-164). Elsevier.
- Munene, C. N. (2006). *Analysis of consumer attitudes and their willingness to pay for functional foods*. LSU Master's Theses Baton Rouge, Louisiana, LA: Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
- Park, Y., Lee, D., Park, S., & Moon, J. (2020). Factors influencing purchase intention for low-sodium and low-sugar products. *Foods, 9*(3), 351.
- Pereira, A. G., Fraga-Corral, M., García-Oliveira, P., Jimenez-Lopez, C., Lourenço-Lopes, C., Carpena, M., ... & Simal-Gandara, J. (2020). Culinary

and nutritional value of edible wild plants from northern Spain rich in phenolic compounds with potential health benefits. *Food & Function*, 11(10), 8493-8515.

- Rajat, S., Manisha, S., Robin, S., & Sunil, K. (2012). Nutraceuticals: A review. *International research Journal of pharmacy*, 3(4), 95-99.
- Santana-Gálvez, J., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2019). A practical guide for designing effective nutraceutical combinations in the form of foods, beverages, and dietary supplements against chronic degenerative diseases. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 179-193.
- Sharma, R., Kaur, A., Thakur, S., Bhardwaj, K., & Bose, S. (2017). Role of nutraceuticals in health care: A review. *International Journal of Green Pharmacy*, 11(3), S385-S394.
- Szakály, Z., Kovács, S., Pető, K., Huszka, P., & Kiss, M. (2019). A modified model of the willingness to pay for functional foods. *Appetite*, 138, 94-101.
- Taillie, L. S., Ng, S. W., Xue, Y., Busey, E., & Harding, M. (2017). No fat, no sugar, no salt... no problem? Prevalence of "low-content" nutrient claims and their associations with the nutritional profile of food and beverage purchases in the United States. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 117(9), 1366-1374.
- Teoh, S. L., Ngorsuraches, S., Lai, N. M., & Chaiyakunapruk, N. (2021). Consumer Preferences and Willingness to Pay for Nutraceuticals: A Discrete Choice Experiment. *Value in Health Regional Issues*, 24, 167-172.