



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería
campus Zacatecas

**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* Y
PROTECTORA DE CONCENTRADOS DE UVA
EN UN MODELO MURINO”**

Escrito Final de la Unidad de Aprendizaje de Estancia de Titulación

Proyecto de Investigación

Alumno (a):

Farah Darinka Frausto Arellano

Asesor del proyecto:

Dr. en C. Karol Karla García Aguirre

Firmas de aval





EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



Instituto Politécnico Nacional
"La Técnica al Servicio de la Patria"

Folio
UPIIZ/ESA/224/2021

85 Aniversario del Instituto Politécnico Nacional
70 Aniversario del CECyT 11 "Wilfrido Massieu"
60 Aniversario de la Escuela Superior de Física y Matemáticas
50 Aniversario del CECyT 12 "José Ma. Morelos" y del CECyT 13 "Ricardo Flores Magón"

Asunto
DESIGNACIÓN
FARAH DARINKA FRAUSTO ARELLANO
INGENIERÍA EN ALIMENTOS
BOLETA: 2015670021
GENERACIÓN: 2015-2019

Zacatecas, Zac., a 17 de junio de 2021

**C. FARAH DARINKA FRAUSTO ARELLANO
PRESENTE**

Mediante el presente se hace de su conocimiento que este Departamento acepta que la **Dra. Karol Karia García Aguirre** sea **Asesora** en el tema que propone usted a desarrollar como prueba escrita de la opción Curricular, con el título y contenido siguiente:

"Actividad antioxidante in vitro y protectora de los concentrados de uva en un modelo murino"

Se concede el plazo estipulado en el Reglamento de Titulación, a partir de esta fecha, para presentarlo a revisión por el jurado asignado.

M. EN C. JULIA JANETH ROSALES MARES
Jefa del Departamento de Evaluación y
Seguimiento Académico



M. C. JUAN ALBERTO ALVARADO OLIVARES
Director de la UPÍIZ

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA
DE INGENIERÍA CAMPUS ZACATECAS
DIRECCIÓN

Calle Circuito del Gato No. 202, Col. Ciudad Administrativa, Zacatecas, Zac. C.P. 98160
Tel/Fax: (01-492) 9242419 y 9255998, Correo Electrónico: zacatecas@ipn.mx





EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



Instituto Politécnico Nacional
"La Técnica al Servicio de la Patria"

85 Aniversario del Instituto Politécnico Nacional
70 Aniversario del CECyT 11 "Wilfredo Massieu"
60 Aniversario de la Escuela Superior de Física y Matemáticas
50 Aniversario del CECyT 12 "José Ma. Morelos" y del CECyT 13 "Ricardo Flores Magón"

Folio

UPIIZ/ESA/226/2021

Asunto

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN
FARAH DARINKA FRAUSTO ARELLANO
INGENIERÍA EN ALIMENTOS
BOLETA: 2015670083
GENERACIÓN: 2015-2019

Zacatecas, Zac., a 21 de junio de 2021

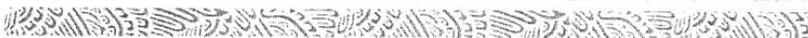
El suscrito tengo el agrado de informar a usted, que habiendo procedido a revisar el trabajo de titulación que presenta con fines de titulación denominada:

"Actividad antioxidante in vitro y protectora de los concentrados de uva en un modelo murino"

Encontré que el citado **Trabajo de Titulación**, reúne los requisitos para **autorizar** la impresión y proceder a la presentación del Examen Profesional debiendo tomar en consideración las indicaciones y correcciones que al respecto se hicieron.

Dra. en c. Karol Karla García Aguirre

Nombre de Calle, No. 000, Colonia, C.P. 00000, Municipio o Alcaldía, Estado.
Tel: (55) 0000 0000. ipn.mx



Autorización de uso de obra

**Instituto Politécnico Nacional
P r e s e n t e**

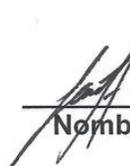
Bajo protesta de decir verdad *la* que suscribe Farah Darinka Frausto Arellano, estudiante del programa de Ingeniería en Alimentos, con número de boleta 2015670053, adscrito a la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería campus Zacatecas; manifiesto ser autora y titular de los derechos morales y patrimoniales de la obra titulada **“Actividad antioxidante y protectora de concentrados de uva en un modelo murino”**, en adelante “El Trabajo de Titulación” de la cual se adjunta copia, por lo que por medio del presente y con fundamento en el artículo 27 fracción II, inciso b) de la Ley Federal del Derecho de Autor, otorgo a el Instituto Politécnico Nacional, en adelante El IPN, autorización no exclusiva para comunicar y exhibir públicamente total o parcialmente en medios digitales “El Trabajo de Titulación” por un periodo indefinido contado a partir de la fecha de la presente autorización, dicho periodo se renovará automáticamente en caso de no dar aviso expreso a “El IPN” de su terminación.

En virtud de lo anterior, “El IPN” deberá reconocer en todo momento mi calidad de autor de “El Trabajo de Titulación”.

Adicionalmente, y en mi calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de “El Trabajo de Titulación”, manifiesto que la misma es original y que la presente autorización no contraviene ninguna otorgada por el suscrito respecto de “El Trabajo de Titulación”, por lo que deslindo de toda responsabilidad a El IPN en caso de que el contenido de “El Trabajo de Titulación” o la autorización concedida afecte o viole derechos autorales, industriales, secretos industriales, convenios o contratos de confidencialidad o en general cualquier derecho de propiedad intelectual de terceros y asumo las consecuencias legales y económicas de cualquier demanda o reclamación que puedan derivarse del caso.

Zacatecas, Zac., a 28 de Junio del 2021 .

Atentamente

 **Nombre y firma del alumno**
Farah Darinka Frausto Arellano

RESUMEN

Las intoxicaciones por medicamentos cada vez son más frecuentes, y en la actualidad son un problema grave, debido a la baja incidencia que presentan, además desencadenan problemas de salud que pueden llegar a ser mortales, tales como la hepatotoxicidad y muerte celular. Por esta razón, en el presente proyecto se ha propuesto la formulación de dos concentrados de uva entera (piel, pulpa y semilla) con capacidad antioxidante *in vitro*; de calidad de grano (recuperada) y de primera calidad, con la finalidad de probar sus actividades biológicas quimiopreventivas y protectoras, en un modelo murino de daño provocado por Vincristina y Acetaminofén. Se obtuvieron concentrados de uva con 35.86 ± 0.28 °B y % de ác. Tartárico de 0.62 ± 0.3 para UG y 36.33 ± 0.577 °B y un % de ác. Tartárico de 0.54 ± 0.01 UP. Se evaluó la presencia de PT, en donde (UG) obtuvo 104.88 GAE/L y (UP) obtuvo 85.45 GAE/L, además se evaluó la capacidad antioxidante por el método ABTS (7.78 y 4.48 mmol Trolox/L, respectivamente) y DPPH (3.48 y 3.7 mmol Trolox/L, respectivamente). Además se evaluaron los efectos de los concentrados con respecto a la enzima hepática ALT, y no hubo diferencias con los resultados reportados en la bibliografía. Se concluyó que los concentrados son biológicamente activos y actúan como agentes quimiopreventivos y protectores.

Palabras clave: *Actividad antioxidante, Actividad protectora, Quimioprevención, Toxicología, Vincristina, Alimento funcional.*

ABSTRACT

The drugs intoxication are becoming more frequent, and nowadays are a serious problem, because of the low incidence that they present, also they unleash more health problems that can become deadly, such as hepatotoxicity and cellular death. For this reason, in the present project has been proposed the two full-grape (skin, pulp and seed) concentrates with *in vitro* antioxidant capacity; second quality (recovered) and first quality, with the aim of proof their chemopreventive and protective biological activities, in a Vincristine and Acetaminophen caused damage murine model. It was obtained grape concentrates with 5.86 ± 0.28 °B and a % of Tartaric acid de 0.62 ± 0.3 para SQ y 36.33 ± 0.577 °B and a % of Tartaric and de 0.54 ± 0.01 FQ. The presence of TP were evaluated, where (SQ) obtained 104.88 GAE/L y (FQ) obtained 85.45 GAE/L, also the antioxidant activity was evaluated by ABTS (7.78 y 4.48 mmol Trolox/L, respectively) and DPPH (3.48 y 3.7 mmol Trolox/L, respectively) methodologies. Besides the effects of the concentrates respect with hepatic ALT enzyme were evaluated and there were not differences with the bibliography results. It was concluded that the concentrates are biologically actives and they act such as chemopreventive and protective reagents.

Key words: *Antioxidant activity, Protective activity, Chemoprevention, Toxicology, Vincristine, Functional food.*

DEDICATORIAS

Agradezco principalmente a Dios, por darme la oportunidad de vivir una vida plena y sana, y regalarme a una maravillosa familia.

A mis padres, que con mucho amor, cariño y comprensión me han apoyado en cada etapa de mi vida, por darme la oportunidad de estudiar y seguir preparandome profesionalmente. Gracias por todo papá por darme fuerzas para seguir adelante, darme consejos y sobre todo quererme como solo tu lo haces. Gracias mamá por comprenderme y siempre escucharme, y por siempre darme tu cariño incondicional.

A mi hermano, gracias por ser mi modelo a seguir, por nunca rendirte y ser la persona más fuerte que conozco. Gracias a mi tía Tere, que es mi segunda madre, por siempre apapacharme y preocuparte por mi. Para mis cuatro abuelitos que están juntos en el cielo, los quiero y los extraño tanto, espero que estén orgullosos de su nieta.

A mis amigas, Ale y Majo, agradezco tanto haber coincidido, muchas gracias por ser las mejores amigas del mundo, sin ustedes estos 5 años no hubieran valido la pena, gracias por las risas, los enojos, aventuras y prácticamente todo, las adoro. A Cesar (Ángel), gracias por apoyarme en todo, hacerme disfrutar de la vida con tantas aventuras y buenos momentos, eres el mejor amigo que alguien puede desear.

Para las mejores roomies del mundo, gracias Theresia y Grecia, por estar ahí cuando nadie más estaba, por apoyarme y darme ánimos, y sobre todo por esos domingos de películas que nadie más podrá compartir. Para mis mejores y más viejas amigas, Fer, Vale, Katya y Rox, muchas gracias por estar conmigo todo este tiempo, en el que hemos vivido de todo, gracias por estar siempre y sepan que las llevo en mi corazón.

Para Liz y Diego, fue un enorme placer conocerlos y que se hayan convertido que personas tan importantes en mi vida, gracias por todo.

Y sobre todo, gracias a TODOS mis PROFESORES, que sin ellos no habría adquirido todo el conocimiento, principalmente gracias Dra. Karol por darme la oportunidad de trabajar con usted, por escucharme y apoyarme, y darme fuerzas y ánimos cuando yo no encontraba mi rumbo. Gracias profe Oscar y Dra. Carolina por enseñarnos y apoyarnos tanto. Gracias profe Horacio y profe Zavala por comprendernos, hacernos reír y regalarnos su conocimiento, todo tenía más sentido cuando ustedes lo explicaban.

En la vida tomas las pequeñas decisiones con tu cabeza y las grandes decisiones con tu corazón.-Omid Kordestani.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. GLOSARIO	2
3. MARCO TEÓRICO	3
3.1 Uva (Vitis Vinífera L)	3
3.1.1 Generalidades	3
3.1.2 Propiedades nutricionales	3
3.1.3 Usos	1
3.1.4 Cultivo de uva de mesa.....	2
3.2 Capacidad antioxidante	4
3.2.1 Antioxidantes enzimáticos.....	4
3.2.2 Antioxidantes no enzimáticos	4
3.2.3 Antioxidantes y quimioprevención.....	6
3.2.4 Componentes antioxidantes en la uva.....	7
3.2.5 Métodos para medir actividad antioxidante.....	7
3.3 Radicales libres	9
3.4 Toxicología de los fármacos	9
3.4.1 Acetaminofén	10
3.4.2 Vincristina	10
4. JUSTIFICACIÓN	11
5. OBJETIVOS	12
5.1 Objetivo general	12
5.1.1 Objetivos específicos.....	12
6. HIPOTESIS	12
7. ANTECEDENTES	12
8. MATERIALES Y MÉTODOS	13
8.1 PRIMER ETAPA: CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LOS CONCENTRADOS	14
8.1.1 Preparación y formulación del concentrado	14
8.1.2 Evaluación de las características fisicoquímicas del concentrado.....	14
8.1.3 Capacidad antioxidante	15
8.2 SEGUNDA ETAPA: EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LOS CONCENTRADOS	16
8.2.1 Pruebas de toxicidad, actividad protectora y quimiopreventiva	16
8.2.2 Determinación de la DL50	17
8.2.3 Prueba de Apoptosis celular	17
8.2.4 Estudio de niveles de ALT en suero	17
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	18

9.1	PRIMER ETAPA: CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS CONCENTRADOS	18
9.1.1	Evaluación de las características físicoquímicas del concentrado	18
9.1.2	Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante	19
9.1	(A) Valor reportado por (Czyowska, <i>et al</i>, 2014). (B) Valor reportado por (da Silva, <i>et al</i>, 2019).	21
9.2	SEGUNDA ETAPA: EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LOS CONCENTRADOS	22
9.2.1	Determinación de la DL50	22
9.2.2	Prueba de Apoptosis celular	22
9.2.3	Estudio de niveles de ALT en suero	23
10.	CONCLUSIONES	24
11.	PERSPECTIVAS	25
12.	ANEXOS	26
12.1	PRIMER ETAPA: CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS CONCENTRADOS	26
12.1.1	Evaluación de las características físicoquímicas del concentrado	26
12.1.1	Capacidad antioxidante	26
13.	BIBLIOGRAFÍA	28

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Información nutrimental y energética de la uva en 100g de producto	3
Cuadro 2. Variedades de uva que se cultivan en México, expresado en Toneladas (Ton) ..	2
Cuadro 3. Distribución de las regiones del mapa estratégico	4
Cuadro 4. Caracterización fisicoquímica de los concentrados de uva y en comparación con la bibliografía.	18
Cuadro 5. Promedio del tipo de células obtenidas por grupo de estudio	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vitis Vinífera L. variedad Red Globe	3
Figura 2. Destino de la producción mundial de uvas	1
Figura 3. Producción mundial de Uva de mesa	2
Figura 4. Mapa estratégico de la distribución de los cultivos de uva, dividido en regiones	3
Figura 5. Estructura general de los flavonoides	5
Figura 6. Estructuras químicas de diversos compuestos C6-C3-C6 concentrados en alimentos.6	6
Figura 7. Estructura química del ABTS	8
Figura 8. Estructura química del radical libre metaestable DPPH	8
Figura 9. Fórmula para la obtención del % de ácido tartárico.....	14
Figura 10. Polifenoles totales por el método F-C.....	19
Figura 11. Capacidad antioxidante por el método ABTS.....	20
Figura 12. Capacidad antioxidante por el método DPPH.....	21
Figura 13. Morfología de las células viables y no viables.....	22
Figura 14. Niveles de enzima ALT	23

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, cada vez son más frecuentes las intoxicaciones por medicamentos debido a errores terapéuticos, en donde son variadas las condiciones en que pueden producirse (García, Valverde, Agudo, Novales, & Luque, 2013). Sin embargo, los seres humanos y los animales superiores tienen una capacidad metabólica singular, que es la eliminación de compuestos extraños del organismo, y en este proceso de detoxificación, el hígado contribuye de forma mayoritaria a la función de facilitar la eliminación de los compuestos xenobióticos lipofílicos, lo cual determina que este sea uno de los principales órganos diana con posibles reacciones adversas (Otero, 2012).

La toxicidad por fármacos es uno de los motivos más frecuentes que provoca su restricción de venta e incluso retiro del mercado; a pesar de que los estudios de los posibles efectos tóxicos, en las fases preclínica y clínica, hayan sido exhaustivamente estudiados (García, *et al*, 2013). En este sentido, la cantidad de fármacos que se relacionan con la toxicidad es numerosa, sin embargo no se considera un problema clínico habitual, debido a la baja incidencia que presenta (1/1000 pacientes). De acuerdo con estadísticas, del 10-15% de los casos de hepatitis fulminantes se deben al uso de fármacos en general, así como del 2-5% de los síndromes ictericos que ingresan al hospital (Otero, 2012).

El acetaminofén, es uno de muchos fármacos de libre venta que causan este problema de salud, es un analgésico de fácil accesibilidad, que a dosis relativamente altas, causa necrosis hepática centrilobular, falla renal e incluso la muerte en humanos (Abdul-Hamid, *et al*, 2017). Por otra parte, la vincristina es un fármaco antineoplásico y de venta controlada, que tiene como principal efecto la neurotoxicidad periférica (Pediamécum, 2016), el recuento bajo de células sanguíneas, toxicidad hematológica, renal, y manifestaciones dermatológicas (SEOM, 2013).

Derivado de esta problemática, ha surgido el interés por el auge en el uso de los tratamientos totalmente naturales, a través de la elaboración de numerosos productos y mezclas herbales, conocidos por sus efectos medicinales. Entre todos los productos naturales que contienen abundantes actividades biológicas, se encuentran los compuestos antioxidantes han ganado popularidad, debido a que han demostrado un extenso rango de actividades bioquímicas, farmacológicas y toxicológicas en animales y en humanos, tales como antiinflamatorias, antihiperlipemiantes, antiulcerantes, antiproliferativas, neuro, cardio y hepatoprotectoras, preventivas de tumores en la piel, y de efectos inmunomodulatorios (D. Ray, *et al*, 1999).

Un gran número de efectos benéficos, se han atribuido al consumo de frutas y vegetales, en diversos estudios, reduciendo el riesgo de padecer enfermedades crónicas, y el cáncer. Estos beneficios han sido atribuidos a la presencia de fibra, minerales, vitaminas (cómo la vit. A, C y E), y compuestos fotoquímicos incluyendo ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas. Un ejemplo de ello, son las uvas, ya que contienen un amplio rango en vitaminas, carotenoides y compuestos fenólicos (Aubert & Chalot, 2018). La uva es uno de los cultivos de fruta más importantes del mundo, contiene muchos ingredientes activos; principalmente en la piel y semillas, en donde están presentes los flavonoides, polifenoles, antocianinas, proantocianidinas, procianidinas y resveratrol, los cuáles son compuestos antioxidantes (A. Ali, *et al*, 2015).

En el presente proyecto, se evaluará la capacidad protectora de dos concentrados de uva elaborados con piel, pulpa y semilla, de primera y segunda calidad, *in vivo* en un modelo murino.

2. GLOSARIO

ABTS. 2,2'-azinobis (3-etilbenzolona-6-ácido sulfónico)

AAP. Paracetamol, Tylenol, Acetaminofén

ALT. Alanina aminotransferasa

DPPH. Difenil Picril Hidrazilo

GAE. Ácido gálico

g. Gramos

HTID. Hepatotoxicidad Inducida por Drogas

IHA. Insuficiencia Hepática Aguda

Kg. Kilogramos

mg. Miligramos

μg . microgramos

mL. Mililitros

μL . microlitros

Mt. Millones de toneladas

mt. Miles de toneladas

NAPQI. N-acetil-pbenzoquinona imina

PT. Polifenoles totales

SST. Sólidos Solubles Totales

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Uva (Vitis Vinífera L)

3.1.1 Generalidades

La vid (*Vitis vinífera L.*) pertenece a la familia Vitaceae, que comprende 17 géneros, en su mayoría leñoso, de los cuáles solamente el género *Vitis*, produce frutos comestibles. (Aguirre G. Robert, 2013). De acuerdo a la literatura (Mencarelli, 2005), se encuentran alrededor de 100 especies, 65 de las cuáles son de línea pura y las otras 44, probablemente, híbridos. El género *Vitis* se divide en 2 subgéneros:

- Euvitis, “uvas verdaderas“: se caracterizan por racimos alargados, con bayas que se adhieren a los tallos en la madurez y zarcillos bifurcados. La mayoría de las especies se encuentran en este subgénero.
- Muscadinia: se caracterizan por pequeños racimos, piel gruesa en los frutos, bayas que se desprenden fácilmente en la madurez y zarcillos simples. Sólo se encuentran de 2-3 especies en este subgénero.

La uva es el fruto de la vid, una baya redonda, pequeña y jugosa, que crece formando racimos, de hasta un poco más de cien frutos agrupados. Las uvas de mesa, son más carnosas y de semillas grandes, en comparación con las uvas para vinificación, pueden variar de color amarillas a tintas.



Figura 1. *Vitis Vinífera L.* variedad Red Globe

3.1.2 Propiedades nutricionales

Las propiedades nutricionales de la uva, que son de interés de estudio, se encuentran en el Cuadro 1, y muestra la información nutrimental y energética de la uva por cada 100g de producto.

Cuadro 1. Información nutrimental y energética de la uva en 100g de producto

Porción comestible	94%
Agua	80.03g
Proteínas	0.5g
Lípidos	0.1g
Azúcares	15.6g
Fibra	1.5g
Energía	61Kcal

Sodio	1mg
Potasio	192mg
Hierro	27mg
Calcio	27mg
Fósforo	4mg
Niacina	0.1mg
Vitamina C	6mg

(Mencarelli, 2005)

3.1.3 Usos

De la producción mundial de la uva, la mayor parte se utiliza primeramente en la elaboración de vino, en segundo lugar se consume directamente como fruta fresca, en donde las variedades que se utilizan principalmente son las uvas de mesa, y son destinadas directamente para el consumo (FAO y OIV, 2016); en tercer lugar, para la elaboración de mosto con diferentes usos tecnológicos, y por último, en la producción de pasas, tal y como se muestra en la Fig. 1:

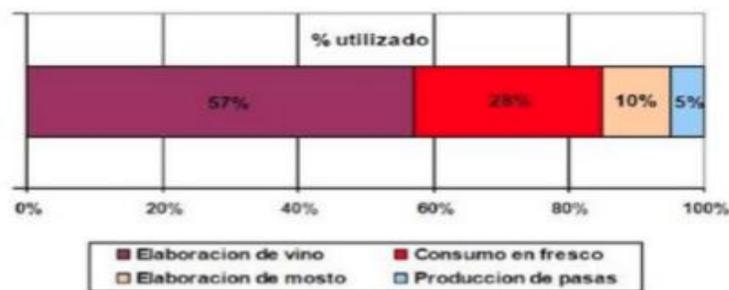


Figura 2. Destino de la producción mundial de uvas

(FAO y OIV, 2016)

Las uvas de mesa son apreciadas por los consumidores debido a su dulzor, el cuál debe de estar aproximadamente en 14°B (sólidos solubles), y a sus características sensoriales y comerciales (FAO y OIV, 2016).

Asimismo, el mosto es la materia prima para elaborar jugos, mermeladas, jaleas, gelatinas, vinagre, dulces, bebidas gasificadas, colorantes y jarabes, brindándole a la fruta un valor agregado (Aguirre G. Robert, 2013).

3.1.4 Cultivo de uva de mesa

La uva de mesa, se encuentra ampliamente distribuida entre la latitud 25° y 50°N en Europa, Medio Este, Norte América, y Asia oriental. Adicionalmente, algunas especies de *Vitis* se encuentran en los trópicos, como en los países de América central, el caribe y el norte de Sur América.

La producción y consumo mundial de la uva de mesa aumentó casi el doble desde el 2000, como se muestra en la Fig. 2, con un incremento de 15.7 Mt a casi 27Mt, en el 2014, con casos remarcados en la República de China e India, los cuáles son los principales productores (Mencarelli, 2005).

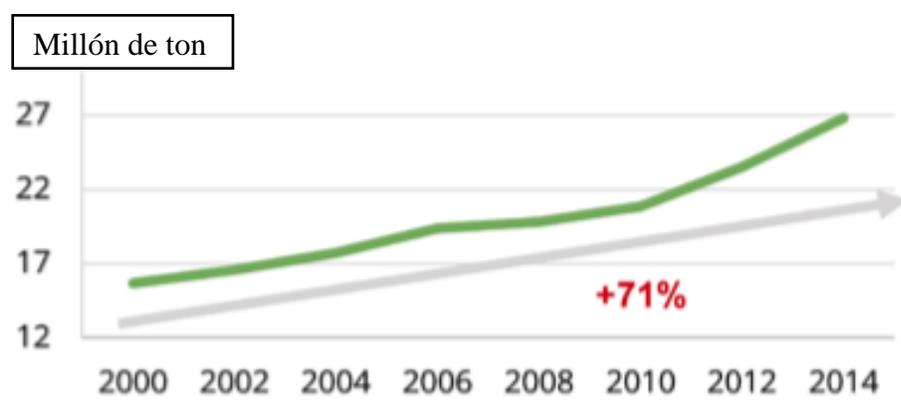


Figura 3. Producción mundial de Uva de mesa
(FAO y OIV, 2016)

En México las principales variedades de uva de mesa que se cultivan, se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Variedades de uva que se cultivan en México, expresado en Toneladas (Ton)

VARIEDAD	VOLUMEN EN Ton (2014)
<i>Flame</i>	7 563 619
Sugraone	3 887 732
Perlette	2 148 062
<i>Red Globe</i>	881 124
<i>Black Seedless</i>	487 792

<i>Red Seedless</i>	320 378
<i>Summer Royal</i>	261 188

(Nuñez, 2012)

Actualmente, se tienen 17 regiones potenciales, las cuáles son áreas históricamente productoras (2011-2016), áreas con alto/medio nivel de potencial productivo; y 4 regiones estratégicas, que son áreas productoras en el 2016 sobre las que se implementa la estrategia “Maximizar“, las cuáles se muestran en la Fig. 4 (SAGARPA, 2017).

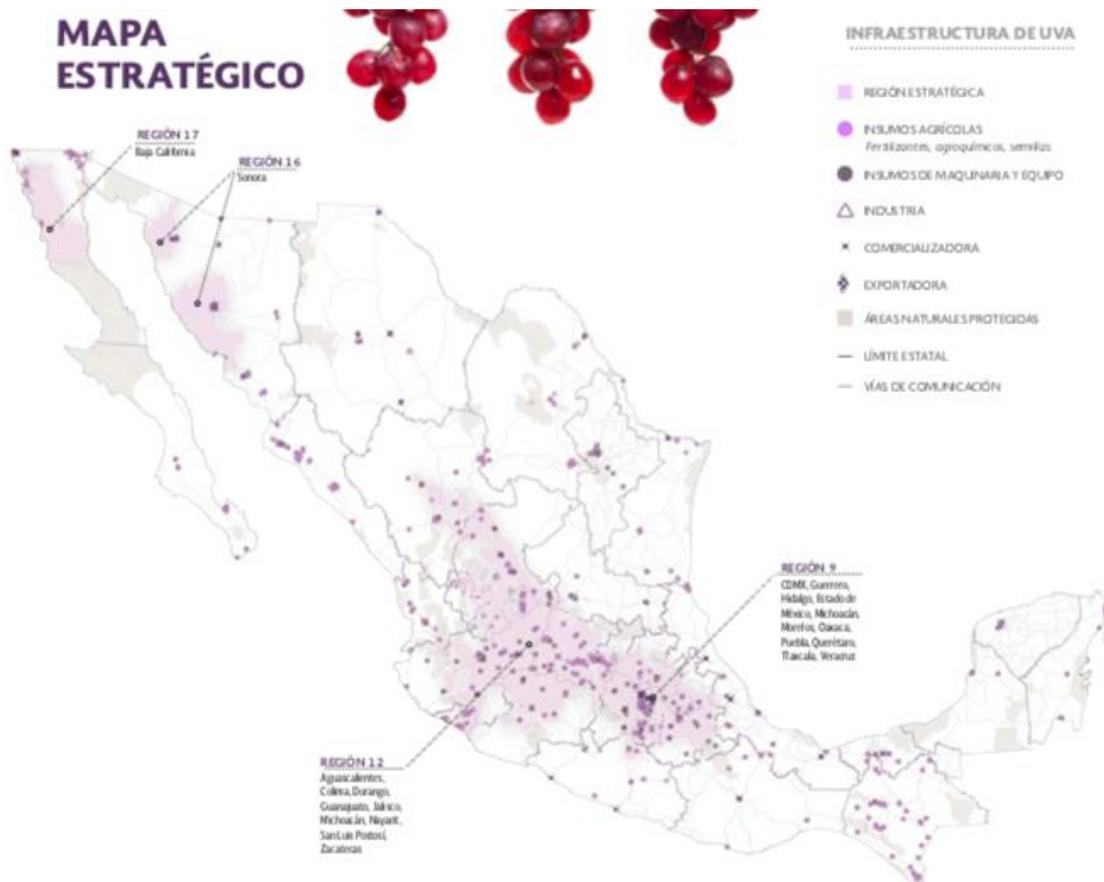


Figura 4. Mapa estratégico de la distribución de los cultivos de uva, dividido en regiones

Las diferentes regiones, en las que está dividido la República Mexicana se describen detalladamente a continuación en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Distribución de las regiones del mapa estratégico

Región	Estados que comprende	Tipo de región productora	Frontera agrícola (ha)
9	CDMX, Guerrero, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tlaxcala y Veracruz	Con potencial	3 049 183
12	Aguascalientes, Colima, Durango, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Nayarit, San Luis Potosí y Zacatecas.	Con potencial	6 126 282
16	Sonora	Histórica	353 580
17	Baja California	Histórica	101 227

(SAGARPA, 2017)

El Estado de Zacatecas, en promedio contribuye con el 9% de la producción de uva mexicana, la cuál se destina principalmente para el uso industrial. Debido a las condiciones climáticas que presenta el estado, se favorece la producción de variedades finas de uva, ricas en azúcar y de rápida maduración (SAGARPA, 2018). Entre las principales variedades que se producen son la Cardinal y Red Globe, producidas primordialmente por los municipios de Ojocaliente, Fresnillo, Luis Moya, Guadalupe, General Pánfilo Natera, Cuauhtémoc, Loreto, Calera y Villa Gonzales Ortega. (Nuñez, 2012)

3.2 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante, también denominada actividad antioxidante, es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa, de tal manera que actúa, principalmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres y, por lo tanto, recibe el nombre de antioxidante terminador de cadena (Porras, Loaiza, & Lopez, 2009). En otras palabras, la capacidad antioxidante, mide la capacidad para retardar la degradación oxidativa. Los compuestos antioxidantes, se dividen en:

3.2.1 Antioxidantes enzimáticos

Son sistemas de defensa de remoción catalítica de radicales libres por enzimas como catalasas, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa (Porras, Loaiza, & Lopez, 2009).

3.2.2 Antioxidantes no enzimáticos

Son estabilizadores de radicales libres con donadores de protones o electrones como el glutatión, la vitamina E, la vitamina C, bilirrubina y ácido úrico.

3.2.2.1 Compuestos fenólicos

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

3.2.2.2 Fenoles

Los fenoles simples como el fenol, cresol, timol y resorcinol están ampliamente distribuidos entre todas las especies vegetales. Igualmente, los ácidos fenólicos como el gálico, vainillínico, *p*-hidroxibenzoico, y los aldehídos como la vainillina, también son abundantes en plantas superiores y helechos. Los ácidos fenólicos presentan generalmente actividad antioxidante. (Aubert & Chalot, 2018)

3.2.2.3 Flavonoides

También denominados fitonutrientes, son una subclase de los polifenoles que se caracterizan por poseer estructuras C6-C3-C6 y dos o más anillos aromáticos, y por tener cada uno, al menos un hidroxilo aromático y conectar con un puente de carbono como se muestra en la Fig. 5. Para los flavonoides, este puente consta de tres carbonos que se combinan con un oxígeno y dos carbonos de uno de los anillos aromáticos para formar un tercer anillo de 6-miembros. (A. Ali, *et al*, 2015)

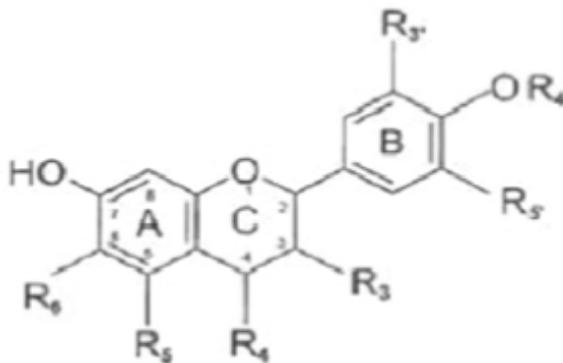


Figura 5. Estructura general de los flavonoides

(Porrás, Loaiza, & López, 2009)

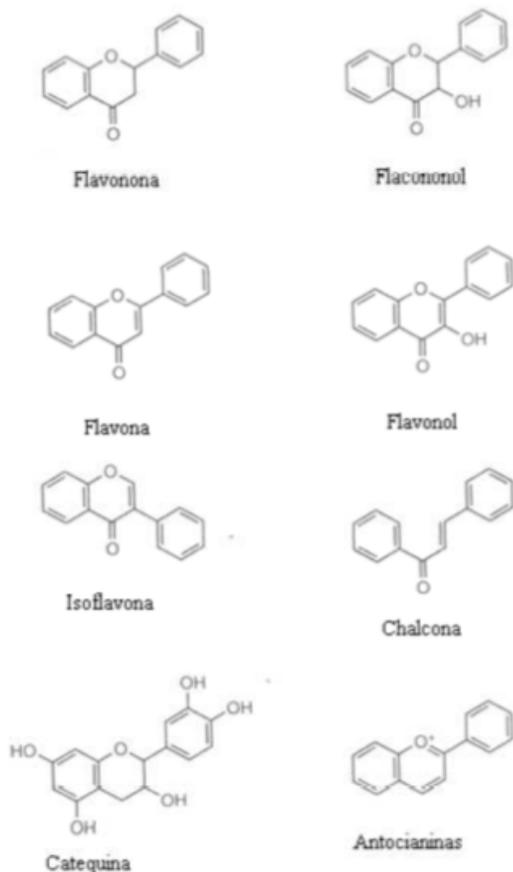


Figura 6. Estructuras químicas de diversos compuestos C6-C3-C6 concentrados en alimentos.

(Porras, Loaiza, & Lopez, 2009)

Los flavonoides son los responsables del color natural de los alimentos, como las antocianinas de los colores rosa, escarlata, rojo, malva, azul y violeta de los vegetales, jugos de frutas y vinos.

3.2.2.4 Taninos

Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles, resultado de la polimerización en las plantas o como resultado del procesado de los alimentos. Además son responsables de precipitar algunas proteínas. Contienen un número importante de grupos hidroxilos entre otros grupos funcionales, siendo capaces de unirse a proteínas y otras macromoléculas (Porras, Loaiza, & Lopez, 2009).

3.2.3 Antioxidantes y quimioprevención

La quimioprevención es una forma de prevenir o retrasar la aparición del cáncer mediante el consumo de medicamentos, vitaminas u otros productos. El problema principal con los fármacos

es que pueden tener efecto secundarios cuando se toman por un largo plazo, por esta razón los fármacos quimiopreventivos se recomiendan solamente a personas con alto riesgo de padecer cáncer (Martínez P., 2000).

Sin embargo, los compuestos antioxidantes juegan un papel importante en las frutas y verduras, no solo porque son responsables del color, sino porque se ha demostrado que algunos fitoquímicos presentan poder anticancerígeno, tal es el caso del resveratrol, presente en uvas rojas, cacahuete y bayas), que puede inhibir enzimas inflamatorias como la ciclooxigenasa, responsable de la síntesis de eicosanoides y la actividad de factores de transcripción (García, 2013).

3.2.4 Componentes antioxidantes en la uva

Los compuestos fenólicos de la uva que proveen la capacidad antioxidante, se localizan en las partes sólidas: cáscara, semilla y tejido vascular. En la pulpa, destaca la presencia de ácidos fenólicos y sus derivados. Los flavonoles y antocianos se encuentran localizados en las células de la cáscara de la uva, siendo los responsables del color rojo. Las procianidinas y flavonoles se localizan en las semillas de las uvas. (Sandoval, *et al*, 2008).

3.2.5 Métodos para medir actividad antioxidante

Por definición la actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa. Los métodos indirectos estudian la habilidad del antioxidante para estabilizar algunos radicales libres metaestables, coloreados, con fuerte absorción en el espectro visible, como herramienta para determinar actividad estabilizadora de radicales libres (Londoño, 2012).

3.2.5.1 Método de Polifenoles totales por Folin-Ciocalteu.

Es la determinación del contenido total de compuestos fenólicos, utilizando el método originalmente propuesto por Folin en 1927 y modificado por Singleton y Rossi, no se considera una metodología para medir capacidad antioxidante, a pesar de que su principio se basa en la capacidad redox de los polifenoles. El método se fundamenta en la oxidación de los compuestos fenólicos presentes en una muestra, por la acción del polianión molibdotungstosfórico para generar un producto coloreado azul con un máximo de absorción a 765nm. Los resultados se expresan en equivalentes de ácido gálico (EGA) (Londoño, 2012).

3.2.5.2 Método ABTS (azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)

Método principalmente reportado por Miller y colaboradores, y se fundamenta en la capacidad antioxidante para estabilizar el radical catión coloreado ABTS⁺, el cuál es formado previamente por la oxidación del ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) por metamioglobina y peróxido de hidrógeno. Los resultados se expresan como equivalentes de Trolox o TEAC (Londoño, 2012).

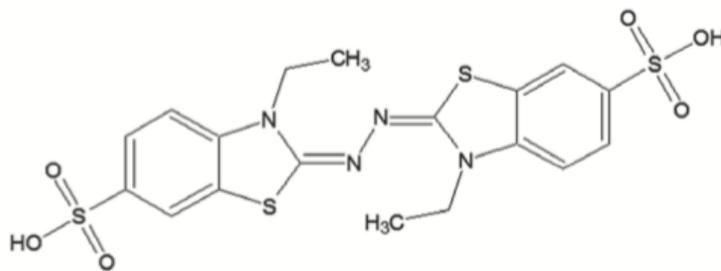


Figura 7. Estructura química del ABTS

(Porras, Loaiza, & Lopez, 2009)

3.2.5.3 Método DPPH (difeníl Picril Hidrazilo)

Ensayo propuesto originalmente por Brand-Williams. El DPPH•, Fig. 8, es uno de los pocos radicales orgánicos estable, que presenta una fuerte coloración violeta, comercialmente disponible y no tiene que ser generado *in situ* a comparación del ABTS•+. El ensayo se fundamenta en la medición de la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical DPPH•, esta medición se hace en el espectro siguiendo el decaimiento de la absorbancia a 517nm. La reacción de estabilización que transcurre principalmente mediante un mecanismo TE, con un aporte marginal de TAH (Londoño, 2012).

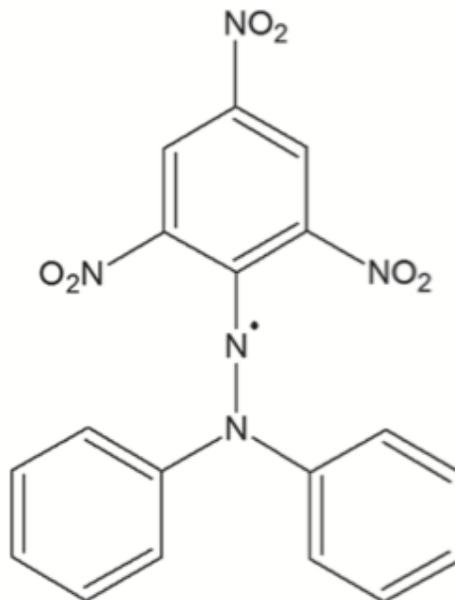


Figura 8. Estructura química del radical libre metaestable DPPH

3.3 Radicales libres

Los radicales libres o ERO (Especies Reactivas de Oxígeno) son moléculas o fragmentos moleculares que contienen uno o más electrones desapareados en orbitales atómicos o moleculares. El electrón desapareado confiere un grado considerable de reactividad al radical libre logrando, además, que pueda existir de forma independiente por cortos periodos de tiempo (Londoño L., 2012).

Las especies reactivas más frecuentes y más relevantes en los sistemas biológicos son: anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxilo ($HO\bullet$) y los radicales formados en la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados alcoxilo ($alkO\bullet$) y alquiloperoxilo ($alkOO$).

La importancia de los radicales libres, radica en que están asociadas a un estado de “estrés oxidativo”, que se traduce como el aumento de las ERO, y/o una disminución en los mecanismos de detoxificación de ellas. A su vez, tienen una estrecha relación con la aparición y desarrollo de enfermedades como el cáncer, diabetes, aterosclerosis, desordenes neurodegenerativos y envejecimiento (Londoño L., 2012).

3.4 Toxicología de los fármacos

La toxicología se puede definir como la ciencia que estudia los efectos adversos, o la toxicidad, de las sustancias y productos químicos sobre los organismos vivos, así como los mecanismos de acción, diagnóstico, prevención y tratamiento de las intoxicaciones. En ese mismo sentido, un tóxico se define como sustancias capaces de producir en un órgano o sistema de órganos lesiones estructurales o funcionales e incluso la muerte (Moran, *et al.* 2011). Estas sustancias, se denominan compuestos xenobióticos, pueden ser encontrados en alimentos o en el medio ambiente, suelen ser de naturaleza lipofílica, por lo que su tendencia natural es acumularse en entornos lipídicos del organismo. Un ejemplo de estos compuestos xenobióticos, son los fármacos.

Los fármacos en su tránsito a través del organismo, son absorbidos y distribuidos a través de los fluidos corporales hasta alcanzar a los tejidos y órganos diana, en donde ejercen su acción farmacológica y farmacodinámica específica, así la mayor parte del fármaco es metabolizada y sólo una pequeña parte alcanza el tejido/receptor/enzima diana, y finalmente son eliminados (Castell, 2003).

El hígado contribuye de forma mayoritaria en favorecer la eliminación de los compuestos xenobióticos lipofílicos, mediante un conjunto de reacciones denominadas de biotransformación, en las cuáles se modifica de manera más o menos compleja la estructura química de los compuestos para aumentar su hidrosolubilidad y así facilitar su eliminación (Castell, 2003). La acción tóxica de los distintos compuestos perdura en función del tiempo de permanencia en el organismo, que depende de las enzimas hepáticas que catalizan su conversión

en derivados hidrofílicos (Otero, 2012). El intestino, pulmones, piel y riñón son los órganos le siguen en importancia al hígado, en cuanto a su capacidad para metabolizar xenobióticos.

La hepatotoxicidad inducida por drogas (HTID) puede ser intrínseca o idiosincrática; la primera es aquella que depende de las dosis, es predecible y reproducible. Los fármacos que actúan de esta forma, pueden hacerlo directamente sobre el hepatocito, o a través de un compuesto tóxico generado durante su metabolismo. Por ejemplo, un fármaco que se caracteriza por este mecanismo de acción, es el acetaminofén.

La segunda forma, idiosincrática, es aquella que ocurre de forma impredecible y no depende de las dosis, es la forma más común de HTID y se estima que ocurre entre 1/10000 a 1/100000 exposiciones. (Higuera, *et al.* 2012) La mayoría de las reacciones idiosincráticas ocurren de cinco a 90 días después de la ingesta del fármaco. Se conoce menos sobre la patogénesis de este tipo, en gran parte debido a la dificultad de reproducir las reacciones en modelos animales. Un ejemplo de fármaco este mecanismo de acción, es la vincristina.

La toxicidad por fármacos se manifiesta por la presencia de aminotransferasas séricas elevadas (hasta de 400 veces por encima de su valor normal), principalmente de alanina aminotransferasa (ALT) o bilirrubina conjugada, además de un incremento combinado en niveles de aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (FA) y bilirrubina total (Mancilla, 2015), combinado con hipoprotobinemia concomitante, acidosis metabólica y falla renal (Mancipe, *et al.* 2010).

3.4.1 Acetaminofén

El acetaminofén es un fármaco derivado de la fenacetina, tiene una excelente biodisponibilidad; el pico de concentración plasmática se presenta después a partir de los 30 a 60 minutos de su administración por vía oral, y su vida media es de dos horas. Presenta un metabolismo hepático, en el que se conjuga con ácido glucorónico (60%), ácido sulfúrico (35%) o cisteína (3%); una pequeña proporción del fármaco presenta N hidroxilación por el citocromo P450 hasta formar N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQ1), un metabolito potencialmente tóxico, que en condiciones normales es detoxificado mediante conjugación con el glutatión y grupos sulfhidrilos. (Vargas, 2016)

3.4.2 Vincristina

La vincristina es un fármaco antineoplásico, proveniente de la flor *Vincapervinca vinca rosae Linn*, que actúa fijándose a los microtúbulos de la proteína tubulina y bloquea a las células durante la metafase, debido a que evita la polimerización de la formación de los microtúbulos de la tubulina e inducen la despolimerización de los microtúbulos ya formados. Sus principales efectos adversos son: mielosupresión, leucopenia, estreñimiento e impotencia sexual. Aproximadamente el 50% de la dosis es metabolizada en el hígado, siendo excreta en su mayor parte en la bilis y las heces, ya sea en forma de fármaco nativo o en forma de metabolitos. El 66% de la dosis es eliminada por vía biliar a las 72 horas siguientes de su administración, el resto del fármaco oscila entre las 23 y 85 horas. La dosis de administración varía según el tipo

de mielopatía que se presente, la cuál va de 1.5mg/kg y un máximo de 2 mg/kg (Pediamécum, 2016).

4. JUSTIFICACIÓN

En el 2015, de acuerdo con el (INEGI, 2017), se registraron más de 703 mil defunciones, de las cuáles, el 20.1% se debieron a enfermedades del sistema circulatorio, 15.2% a enfermedades del corazón, y el 5.5% a enfermedades del hígado.

Debido a que el hígado es el órgano central en el metabolismo de los fármacos, y se encuentra expuesto a posibles reacciones adversas (Mendez R., 2011), tal como la hepatotoxicidad inducida por drogas (HTID), que es la causa más frecuente de muerte asociada a insuficiencia hepática aguda, representando el 10% de los casos (Otero, 2012). Investigaciones, han relacionado a más de 1100 fármacos en reacciones hepatotóxicas y causando más del 50% de los casos de insuficiencia hepática aguda.

En la actualidad, muchas de las investigaciones se han centrado en el acetaminofén, debido a que es un analgésico y antipirético dosis-dependiente, que no requiere de receta médica para su venta, disponible en diferentes presentaciones. En general, el cuadro de insuficiencia hepática aguda se presenta en pacientes con ingestión de dosis elevadas (>10g/día); lo que sucede con estas dosis, es que la toxina (NAPQ1) agota rápidamente las reservas hepáticas de glutatión, y facilita la unión con proteínas intracelulares ocasionando daño y muerte celular. (Higuera, *et al.* 2012) La dosis tóxica varía en cada individuo y se basa en los niveles basales de glutatión y en otros factores, como: la ingesta de alcohol, el uso de fármacos como anticonvulsivantes, drogas antituberculosas, la malnutrición, y en los grupos más susceptibles como los ancianos y los niños. (Mendez R., 2011)

De manera análoga, los fármacos antineoplásicos, como la vincristina, ejercen su acción actuando sobre las células cancerígenas, derivadas de células sanas y que comparten con éstas procesos metabólicos y funcionales, por lo tanto cualquiera que actúe sobre ellas también lo hará sobre cualquier célula del organismo.

Como consecuencia, el auge por la aplicación de extractos de fuentes naturales en alimentos funcionales, han estado ganando importancia como una alternativa quimiopreventiva y protectora al daño al organismo producido por el uso de medicamentos, debido a que tienen un efecto positivo en la salud, que va más allá de la nutrición, ayudando a promover las condiciones de salud óptimas y reduciendo el riesgo de enfermedades (Granato, *et al.*, 2017). Es muy bien conocido que un gran número de variedades de plantas, incluyendo hierbas, frutas, hojas, y ramas, han sido usadas en todo el planeta para disminuir el riesgo y para tratar enfermedades y complicaciones de la salud (Guarrera, 2013).

En particular, la uva contiene gran variedad de vitaminas, carotenoides y componentes fenólicos, por esta razón, se consumen en forma de fruta natural, vinos, jugos, o pasas, ya que son una fuente importante de componentes promotores de la salud. En primer lugar, se encuentran los polifenoles, que son metabolitos secundarios de las plantas, que además de su

actividad antioxidante, también juegan un papel importante en la calidad de la uva, debido a su contribución al sabor y color. (Aubert & Chalot, 2018)

Actualmente, en nuestro estado la uva de mesa que no cumple con la calidad requerida que solicitan las grandes cadenas de supermercados, es desechada, traducándose en pérdidas económicas para las empresas agrícolas, ya que no se les da otro proceso tecnológico. Por esta razón surge la necesidad de aprovechar el producto desechado y darle otro uso tecnológico.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, en este trabajo se busca recuperar la uva de mesa y emplearla en la formulación de un concentrado de uva entera (cáscara, semilla y piel), en el cuál se destaca su actividad antioxidante y su relación con la actividad protectora general y quimiopreventiva en un modelo murino.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar la capacidad antioxidante in vitro y protectora de dos concentrados de uva en un modelo murino.

5.1.1 Objetivos específicos

- Formular un concentrado a partir de uvas de mesa recuperadas de primera calidad y de grano.
- Evaluar las características fisicoquímicas del concentrado: ° Brix, pH, acidez titulable.
- Evaluar la capacidad antioxidante, mediante los métodos: ABTS, DPPH y Polifenoles totales por Folin-Ciocalteu.
- Evaluar la actividad quimiopreventiva en sangre periférica de ratón.
- Evaluar el efecto en hígado de los extractos en un modelo murino.

6. HIPOTESIS

Los concentrados de uva de mesa, de primera calidad y de grano, actuarán como agentes protectores y quimiopreventivos debido a su capacidad antioxidante, en un modelo murino.

7. ANTECEDENTES

En la actualidad, la uva es uno de los cultivos de frutas más grandes del mundo, después de los plátanos, sandías, y manzanas. Según estadísticas, en el 2014, la producción mundial fue alrededor de 75 Mt, de los cuáles 21 Mt fue de uvas de mesa (Aubert & Chalot, 2018). En México, el consumo nacional de uva en el 2016 fue de 274.98 mt, y la producción nacional fue de 351.31 mt (SAGARPA, 2017). Además, se estima que para el 2030, exista un aumento de la demanda mundial actual de 5 916.94 mt a 7 306.13 mt, con un crecimiento acumulado de 23.48%. (SAGARPA, 2018)

En el ciclo del 2009, la estadística oficial declaró una superficie de casi 28mil hectáreas donde Sonora, Zacatecas y Baja California Norte, son los principales productores de vid (SIAP, 2010). De las cuáles, el 23% se destina como uvas de mesa. El estado de Zacatecas produce el 12.9% nacional con uva para el consumo fresco (33%), en una superficie de 3614 hectáreas (Zegbe Dominguez, 2010).

La razón principal por la que la uva se considera como un cultivo importante, es porque se caracteriza por su alto contenido en vitaminas, compuestos fenólicos (Aubert & Chalot, 2018) y azúcares de fácil asimilación como la glucosa y fructosa, y disacáridos como la sacarosa, los cuáles varían ligeramente según se trate del tipo de uva: blanca o tinta; además es rica en fibra (fundamentalmente soluble), vitaminas (B6 y ácido fólico) y minerales (potasio) (Agrobanco, 2008).

Las uvas contienen, en su estructura química, un amplio contenido de vitaminas, carotenoides y compuestos fenólicos. En la piel se localiza principalmente el ácido hidrobenczoico, estilbenos, flavonoles y antocianinas; en la pulpa se encuentran los ácidos hidroxicinámico; y en las semillas se encuentran los flav-3-oles. (Aubert & Chalot, 2018) Los carotenoides, en especial el β -caroteno, han mostrado efectos preventivos en el cáncer de pulmón y el cáncer colorectal.

Debido a las propiedades benéficas que presenta la semilla y la piel de la uva, se han realizado varias investigaciones con extractos de estas partes de la uva de mesa en modelos murinos de daño hepático, uno de los cuáles fue inducido por dimetilnitrosamina, en donde se encontró que los compuestos antioxidantes de los extractos, protegen a los hepatocitos de daños, mejora las funciones del hígado, en donde se reducen los niveles de enzimas ALT y AST, que indican la actividad hepatoprotectora. Además redujeron la activación de células hepáticas estrelladas (D. Ray, *et al*, 1999) y (Moon & Shin, 2010). Adicionalmente, la alimentación con la semilla de la uva, ha demostrado que reduce la concentración de peroxidasa lipídicas en el suero en ratas con alimentación alta en grasas.

Como se ha mencionado con anterioridad, la intoxicación por fármacos es muy común en la actualidad y se ha buscado aplicar medidas alternativas para disminuir el daño al hígado, tal es el caso de (Mi-ok Shin, *et al*, 2010), en donde se utilizó acetaminofén, el cuál aumenta significativamente (al doble) los niveles de aminotransferasas séricas y mediante la utilización de la piel de la uva y las semillas, se restauraron los niveles de albumina sérica y proteínas totales, se redujeron los niveles de hidroxiprolina y malondialdehído en el hígado. (D. Ray, Arun Kumar, & Bagchi, 1999)

8. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente proyecto divide su metodología en dos etapas, con la finalidad de mantener un orden. En la primera etapa se realizó la formulación del concentrado de uva, así como su caracterización fisicoquímica y antioxidante. Sucesivamente, en la segunda etapa se realizó la

evaluación de las actividades biológicas. Ambas etapas se explican de manera detallada a continuación.

8.1 PRIMER ETAPA: CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LOS CONCENTRADOS

8.1.1 Preparación y formulación del concentrado

Se siguió la metodología propuesta por (Aguirre G. Robert, 2013). Para ello se seleccionaron las uvas de calidad de grano en buen estado, se lavaron y desinfectaron con una solución de agua y cloro. Luego se trituraron en la licuadora por 5 minutos y se midieron los °Brix iniciales. Se coló el jugo de uva y se calentó en la estufa a una temperatura constante de 60°C, hasta conseguir 36 °Brix. Se trituró el bagazo en la licuadora y se agregó al concentrado de uva frío. Se realizó el mismo procedimiento para las uvas de primera calidad.

8.1.2 Evaluación de las características fisicoquímicas del concentrado

8.1.2.1 pH

Se calibró el potenciómetro Thermo Scientific Orion Star Serie® (Singapur), utilizando soluciones estandarizadas de pH (4, 7 y 10). Se colocaron 25mL de muestra en un vaso de precipitado, y se introdujo el electrodo limpio, a la muestra. Se registró la lectura obtenida en el potenciómetro, una vez que dejó de variar la lectura. Se realizó por triplicado.

8.1.2.2 Acidez titulable

Se siguió el procedimiento de la NMX-F-102-S-1978. Para ello se coló el concentrado hasta obtener 10 mL y se colocó en un vaso de precipitado. Se agregaron 50mL de agua destilada y se mantuvo en constante agitación. Posteriormente se tituló con NaOH 0.1N, y se midió el pH hasta que llegara a 6.0 y después a 7. Se continuó agregando NaOH lentamente hasta que obtener un pH de 8.3. Los resultados se expresan en % de ácido tartárico por 100g de muestra, mediante la utilización de la siguiente fórmula:

Figura 9. Fórmula para la obtención del % de ácido tartárico

$$\% \text{ de ácido tartárico} = \frac{(V2 \times N \times 0.7505g)}{V1}$$

Donde:

V1=mL de la muestra

V2=mL de NaOH gastados

N= normalidad del NaOH (0.1N)

8.1.2.3 Sólidos solubles (°B)

Se calibró el refractómetro de Abbe VEE GEE C10® (USA) con agua destilada, se enjuagó y secó el prisma. Enseguida, se tomó una gota de muestra de concentrado de uva y se estabilizó el equipo, el experimento se hizo por triplicado.

8.1.3 Capacidad antioxidante

8.1.3.1 Método Polifenoles totales Folin-Ciocalteu

8.1.3.1.1 Preparación de las soluciones

Los fenoles totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu reportado por (Gutiérrez, *et al*, 2008), se utilizó ácido gálico como material de referencia. Se preparó una disolución patrón de ácido gálico de 0.1g/L.

8.1.3.1.2 Curva de calibración

Se realizó una curva estándar con concentraciones de 0-20g/L de la solución patrón de ácido gálico, completando a un volumen de 4mL con agua destilada, en un tubo de ensaye. Además, se preparó una disolución de carbonato de sodio al 20%(p/V) y una disolución del reactivo de Folin-Ciocalteu 2N a 1N (dilución 1:2) con agua destilada; el reactivo se protegió de la luz. A cada concentración de la curva estándar se agregaron 250µL de la disolución de carbonato de sodio al 20% a cada vial, se agitaron en un vortex por 30 segundos y se dejaron reposar por 1 h, en un lugar oscuro. Se preparó un blanco con todos los componentes, excepto la disolución de ácido gálico. Finalmente se leyó la absorbancia a 760nm en un espectrofómetro de UV-vis Genesys® (G105-UV-Vis:Madison, Wisconsin, USA).

8.1.3.1.3 Tratamiento de las muestras

Para las muestras se realizó una dilución 1:5 con agua destilada, para que entraran en la curva estándar, siguiendo el mismo procedimiento de las soluciones de ácido gálico.

8.1.3.2 Método de ABTS

8.1.3.2.1 Preparación de las soluciones

Se siguió la metodología propuesta por (Agudo Medina, 2010), con ciertas modificaciones. Se preparó una solución de ABTS 7 mM en 5mL de agua destilada y 5mL de persulfato de potasio 2.45 mM. La mezcla se mantuvo en un frasco ámbar por al menos 16 horas para favorecer la formación del radical, en un lugar oscuro. Se preparó una nueva solución en cada corrida experimental, debido a que el reactivo solo es estable por 2 días. A posteriori, se diluyó la solución de ABTS con alcohol etílico 96%, hasta obtener una absorbancia 0.8λ a una longitud de onda de 730nm, en un espectrofómetro UV-vis Genesys®, en celdas de cristal. Se preparó una solución de Trolox, disolviendo 0.01g en 5mL de agua destilada y 5mL de metanol.

8.1.3.2.2 Curva de calibración

Se prepararon soluciones de Trolox a diferentes concentraciones: [3], [2], [1], [0.5] y [0.25] mM. Se colocaron 40 μ L de cada concentración en tubos de ensaye y 3960 μ L de ABTS (absorbancia 0.8 λ). Se dejaron en oscuridad por 5min y se midió la absorbancia a 730nm.

8.1.3.2.3 Tratamiento de las muestras

Se realizó el mismo procedimiento anterior, colocando 40 μ L de muestra (muestras con dilución 1:10) y 3960 μ L de ABTS, se dejaron en oscuridad por 5 min. Se realizó una regresión lineal y se interpolaron los datos.

8.1.3.3 Método de DPPH

8.1.3.3.1 Preparación de las soluciones

Se siguió la metodología propuesta por (Kuskoski, 2005), con algunas modificaciones. Se preparó una solución de DPPH 100 μ M disuelta en metanol al 80%, se protegió de la luz. Además, se prepararon 10mL de solución de Trolox, para ello se pesaron 3.1mg de Trolox y se disolvieron en 10mL de metanol.

8.1.3.3.2 Curva de calibración

Se realizó una curva estándar con Trolox, preparando diferentes concentraciones: [1.25], [1], [0.5], [0.25] y [0.1] nM. En tubos de ensaye, protegidos de la luz, se colocaron 0.1mL de cada concentración y 3.9mL de solución de DPPH, se homogeneizó por 30 segundos y se dejaron reposar por 10 min. Posteriormente se leyó la absorbancia en un espectrómetro UV-vis Genesys® a una longitud de onda de 517nm, en celdas de cristal.

8.1.3.3.3 Tratamiento de las muestras

Se realizó el mismo procedimiento con cada una de las muestras, pero se realizó una dilución 1:2 con agua destilada, para que entraran en la curva estándar.

8.2 SEGUNDA ETAPA: EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LOS CONCENTRADOS

8.2.1 Pruebas de toxicidad, actividad protectora y quimiopreventiva

8.2.1.1 Animales

Se siguió la metodología propuesta por (Siddhartha, *et al*, 1999), con algunas modificaciones. Se utilizaron ratones macho de la cepa Balb-C, con un peso promedio de 20-30g, y se mantuvieron en aislamiento y aclimatados, por 2 semanas. Para favorecer la absorción de los extractos. Para las pruebas con AAP, se administraron los ratones con una dosis de 600 mg/kg, 72 horas antes. Para las pruebas con Vincristina, se administraron los ratones con una dosis de 0.125mg/kg, 48 horas antes.

8.2.1.2 Tratamiento de animales

Se administraron los concentrados de uva vía oral durante una semana. Los animales se dividieron en 6 grupos: el primer grupo (G-) servirá de control, con agua destilada. El 2do grupo (G+) recibió una única dosis de 600 mg/kg de AAP. El 3er grupo (G1) recibió una dosis de 1000mg/kg/día de concentrado de uva de calidad de grano. El 4to grupo (G2) recibió una dosis de 1000 mg/kg/día de concentrado de uva de primera calidad. El grupo 5 (G3) recibió una única dosis de 600 mg/kg y 1000 mg/kg/día de extracto de uva de calidad grano. El grupo 6 (G4) recibió una única dosis de 600 mg/kg de AAP y 1000 mg/kg/día de concentrado de uva de primera calidad. Y por último, el grupo 6 (G5) y 7 (G6), recibieron la misma cantidad de cada uno de los concentrados y 0.125 mg/kg de Vincristina.

8.2.1.3 Obtención de la muestra de células sanguíneas y suero

A cada ratón se les cortó un trozo de cola y se extrajeron 50µL y 100 µL de sangre. Posteriormente se centrifugaron las muestras en tubos Eppendorf, a 5000rpm durante 3 y 6 minutos. Para obtener el suero, solamente se extrajo el sobrenadante, y para obtener las células se extrajo el sedimentado.

8.2.2 Determinación de la DL50

De acuerdo con el protocolo de (Lorke, 1983), inicialmente es necesario determinar el rango aproximado de toxicidad aguda. Esto se logra al administrar dosis muy diferentes a los animales como lo es 100 y 1000 mg/kg, vía interperitoneal. Los resultados muestran si una sustancia es muy tóxica, tóxica, menos tóxica o solo ligeramente tóxica. Tres ratones, fueron administrados con una dosis de 1000mg/kg. Se revisó a las 24hrs si los ratones vivían o morían. El resultado de esta prueba se utiliza como base para seleccionar las dosis posteriores. Sin embargo, se optó por mantener la DL50 en este rango, debido a que no presenció citotoxicidad.

8.2.3 Prueba de Apoptosis celular

Se tomaron 50µL de sangre y se mezclaron con 10µL de heparina y 10µL de una mezcla de naranja de acridina con bromuro de etilo, se centrifugó la muestra a 5000 rpm por 3 min. Se resuspendió el pellet celular con 10µL de PBS (solución Buffer 7.4) y se colocó en un portaobjetos 2µL de muestra. Se leyó la muestra en el microscopio de fluorescencia (480nm filtro (515-530nm)), hasta contar 200 células.

8.2.4 Estudio de niveles de ALT en suero

Se realizó una prueba espectrofotométrica para la determinación de Alanina aminotransferasa (GPT/ ALT) en suero, de acuerdo a las especificaciones de Wiebner Lab®. Para ello se colocó 1mL de reactivo A reconstituido (2-oxoglutarato, NADH y lactato de deshidrogenasa (LDH), reconstituido con 4mL de solución buffer TRIS pH 7.5, con L-alanina) y 50µL de muestra de

suero, a 30°C, en una cubeta. Se agitó rápidamente cada muestra y se contó el tiempo de 1min, se registró la absorbancia inicial a 340nm, en un espectro UV-Vis. Después de 1, 2 y 3 minutos, se volvió a medir la absorbancia. Se determinó la absorbancia promedio abs/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Por último, se multiplicó el promedio abs/min por el factor de corrección (1750), para obtener los valores de ALT en suero.

*Nota: En este documento, solo se realizaron los experimentos correspondientes a los grupos: (G-), (G1), (G2) para los niveles de enzima ALT, y para la prueba de Apoptosis (G5) y (G6).

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados y discusión de resultados están organizados de la misma forma en que se presentaron los materiales y métodos.

9.1 PRIMER ETAPA: CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LOS CONCENTRADOS

9.1.1 Evaluación de las características fisicoquímicas del concentrado

El sabor de la uva de mesa está definido por el balance entre el contenido de azúcares (fructosa, glucosa y sacarosa) y ácidos orgánicos (principalmente tartárico y málico). Los valores de pH, acidez titulable (AT) y sólidos solubles totales (SST), en las frutas, son parámetros de calidad que están relacionados entre sí con el estado de madurez del fruto, y de los productos alimenticios derivados de ellos (*Torres, 2017*). En el Cuadro 4, se muestran los valores obtenidos de estos parámetros para los dos diferentes concentrados de uva, y se muestra una comparación con la literatura respecto a las uvas de mesa frescas y al jugo de uva del género *Vitis labrusca L.* De esta comparación se destaca principalmente la disminución del contenido del % de ácido tartárico, entre los resultados en uvas frescas y los concentrados de uva, esto se debe mayormente al efecto de la temperatura en el proceso de obtención del concentrado, ya que este causa la destrucción de nutrientes y la pérdida de cualidades organolépticas (*Encina, et al, 2013*).

Así mismo, el contenido de °B aumentó en los concentrados de uva, a causa del mismo tratamiento térmico, sin embargo, no se siguió completamente la metodología de (*Aguirre G., et al, 2013*) debido a que a los 60°B los concentrados eran poco fluidos y tenían un aspecto parecido a la mermelada, a comparación de los 35°B que aún mantenían su fluidez.

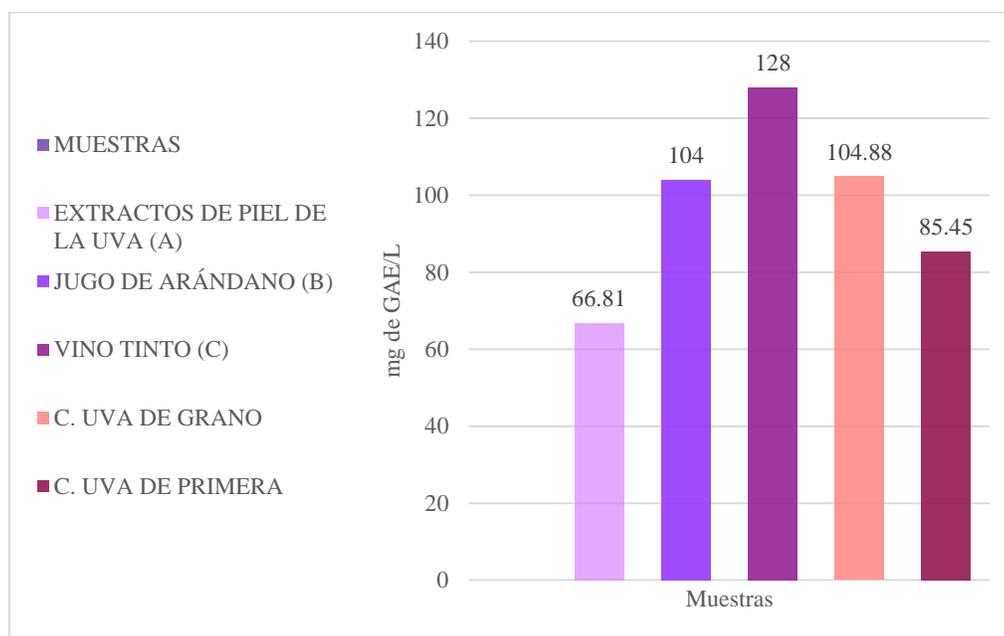
Cuadro 4. Caracterización fisicoquímica de los concentrados de uva y en comparación con la bibliografía.

Muestras	Uva de grano	Uva de primera	Uvas de mesa (Torres, 2017)	Jugo de uva (Monteiro, <i>et al</i> , 2017)
pH	3.64 ± 0.10	3.87 ± 0.01	-	3.65 ± 0.04
SST (°B) fruto	15.33 ± 0.57	19 ± 1	16.5	-
SST (°B) concentrado	35.83 ± 0.288	36.33 ± 0.577	-	20.0 ± 0.3
% de ácido tartárico concentrado	0.62 ± 0.03	0.54 ± 0.01	0.9	0.67 ± 0.4

9.1.2 Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

El método de cuantificación de polifenoles totales, nos indica la presencia de estos compuestos, que tienen actividad antioxidante, en los alimentos, es una cuantificación general. En la Figura 10, se muestran los resultados de polifenoles totales (PT) de los dos concentrados de uva, de grano (104.88 ± 16.2 mg GAE/L) y de primera calidad (85.45 ± 4.55 mg GAE/L), así como el contenido de PT de extractos de la piel, y en bebidas conocidas por su alto contenido en estos componentes.

Figura 10. Polifenoles totales por el método F-C

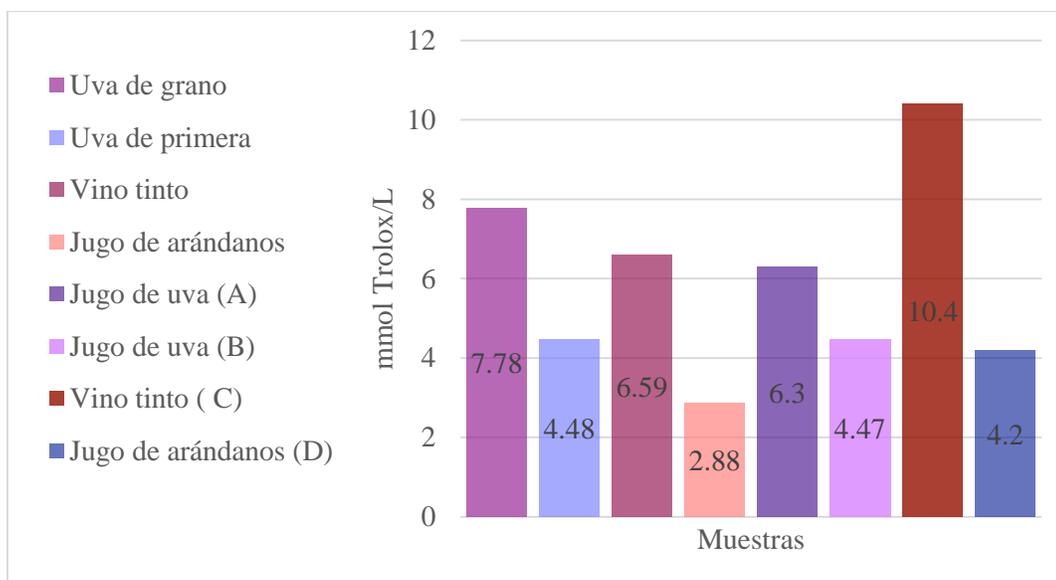


(A) Valores reportados por (Bucic, *et al*, 2007). (B) Valores reportados por (Prior, *et al*, 2001). (C) Valores reportados por (Serreli, *et al*, 2017).

De la Figura 10, se destaca que los extractos de la piel de la uva contienen presencia de PT, en comparación con los concentrados de uva elaborados, tienen valores menores. Esto se debe a que en los concentrados se utiliza todo el fruto (semillas, pulpa y piel) en su elaboración. Además, se sabe que alrededor del 60-70% de los polifenoles de la uva se encuentran en la semilla, incluyendo las proantocianidinas y las procianidinas (Soo-Kyong, *et al*, 2012). Así mismo, los valores del concentrado de uva de calidad de grano con respecto al vino y al jugo de arándano se encuentra en el mismo rango.

La capacidad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH, se muestran a continuación en las Figuras 11 y 12, además se muestra una comparación con los valores de diferentes alimentos que son conocidos por su capacidad antioxidante.

Figura 11. Capacidad antioxidante por el método ABTS



(A) Valores reportado por (da Silva, *et al*, 2019). (B) y (D) Valores reportados por (Yuan, 2018). (C) Valor reportado por (Czyowska, *et al*, 2014).

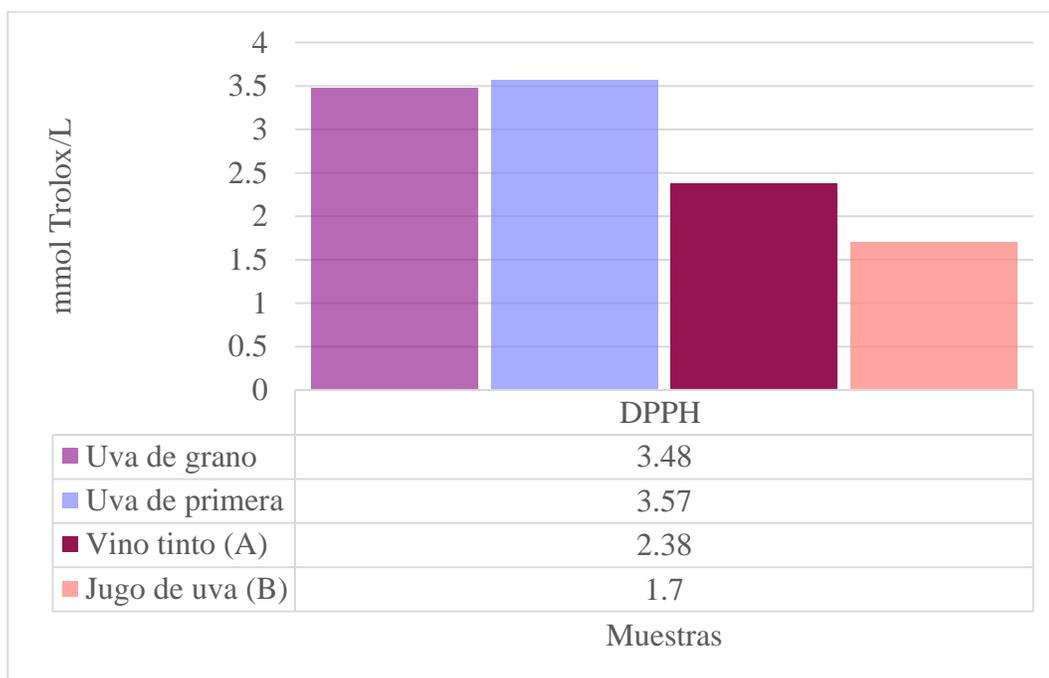
De acuerdo con los resultados de la Figura 11, se puede apreciar que el concentrado de uva de calidad de grano tiene mayor contenido (7.78 ± 3.1 mmol Trolox/L) de actividad antioxidante que el concentrado de primera calidad (4.48 ± 1.8), y a su vez, ambos concentrados tienen mayor actividad antioxidante, según la técnica de ABTS, en el rango de los compuestos antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos como los carotenoides, fenoles y algunos antioxidantes plasmáticos

(Nicoletta, *et al*, 1999), a comparación de los reportados por (da Silva, y otros, 2019) y (Yuan, 2018), que son jugos centrifugados para su clarificación.

La principal diferencia entre los dos concentrados fue la calidad de la uva, debido a que el estado de madurez de la uva de grano fue mayor, tomando en cuenta que una gran cantidad de la uva ya se encontraba en estado de putrefacción, otra parte sufrió daños físicos tales como: aplastamiento, mayugaduras y cortadas, debido a que fueron transportadas en rejas sin ningún tipo de protección. En cambio con las uvas de primera calidad, las cuáles se encontraban en empaques individuales de plástico, tenían mejor aspecto y se encontraban libres de daños físicos.

Por otro lado, el vino tinto y el jugo de arándanos son bebidas popularmente conocidas por su gran aporte de antioxidantes (Coronado, *et al*, 2014), entre los que destacan los taninos, flavonoides y carotenoides. Se puede observar que de acuerdo a la bibliografía, los concentrados de uva presentan mayores valores que los del jugo de arándano (Yuan, 2018), sobre todo los resultados del concentrado de uva de grano.

Figura 12. Capacidad antioxidante por el método DPPH



9.1 (A) Valor reportado por (Czyowska, *et al*, 2014). (B) Valor reportado por (da Silva, *et al*, 2019).

Los resultados de capacidad antioxidante por el método DPPH, se muestran en la Figura 11, en donde se observa que los concentrados de uva no muestran diferencias significativas entre ellos, y de acuerdo con (Czyowska, *et al*, 2014), tampoco existe diferencia significativa con lo reportado para el vino tinto. Por otro lado, el valor reportado por (da Silva, *et al*, 2019) para el jugo de uva es significativamente menor, resaltando que los concentrados de uva contienen mayor contenido de compuestos antioxidantes lipofílicos.

9.2 SEGUNDA ETAPA: EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LOS CONCENTRADOS

9.2.1 Determinación de la DL50

La evaluación de la DL50 es un valor que determina cuál es el nivel de toxicidad de una sustancia química, en relación con la cantidad que se ingiera, además ayuda a estimar que parte de esta sustancia causa daño justamente después de la ingesta (Lorke, 1983). En este caso, se realizó la prueba con una dosis de 1000mg/ kg, obteniendo que ambos concentrados de uva no son tóxicos a estas concentraciones, por lo que se decidió trabajar únicamente con esta dosis para todos los grupos de estudio.

9.2.2 Prueba de Apoptosis celular

Para la lectura de resultados, se tomó como referencia la Figura 13 (García-Rodríguez, *et al*, 2013). En ella se muestran la morfología de las células viables (células apoptóticas y no apoptóticas) y las células no viables (células apoptóticas y no apoptóticas) evaluadas mediante la tinción de naranja de acridina/ bromuro de etidio.

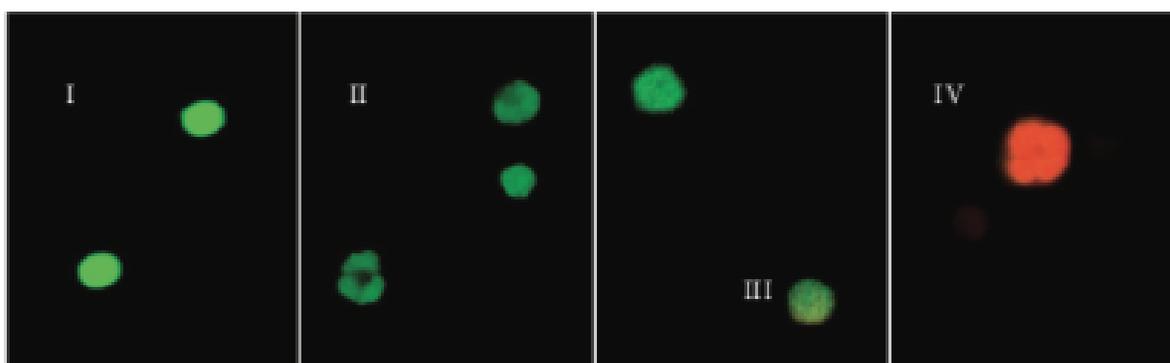


Figura 13. Morfología de las células viables y no viables

(I) Son células viables que se tiñen uniformemente de color verde. (II) Células en proceso apoptótico temprano con el plasma de la membrana intacto que aparece en verde, pequeños puntos de cromatina condensada que son altamente visible. (III) Son células en proceso apoptótico tardío, se tiñen de un verde-naranja brillante a causa de que comienza a producirse una explosión, y el Bromuro de Etidio puede entrar en las células. (IV) Son células apoptóticas no viables que se han teñido de un naranja brillante a causa de la entrada del Bromuro de Etidio.

Los resultados del conteo de células teniendo como referencia a la Figura 13, se presentan en el Cuadro 5. Entre los grupos control de Vincristina G(V) y Agua G(A), es preciso señalar el conteo de células viables (I), ya que existe una evidente disminución en el grupo tratado con el antineoplásico a comparación del G(A). Además la cantidad de células no viables (IV), es decir apoptóticas, en el grupo G(V) es significativamente mayor, indicando que la vincristina es citotóxica.

Por otro lado, los resultados de los concentrados de uva de calidad de grano G(5) y de primera calidad G(6), también muestran diferencias entre sí, principalmente en el tipo de células (III) y (IV), ya que la administración con el concentrado de uva de primera calidad está protegiendo mayormente a las células de la muerte. Sin embargo, el concentrado de uva de calidad de grano, también está ejerciendo protección celular, evitando la apoptosis causada por el fármaco, además disminuye aproximadamente al 50% la formación de células tipo (III) que están en proceso de apoptosis.

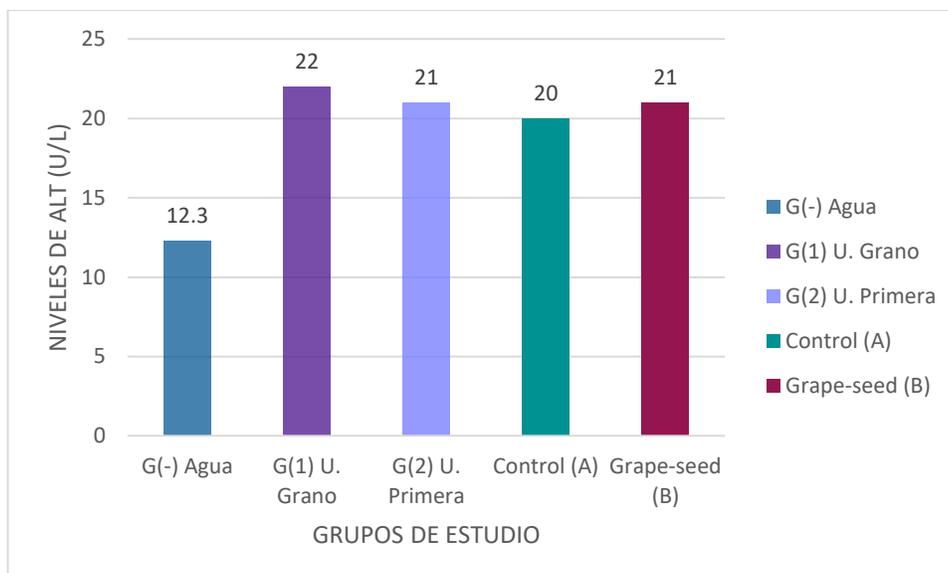
Cuadro 5. Promedio del tipo de células obtenidas por grupo de estudio

Grupos de estudio	Células tipo I	Células tipo II	Células tipo III	Células tipo IV
G (5)	189 ± 5.95	7.4 ± 0.01	3.4 ± 1.3	2.2 ± 0.44
G (6)	189.6 ± 5.8	10 ± 3.87	2.2 ± 2.38	0.2 ± 0.44
G (V)	168.6 ± 9.44	21.4 ± 10.8	6.6 ± 2.30	3.4 ± 2.70
G (A)	197.6 ± 3.04	0.6 ± 1.34	1 ± 1.73	0.8 ± 1.78

9.2.3 Estudio de niveles de ALT en suero

La Alanina aminotransferasa (ALT) es una enzima intracelular que se encuentra principalmente en las células del hígado y riñón. Su mayor aplicación es en el diagnóstico de enfermedades hepáticas como la hepatitis, enfermedades en los músculos y traumatismos. En la Figura 14, se presentan los resultados obtenidos para el grupo control G(-) de agua y para los grupos administrados con 1000 mg/kg de concentrados de uva de calidad de grano G(1) y de primera calidad G(2). Además se muestra una comparación con los valores normales de ALT para ratones y los valores obtenidos por (D. Ray, *et al*, 1999) en un concentrado de semilla de uva, aplicado en un modelo murino.

Figura 14. Niveles de enzima ALT



(A) Valores reportados por (Abdul-Hamid, *et al*, 2017). (B) Valores obtenidos por (D. Ray, *et al*, 1999).

De acuerdo a los resultados mostrados en la Figura anterior, se observa que los niveles de ALT que se obtuvieron en la experimentación con el grupo G(-) control, son relativamente bajos en comparación con los reportados en la literatura, ya que ambas referencias concuerdan. Se necesitan hacer más estudios para obtener diferencias significativas. Sin embargo, no se obtienen diferencias significativas entre los concentrados de uva de calidad de grano y de primera calidad con los resultados presentados por (D. Ray, *et al*, 1999), ya que ambos están dentro del rango.

10. CONCLUSIONES

- Se formuló un concentrado de uva de calidad de grano con 35.86 ± 0.28 °B y un % de ác. Tartárico de 0.62 ± 0.3 .
- Se formuló un concentrado de uva de primera calidad con 36.33 ± 0.577 °B y un % de ác. Tartárico de 0.54 ± 0.01 .
- Los concentrados de uva desarrollados tienen la presencia de compuestos fenólicos, con un valor para el c. de uva de grano de 104.88 GAE/L; el cuál se encuentra dentro del rango del jugo de arándanos comercial. Así mismo, el valor para el c. de uva de primera calidad de 85.45 GAE/L.
- Los concentrados de uva presentan actividad antioxidante, la cuál fue medida a través de los métodos ABTS y DPPH, para los cuáles el c. de uva de grano obtuvo valores de 7.78 mmol Trolox/L y 4.48 mmol Trolox/L, respectivamente. Y el c. de uva de primera calidad obtuvo valores de 3.48 mmol Trolox/L y 3.57 mmol Trolox/L, respectivamente. Además se demostró que los valores de los concentrados son más altos que en el vino y en el jugo de arándano.

- Se evaluó la capacidad quimiopreventiva de los concentrados, y se concluyó que son biológicamente activos y actúan como agentes preventivos y protectores, al combinarse con un fármaco antineoplásico como la vincristina.
- Se evaluaron los efectos de los concentrados con respecto a la enzima hepática Alanina aminotransferasa (ALT), y los resultados fueron normales comparados con la bibliografía.

11. PERSPECTIVAS

- En cuanto a la caracterización fisicoquímica de los concentrados, se debe establecer el índice de madurez de la uva de grano y de primera calidad, con la finalidad de poder estandarizar el producto.
- En cuanto a la evaluación biológica de los concentrados, se debe continuar con los experimentos correspondientes a la protección de las células del hígado con respecto al acetaminofén.
- Es necesario evaluar el daño hepático inducido por la vincristina y el acetaminofén en los hígados mediante un estudio histológico.
- Se deben realizar más estudios del efecto protector de los extractos en otros órganos específicos.

12.ANEXOS

12.1 PRIMER ETAPA: CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS CONCENTRADOS

12.1.1 Evaluación de las características fisicoquímicas del concentrado

12.1.1.1 Acidez titulable

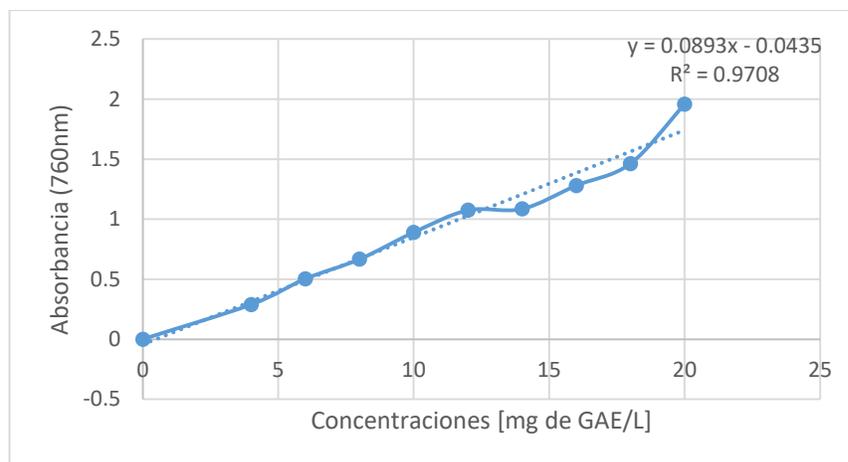
Cuadro 6. Cálculos para la obtención de la acidez titulable

Muestras	V2 (mL de NaOH)	V1 (ml muestra)	N del NaOH	meq de ac. Tar.	% acidez		
UVA DE GRANO							
					A (V2*N*meq)	B (A/V1)	B*100
G1	5.3	60	0.1	0.7505	0.3977	0.0066	0.6629
G2	4.8	60	0.1	0.7505	0.3602	0.0060	0.6004
G3	4.9	60	0.1	0.7505	0.3677	0.0061	0.6129
						Prom	0.6254
						Desv. Est.	0.0330
UVA DE PRIMERA							
P1	4.3	60	0.1	0.7505	0.3227	0.0053	0.5378
P2	4.3	60	0.1	0.7505	0.3227	0.0053	0.5378
P3	4.5	60	0.1	0.7505	0.3377	0.0056	0.5628
						Prom	0.5461
						Desv. Est.	0.0144

12.1.1 Capacidad antioxidante

12.1.1.1 Método Polifenoles totales Folin-Ciocalteu

Figura 15. Curva tipo para PF (método FC)

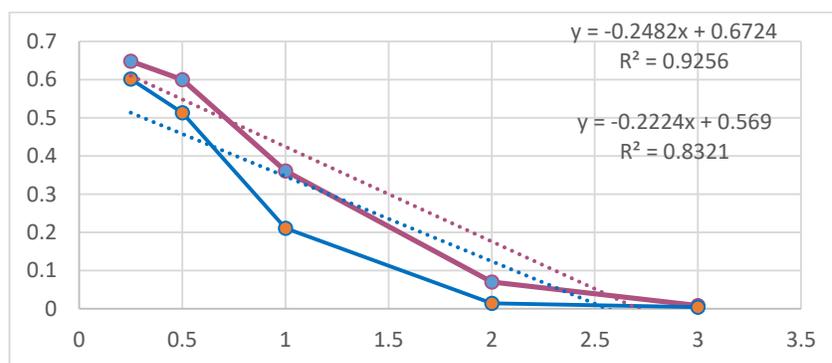


Cuadro 7. Cálculos para la obtención de FT

MUESTRA	Repeticiones			A (Y+0.0435/0.0893)			B (A*5)			Prom*B
	R1	R2	R3	EC. DE RECTA			Multiplicado por el factor			PROM
C. UVA PRIMERA	1.393	1.503	1.552	16.08	17.31	17.86	80.43	86.59	89.33	85.45
C. UVA DE GRANO	1.515	2.08	1.894	17.45	23.77	21.69	87.26	118.89	108.48	104.88

12.1.1.2 Método de ABTS

Figura 16. Curvas tipo para la obtención de CA por ABTS



Cuadros 8. Cálculos para la obtención de CA por ABTS

Corrida 1							
				A (Y-0.67/-0.24)	A * 10		
Muestras	Absorbancia			Promedio	Ec. de la recta	Por el factor	Desviacion
Uva primera	0.581	0.609	0.607	0.599	0.2957	2.95	1.8243355
Uva de Grano	0.532	0.534	0.532	0.532	0.565	5.65	
					Y-0.56/-0.22		
Corrida 2							

Muestras 2	Absorbancia		Promedio	Ec. de la recta	Por el factor	
Uva primera	0.446	0.446	0.446	0.553	5.53	
Uva de Grano	0.32	0.412	0.366	0.912	9.91	3.01227489

13. BIBLIOGRAFÍA

- Castell, J. (2003). *Metabolismo de fármacos*. Recuperado el Mayo de 2019, de UV. es: https://www.uv.es/jcastell/Metabolismo_de_farmacos.pdf
- Choi, S.-K., Zhang, X., & Seo, J. (2012). *Suppression of oxidative stress by grape seed supplementation in rats*. Korea: Nutrition and research practice.
- Londoño L., J. (2012). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Parte 2*. Antioquia: GRIAL.
- Londoño, J. (2012). *Antioxidante: importancia biológica y metodos para medir su actividad*. Antioquia: GRIAL.
- Lorke, D. (1983). *A new aproach to practical acute toxicity testing*. Germany: Toxicology.
- Coronado, M., Vega, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. (2014). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Chil Nutrición*, 206-212.
- Czyowska, A., Klewicka, E., Pogorzelski, E., & Nowak, A. (2014). Polyphenols, vitamin C and antioxidant activity in wines from 4 Rosa canina L. and Rosa rugosa Thunb. . *Journal of Food composition and Analysis xxx*, 1-7.
- A. Ali, D., Badr, N., & Abou-El-magd, R. (2015). *Antioxidant and hepatoprotective activities of grape seeds and skin against Ehrlich solid tumor induced oxidative stress in mice*. Egypt: Egyptian journal of basic and applied sciences.
- Abdul-Hamid, M., Reda Galaly, S., Mahmoud, H., & Mostafa, F. (2017). *The protective effect of grape seed and Ginko Biloba against hepatotoxicity induced by the antidysrhythmic drug "amiodarone" in male albino rats*. Egypt: Beni-Suef University.
- Agrobanco. (2008). *Cultivo de la uva*. Área de desarrollo. Chile: Agrobanco.
- Agudo Medina, L. (2010). *Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos*. Extremadura: Revista de educaciond e Extremadura.
- Aguirre G., R., Arana F., C., Monteza C., R., Patiño L., C., Reque L. , A., & Vera O., L. (2013). *Diseño de una línea de producción de jugo concentrado de uva de mesa*. Lima, Perú: Universidad de Piura.

- Aubert, C., & Chalot, G. (2018). *Biochemical composition, bioactive compounds, and volatiles of six table grape varieties (Vitis vinifera L.)*. France: Food Chimestry.
- Bucic, A., Planinic, M., Srecki, T., & Velic, D. (2007). Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Fooof Engineering*, 236-242.
- D. Ray, S., Arun Kumar, M., & Bagchi, D. (1999). *A novel proanthocyanidin IH636 Grape Seed Extract increases in Vivo Bcl-XL expression an prevents acetaminophen-induced programmed and unprogramed cell death in mouse liver*. Long Island University, Molecular Toxicology Program. New York: Archives of Biochimestry and Biophysics.
- da Silva, I., Gomes, T., Gomes, T., Luna, A., Santos, J., & Bordignon, M. (2019). Polyphenolic profile, macro- and microelements in bioaccessible fractions of grape juice sediment using in vitro gastrointestinal simulation. *Food Bioscience*, 66-74.
- Encina, C., Bernal, A., & Rojas, D. (2013). Efecto de la temperatura de pasteurización y proporción de mezclas binarias de pulpa de carambola y mango sobre su capacidad antioxidante lipofílica. *Ingeniería Industrial*(31), 192-219.
- FAO y OIV. (2016). *Table and Dried grapes*. ONU. USA: Food and Agriculture Organization.
- García, B. (2013). *El estrés oxidativo y los antioxidantes en la prevención del cáncer*. La Habana: Ciecía Médica.
- García, E., Valverde, E., Agudo, M., Novales, J., & Luque, M. (2013). *Biblioteca virtual*. Recuperado el 17 de mayo de 2019, de Sefh.es: <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/fhtomo1/cap213.pdf>
- García-Rodríguez, M. d., Carvente-Juárez, M., & Altamirano-Lozano, M. A. (2013). Antigenotoxic and Apoptotic Activity of Green Tea Polyphenol Extracts on Hexavalent Chromium-Induced DNA Damage in Peripheral Blood of CD-1 Mice: Analysis with Differential Acridine Orange/Ethidium Bromide Staining. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-9.
- Granato, D., Nunez, D., & Barba, F. (2017). *An integrated strategy between food chimestry, biology, nutrition, pharmacology, and statistics in the development of functional foods: A proposal*. Brasil: Trends in food science and tecnologia.
- Guarrera, P. (2013). Perceived health properties of wild and cultivated plants in local and popular traditions of Italy: A review. *jornal Ethnopharmacology*, 2-22.
- Gutierrez Avella, D. M., Ortiz Garcia, A., & Mendoza Cisneros, A. (2008). *Medicion de fenoles y actividad antioxidante en melazas usadas para alimentación animal*. Queretaro: Simposio de Metrología.

- Higuera, M., Servin, A., & Alexanderson, E. (2012). Toxicidad hepática inducida por fármacos y herbolaria. *Hospital general*, 4(75), 230-237.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., & Troncoso, A. M. (2005). *Aplicación de diversos métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en pulpa de frutos*. Campinas: Ciencia y tecnología de alimentos.
- Mancilla, A. e. (2015). *Hepatotoxicidad por fármacos*. Recuperado el abril de 2019, de Daño celular: https://medicina.ufm.edu/wp-content/uploads/2017/02/Hepatotoxicidad_por_farmacos.pdf
- Mancipe, L., Fernández, D., & Fernández, D. (2010). Intoxicación por acetaminofén. 221-227.
- Martinez P., I. (2000). *Quimioprevención del cáncer*. Cuba: Revolución cubana.
- Mencarelli, F. (2005). *Grape: Post-harvest Operations*. Viterbo, Italy: FAO.
- Mendez R., Y. (2011). Hepatotoxicidad de medicamentos para el tratamiento de la obesidad. *Gastroenterología de México*, 19-20.
- Mi-Ok, S., & Moon, J.-O. (2010). Effect of dietary supplementation of grape skin and seeds on liver fibrosis induced by dimethylnitrosamine in rats. 369-374.
- Monteiro, E., da Silva, C., Aquino, G., Gomes, A., Pereira, G., Cavalcanti, L., & dos Santos, M. (2017). Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1-8.
- Moon, J.-o., & Shin, M.-O. (2010). *Effect of dietary supplementation of grape skin and seeds on liver fibrosis induced by dimethylnitrosamine in rats*. Korea: Nutrition reasearch and Practice.
- Moran, I., Martínez, J., Marruecos, L., & Nogué, S. (2011). *Toxicología Clínica*. Madrid, España: Grupo Difusión.
- Nicoletta, R., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY. *Free Radical Biology & Medicine*, 1231-1237.
- NORMAS., n. N.-F.-1.-S.-1. (25 de septiembre de 1978). *Colpos*. Recuperado el 20 de Febrero de 2019, de NMX: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-102-S-1978.PDF>

- Núñez, A. (2012). *Producción de la uva de mesa*. Universidad autónoma Agraria "Antonio Narro". Coahuila: Carreras Agronómicas.
- Otero, R. M. (2012). *Hepatotoxicidad por fármacos*. Hospital universitario de la Princesa, Unidad de heptaología. Adrid: Teleline.
- Pediamécum. (Enero de 2016). *Asociación Española de Pediatría*. Recuperado el Mayo de 2019, de Vincristina: <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Vincristina.pdf>
- Porras, A., Loaiza, & Lopez, A. (2009). *Importancia de los grupos fenólicos en alimentos*. Puebla: Universidad las Américas.
- Prior, R., Lazarus, S., Cao, G., Muccitelli, H., & Hammerstone, J. (2001). Identification of Procyanidins and Anthocyanins in Blueberries and Cranberries (*Vaccinium* Spp.) Using High-Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *Journal agriculture and Food Chemistry*, 1270-1276.
- SAGARPA. (2017). *Uva mexicana*. CDMX: gob, mx.
- SAGARPA. (2018). Plan rector 2018. 2-92.
- Sandoval, M., Lazarte, K., & Arnao, I. (2008). *Hepatoprotección antioxidante de la cáscara y semilla de Vitis vinifera L. (uva)*. Lima: Universidad Nacional mayor de San Marcos. doi:<https://doi.org/10.15381/anales.v69i4.1125>
- SEOM. (Febrero de 2013). *Sociedad Española de Oncología Médica*. Recuperado el Mayo de 2019, de SEOM. org: <https://seom.org/guia-actualizada-de-tratamientos/toxicidad-de-los-tratamientos-oncologicos?start=12>
- Serrelli, G., Jerkovic, I., Marijanovic, Z., Katarzyna, A., & Giovanni, C. (2017). Evaluation of natural occurring bioactive compounds and antioxidant activity in Nuragus white wines. *Food reasearch International*, 9-22.
- Soo-Kyong, C., Xian-Hua, Z., & Jung-Sook, S. (2012). Suppression of oxidative stress by grape seed supplementation in rats. *Nutrition Research and Practice*, 6(1), 3-8.
- Torres, A. (2017). *Manual de cultivo de la uva de mesa. Convenio INIA-INDAP* (Vol. 18). Santiago, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA).
- Vargas, M. P. (2016). *Intoxicación por acetaminofén en adultos*. Costa Rica: Medicina Legal.
- Yuan, Y. V. (2018). Yuan, Y. V., & Baduge, S. A. (2018). The Contribution of Phytochemicals to the Antioxidant Potential of Fruit Juices. *Fruit Juices*, 95–128. doi:10.1016/b978-0-12-802230-6.00007-2 . *Fruit Juices*, 95-128.

Zegbe Dominguez, J. (2010). *Situación Actual y Agenda de trabajo para la innovación Tecnológica del sistema Producto VID en Zacatecas*. SAGARPA. Zacatecas: Gob.