



**UNIVERSIDAD DE MATANZAS**  
**ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE PASTOS Y FORRAJES**  
**“Indio Hatuey”**

**Tesis presentada en opción al título de Máster en  
Pastos y Forrajes**

**Caracterización físico-química y antioxidante de los  
frutos de *Morus alba* L.**

**Autora:**

**Ing. Yudit Lugo Morales**

**Tutora:**

**Dra. C. Maykelis Díaz Solares**

**Perico, Matanzas**

**2020**

## AGRADECIMIENTOS

A los miembros del comité académico de la maestría.

A Maykelis, por haber confiado en mí, por su constante e incansable empeño en la realización de esta tesis, por su certera conducción en las investigaciones y sus enormes enseñanzas.

A Inelvis, por su apoyo en la revisión de cada línea de este documento y por sus acertadas sugerencias.

A Cepero por su cariño, paciencia, comprensión y su apoyo incondicional en la realización de esta tesis.

A Nancy y Leydis, por haber estado presente en el desarrollo de cada uno de los experimentos.

A mi amiga Marlen Prieto, a quien debo parte de mi formación en el trabajo del laboratorio.

A Nayda y Maritza por su gran aporte en la corrección, organización de la bibliografía y elaboración de gráficos en el documento de tesis.

A la Dra. Hilda Wencomo y al MSc. Yolai Noda por sus enseñanzas y apoyo en temas estadísticos.

Al Dr. Giraldo Jesús Martín, por la confianza, el apoyo y las sugerencias.

A Dariel y Nidia, compañeros de la maestría por su ayuda a lo largo de esta etapa.

A Clari por asumir en determinados momentos responsabilidades laborales, por su apoyo y preocupación por la terminación de esta tesis.

A Aye, Taymer, Chuchi, Magalis, Liliét, Mariannys, Melissa, Amauris y Yunieski, por su preocupación en los avances de la tesis.

A Joisel y Edriagnis por su ayuda en temas informáticos.

A Yohania, Lisset, Rosa, Niurkis y Yosleidy, por su apoyo en las etapas iniciales de recolección y mediciones en frutos y en los análisis de bromatología.

A Denise Sande por su contribución en la realización de los experimentos de actividad antioxidante.

A los profesores Dra. Jacqueline, Dr. Oscar Marino y al colectivo de trabajo de sus laboratorios por el apoyo en las investigaciones.

A mi papá quien estaría muy orgulloso de ver hoy este resultado.

A mi mamá y hermanas, por ser mis compañeras y amigas y haberme acompañado durante todo el proceso de formación asumiendo parte de mis responsabilidades con la familia.

A mis sobrinos Evian y Thalía, a los cuales espero servirle de inspiración para continuar superándose profesionalmente al igual que a mi pequeña.

A mi pequeña Jenny, por su paciencia, comprensión, por ayudarme y colaborar en mi superación.

A todos los que, de alguna manera, contribuyeron al desarrollo de esta tesis durante este tiempo, muchas gracias.

## ABREVIATURAS

%: porcentaje

°C: grados Celsius

°Brix: grados Brix

µg: microgramos

g: gramos

kg: kilogramos

ha: hectárea

kcal: kilocalorías

mm: milímetros

cm: centímetros

m: metros

mg: miligramos

mL: mililitros

mM: milimolar

mmol: milimol

M: molar

nm: nanómetros

msnm: metros sobre el nivel del mar

rpm: revoluciones por minutos

CCD: cromatografía en capa delgada

UV: luz ultravioleta

MS: materia seca

FB: fibra bruta

H: humedad

Ca: calcio

Mg: magnesio

P: fósforo

N: nitrógeno

Na: sodio

Fe: hierro

Cu: cobre

Mn: manganeso

Zn: zinc

## RESUMEN

Con el propósito de evaluar la composición físico-química de frutos y la actividad antioxidante de los extractos de *Morus alba* L., se determinaron propiedades físicas y químicas de siete variedades de esta especie. Se identificaron cualitativamente los principales grupos fitoquímicos por cromatografía en capa delgada, se determinó el contenido de antocianinas y de vitamina C, así como la actividad antioxidante de los extractos etanólicos de estas variedades mediante el ensayo de captura del radical fosfomolibdato y la determinación del contenido de fenoles totales. Para el procesamiento de los datos se utilizó un diseño completamente aleatorizado y se realizó un análisis de varianza. Dentro de las propiedades físicas, el peso de los frutos varió entre 1,31-3,65 g; el largo entre 1,61-3,01 cm y el ancho entre 0,83-1,59 cm. El número de semillas por fruto osciló entre 19,7 y 42,8. Los valores de pH se comportaron entre 4,46-5,02, los sólidos solubles totales entre 15,0-16,5 °Brix y el índice de madurez estuvo entre 42,11-69,30. El ácido málico fue el ácido orgánico predominante. En las diferentes variedades, el porcentaje de materia seca, humedad, fibra bruta y ceniza varió entre 13,54-17,49; 82,50-86,46; 8,05-12,66 y 3,62-7,06 %, respectivamente. Mientras que, el contenido de Ca, Mg y P se halló en el rango de 322,50-356,00; 176,50-201,00 y 40,50-52,50 mg/100g, respectivamente. Los resultados cualitativos demostraron la presencia de fenoles, flavonoides, taninos, esteroides, esteroles, terpenos y saponinas. El contenido de antocianinas expresadas como equivalente de cianidina-3-glucósido osciló en el rango de 40,745-96,074 mg/100g y la vitamina C entre 16,73-28,40 mg de ácido ascórbico/100mL jugo. Todos los extractos mostraron actividad antioxidante. La capacidad antioxidante total osciló entre 175,959-229,482 mmol de ácido ascórbico/g de extracto y el contenido de fenoles totales entre 291,52 y 897,17 mg de ácido gálico/100g de extracto. A partir de estos resultados, se concluye que los frutos de morera presentan un alto valor nutricional y una amplia diversidad de metabolitos, que le confieren propiedades antioxidantes, por lo que constituyen un producto natural beneficioso para la salud animal y humana, que puede ser incorporado en cualquier tipo de dieta.

Palabras claves: *Morus alba*, antioxidante, extractos etanólicos, antocianinas

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	I
ABREVIATURAS .....	III
RESUMEN.....	IV
ÍNDICE GENERAL .....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS .....	VIII
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	4
1.1 Características generales de la especie <i>M. alba</i> (Linn).....	4
1.1.1 Ubicación taxonómica de <i>M. alba</i> L.....	4
1.1.2 Origen, adaptación y distribución .....	4
1.1.3 Características botánicas de la especie .....	5
1.1.4 Variedades de <i>M. alba</i> L. en Cuba .....	6
1.2 Frutos de <i>M. alba</i> L. ....	6
1.2.1 Período de fructificación.....	7
1.3 Caracterización física-química de frutos de <i>M. alba</i> L.....	8
1.4 Composición proximal de frutos de <i>M. alba</i> L. ....	11
1.5 Compuestos de interés biológico en frutos de <i>M. alba</i> L.....	12
1.5.1 Sustancias antioxidantes .....	12
1.5.2 Compuestos fenólicos.....	15
1.6 Uso de los frutos de <i>M. alba</i> L. ....	17
1.7 Importancia y papel de las actividades biológicas en la salud .....	18
1.7.1 Efecto sobre la diabetes mellitus.....	18
1.7.2 Prevención de enfermedades cardiovasculares .....	20
1.7.3 Efectos contra el cáncer.....	20
1.7.4 Efectos antiinflamatorios .....	21
1.7.5 Prevención de trastornos neurológicos .....	22
1.7.6 Actividad hepatoprotectora .....	23
1.7.7 Efectos hipolipidémicos y anti-obesidad.....	24
1.7.8 Prevención de trastornos gastrointestinales.....	25
1.7.9 Actividad antioxidante .....	26
CAPITULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	28
2.1 Localización .....	28
2.2 Características del área de cultivo de <i>M. alba</i> L. ....	28

2.3 Selección del material vegetal .....	28
2.3.1 Preparación de los extractos.....	29
2.4 Determinación de propiedades físicas y químicas de los frutos de morera.....	29
2.4.1 Propiedades físicas.....	29
2.4.2 Propiedades químicas .....	30
2.5 Caracterización fitoquímica y cuantificación del contenido de antocianinas y vitamina C .....	31
2.5.1 Caracterización fitoquímica por cromatografía en capa delgada (CCD) .....	31
2.5.2 Cuantificación de antocianinas totales (AT) .....	31
2.5.3 Cuantificación de vitamina C (ácido ascórbico) .....	32
2.6 Determinación de la actividad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de siete variedades de <i>M. alba</i> L. por diferentes métodos.....	33
2.6.1 Determinación de la capacidad antioxidante total por el método de captura del radical fosfomolibdato (Capacidad antioxidante total) .....	33
2.6.2 Determinación del contenido de fenoles totales .....	34
2.7 Procesamiento de los datos .....	34
2.7.1 Diseño experimental .....	34
2.7.2 Análisis estadístico .....	34
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	36
3.1 Determinación de las propiedades físicas-químicas de los frutos de siete variedades de <i>M. alba</i> L. ....	36
3.1.1 Propiedades físicas.....	36
3.1.2 Propiedades químicas .....	38
3.2 Caracterización fitoquímica y cuantificación del contenido de antocianinas y Vitamina C .....	51
3.2.1 Caracterización fitoquímica por cromatografía en capa delgada (CCD) .....	51
3.2.2 Cuantificación de antocianinas totales (TAC).....	57
3.2.3 Contenido de Vitamina C (ácido ascórbico) .....	62
3.3 Actividad antioxidante de frutos de morera.....	65
3.3.1 Actividad de captura del radical fosfomolibdato (CAT: Capacidad antioxidante total) .....	66
3.3.2 Contenido de fenoles totales (FT) .....	68
3.3.3 Correlación entre la capacidad antioxidante total, el contenido de fenoles totales, de antocianinas y de vitamina C de los extractos etanólicos de frutos de <i>M. alba</i> L..	73
CONCLUSIONES .....	77
RECOMENDACIONES .....	78
NOVEDAD CIENTÍFICA .....	79
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	80

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Fruto de *M. alba* L.

**Figura 2.** Cromatoplasmas de sílica gel reveladas con el reactivo de Liebermann-Buchard para detección de esteroides, terpenos, esteroides y triterpenos (1: Yu-12; 2: Yu-62; 3: Universidad; 4: Acorazonada; 5: Cubana; 6: Nueva; 7: Universidad Mejorada; 1 C: Control positivo, lanosterol).

**Figura 3.** Cromatoplasmas de sílica gel reveladas con el reactivo PMA para detección de terpenos (1: Yu-12; 2: Yu-62; 3: Universidad; 4: Acorazonada; 5: Cubana; 6: Nueva; 7: Universidad Mejorada; 2 C: Control positivo, lanosterol).

**Figura 4.** Cromatoplasmas de sílica gel reveladas con Anisaldehído-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para la detección de saponinas (1: Yu-12; 2: Yu-62; 3: Universidad; 4: Acorazonada; 5: Cubana; 6: Nueva; 7: Universidad Mejorada; C: Control positivo, digitonina).

**Figura 5.** Cromatoplasmas de sílica gel reveladas con AlCl<sub>3</sub> para la detección de flavonoides (1: Yu-12; 2: Yu-62; 3: Universidad; 4: Acorazonada; 5: Cubana; 6: Nueva; 7: Universidad Mejorada; C: Control positivo, kaempferol).

**Figura 6.** Antocianinas Totales, expresadas como equivalente Cianidina-3 glucósido (mg/100 g) de las diferentes variedades de *M. alba* L.

**Figura 7.** Contenido de vitamina C en frutos de *M. alba* L. (mg ácido ascórbico/100mL jugo).

**Figura 8.** Curva de calibración de ácido ascórbico para la cuantificación de la actividad antioxidante total de extractos etanólicos de frutos de siete variedades de *M. alba* L.

**Figura 9.** Actividad antioxidante total de extractos etanólicos de frutos de siete variedades de *M. alba* L.

**Figura 10.** Curva de calibración de ácido gálico para la determinación del contenido de fenoles totales.

**Figura 11.** Contenidos de fenoles totales en los extractos etanólicos de frutos de siete variedades de *M. alba* L.

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Reactivos y control positivo correspondiente a cada grupo de compuestos para la caracterización fitoquímica de los extractos de frutos de *M. alba* L.

**Tabla 2.** Diferencias entre el peso, largo, ancho y número de semillas/fruto de siete variedades de *M. alba* L.

**Tabla 3.** Comportamiento del pH en frutos de siete variedades de *M. alba* L.

**Tabla 4.** Contenido de ácidos orgánicos expresados en g/100g en frutos de siete variedades de *M. alba* L.

**Tabla 5.** Contenido de Sólidos solubles totales (SST) e Índice de Madurez (IM) en frutos de siete variedades de *M. alba* L.

**Tabla 6.** Porcentaje de materia seca (MS), humedad (H) y fibra bruta (FB) en frutos de siete variedades de *M. alba* L.

**Tabla 7.** Contenido de cenizas, Ca, Mg y P en frutos de siete variedades de *M. alba* L.

**Tabla 8.** Factores de retención (Rf) de los principales núcleos fitoquímicos detectados por cromatografía en capa delgada (CCD) de los extractos etanólicos de frutos de siete variedades de *M. alba* L.

**Tabla 9.** Matriz de correlaciones.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente la obtención de productos naturales constituye una fuente alternativa de sustancias bioactivas para la industria alimentaria y farmacológica, debido a su eficiencia y bajo costo. La planta de morera (*Morus alba* L.) es usada en la medicina tradicional China desde tiempos inmemoriales dada su composición química y propiedades medicinales. Esta especie pertenece al género *Morus*, familia Moraceae, es un árbol caducifolio de crecimiento rápido. Es originaria de Asia, pero se adapta a diferentes condiciones climáticas (Jiang y Nie, 2015). En la mayoría de los países asiáticos, se emplea en la sericultura para alimentar a los gusanos de seda (Zhao *et al.*, 2018). Los frutos de esta planta son consumidos como alimentos en diferentes formas y tienen una amplia aplicación en la industria cosmética.

Según lo reportado en la literatura, los frutos de *M. alba* L. presentan metabolitos secundarios y contienen nutrientes esenciales (fibras, vitaminas y minerales) que aumentan su valor nutricional y estimulan su uso en dietas balanceadas (Gündeşli *et al.*, 2019). Dentro de los metabolitos secundarios, los compuestos fenólicos, constituyen el grupo más ampliamente utilizado en la medicina natural (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015) y se destacan las antocianinas, responsables de su color (Rodrigues *et al.*, 2019). Se ha demostrado que el elevado contenido y diversidad de compuestos fenólicos está altamente correlacionado con la capacidad antioxidante (Khalifa *et al.*, 2018; Kobus-Cisowska *et al.*, 2020). La presencia de estos compuestos atribuye a los frutos propiedades como: antidiabéticas (Nanasombat *et al.*, 2019); efecto hipolipidémico (Sirikanchanarod *et al.*, 2016); para prevenir la obesidad (Peng *et al.*, 2011); efecto antitumoral (Huang *et al.*, 2011); de protección contra el daño cerebral (Kang *et al.*, 2006) y efectos

hepatoprotectores (Li *et al.*, 2016) entre otras de gran importancia en la salud y nutrición animal y humana.

En Cuba, según Peña-Borrego *et al.* (2019), diversas son las investigaciones sobre el empleo de *M. alba* L. en la ganadería, donde son promisorios los resultados agronómicos de esta especie (Martín *et al.*, 2000; Noda *et al.*, 2007; Pentón-Fernández *et al.*, 2016). También se ha demostrado sus beneficios en la producción de leche, el control parasitario, la reducción de la producción de metano y otros aspectos relacionados con la nutrición de los rumiantes. En la agricultura, los estudios realizados en la ganadería ovina, la porcicultura, cunicultura, avicultura, entre otros, demuestran el alto valor nutricional de *M. alba* L., como una opción en la alimentación de estas especies. Además, se han reportado evaluaciones de metabolitos secundarios en diferentes órganos de esta planta (hojas, tallos y raíces) (Díaz-Solares *et al.*, 2015; Sande *et al.*, 2016). Sin embargo, los estudios se han dirigido a los órganos de mayor biomasa y productividad, no así hacia los frutos.

Actualmente la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey (EPPFIH) en Cuba, cuenta con un banco de germoplasma con dos especies de moreras, *Morus nigra* L. y *M. alba* L., de la última existen 16 variedades (Indonesia, Tigreada, Acorazonada, Criolla, Cubana, IZ-40, IZ-64, IZ-15/7, IZ-13/6, IZ-56/4, Murcia, Universidad, Universidad Mejorada, Nueva, Yu-12 y Yu-62) obtenidas de países como Costa Rica, Etiopía, Corea del Sur, Japón, China, Brasil y España (Martín *et al.*, 2014). En el año 2013 se realizaron las primeras evaluaciones sobre la fructificación con el objetivo de obtener semillas. A partir del 2014 hasta la actualidad han fructificado entre seis y diez variedades en los meses de enero a abril de cada año, sin embargo, en la literatura consultada aún no existen reportes

para Cuba relacionados con la caracterización físico-química, la composición fitoquímica y el potencial antioxidante de los frutos.

**PROBLEMA CIENTÍFICO:**

En Cuba, se han realizado numerosos estudios sobre la utilización de diferentes partes de la planta en la especie *M. alba* L. Sin embargo, el fruto no ha sido incluido en las investigaciones a pesar de contar con alta presencia de metabolitos secundarios de importantes beneficios para la salud y la alimentación animal y humana.

**HIPÓTESIS DE TRABAJO:**

Si los frutos de *M. alba* L., presentan características físicas, químicas y actividades biológicas beneficiosas, entonces constituyen una alternativa natural de alto valor para la salud y la alimentación animal y humana, lo que permitiría un aprovechamiento integral de esta planta.

**OBJETIVO GENERAL:**

Determinar las propiedades físico-químicas, la composición fitoquímica, así como la actividad antioxidante de los extractos etanólicos de siete variedades de frutos de *M. alba* L.

**OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1. Determinar propiedades físicas y químicas de los frutos de siete variedades de *M. alba* L.
2. Caracterizar fitoquímicamente y cuantificar el contenido de antocianinas y vitamina C en siete variedades de frutos de *M. alba* L.
3. Evaluar la actividad antioxidante de extractos etanólicos de siete variedades de frutos de *M. alba* L.

## **CAPITULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **1.1 Características generales de la especie *M. alba* (Linn)**

#### **1.1.1 Ubicación taxonómica de *M. alba* L.**

*M. alba* L., es una especie perteneciente a la familia Moraceae, orden Urticales, subclase Dicotiledónea, clase Angiosperma y división Spermatophyta (Cifuentes y Kee Wook, 1998). Las plantas pertenecientes a esta familia pueden ser clasificadas en cuatro subfamilias, 55 géneros y alrededor de 950 especies. Dentro del género *Morus* existen 24 especies y al menos 100 variedades de subespecies conocidas (Ercisli y Orhan, 2007). Se destacan las variedades: mora blanca (*M. alba* L.), la mora negra (*Morus nigra* L.) y la mora roja (*Morus rubra* L.) como las más importantes (Gundogdu *et al.*, 2011). Sin embargo, ha sido engorroso lograr homogeneidad en la clasificación a nivel mundial de *M. alba* L., debido a que las especies y variedades de morera son llamadas con diferentes nombres locales, lo que no ayuda al ordenamiento taxonómico (Cappelozza, 2002).

#### **1.1.2 Origen, adaptación y distribución**

La morera es una especie originaria de Asia Central, que ha sido ampliamente introducida en todos los continentes como consecuencia de la industria de la seda. Se extiende por Asia, Europa, el norte y el este de África; y en América, se destaca su presencia en Estados Unidos, México, América Central, Colombia y Brasil. Las mayores extensiones cultivadas se encuentran en China, India y Brasil. El amplio rango de distribución permite que la planta presente una gran capacidad de adaptación a diversas condiciones climáticas, con un rango óptimo de temperatura entre 24 y 28°C y niveles de precipitaciones entre 600 y 2500 mm. Requiere de una humedad relativa de 65 a 80 % y un brillo solar alrededor de 9-13 horas/día y se

cultiva desde el nivel del mar hasta 4 000 m de altura, aunque crece mejor entre los 800 y 1500 msnm. Se adapta a diversos tipos de suelos, principalmente en aquellos que presentan mayor fertilidad, buen contenido de materia orgánica y crece muy bien, tanto en suelos porosos y profundos como en los de topografía plana, con pendientes inferiores al 40 %. Prefiere un pH entre 6,5 y 6,8, aunque es tolerante a la acidez y la salinidad. Sin embargo, la morera se puede encontrar en suelos muy pobres, calcáreos o silicios y salinos. Se puede adaptar a condiciones de secano, a ambientes desérticos y al efecto costero. La especie *M. alba* L. tiende a adaptarse por sí sola a las condiciones ambientales que se le impongan y su alta plasticidad la hace universal (Milera-Rodríguez, 2008)

### **1.1.3 Características botánicas de la especie**

Es una planta leñosa perenne, de porte bajo a medio, semi caducifolia en las condiciones de Cuba, de rápido crecimiento, monoica o dioica y con un sistema radicular profundo (Cifuentes y Sohn, 1998).

El árbol de morera puede alcanzar de 10 a 15 m de altura. Su tallo principal es de corteza gris clara y llega a medir 60 cm de diámetro. La copa del árbol es redondeada, amplia, con ramas principales largas y ramificadas (Ruiz de la Torre, 2006). Según Cifuentes y Sohn (1998), el sistema radical consiste de una raíz principal, raíces laterales y raíces fibrosas o absorbentes. El 66 % del sistema radical se ubica en los primeros 40 cm del suelo, el tronco, los tallos y las ramas de la morera tienen como principal función transportar el agua y los minerales hacia arriba y enviar hacia abajo los productos de la fotosíntesis y otros materiales orgánicos. Las hojas son glabras o glabrescentes, generalmente alternas, pecioladas, simples, íntegras, brillantes y estipuladas, con hasta cinco lóbulos. La mayoría de las flores de la morera son pequeñas, sésiles y forman un racimo

alrededor de un eje, el fruto es pequeño y verde al principio, pero gradualmente se torna negro violeta, lo que significa que ya están maduras las semillas. Las semillas de la morera son de color café con tonalidad amarilla y de forma carnosa u ovalada. Están compuestas por una cubierta, el embrión y el endospermo.

#### **1.1.4 Variedades de *M. alba* L. en Cuba**

La morera se introduce en Cuba en el período 1824-1948, para su utilización en la sericultura y desarrollo de los primeros ensayos en la isla. Los países donantes fueron Estados Unidos y México.

Actualmente la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey en Cuba, cuenta con un banco de germoplasma con 17 variedades, de ellas 16 de *M. alba* L. La Indonesia, Tigreada, Acorazonada, Criolla se introdujeron en 1994 procedentes de Costa Rica, la Cubana fue introducida de Etiopía y naturalizada en Cuba en el periodo 1980-1990. En el año 2000 se introdujeron de Brasil dos selecciones (IZ-40 e IZ-64) y tres híbridos (IZ-15/7, IZ-13/6 e IZ-56/4). En el 2011, se introdujeron de China otras variedades de la especie *M. alba* L. (Universidad, Universidad Mejorada, Nueva, Yu-12 y Yu-62) y en el año 2012, se introdujo de España la Murcia, variedades que habían sido estudiadas y recomendadas para la crianza del gusano de seda. Posteriormente, en el año 2016 se introduce una nueva especie, la *M. nigra* L., colectada en la provincia de Camagüey. De estas variedades, se ha comprobado que 10 de ellas, además de multiplicarse por propágulos, se reproducen por semillas.

#### **1.2 Frutos de *M. alba* L.**

Según Ruiz de la Torre (2006), los frutos de *M. alba* L. son de color blanco rosado y a veces carmín o negro, drupáceo, rodeado del perigonio que se hace carnoso

(figura 1). Las drupas que proceden de un mismo amento se aprietan, comprimen y forman la sorosis o mora. La mora es ovoidea, oblonga o subglobulosa, comestible y de sabor dulzón. Tiene un tamaño medio de 1,5 a 2,5 cm de longitud y 1 cm de anchura y de media puede tener entre 10 y 32 drupas, aunque puede ser superior en función de la especie (Barbour *et al.*, 2008). La dispersión de la semilla es por la avifauna y por los vertebrados frugívoros terrestres. Las semillas tienen un tamaño medio de 2,4 mm de longitud y 1,6 mm de anchura.



**Figura 1.** Fruto de *M. alba* L.

### 1.2.1 Período de fructificación

La etapa de fructificación de *M. alba* L. varía según la región y variedad. En España en la región de Murcia, la fructificación ocurre entre junio y agosto (Ruiz de la Torre, 2006), mientras que, en Puerto Real, Cádiz, en los meses de abril y mayo (Borrego-Corchado, 2018). En China en el mes de mayo (Bao *et al.*, 2016), en Himalaya de Pakistán, de mayo a junio (Abbasi *et al.*, 2014), en Estados Unidos de junio a agosto (Barbour *et al.*, 2008), en la India de mayo a julio (Bhatt *et al.*, 2016) y en dos provincias de Turquía (Antalya y Mersin), en el mes de mayo (Uslu *et al.*, 2017). En Cuba, la fructificación se concentra principalmente en los meses de enero a marzo, aunque en algunos sitios puede haber fructificaciones hasta el mes de junio. La recolección de los frutos se ejecuta de forma manual y la extracción y limpieza de

la semilla se realiza mediante despulpado, separación por flotación, secado y cribado.

### **1.3 Caracterización física-química de frutos de *M. alba* L.**

La caracterización físico-química permite analizar el valor nutricional y la calidad de frutas y hortalizas. Dentro de los parámetros de calidad se encuentran el tamaño (peso), forma (largo y ancho), pH, acidez total titulable (ATT), sólidos solubles totales (SST), índice de madurez (IM) y la composición proximal: materia seca (MS), humedad (H), cenizas, calcio (Ca), magnesio (Mg), fósforo (P) y fibra bruta (FB), entre otros. Cada uno de estos parámetros desempeña un papel importante en los alimentos y la nutrición animal. La composición química de los frutos varía de acuerdo con las condiciones del cultivo y de la especie (Zhang *et al.*, 2018).

Las especies *M. alba* L., *M. nigra* L. y *M. rubra* L. presentan frutos con un peso promedio entre 2,0 y 4,0 g. Entre las tres especies, *M. alba* L. presenta los valores más altos de pH (5,60) y sólidos solubles totales (20,4%), lo que proporciona un sabor más dulce (Ercisli y Orhan, 2007).

*M. alba* L. presenta ácidos orgánicos como málico, cítrico, tartárico, oxálico y fumárico. Se destacan el ácido cítrico y el málico como los principales componentes (Zhang *et al.*, 2018).

El contenido de lípidos en frutos es bajo en todas las especies. *M. alba* L. tiene los valores de lípidos más altos 1,1% (Ercisli y Orhan, 2007; Jiang y Nie, 2015). Sin embargo, el porcentaje de lípidos en las hojas de *M. alba* L. es superior 6,57%, seguido de *M. nigra* L. con 5,13% y en *M. rubra* L. de 4,24% (Iqbal *et al.*, 2012).

Con respecto al perfil de ácidos grasos, el orden de abundancia de estos en la fruta de morera es: ácidos grasos poliinsaturados, ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos saturados. Dentro de los ácidos grasos poliinsaturados, el ácido

linoleico, C18: 2, es el ácido graso dominante (43,4–61,9%) en todas las especies de morera, seguido de ácido palmítico C16: 0 (12,1–24,8%) y en menor contenido el ácido oleico C18: 1 (10,5–14,6%), que sólo se encuentra en *M. nigra* L. y *M. alba* L. (Ercisli y Orhan, 2007).

La presencia de estos ácidos grasos insaturados en las frutas posibilita su uso como alimentos esenciales, pues juegan un papel vital en la síntesis de la membrana celular, el funcionamiento normal del cerebro, secreción y producción de hormonas, regulación de la inmunidad, funciones y respuestas inflamatorias y modulación de presión sanguínea y debe obtenerse a partir de fuentes exógenas porque el organismo no pueden sintetizarla. El perfil de ácidos grasos puede verse afectado por variables que incluyen condiciones ambientales y factores genéticos (Liang *et al.*, 2012).

El contenido total de carbohidratos en frutos de *M. alba* L. oscila en el rango de 13,83-17,96 g/100 g de peso fresco y el poder calorífico, calculado sobre una base de peso seco, oscila entre 64,11 y 84,22 kcal/100 g, resultados que hacen que los frutos constituyan una fuente potencial de carbohidratos y por lo tanto de energía (Imran *et al.*, 2010).

Las cantidades de azúcares en los frutos de los diferentes cultivares y genotipos de morera varían según los factores genéticos, las prácticas de cultivo y las condiciones ambientales. La glucosa y fructosa se consideran los azúcares principales en frutos de *M. alba* L. (Gundogdu *et al.*, 2018). Estudios realizados en España por Sánchez-Salcedo *et al.* (2014) determinaron que en frutos de *M. alba* L., el contenido de glucosa osciló entre 4,22 y 5,37 g/100g y el de fructosa entre 6,53 y 8,55 g/100g en las frutas completamente maduras. En las condiciones climáticas de Pakistán, Mahmood *et al.* (2012) obtuvieron un contenido de glucosa

en frutos de morera de 3,21 g/100g y para la fructosa de 4,97 g/100g. Por otra parte, Eydurán *et al.* (2015) determinaron que el contenido de glucosa de todos los genotipos de *M. alba* L. y *M. nigra* L. fue mayor que el contenido de fructosa, con las concentraciones más altas de glucosa 9,44 g/100g y fructosa 7,70 g/100g, en *M. alba* L. Gecer *et al.* (2016) evaluaron frutos de *M. alba* L. y *M. nigra* L. y encontraron niveles más altos de fructosa (8,16 y 7,69) g/100g y glucosa (9,55 y 8,31) g/100g, respectivamente. Gundogdu *et al.* (2017) determinaron que la glucosa fue el azúcar más abundante en los frutos de los diferentes cultivares y genotipos de morera (*Morus spp.*) en Malatya, Turquía, seguido de la fructosa y la sacarosa.

### **1.3.1 Importancia de la madurez del fruto**

Durante la maduración ocurren procesos de desarrollo y cambios en la fruta que provocan una serie de evoluciones en sus características físico-químicas, color, sabor y textura. Estos cambios en la composición de la fruta permiten definir distintos estados o etapas de madurez. Las frutas no maduras suelen ser de textura dura y sabor ácido, mientras que, después de la maduración, se vuelven blandas, dulces y altamente aromáticas, por lo que son más aceptables para los consumidores, pero tienen como inconveniente que son más propensas a presentar hematomas durante el almacenamiento y la distribución debido a sus características perecederas (Lee y Hwang, 2017).

La mayoría de las investigaciones sobre las propiedades físico-químicas de las frutas de morera han sido principalmente estudios en frutos maduros y en menor cuantía se han realizado algunos estudios con respecto a los frutos de morera inmaduros o los cambios fisicoquímicos de frutos en diferentes etapas de madurez (Mahmood *et al.*, 2017). La información disponible sobre los cambios durante las etapas de madurez se refiere a azúcares y ácidos orgánicos, componentes básicos

del equilibrio de sabor entre dulce y agrio. Con el incremento del Índice de madurez ocurre una disminución en el contenido de ácidos orgánicos y un aumento del contenido de azúcar en la fruta de morera, lo cual aumenta la calidad organoléptica del fruto (Lee y Hwang, 2017).

#### **1.4 Composición proximal de frutos de *M. alba* L.**

Los frutos de morera son considerados fuentes de nutrientes esenciales como fibras, vitaminas y minerales y presentan un alto contenido de agua (aproximadamente 80%), lo que hace aumentar su valor nutricional y estimular su uso en dietas balanceadas (Imran *et al.*, 2010). En relación al contenido de proteína, los frutos de la especie *M. alba* L. tienen los valores más altos entre 10,15 y 13,33%, con respecto a las otras especies, lo que representa una buena fuente de proteína vegetal capaz de contribuir con la dosis diaria recomendada (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015). Los frutos también presentan cantidades considerables de minerales como N, P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Mn y Zn (Ercisli y Orhan, 2007; Jiang y Nie, 2015; Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015), con mayor abundancia potasio, seguido de calcio y fósforo.

Con el aumento de la maduración de los frutos, el contenido de ceniza y fibra bruta disminuyen significativamente, varían de 8,3 a 4,3 y de 41,0 a 12,7 g /100 g de peso seco, respectivamente (Lee y Hwang, 2017). La fibra bruta es un componente importante de la pared celular de las plantas y constituye un elemento estructural. Esta fracción está integrada por celulosa, hemicelulosa, lignina y una serie de componentes menores ligados a ella, también digestibles (sílice, cutina y nitrógeno ligado entre otras).

## **1.5 Compuestos de interés biológico en frutos de *M. alba* L.**

Dentro de los compuestos de interés biológico en los frutos de *M. alba* L. se encuentran las sustancias antioxidantes y los compuestos fenólicos.

### **1.5.1 Sustancias antioxidantes**

Durante el metabolismo celular, constantemente ocurren procesos de oxidación-reducción, es decir, una especie se oxida con la correspondiente pérdida de electrones, al mismo tiempo que otra especie se reduce, con la aceptación de electrones. Como consecuencia de este proceso se generan lo que se conoce como radicales libres, especies químicas que se caracterizan por poseer uno o más electrones desapareados, es decir, moléculas muy inestables y con una gran tendencia a reaccionar y ceder electrones. La formación de radicales libres es un proceso natural que representa un problema para la salud cuando el organismo no es capaz de neutralizarlos. Los radicales libres más comunes son los relacionados con el oxígeno, como el anión superóxido ( $O_2^-$ ) o el radical hidroxilo (OH), conocidos como especies reactivas del oxígeno (ROS) y los relacionados con el nitrógeno, como el óxido de nitrógeno (NO), conocidos como especies reactivas del nitrógeno (Phaniendra *et al.*, 2015). El desequilibrio entre la formación de radicales libres y la capacidad del organismo para neutralizarlos se conoce como estrés oxidativo, el cual se relaciona con importantes patologías como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes, Alzheimer o Parkinson. Para evitar esto, se hace necesaria la intervención de las sustancias antioxidantes, pues son las que permiten la eliminación de esas especies reactivas que inducen a la aparición del estrés oxidativo. La naturaleza de estos compuestos es muy diversa, se clasifican en antioxidantes de origen endógeno o exógeno, en función de la capacidad de ser

producidos o no tanto por el ser humano como por el animal y en función de su valor nutritivo para el organismo (Ighodaro y Akinloye, 2018).

Los antioxidantes endógenos no enzimáticos actúan en la segunda línea de defensa por su función captadora de radicales libres como las vitaminas E y C,  $\beta$ -carotenos, ácido úrico, ácido lipoico y la bilirrubina entre otros. Por otro lado, existe una gran cantidad de compuestos con función antioxidante que son producidos por especies vegetales e incorporados al organismo a través de la dieta y son denominados antioxidantes exógenos. Sin embargo, muchos de estos compuestos de la dieta, aunque tienen actividad antioxidante no son considerados nutrientes. Entre ellos se encuentran los compuestos fenólicos, los cuales son resultado del metabolismo secundario de las plantas. También pueden encontrarse una gran diversidad de antioxidantes sintéticos de gran importancia para la industria alimentaria, ya que son empleados para la conservación de alimentos fundamentalmente (Carocho *et al.*, 2018).

#### **1.5.1.1 Vitamina C**

Las vitaminas son compuestos orgánicos que no pueden ser sintetizados por el organismo y son necesarios para el metabolismo. La vitamina C (ácido L-ascórbico) es un compuesto hidrosoluble, presente en muchas frutas y vegetales con una apreciable actividad antioxidante de forma directa a través de la captación de las especies reactivas del oxígeno (Mittler, 2017). Se requiere un continuo consumo del ácido ascórbico, dado que tanto el ácido ascórbico como el ácido deshidroascórbico se mantienen en continua degradación. Por otra parte, grandes dosis de ácido ascórbico pueden generar efectos pro-oxidantes en presencia de oxígeno o a través de reacciones con metales, debido a la formación de peróxido de hidrógeno (Fenech *et al.*, 2018).

La estabilidad de la vitamina C o ácido ascórbico es afectada por la luz, el oxígeno, la actividad de agua, la temperatura, el pH, el azúcar, las enzimas, los catalizadores metálicos, la concentración inicial del ácido y la relación ácido ascórbico – ácido deshidroascórbico. Estos aspectos la convierten en una vitamina inestable y lábil, por lo que algunos investigadores han propuesto usar su contenido residual en los alimentos como un índice de retención de nutrientes (Fenech *et al.*, 2018).

En *M. alba* L., se han reportado altas cantidades de ácido ascórbico, en la fruta fresca y otras vitaminas, como tiamina, riboflavina, niacina, ácido fólico, vitamina A, vitamina B-6, vitamina E y vitamina K (Zhang *et al.*, 2018).

#### **1.5.1.2 Fitoquímicos**

Los fitoquímicos son un grupo variado de metabolitos secundarios de origen vegetal, los cuales se encuentran con facilidad en frutas, semillas y vegetales en general. Según sus estructuras químicas los metabolitos secundarios pueden ser divididos en tres grupos: terpenos (saponinas, fitoesteroides y glucósidos cardiotónicos), compuestos fenólicos (fenoles simples, cumarinas, ácidos fenólicos, quinonas, flavonoides y taninos) y compuestos que contienen nitrógeno (alcaloides y fitoestrógenos) (Buchanan *et al.*, 2015). Normalmente su función es proteger a la planta frente a situaciones de estrés, tanto biótico como abiótico. Esta actividad protectora ha inducido al estudio de los beneficios de su consumo para la salud (Wang *et al.*, 2016).

Diversos estudios han revelado la presencia de alcaloides en frutos de *M. alba* L. Kusano *et al.*, 2002 aislaron cinco nuevos alcaloides del nortropano (2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihydroxinortropano, 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihydroxinortropano, 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -6exo-trihydroxinortropano, 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ 4 $\alpha$  trihydroxinortropano, 3 $\beta$ -6exo-dihydroxinortropano), junto con nor- $\Psi$ -tropina en frutos de morera madurados en Turquía. Por otra parte, Kim *et al.* (2013)

identificaron cinco alcaloides de pirrol en frutos de morera basados en datos espectroscópicos y aislaron 11 alcaloides de pirrol en frutos de esta especie en Corea. En este estudio los autores sugirieron que los alcaloides de pirrol constituyen componentes activos de frutos de *M. alba* L. para la actividad estimuladora en los macrófagos. Por otro lado, Lee *et al.* (2016), identificaron 48 compuestos, incluidos los terpenos, en el estudio sobre los perfiles metabólicos de frutos de *M. alba* L. de la República de Corea, en diversas etapas de maduración, mediante cromatografía gaseosa y cromatografía líquida de alta resolución. La información obtenida en este estudio proporcionó una base para futuras investigaciones hacia el control de calidad o la ingeniería metabólica, para el desarrollo de frutos de morera que posean características comerciales.

### **1.5.2 Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos son compuestos orgánicos que contienen un anillo aromático y al menos un grupo fenol en su estructura molecular. En el caso de poseer más de uno, se conocen como polifenoles. Estos compuestos antioxidantes donan un electrón al radical libre y lo convierten en una molécula inocua, capaz de evitar el estrés oxidativo, responsable de enfermedades como el cáncer, la esclerosis múltiple o la enfermedad de Parkinson. Se trata de metabolitos secundarios de las plantas, biosintetizados durante el desarrollo natural de la misma, aunque también pueden ser sintetizados en respuesta a diferentes situaciones de estrés, como la radiación ultravioleta. Es decir, forman parte de aquellos compuestos sintetizados por las plantas que, aunque no están implicados en funciones vitales, sí juegan un papel fundamental en funciones de tipo defensivo, en la interacción entre plantas y animales (Jin *et al.*, 2017).

Los polifenoles representan una gran familia y se clasifican por sus características estructurales como flavonoides (antocianinas, flavonoides o catequinas, flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonoides), ácidos fenólicos, estilbenos, taninos y lignanos. La concentración en polifenoles de cualquier alimento es muy variable, ya que depende de muchos factores, tales como la variedad o el grado de maduración del vegetal. Los informados en los frutos de morera y sus funcionalidades correspondientes varían considerablemente según los cultivares, el clima, las prácticas agrícolas y las condiciones de procesamiento (Yuan *et al.*, 2017).

Los principales compuestos fenólicos encontrados en especies de morera son: ácido p-cumárico, ácido clorogénico y ácido p-hidroxibenzoico (Ercisli y Orhan, 2007 y Espada-Bellido *et al.*, 2017) y los flavonoides (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015). Dentro de los flavonoides, las antocianinas constituyen un componente importante en los frutos de morera (Rodrigues *et al.*, 2019).

#### **1.5.2.1 Antocianinas**

Son un grupo de compuestos fenólicos naturales, responsables del atributo del color en frutas y vegetales y se encuentran acumulados en las vacuolas de la célula. Desde el punto de vista químico, están formadas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona de la antocianina, unida a algún azúcar (como puede ser la glucosa o la galactosa) mediante un enlace glucosídico (Smeriglio y Trombetta, 2016).

Las antocianinas poseen diferentes funciones en la planta. Participan en la atracción de polinizadores para la posterior dispersión de semillas y la protección de la planta contra los efectos de la radiación ultravioleta y contra la contaminación viral y microbiana (Hussain *et al.*, 2017; Yan *et al.*, 2020).

El interés por los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente, debido no solamente al color que confieren a los productos que las contienen, sino a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas tales como, efectos antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos, la inhibición de la oxidación de lipoproteínas o la mejora de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo (Matsukawa *et al.*, 2015; You *et al.*, 2015; Nusrat *et al.*, 2018). No obstante, factores como su baja estabilidad y la falta de disponibilidad de material vegetal limitan su aplicación comercial (You *et al.*, 2015).

La fruta de *M. alba* L. es rica en antocianinas, uno de los compuestos antioxidantes más importantes en el reino vegetal y que se puede considerar como una fuente potencial para la producción de colorante rojo natural (Yan *et al.*, 2020). La cianidina-3-glucósido y la cianidina-3-rutinósido fueron las antocianinas principales encontradas por Natić *et al.* (2015) en frutos de *M. alba* L. del Norte de Serbia, las que representaron más del 90% de su contenido total. Otros estudios realizados por Chen *et al.* (2016a) informaron que las principales antocianinas identificadas en los frutos de *M. alba* L. fueron cianidina-3-O-glucósido, cianidina-3-O-rutinósido, pelargonidina-3-O-glucósido y pelargonidina-3-O-rutinósido.

### **1.6 Uso de los frutos de *M. alba* L.**

En varios países como China, India, Turquía y Grecia, entre otros, *M. alba* L. y otras moreras se cultivan para la producción de frutas que tienen cierta aplicación en algunos alimentos tradicionales. Las frutas de morera no solo se consumen en formas frescas y congeladas sino también como productos procesados: jugos, mermeladas, gelatinas, jarabes, bebidas, colorantes naturales, aditivo para embutidos o frutas secas (Ercisli y Orhan, 2007; Gundogdu *et al.*, 2011; Tongmai *et al.*, 2019; Xiang *et al.*, 2019). Además, los frutos de morera inmaduros y maduros

se usan como medicamentos tradicionales para tónicos e inmunoestimulantes. Se usan además para tratar la debilidad, los mareos, el tinnitus, la fatiga, la anemia, la incontinencia, el envejecimiento prematuro del cabello y estreñimiento en pacientes ancianos (Pham *et al.*, 2017).

Varios estudios han demostrado que además de estos usos, los frutos de morera presentan otras propiedades como: antidiabéticas (Xu *et al.*, 2015; Yan *et al.*, 2016; Jiao *et al.*, 2017); efecto hipolipidémico (Yang *et al.*, 2010; Sirikanchanarod *et al.*, 2016); para prevenir la obesidad (Peng *et al.*, 2011); efecto antitumoral (Huang *et al.*, 2011); de protección contra el daño cerebral (Kang *et al.*, 2006) y efectos hepaprotectores (Li *et al.*, 2016) entre otras. Estas propiedades, tienen gran importancia en la salud humana y animal.

### **1.7 Importancia y papel de las actividades biológicas en la salud**

Los beneficios en la salud por el consumo de frutas son debidos principalmente a los compuestos bioactivos presentes en ellas (Rodrigues *et al.*, 2019; Gündeşli *et al.*, 2019). Los compuestos bioactivos son aquellos que ejercen una función beneficiosa para el organismo y los más importantes en las frutas son los que poseen una función antioxidante.

#### **1.7.1 Efecto sobre la diabetes mellitus**

La diabetes mellitus en general es un síndrome caracterizado por un alto nivel de azúcar en la sangre y un metabolismo alterado de la insulina. Las complicaciones secundarias a través de la diabetes mellitus incluyen: formación de radicales libres y productos finales glucosilados no enzimáticos, situación responsable del estrés oxidativo y complicaciones vasculares (Kadam *et al.*, 2019). El efecto de la actividad antidiabética de la morera, *M. alba* L. se debe a la presencia del compuesto: 1-

desoxinojirimicina (DNJ). Se ha demostrado que, la 1-desoxinojirimicina (DNJ) inhibe las  $\alpha$ -glucosidasas intestinales, lo que da como resultado una reducción de la glucosa en sangre Rodríguez-Sánchez *et al.* (2011).

Sarikaphuti *et al.* (2013) evaluaron que las antocianinas de los frutos de *M. alba* L. en diferentes concentraciones tuvieron efectos positivos en el estudio realizado con ratas Zucker. Encontraron que concentraciones entre 125-250 mg/kg, no sólo evitaron la progresiva disminución de la secreción de insulina a través de la protección de las células  $\beta$ , sino que también redujeron los niveles de glucosa en sangre en estos animales.

Otro mecanismo de los efectos hipoglucemiantes de polifenoles de morera, relacionados con su acción anti- $\alpha$ -glucosidasa, fueron informados por Chen *et al.* (2016a). Por otra parte, Jiao *et al.* (2017), observaron los efectos de los extractos etanólicos de polisacáridos extraídos de frutos de *M. alba* L. en ratas diabéticas durante siete semanas. Los animales tratados con los extractos mostraron una reducción de 31,9 y 47,5% de los niveles de glucosa en sangre en ayunas, en comparación con el grupo de diabetes control. Los extractos actuaron en el metabolismo de los lípidos de los animales, lo que provocó una reducción del colesterol total y los triglicéridos, un aumento en el colesterol HDL (lipoproteína de alta densidad), y la mejora de la función hepática mediante la reducción de alanina transaminasa sérica. Choi *et al.* (2016) también observaron una disminución del nivel de glucosa en sangre en ayunas y un aumento de la sensibilidad a la insulina en ratas diabéticas que recibieron extracto metanólico de frutos de *M. alba* L. por más de seis semanas. Estos resultados se atribuyen a la presencia de compuestos fitoquímicos, principalmente antocianinas, que tienen el potencial de disminuir la

glucemia en sangre e inhibir el desarrollo de las complicaciones que se asocian con la diabetes.

### **1.7.2 Prevención de enfermedades cardiovasculares**

Los frutos de *M. alba* L. han sido ampliamente utilizados para prevenir y tratar los síntomas asociados con la enfermedad cardiovascular durante más de un milenio en los países orientales. La administración del liofilizado de frutos de *M. alba* L. a las ratas provocó una disminución significativa en los triglicéridos séricos y hepáticos, colesterol total, lipoproteínas de baja densidad (LDL) en suero y una disminución en el índice aterogénico. También se observó un aumento en el nivel de lipoproteína de alta densidad (HDL) en suero, el corpúsculo de sangre roja (RBC), el nivel de superóxido dismutasa hepática (SOD) y el nivel de glutatión peroxidasa en sangre. El contenido de ácido tiobarbitúrico en suero e hígado se redujo, lo que indica el bajo nivel de peroxidación lipídica (Yang *et al.*, 2010).

### **1.7.3 Efectos contra el cáncer**

El cáncer es un grave problema de salud pública en todo el mundo. La mayoría de los compuestos naturales se dirigen a las vías inflamatorias y la modulación inmune para la prevención y el tratamiento del cáncer. Los frutos de *M. alba* L. también contienen varios compuestos anticancerígenos (Khan *et al.*, 2020). Naowaratwattana *et al.* (2010) informaron que los compuestos fenólicos de frutos de *M. alba* L. inducen actividad anticancerígena *in vitro* en células de hepatoma mediante la detención del ciclo celular en la fase G2-M y la inhibición de la actividad de topoisomerasa II.

Otros estudios han revelado que la cianidina-3-rutinósido y la cianidina-3-glucósido, antocianinas presentes en frutos de morera, inhiben la invasión y la migración de las células A549 del cáncer de pulmón humano (Chen *et al.*, 2006).

Por otro lado, se ha reportado que el osajin, que es una isoflavona prenilada aislada del fruto de *M. alba* L. ejerce múltiples efectos, como la pérdida del potencial transmembrana mitocondrial, la liberación de citocromo C, la expresión del ligando Fas, la supresión de la proteína 78 regulada por glucosa y la activación de varias proteínas en células de carcinoma nasofaríngeo humano (Huang *et al.*, 2011).

#### **1.7.4 Efectos antiinflamatorios**

La inflamación es un mecanismo de defensa inmune y en este proceso, se libera una variedad de mediadores químicos del tejido dañado, que incluye los aminoácidos, iones de hidrógeno, péptidos, lípidos, y citoquinas. Las citoquinas pro-inflamatorias dañan los tejidos, causan enrojecimiento, calor, hinchazón y dolor, que son los signos clínicos clásicos de la inflamación (Chen *et al.*, 2016b).

Las diferentes partes de la planta de morera tiene una larga historia en la medicina tradicional como agente antiinflamatorio. Padilha *et al.* (2010) reportaron que los extractos de hojas de morera, *M. nigra* L. y extractos de frutos de *M. alba* L. fueron capaces de reducir el edema de la pata, inducido por carragenina, así como el crecimiento de tejido fibrovascular, inducida por la implantación de pellets de algodón en modelos de animales, lo que indican su propiedad antiinflamatoria.

Por otra parte, Chen *et al.* (2019) demostraron efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios, así como los efectos anti-nociceptivos de extractos de frutas de *M. nigra* L., *M. mongolica*, y *M. alba* L. La actividad anti-nociceptiva se encontró en ratones del linaje Kunming. La antocianina cianidina -3-O-glucósido y los flavonoides rutina e isoquercetina, presentes sobre todo en *M. nigra* L., fueron los

principales constituyentes activos en el proceso de anti-nociceptivo. Ellos contribuyeron a la reducción significativa de los niveles de la citoquina inflamatoria IL-6 niveles, la inhibición de la síntesis de iNOS, y aumento de la expresión de la citoquina antiinflamatoria IL-10. Estos biomarcadores inflamatorios están asociados con dolor.

En el estudio realizado por Eo *et al.* (2015), demostraron que la aplicación de los extractos de hojas y fruta de *M. alba* L. en animales obesos después de 12 semanas de tratamiento, contribuyeron en la normalización de la proteína inflamatoria NLRP3 durante las primeras etapas de la curación y posibilitaron una curación acelerada en comparación con los animales que no fueron tratados. Estos resultados sugieren que los extractos de diferentes partes de la especie *M. alba* L. muestran una reducción en los marcadores de inflamación en diferentes partes del organismo (Rodrigues *et al.*, 2019).

### **1.7.5 Prevención de trastornos neurológicos**

La neurotoxicidad en la enfermedad de Alzheimer está asociada con la acumulación de beta-péptidos amiloides que se forman como una placa en el cerebro. Varios estudios han demostrado los efectos beneficiosos de la morera en la inducción de un sistema de defensa antioxidante y la mejora del deterioro de la memoria en animales que envejecen. Shih *et al.* (2010), estudiaron el efecto neuroprotector de la fracción de cianidina-3-glucósido de frutos de *M. alba* L. en la privación de oxígeno y la muerte celular inducida por glutamato en neuronas corticales primarias de ratas. La cianidina no proporcionó un efecto protector contra la muerte celular inducida por glutamato, pero proporcionó protección contra la muerte celular privada de oxígeno al mantener el potencial de membrana mitocondrial.

Por otra parte, otros estudios en modelos de ratón, con lesión cerebral, Kang *et al.*, (2006), informaron la actividad de la cianidina-3-O- $\beta$ -d-glucopiranosido presente en las frutas de *M. alba* L. contra la toxicidad inducida por el peróxido de hidrógeno en las células PC12 y el daño isquémico cerebral. Los efectos neuroprotectores se asociaron a la inhibición de la infiltración de leucocitos polimorfonucleares en el tejido isquémico focal cerebral. Se observaron efectos similares cuando las antocianinas de morera mejoraron los síntomas iniciales de la enfermedad de Parkinson en estudio realizado por Gu *et al.* (2017) en modelos de animales.

#### **1.7.6 Actividad hepatoprotectora**

La prevención de la fibrosis hepática es un tema importante. Los extractos acuosos de morera disminuyeron la peroxidación lipídica e inhibieron la expresión génica proinflamatoria, lo que demuestra sus efectos protectores y curativos contra el daño hepático inducido por tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) y la fibrosis (Hsu *et al.*, 2012). Los hallazgos recientes confirmaron los efectos de la hepatoprotección de las antocianinas de morera, especialmente cianidina-3-glucósido y cianidina-3-rutinósido. Los mecanismos de estos efectos pueden estar relacionados con su actividad antioxidante (Ghasemnezhad *et al.*, 2017). Estudios anteriores también indicaron que los flavonoides de morera, especialmente la quercetina-3-O-glucósido, mostraron fuertes actividades antiinflamatorias mediante la regulación de la expresión de genes relacionados con la inflamación como iNOS y COX2, y la desactivación de NF- $\kappa$ B. Además de estos efectos, los extractos de morera también mostraron actividades antibacterianas (Minhas *et al.*, 2016).

### 1.7.7 Efectos hipolipidémicos y anti-obesidad

La obesidad es uno de los mayores problemas de salud pública en el mundo y las opciones de tratamiento son muy limitadas debido a los efectos secundarios asociados con las terapias convencionales. Los niveles elevados de triglicéridos, peso corporal, ácidos grasos libres, colesterol de lipoproteínas de baja densidad son factores de riesgo de enfermedades crónicas relacionadas con la obesidad. La actividad anti-obesidad de los frutos de morera se ha evaluado tanto en modelos celulares como en animales a través de diferentes mecanismos y varios estudios han demostrado, además, las propiedades hipolipidémicas de los extractos de frutos de *M. alba* L. Du *et al.* (2008), confirmaron que el extracto acuoso de frutos de morera (0,5–1,0%) redujeron los niveles de triglicéridos, colesterol y colesterol de lipoproteínas de baja densidad en el suero y la aterosclerosis en la aorta (42–63%) en conejos blancos neozelandeses con una dieta alta en colesterol. Por otra parte, Peng *et al.* (2011), demostraron que, tras la alimentación durante seis semanas con extractos ricos en polifenoles de morera, a ratones machos envejecidos que tenían una dieta alta en grasas, se logró una disminución del peso corporal y los ácidos grasos libres. Similares resultados obtuvieron Yang *et al.* (2010) al administrar frutos de morera liofilizada (5 y 10%) en modelo de ratas, donde no solo redujo el contenido de colesterol total y triglicéridos en el suero y el hígado, sino que también aumentó la actividad enzimática antioxidante y reprimió el desarrollo de la aterosclerosis en hiperlipidémicos.

Otros estudios han demostrado que, los extractos de frutos de *M. alba* L. ricos en antocianinas tuvo un efecto positivo en la prevención de la obesidad. Wu *et al.* (2013), informaron que la cianidina y la pelargonidina, presentes en los frutos controlaron varios indicadores en ratones machos obesos C57BL con dieta alta en

grasas. En este mecanismo contra la obesidad, la antocianina de los frutos de morera mejoró la función mitocondrial a través de la ruta p38-AMPKPGC1 $\alpha$  (You *et al.*, 2015), incrementa la expresión de genes termogénicos como UCP1, PGC1 $\alpha$  y PRDM16 y los niveles de proteína en la membrana mitocondrial de los adipocitos marrones durante la adipogénesis.

Yimam *et al.* (2017), evaluaron el efecto beneficioso de una composición estandarizada (UP603) compuesta de extractos de *M. alba* L., *Ilex paraguariensis* y *Rosmarinus officinalis* en ratones C57BL/6J, obesos inducidos por la dieta. Se observó que los animales tratados con UP603 mostraron una disminución en el aumento de peso corporal, reducciones de 65,5% y 16,4% en insulina y leptina, respectivamente, y un aumento de 2,1 veces en el nivel de grelina. Además, hubo reducciones de 7,9–21,1% en colesterol total, 25,4–44,6% en triglicéridos y 22,5–38,2% en colesterol de lipoproteínas de baja densidad en ratones tratados con 450–850 mg/kg de UP603.

### **1.7.8 Prevención de trastornos gastrointestinales**

Los beneficios para la salud de frutos de morera incluyen su capacidad para mejorar la digestión y mejorar el metabolismo general del cuerpo. Los frutos están llenos de nutrientes importantes, incluyendo el hierro, riboflavina, vitamina C, vitamina K, potasio, fósforo y calcio. También contienen una amplia gama de compuestos orgánicos, incluyendo fitonutrientes, zeaxantina, resveratrol, antocianinas, luteína, y diversos compuestos polifenólicos. Al igual que la mayoría de frutas y verduras, contienen alta cantidad de fibra dietética, lo que contribuye a mejorar la digestión, acelera el movimiento del alimento a través del tracto digestivo, ayuda a reducir los casos de estreñimiento, hinchazón y calambres. Además, la fibra contribuye a

regular los niveles de colesterol y puede mejorar la salud del corazón cuando se añade regularmente a la dieta (Kadam *et al.*, 2019).

### **1.7.9 Actividad antioxidante**

Varios estudios sobre la evaluación de la capacidad antioxidante en frutos han revelado aspectos interesantes en relación al comportamiento de los constituyentes antioxidantes (Patel *et al.*, 2019). Existen diversos métodos *in vitro* de evaluación de la capacidad antioxidante que determinan la eficiencia de los antioxidantes naturales, en relación a la protección de productos vegetales contra el daño oxidativo y pérdida de su valor comercial y nutricional. Estas metodologías pueden estar basadas en una reacción química o en el daño celular. Los ensayos químicos evalúan la captación de radicales libres por los compuestos antioxidantes, su capacidad de reducir iones metálicos como el hierro y el cobre, habilidad para proteger moléculas expuestas a fuentes de radicales libres y la capacidad de los antioxidantes para inhibir la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (López-Alarcón y Denicola, 2013).

Mediante ensayos químicos *in vitro* Natić *et al.* (2015), evaluaron que la actividad antioxidante de frutas de morera congeladas fue de 50,18–86,79%, 0,21–8,15%, 0,03–38,45  $\mu\text{M}$  de ácido ascórbico y 16,53–62,83% mediante el uso de los métodos de eliminación del radical anión superóxido (SAS), ensayo del radical 2,2 difenil-1-picrilhidracil (DPPH<sup>\*</sup>); método de habilidad de quelación metales (MCA) y ensayo del poder reductor (PR), respectivamente. En ensayos celulares, Bao *et al.* (2016), utilizaron células Hep G2 inducidas por peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y otros modelos de imitación redox intracelulares, para medir la actividad antioxidante celular de las frutas de morera. Por otra parte, se ha reportado por Yang *et al.* (2010) que el extracto de frutos de morera cruda empleado para determinar la actividad

antioxidante *in vivo* en ratas Wistar macho, inhibió efectivamente la producción de especies reactivas del oxígeno celular en un 93%.

La presencia en frutas de morera de ácidos fenólicos y flavonoles proporcionan efectos positivos sobre la salud. La acción de estos compuestos está asociada a la prevención o disminución de diversas enfermedades asociadas con el estrés oxidativo (Zhang *et al.*, 2018).

## **CAPITULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 Localización**

El estudio se realizó con frutos de siete variedades de *M. alba* L. Yu-12, Yu-62, Universidad, Acorazonada, Cubana, Nueva y Universidad Mejorada. Las muestras de frutos fueron recolectadas del banco de germoplasma de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey, la cual se encuentra situada a los 22° 48' y 7" de latitud Norte y 79° 32' y 2" de longitud Oeste, a 19 msnm, en el municipio de Perico, provincia de Matanzas, Cuba. Todos los experimentos se llevaron a cabo en los laboratorios de dicha institución.

### **2.2 Características del área de cultivo de *M. alba* L.**

Las variedades de morera fueron sembradas en diciembre del año 2012. El suelo se clasifica como Ferralítico Rojo Lixiviado (Hernández *et al.*, 2015). La topografía es llana, con pendiente de 0,5 % a 1,0 % y la profundidad promedio hasta la roca caliza es de 1,50 m.

En el momento de recogida de las muestras de fruto contaban con cuatro años de plantadas a una densidad de siembra de 0,60 x 1,30 m. El área mantuvo riego antes y después de la siembra por medio de un sistema por aspersión. Desde el momento de la siembra hasta la cosecha se monitoreó frecuentemente la aparición de plagas y enfermedades y la fertilización se realizó tres veces al año con fertilizantes basados en N, P y K a razón de 300, 120 y 300 kg/ha/año, respectivamente. No se realizó poda a las plantas durante la investigación.

### **2.3 Selección del material vegetal**

Para los ensayos se utilizaron frutos maduros de estas siete variedades. Se recolectaron de forma manual (1 kg) en las primeras horas de la mañana y se

seleccionaron al azar en plantas que no presentaban signos de enfermedades u otra afectación. Se guardaron en bolsas de polietileno e inmediatamente se trasladaron al laboratorio donde fueron lavados con agua destilada y secados sobre papel de filtro para eliminar el exceso de líquido. Se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  el material que no fue usado inmediatamente.

### **2.3.1 Preparación de los extractos**

Para realizar los extractos etanólicos, se realizaron tres extracciones sucesivas, para lo cual se pesaron 10 g de fruto fresco de cada variedad, se maceraron con 150 mL de solvente (etanol absoluto) y se incubaron a temperatura ambiente durante 24 horas con agitación manual de forma intermitente. Las mezclas etanólicas se filtraron al vacío y se mantuvieron en reposo, en la oscuridad, durante 24 h. Después de la tercera extracción, el filtrado final se concentró hasta sequedad en un rotoevaporador (modelo IKA®HB10 Basic) a una temperatura de  $60^{\circ}\text{C}$  y velocidad de agitación de 105 rpm. Los extractos obtenidos fueron almacenados a  $-4^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización.

## **2.4 Determinación de propiedades físicas y químicas de los frutos de morera**

### **2.4.1 Propiedades físicas**

Se tomaron al azar 20 frutos y se realizó la medición del peso, largo, ancho y número de semillas por fruto.

-Peso (g): Se determinó en balanza digital marca Sartorius.

-Longitud (cm): Se determinó mediante el empleo de una regla.

-Grosor (cm): Se determinó con un Pie de Rey tipo universal Starrett Serie 125.

-Número de semillas: Cada fruto se trituró de forma manual para obtener las semillas y posteriormente se efectuó el conteo.

### 2.4.2 Propiedades químicas

-Medición de pH por método potenciométrico: Se pesó 1g de fruto de cada variedad, se maceró por separado hasta trituración en mortero, se añadió 10 mL de H<sub>2</sub>O destilada y se agitó durante 10 minutos en el agitador orbital marca DAIKI KBLee 3001 a 100 rpm y temperatura ambiente. Se dejó en reposo durante 15 minutos y se midió pH en pHmetro PHSJ-3F.

-Determinación del índice de acidez o acidez total titulable (ATT): Se tomó 10 mL de jugo por fruto, se le añadió 40 mL de agua destilada y se le determinó el pH con un potenciómetro. La acidez titulable se determinó por titulación con NaOH 0,1N y como indicador 3 gotas de fenolftaleína, hasta obtener el valor de pH 8,2 (Normas COVENIN, 1981). Las mediciones se realizaron por triplicado. La acidez se expresó en g/100 g miliequivalentes del ácido de referencia: ácido cítrico, ácido oxálico y ácido málico.

-Sólidos solubles totales (SST): Gotas de jugo extraído del fruto de cada variedad se vertieron sobre un refractómetro de mano marca Abbe, previa calibración del equipo a 0°Brix con agua destilada a 30°C. Las mediciones se realizaron por triplicado y se expresaron como °Brix.

-Índice de madurez (IM): Corresponde a la relación entre SST/ATT (ácido cítrico).

-Determinación de la composición proximal. Se tomó una muestra homogénea de 300 g de frutos de cada variedad y se envió al Laboratorio de Análisis Químico de la EEPF Indio Hatuey para determinar su composición proximal: materia seca (MS), humedad (H), cenizas, calcio (Ca), magnesio (Mg), fósforo (P) y fibra bruta (FB) según las técnicas descritas por la AOAC (2000).

Para la determinación del peso de la muestra se utilizó una balanza analítica de la casa comercial Sartorius. Cada análisis se realizó por triplicado.

## 2.5 Caracterización fitoquímica y cuantificación del contenido de antocianinas y vitamina C

### 2.5.1 Caracterización fitoquímica por cromatografía en capa delgada (CCD)

Se realizó una caracterización fitoquímica por cromatografía en capa delgada (CCD) de los extractos etanólicos de los frutos de siete variedades de *M. alba* L. para la identificación de los principales núcleos fitoquímicos, mediante el protocolo de Wagner y Bladt (1996). Para ello se emplearon cromatoplasmas de sílica gel 60 F254 (5x4 cm). Los extractos se aplicaron 80 veces a una concentración de 1mg/mL y fueron eluidos con un sistema butanol-ácido acético-agua-isopropanol con una proporción (60:15:20:5), las placas se realizaron por triplicado. Los patrones y reveladores específicos de cada grupo se relacionan en la tabla 1.

Se calcularon los factores de retención para cada una de las bandas detectadas, mediante la siguiente ecuación:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida desde el punto de aplicación hasta el frente del solvente}}{\text{distancia del frente del solvente}}$$

**Tabla 1.** Reactivos y control positivo correspondiente a cada grupo de compuestos para la caracterización fitoquímica de los extractos de frutos de *M. alba* L.

Núcleos fitoquímicos	Reactivo y/o prueba	Control +
Esteroides, esteroides, terpenos y triterpenos	Lieberman-Buchard	Colesterol
Terpenos	Ácido fosfomolibdico (PMA)	
Flavonoides	(AlCl <sub>3</sub> )	Kaempferol
Saponinas	Anisaldehído-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Digitonina

### 2.5.2 Cuantificación de antocianinas totales (AT)

Se realizó por el método del pH diferencial descrito por Rapisarda *et al.* (2000) con algunas modificaciones. Se pesaron 10 g de muestra y se trituró en el mortero. Se

centrifugó durante 15 minutos a 5 000 rpm a una temperatura de 15 °C. Se tomaron dos alícuotas de dos mililitros del sobrenadante, una se diluyó en una disolución tampón de cloruro de potasio, 0,025 mol/L, pH 1,0, y la otra alícuota en disolución tampón ácido acético/acetato de sodio; 0,4 mol/L, pH 4,5, en un balón volumétrico de 50 mL. Después de 40 minutos de reacción se determinó la absorbancia a 510 y 700 nm en un espectrofotómetro (modelo Ray Leigh UV-2601). Todos los ensayos se realizaron por triplicado. El resultado se expresó como mg/100g de cianidina-3-glucósido.

La absorbancia final se calculó con la expresión:

$$\text{Abs} = [(A_{510} - A_{700}) \text{ pH } 1,0] - [(A_{510} - A_{700}) \text{ pH } 4,5]$$

y el CAT se halló sobre la base de la ecuación:

$$\text{AT (mg/ 100 g)} = \frac{(\text{Abs} * \text{PM} * \text{FD} * 1000)}{(\epsilon * L)}$$

Donde,

Abs: Absorbancia,

PM: Peso molecular (449,2 g/mol de cianidina 3- glucósido)

FD: Factor de dilución

$\epsilon$ : 29 600: Coeficiente de extinción molar en L/mol cm para cianidina 3- glucósido.

L: longitud del camino en cm

1000 = factor de conversión de gramo a miligramo.

### 2.5.3 Cuantificación de vitamina C (ácido ascórbico)

Se realizó por el método descrito por Ciancaglini *et al.* (2001), con algunas modificaciones. Los frutos se trituraron mecánicamente, se centrifugaron a 8 000 rpm durante 10 minutos a una temperatura de 20 °C y se filtró el sobrenadante. Se adicionó 1 mL del jugo filtrado en un Erlenmeyer de 250 mL, se adicionó 60 mL de

agua destilada, 1 mL de HCl al 15% y 1 mL de almidón al 1%. Se valoró con una solución de yodo al 25 mM previamente estandarizada, hasta obtener cambio de coloración (naranja-azul) persistente durante 30 segundos. Cada mililitro de yodo 25 mM gastado en la titulación equivale a 8,806 mg de ácido ascórbico. Cada muestra se realizó por triplicado, el resultado se expresó en mg de ácido ascórbico/100 mL de jugo de morera y se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$m \text{ Ácido ascórbico (mg/100 mL jugo)} = \frac{V(I_2) * 8,806 * N (I_2)}{V(muestra)} * 100$$

Donde:

V (I<sub>2</sub>): volumen consumido de la solución normalizada de yodo 25 mM (mL)

N (I<sub>2</sub>): concentración exacta de la solución normalizada de I<sub>2</sub> (Mol/L)

V (muestra): Volumen de la muestra (mL)

8,806 mg/mL: Cantidad de ácido ascórbico presente en 1mL de yodo.

## **2.6 Determinación de la actividad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de siete variedades de *M. alba* L. por diferentes métodos**

### **2.6.1 Determinación de la capacidad antioxidante total por el método de captura del radical fosfomolibdato (Capacidad antioxidante total)**

El ensayo está basado en la reducción de Mo(VI)-Mo(V) por los extractos y consecuentemente en la formación de un complejo verde fosfato/Mo(V) a pH ácido (Umamaheswari y Chatterjee, 2008). Se mezcló 0,1mL de cada muestra con 3 mL de la solución reactiva (ácido sulfúrico 0,6 M, fosfato de sodio 28 mM y molibdato de amonio 4 mM). Los tubos se incubaron a 95°C por 90 minutos. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y la absorbancia de la solución se midió a 695 nm contra un blanco en el espectrofotómetro T70 UV/VIS. Los resultados se expresaron como mmol de ácido ascórbico/g de extracto. Las pruebas se realizaron

por triplicado en cada experimento y los resultados se reportaron como la media  $\pm$  SD.

### **2.6.2 Determinación del contenido de fenoles totales**

La concentración de compuestos fenólicos en las muestras se midió de acuerdo al método de Folin-Ciocalteu (Ocampo *et al.*, 2014). Se mezclaron 0,5 mL de las muestras a diferentes concentraciones (entre 100 y 1100  $\mu\text{g/mL}$ ) con 2,58 mL del reactivo de fenol Folin-Ciocalteu. Después de 3 minutos, se adicionó a las mezclas 0,3 mL de una disolución de carbonato de sodio saturado. Las mezclas en reacción se incubaron a temperatura ambiente (25°C) durante 20 minutos. Se midió la absorbancia a 760 nm en el espectrofotómetro T70 UV/VIS. Para la preparación de la curva de calibración se utilizaron soluciones de ácido gálico, con concentraciones entre 25 y 400  $\mu\text{g/mL}$ . Los niveles de compuestos fenólicos se expresaron como equivalentes de ácido gálico mg/100g del extracto. Las pruebas se realizaron por triplicado en cada experimento y los resultados se reportaron como la media  $\pm$  SD.

## **2.7 Procesamiento de los datos**

### **2.7.1 Diseño experimental**

Se aplicó un diseño totalmente aleatorizado y se evaluaron siete variedades que constituyeron los tratamientos.

### **2.7.2 Análisis estadístico**

Para el procesamiento de los datos se realizó un análisis de varianza (ANOVA), después del cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianza (test de Levene) y normalidad (Shapiro Wilk). La comparación de medias se realizó a través de la prueba de comparación múltiple de Duncan a  $P \leq 0,05$ .

Se utilizó un análisis de correlación para determinar la interrelación entre las variables capacidad antioxidante total, fenoles totales, contenido de antocianinas y vitamina C teniendo en cuenta el coeficiente de correlación de Pearson y dos niveles de significación de 0,01 y 0,05. Todos los análisis mencionados anteriormente se realizaron a través del paquete estadístico SSPS® Statistics 22.0.

## CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Determinación de las propiedades físicas-químicas de los frutos de siete variedades de *M. alba* L.

#### 3.1.1 Propiedades físicas

##### 3.1.1.1 Peso, largo, ancho y número de semillas por fruto

La caracterización físico-química permite analizar el valor nutricional y la calidad de frutas y hortalizas. En la tabla 2 se muestran los valores de peso, largo, ancho y número de semillas por fruto para cada una de las variedades, donde se aprecia diferencias significativas entre las variedades en estudio. El peso de los frutos osciló entre 1,31-3,65 g, el largo entre 1,61-3,01 cm y el ancho entre 0,83-1,59 cm. El número de semillas por fruto varió entre 19,70 y 42,80. La variedad Yu-62 presentó los valores más altos para todas las variables estudiadas, mientras que, la Acorazonada mostró los más bajos.

**Tabla 2.** Diferencias entre el peso, largo, ancho y número de semillas/fruto de siete variedades de *M. alba* L.

Variedades de <i>M. alba</i> L.	Peso (g) Media ± EE	Largo (cm) Media ± EE	Ancho (cm) Media ± EE	No. Semillas /fruto Media ± EE
Yu-12	2,76 ± 0,147 <sup>b</sup>	2,73 ± 0,147 <sup>a,b</sup>	1,20 ± 0,074 <sup>b</sup>	39,80 ± 0,003 <sup>a,b</sup>
Yu-62	3,65 ± 0,155 <sup>a</sup>	3,01 ± 0,153 <sup>a</sup>	1,59 ± 0,103 <sup>a</sup>	42,80 ± 0,002 <sup>a</sup>
Universidad	2,73 ± 0,123 <sup>b</sup>	2,72 ± 0,043 <sup>a,b</sup>	1,19 ± 0,043 <sup>b</sup>	39,90 ± 0,002 <sup>a,b</sup>
Acorazonada	1,31 ± 0,086 <sup>d</sup>	1,61 ± 0,074 <sup>d</sup>	0,83 ± 0,037 <sup>c</sup>	19,70 ± 0,003 <sup>c</sup>
Cubana	2,18 ± 0,069 <sup>c</sup>	2,14 ± 0,067 <sup>c</sup>	1,10 ± 0,033 <sup>b</sup>	20,30 ± 0,002 <sup>b</sup>
Nueva	2,69 ± 0,166 <sup>b,c</sup>	2,83 ± 0,088 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,035 <sup>b</sup>	38,40 ± 0,002 <sup>a</sup>
Universidad Mejorada	2,78 ± 0,081 <sup>b</sup>	2,35 ± 0,068 <sup>b,c</sup>	1,17 ± 0,039 <sup>b</sup>	23,10 ± 0,003 <sup>c</sup>

a, b, c, d: valores con diferentes superíndices en cada columna difieren a  $p < 0,05$  (test de Duncan).

Estos resultados se corresponden con lo reportado en la literatura para este género. Ercisli y Orhan (2007) estudiaron el peso del fruto de *M. alba* L., *M. rubra* L. y *M. nigra* L., cultivados en diferentes regiones de Turquía y encontraron que este varió

entre 0,90–3,82 g. Por otra parte, Sánchez-Salcedo *et al.* (2014) informaron para diferentes clones de morera en España que el peso de los frutos osciló entre 2,26 g y 4,15 g, el diámetro entre 12,19 mm y 15,64 mm y la longitud entre 20,47 mm y 30,26 mm.

Jiang y Nie (2015), analizaron las propiedades físicas y químicas en frutos de tres especies de morera (*M. alba* L.), (*M. alba* var. tartárica L.) y (*M. nigra* L.) de la provincia China de Xinjiang y encontraron que, de estas especies, las frutas de *M. alba* L. presentaron el mayor peso, superior a 3,5 g y ligeramente inferior a los obtenidos en estudios realizados en otras regiones de China que muestran una variación del peso de la fruta entre 1,25–4,75 g (Liang *et al.*, 2012). Aljane y Sdiri (2016) al estudiar aspectos morfológicos en frutos de *M. alba* L., *M. rubra* L. y *M. nigra* L., cultivados en regiones áridas de Túnez, encontraron para *M. alba* L. valores medios de peso, largo y ancho de 1,58 g; 21,38 mm y 13,78 mm, respectivamente. Estos resultados fueron comparables con los estudios realizados por Orhan y Ercisli (2010), quienes reportaron una variación en el peso de 1,77-5,67 g, la longitud entre 20,22-30,49 mm y el ancho entre 11,64-19,42 mm. Altuntas (2016) realizó un estudio de las propiedades volumétricas y geométricas de frutos de *M. alba* L. en Tokat, Turquía y obtuvo valores de peso, largo y ancho de fruto de 1,055 g; 16,33 mm y 9,84 mm respectivamente. Lee y Hwang (2017), en el estudio realizado para frutos de *M. alba* L. de una región de Corea en diferentes etapas de maduración demostraron que el peso de la fruta aumentó de 0,58 a 3,39 g en la medida que fue mayor la maduración. Bhutia *et al.* (2018) evaluaron el potencial nutracéutico de algunas frutas en Sikkim, Himalaya, India y encontraron que los frutos de *M. alba* L. presentaron un peso de 3,47 g, largo 2,5 cm y ancho y 1,3 cm con abundante cantidad de semillas por frutos, lo que coincide con los resultados

de esta tesis. Krishna *et al.* (2018) informaron valores de 3,3 y 1,9 g en el peso, de 4,1 y 2,6 cm en el largo y de 9,1 y 9,7 mm en el ancho para dos genotipos de frutas de morera (Thar Harit y CIAH-3) en la India. Por otra parte, en el estudio de diferentes genotipos de frutos de *M. alba* L. de la provincia de Mus en Turquía, Balik *et al.* (2019) informaron una variación de peso entre (1,38 y 3,39) g, en el largo de 17,39 y 27,01) mm y en el ancho de 10,89 y 15,42 mm para cinco genotipos de *M. alba* L. Hashemi y Khadivi (2020) reportaron que el peso de los frutos varió de 0,94 a 2,86 g; el largo de 14,35 a 26,98 mm y el ancho de 8,37 a 15,09 mm en el estudio realizado sobre la variación morfológica de 97 accesiones de *M. alba* L. de 10 áreas de la provincia Markazi en Irán.

La variación revelada para algunas de las características de las frutas en las investigaciones antes señaladas; no es sorprendente al considerar que se plantea que las propiedades físicas pueden variar cuando se trata materiales vegetales diferentes y por la influencia de las condiciones climáticas y nutricionales a que se expone el material vegetal (Imran *et al.*, 2010).

En el presente estudio, las diferencias entre las propiedades físicas se deben a que se investigaron variedades diferentes, pues el resto de las condiciones se encontraban homogéneas. Sin embargo, se considera que el mayor peso de la fruta junto con una mayor capacidad de rendimiento, son características importantes y deseables en los programas de mejoramiento de morera (Orhan y Ercisli, 2010).

### **3.1.2 Propiedades químicas**

#### **3.1.2.1 pH**

En la tabla 3 se muestra el comportamiento del pH de las siete variedades de *M. alba* L., observándose diferencias significativas entre las mismas.

**Tabla 3.** Comportamiento del pH en frutos de siete variedades de *M. alba* L.

Variedades de <i>M. alba</i> L.	pH
	Media $\pm$ EE
Yu-12	4,82 $\pm$ 0,035 <sup>a,b,c</sup>
Yu-62	5,02 $\pm$ 0,030 <sup>a</sup>
Universidad	4,94 $\pm$ 0,133 <sup>a,b</sup>
Acorazonada	4,67 $\pm$ 0,263 <sup>a,b,c</sup>
Cubana	4,54 $\pm$ 0,063 <sup>c</sup>
Nueva	4,77 $\pm$ 0,110 <sup>a,b,c</sup>
Universidad Mejorada	4,46 $\pm$ 0,127 <sup>c</sup>

a, b, c: valores con diferentes superíndices en cada columna difieren a  $p < 0,05$  (test de Duncan).

El rango de pH osciló entre 4,46 y 5,02. La variedad Yu-62 presentó el valor más alto, mientras que la Universidad Mejorada y la Cubana mostraron los valores más bajos. Resultados similares fueron reportados por Liang *et al.* (2012) quienes informaron una variación de pH entre 3,76 y 5,33, Bao *et al.* (2016) reportaron un rango de 3,36 y 5,81 y Farahani *et al.* (2019) valores mínimos de pH de 4,0 y como máximo 6,70. A su vez, otros autores reportaron valores superiores de pH en el rango de 5,95-7,39 para diferentes clones de *M. alba* L. de España (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2014), 5,98 para frutos de *M. alba* L. de una región de Túnez (Aljane y Sdiri (2016) y entre 5,50-6,04 para diferentes genotipos de frutos de *M. alba* L. de la provincia de Mus en Turquía (Balik *et al.*, 2019). Sin embargo, otros estudios realizados en diferentes condiciones agroclimáticas en Turquía con una gran cantidad de genotipos de morera revelaron un pH entre 2,29 y 6,59 (Okatan, 2018). Se ha demostrado que las especies de *Morus* se agrupan de acuerdo con los valores de pH en orden de *M. alba* L. > *M. rubra* L. > *M. nigra* L. (Ozdemir y Topuz, 1998).

El pH es importante para control de microorganismos en alimentos, un pH bajo indica un medio ácido en el cual no pueden sobrevivir los microorganismos patógenos. Que los frutos de *M. alba* L. en estudio presenten un pH ácido posibilita que no sobrevivan microorganismos perjudiciales, lo que garantiza su uso en la elaboración de alimentos y agrega valor al fruto por diversificar su forma de comercialización (Ercisli y Orhan, 2007; Gundogdu *et al.*, 2011). Según Mikulic-Petkovsek *et al.* (2012), las frutas se probarían agrias con un valor de pH inferior a 3,5.

### **3.1.2.2 Contenido de ácidos orgánicos**

Los ácidos orgánicos como: cítrico, málico, láctico, oxalacético, succínico, glicérico, fosfórico, clorhídrico, fumárico, galactourónico, glicérico, tartárico, etc, son materiales solubles en agua que se encuentran en el citoplasma de frutas y verduras en varias cantidades y acompañados con los azúcares, contribuyen al sabor de las mismas.

El contenido de ácidos orgánicos, expresados como acidez total titulable (ATT) en g/100g de ácido cítrico, oxálico y málico, presentó una variación significativa entre las variedades de *M. alba* L. estudiadas (tabla 4).

El ácido cítrico varió entre 0,240-0,397; el oxálico entre 0,170-0,280 y el málico entre 0,299-0,417 g/100g. La variedad Acorazonada fue la que mayores concentraciones presentó con respecto a estos tres ácidos, mientras que la variedad Cubana presentó los valores más bajos.

**Tabla 4.** Contenido de ácidos orgánicos expresados en g/100g en frutos de siete variedades de *M. alba* L.

Variedades de <i>M. alba</i> L.	Ácido cítrico Media ± EE	Acido oxálico Media ± EE	Ácido málico Media ± EE
Yu-12	0,383 ± 0,024 <sup>a</sup>	0,270 ± 0,018 <sup>a</sup>	0,402 ± 0,034 <sup>a</sup>
Yu-62	0,293 ± 0,012 <sup>b,c</sup>	0,207 ± 0,095 <sup>b,c</sup>	0,313 ± 0,028 <sup>b,c</sup>
Universidad	0,333 ± 0,020 <sup>a,b</sup>	0,268 ± 0,014 <sup>a,b</sup>	0,352 ± 0,029 <sup>a,b</sup>
Acorazonada	0,397 ± 0,035 <sup>a</sup>	0,280 ± 0,024 <sup>a</sup>	0,417 ± 0,033 <sup>a</sup>
Cubana	0,240 ± 0,020 <sup>c</sup>	0,170 ± 0,015 <sup>c</sup>	0,301 ± 0,020 <sup>c</sup>
Nueva	0,293 ± 0,017 <sup>b,c</sup>	0,205 ± 0,013 <sup>b,c</sup>	0,309 ± 0,026 <sup>b,c</sup>
Universidad Mejorada	0,292 ± 0,026 <sup>b,c</sup>	0,192 ± 0,019 <sup>b,c</sup>	0,299 ± 0,022 <sup>b,c</sup>

a, b, c: valores con diferentes superíndices en cada columna difieren a  $p < 0,05$  (test de Duncan).

Entre los tres ácidos orgánicos determinados, se encontró que el ácido málico fue el ácido orgánico predominante en las frutas de morera, seguido del ácido cítrico y por último el ácido oxálico, lo que se corresponde con los estudios realizados en frutos de morera por (Gundogdu *et al.*, 2011; Sánchez -Salcedo *et al.*, 2014; Eydurán *et al.*, 2015, Gecer *et al.*, 2016; Gundogdu *et al.*, 2017, Okatan *et al.*, 2018 y Balik *et al.*, 2019). Sin embargo, en valor numérico el contenido de ácido málico alcanzado en todas las variedades en estudio es inferior a los valores que reportaron estos autores. El contenido de ácido cítrico se corresponde con lo descrito por Ercisli y Orhan 2007, Gundogdu *et al.*, 2011 y Balik *et al.*, 2019 y es inferior a lo que informaron el resto de los autores antes mencionados. En cuanto al ácido oxálico los resultados obtenidos en esta investigación se encuentran dentro del rango que reporta Gundogdu *et al.*, 2017 y son superiores a los de Balik *et al.*, 2019.

En estos estudios previos, Ercisli y Orhan (2007), informaron valores de acidez titulable, expresados en porcentaje de ácido cítrico para frutos de *M. alba* L. de

Turquía entre 0,25 y 0,39 % equivalente a 0,25 y 0,39 g/100g. Gundogdu *et al.* (2011), indicaron que en otra región de Turquía el contenido de ácido cítrico y ácido málico en *M. nigra* L. osciló entre 1,084 y 1,323 g/100g, y en *M. alba* L. entre 0,393 y 3,095 g/100g. Sánchez-Salcedo *et al.* (2014) detectaron que el contenido de ácido málico varió entre 0,58–0,79 y 0,41–0,79 g/100g y el ácido cítrico de 0,04–0,18 y 0,14–0,66 g/100g en *M. alba* L y *M. nigra* L en España, respectivamente. Eyduran *et al.* (2015) informaron que el ácido málico fue el ácido orgánico dominante en las frutas de morera del Valle de Aras en Turquía, con una concentración entre 1,13 y 3,04 g/100g. Gecer *et al.* (2016) declararon que, los contenidos de ácido cítrico, tartárico, málico, succínico y fumárico en las frutas de morera blanca y negra recolectadas en la parte oriental de Turquía fueron 0,637–0,820 g/100g, 0,150–0,290 g/100g, 2,133–3,073 g/100g, 0,113–0,250 g/100g y 0,106–0,120 g/100g, respectivamente. Gundogdu *et al.* (2017) detectaron para el ácido oxálico valores entre 0,16–1,18 g/100g; ácido cítrico entre 0,70–6,50 g/100g; tartárico entre 0,09–0,82 g/100g, málico entre 3,70–12,70 g/100g, succínico entre 0,44–1,01 g/100g y fumárico en el rango de 0,01–0,21 g/100g en frutos de morera de Turquía. Por otro lado, Okatan (2018) reportó que los contenidos de ácido oxálico oscilaron entre 0,45–1,25 g/100g, para el ácido cítrico entre 2,00–7,02 g/100g, en el ácido tartárico de 0,22–0,86 g/100g y para el ácido málico entre 6,65–13,65 g/100g en frutos de *M. nigra* L. recolectados en la región del Egeo. Balik *et al.* (2019) expresaron que el ácido málico varió de 2,484 a 3,364 g/100g, el ácido cítrico varió de 0,134 a 0,306 g/100g y el ácido oxálico de 0,05 a 0,036 g/100g en cinco variedades de frutos de *M. alba* L. de la provincia de Mus de Turquía.

Según lo reportado en la literatura el contenido de estos ácidos orgánicos en la morera podría estar relacionados con la variación de pH (Liang *et al.*, 2012). Estas

diferencias además son evidentes en las frutas cultivadas en diferentes localidades del mismo país como se evidenció en los estudios antes mencionados y también por las diferencias entre especies causadas por factores genéticos, así como por prácticas agronómicas y factores ecológicos (temperatura, condiciones del suelo, humedad, etc.).

Una disminución gradual de la acidez titulable de la fruta de morera en maduración corresponde a un aumento del pH de la pulpa de la fruta. Liang *et al.* (2012) plantean que el cambio en el pH se debe principalmente a la fuga de ácidos orgánicos de la vacuola.

En esta investigación, las diferencias en los contenidos de estos ácidos orgánicos se atribuyen a las diferencias entre las especies en estudio. La presencia de estos ácidos orgánicos permite que las frutas se almacenen más tiempo con poca oxidación del ácido ascórbico, influyen en el sabor, color y la estabilidad de los mismos, ya que tienen la capacidad de retener los compuestos volátiles de los alimentos y aumentar el tiempo de conservación de sus propiedades organolépticas. Esta propiedad ha sido relacionada especialmente al ácido málico (Gundogdu *et al.*, 2018). Por lo antes expuesto podría considerarse a los frutos de estas variedades de gran importancia en la industria alimentaria y en las bebidas pues tanto el ácido cítrico como el ácido málico son los acidificantes más empleados en ambas industrias (Naude y Nicol, 2018).

### **3.1.2.3 Sólidos Solubles Totales (SST) e Índice de madurez (IM)**

Los sólidos solubles totales expresados como °Brix constituyen otros de los parámetros a tener en cuenta para la evaluación de la calidad de frutas y hortalizas. Dentro de los sólidos solubles, los componentes más abundantes son los azúcares y los ácidos orgánicos (1 grado Brix es la densidad de una disolución de sacarosa

al 1 % de peso y a esta le corresponde un índice de refracción, de esta manera se establece la correspondencia entre porcentaje de sólidos solubles y grados Brix).

La relación sólidos solubles/acidez total titulable (SST/ATT) se denomina índice de madurez (IM).

La variación del contenido de sólidos solubles totales e índice de madurez se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5.** Contenido de sólidos solubles totales (SST) e índice de madurez (IM) en frutos de siete variedades de *M. alba* L.

Variedades de <i>M. alba</i> L.	SST (°Brix)	IM
	Media ± EE	Media ± EE
Yu-12	16,0 ± 0,001 <sup>a</sup>	42,56 ± 2,677 <sup>c</sup>
Yu-62	16,0 ± 0,115 <sup>a</sup>	55,17 ± 2,899 <sup>b,c</sup>
Universidad	16,0 ± 0,231 <sup>a</sup>	48,80 ± 2,586 <sup>b,c</sup>
Acorazonada	16,0 ± 0,058 <sup>a</sup>	42,11 ± 4,098 <sup>c</sup>
Cubana	16,5 ± 0,115 <sup>a</sup>	69,30 ± 6,630 <sup>a</sup>
Nueva	15,0 ± 0,289 <sup>b</sup>	52,00 ± 3,086 <sup>b,c</sup>
Universidad Mejorada	16,0 ± 0,231 <sup>a</sup>	60,63 ± 5,236 <sup>a,b</sup>

a, b, c: valores con diferentes superíndices en cada columna difieren a  $p < 0,05$  (test de Duncan).

El contenido de SST en los frutos de las diferentes variedades no mostró diferencias significativas, tuvo una variación entre 15,0 y 16,5 °Brix. La variedad Cubana fue la de mayor contenido y la Nueva mostró menor cantidad de SST. Estos resultados se corresponden con lo reportado para esta especie por Sánchez-Salcedo *et al.* (2014) para diferentes clones de frutos de morera en España (15,07-17,37 °Brix) y por Hashemi y Khadivi (2020), quienes reportaron un contenido de sólidos solubles totales que osciló entre 7,70 y 25,80 °Brix en los frutos de 97 accesiones de *M. alba* L. de la provincia Markazi en Irán. Sin embargo, son inferiores a los reportados por Ercisli y Orhan (2007) quienes informaron para *M. alba* L., un contenido de sólidos solubles totales de 20,4 °Brix. Aljane y Sdiri (2016), obtuvieron en frutos de *M. alba*

L., *M. rubra* L. y *M. nigra* L., cultivados en regiones áridas de Túnez, valores de sólidos solubles totales de 7,27; 19,20 y 11,60 °Brix, respectivamente. Lee y Hwang (2017), en el estudio realizado para frutos de *M. alba* L. de una región de Corea en diferentes etapas de maduración demostraron que este se incrementó de 5,6 a 13,7 °Brix en la medida que los frutos maduraron.

Krishna *et al.* (2018) informaron en el estudio sobre diferentes parámetros morfológicos de frutas de morera en la India que los genotipos de *M. alba* L. presentaron una variación en el contenido de SST de 14,7–31,5 °Brix. Por otra parte, Bhutia *et al.* (2018) destacaron que para frutos de *M. alba* L. en Sikkim, Himalaya, India el contenido de SST fue de 4,92 °Brix, Balik *et al.* (2019) reportaron que la concentración de SST en cinco variedades de frutos de *M. alba* L. fue superior al de las ocho variedades *M. nigra* L. de la provincia de Mus de Turquía, al mostrar una variación de 14,53 a 23,50 °Brix, y de 14,33 a 19,47 °Brix, respectivamente. Farahani *et al.* (2019) reportaron que los valores de SST variaron entre 9,30 y 32,00 °Brix para los diferentes genotipos de frutos de *M. alba* var. *nigra* de diferentes regiones de la provincia Markazi en Irán. Anteriormente otros autores habían demostrado que el contenido de SST de las frutas de morera que crecen en diferentes regiones agroclimáticas puede presentar variaciones significativas (Ercisli y Orhan, 2007). Además, Ercisli y Orhan (2008) informaron el rango de 14,30–19,35 °Brix para genotipos turcos de *M. nigra* L.

El contenido de SST es una medida que se utiliza para hacer un seguimiento *in situ* en la evolución de la maduración de frutos y su momento óptimo de recolección. Es un parámetro determinante en la calidad del fruto en la etapa de maduración, los cuales incrementan por la metabolización de la mayoría de los carbohidratos solubles durante la respiración o biosíntesis de polisacáridos y azúcares. De esta

manera, los procesos metabólicos relacionados con el avance en la maduración pueden influir directamente en los niveles de SST. En un estado de madurez avanzado los frutos presentan mayor contenido de SST (Lee y Hwang, 2017).

En cuanto al índice de madurez, mostró diferencias significativas entre las variedades en estudio. Los valores oscilaron entre 42,11 y 69,30. La variedad Cubana presentó los valores más elevados, mientras que la Acorazonada el menor índice de madurez. Estos resultados fueron inferiores a los obtenidos por Ercisli y Orhan (2007) y Sánchez-Salcedo *et al.* (2014). Estos autores informaron un índice de madurez de 81,6 y 134,58-179,17 para frutos de *M. alba* L. en Turquía y para cuatro clones de *M. alba* L. de una región de España, respectivamente.

El incremento en el índice de madurez es debido, también, a una disminución en el contenido de ácidos orgánicos (Lee y Hwang, 2017) lo cual aumenta la calidad organoléptica del fruto.

El índice de madurez es un parámetro indirecto, importante para la transformación o consumo del fruto en fresco, además es un índice útil en los procesos exportación. La naturaleza heterocigota de los árboles propagados por semillas y las diferentes condiciones ambientales pueden influir en la variación del contenido de sólidos solubles totales, acidez titulable y pH en las frutas de morera (Ercisli y Orhan, 2008).

### **3.1.2.1 Composición proximal**

Como parte del análisis proximal (tabla 6), el porcentaje de materia seca (MS), humedad (H) y fibra bruta (FB) de las diferentes variedades presentó diferencias significativas. Los valores oscilaron entre 13,54-17,49, 82,50-86,46 y 8,05-12,66 %, respectivamente. La variedad Yu-62 presentó mayor contenido de materia seca y fibra bruta y menor humedad, mientras que la variedad Nueva presentó el menor

contenido de materia seca y por ende el mayor contenido de humedad. La variedad Universidad mejorada fue la de menor contenido de fibra bruta.

**Tabla 6.** Porcentaje de materia seca (MS), humedad (H) y fibra bruta (FB) en frutos de siete variedades de *M. alba* L.

Variedades de <i>M. alba</i> L.	MS	H	FB
	Media $\pm$ EE	Media $\pm$ EE	Media $\pm$ EE
Yu-12	15,37 $\pm$ 0,024 <sup>d</sup>	84,63 $\pm$ 0,024 <sup>c</sup>	9,72 $\pm$ 0,047 <sup>c</sup>
Yu-62	17,49 $\pm$ 0,010 <sup>a</sup>	82,50 $\pm$ 0,010 <sup>f</sup>	12,66 $\pm$ 0,039 <sup>a</sup>
Universidad	13,82 $\pm$ 0,036 <sup>e</sup>	86,18 $\pm$ 0,036 <sup>b</sup>	9,59 $\pm$ 0,025 <sup>d</sup>
Acorazonada	16,96 $\pm$ 0,067 <sup>b</sup>	83,04 $\pm$ 0,067 <sup>e</sup>	9,39 $\pm$ 0,017 <sup>e</sup>
Cubana	15,83 $\pm$ 0,061 <sup>c</sup>	84,17 $\pm$ 0,061 <sup>d</sup>	9,90 $\pm$ 0,013 <sup>b</sup>
Nueva	13,54 $\pm$ 0,069 <sup>f</sup>	86,46 $\pm$ 0,069 <sup>a</sup>	8,68 $\pm$ 0,008 <sup>f</sup>
Universidad Mejorada	13,75 $\pm$ 0,184 <sup>e,f</sup>	86,25 $\pm$ 0,184 <sup>a,b</sup>	8,05 $\pm$ 0,018 <sup>g</sup>

a, b, c, d, e, f, g: valores con diferentes superíndices en cada columna difieren a  $p < 0,05$  (test de Duncan).

El contenido de humedad es uno de los factores importantes, ya que muchas de las propiedades físicas de las frutas comestibles pueden variar debido al cambio de su valor (Sadia *et al.*, 2014). Los valores máximos de humedad y fibra bruta obtenidos en esta investigación son ligeramente superior a lo reportado por Imran *et al.* (2010) para cuatro especies de *M. alba* L. de Pakistán donde el contenido de humedad y fibra bruta oscilaron entre 79,03-82,4 y 0,57-11,75 %, respectivamente, diferencia que se atribuye al tratarse de especies diferentes, sin embargo, se corresponden con los obtenidos por Liang *et al.* (2012) en diferentes cultivares de morera en Jiangsu, China y por Sánchez-Salcedo *et al.* (2014) para diferentes clones de morera en España. Otros estudios de caracterización de distintos genotipos de *M. nigra* L. (Ercisli y Orhan, 2007) y *M. alba* L. Butt *et al.* (2008) mostraron valores de humedad menores.

La FB de las plantas está compuesta por carbohidratos estructurales (lignina, celulosa y hemicelulosa), que se forman principalmente con el aumento de la edad de los tallos, prolongados fundamentalmente por la frecuencia de corte utilizada (García, 2003). Estas plantas, no fueron sometidas a corte durante la investigación y contaban con más de cuatro años de plantadas, aspecto este que pudiera asociarse con los contenidos de fibra bruta superiores a los reportados por otros autores.

En cuanto a los minerales, el contenido de cenizas osciló entre 3,62-7,06 %, el contenido de calcio, magnesio y fósforo osciló entre 322,50-356,00, 176,50-201,00 y 40,50-52,50 mg/100g, respectivamente como se muestra en la tabla 7. La variedad Nueva presentó mayor contenido de fósforo y cenizas y la Universidad mejorada el mayor contenido de calcio y magnesio, en ambos casos se observan diferencias significativas con el resto de las variedades.

**Tabla 7.** Contenido de cenizas, Ca, Mg y P en frutos de siete variedades de *M. alba* L.

Variedades de <i>M. alba</i> L.	Cenizas	Ca	Mg	P
	(%)	(mg/100g)	(mg/100g)	(mg/100g)
	Media ± EE	Media ± EE	Media ± EE	Media ± EE
Yu-12	5,03 ± 0,031 <sup>c</sup>	349,00 ± 0,015 <sup>b</sup>	187,00 ± 0,015 <sup>d</sup>	46,50 ± 0,010 <sup>c,d</sup>
Yu-62	4,68 ± 0,011 <sup>d</sup>	341,00 ± 0,008 <sup>b</sup>	185,00 ± 0,005 <sup>d</sup>	48,00 ± 0,004 <sup>b,c</sup>
Universidad	5,38 ± 0,022 <sup>b</sup>	332,00 ± 0,059 <sup>c</sup>	181,00 ± 0,005 <sup>e</sup>	46,00 ± 0,002 <sup>c</sup>
Acorazonada	5,25 ± 0,046 <sup>b</sup>	322,50 ± 0,007 <sup>d</sup>	176,50 ± 0,008 <sup>f</sup>	49,50 ± 0,004 <sup>b</sup>
Cubana	4,48 ± 0,131 <sup>e</sup>	345,00 ± 0,009 <sup>b</sup>	191,00 ± 0,005 <sup>c</sup>	46,50 ± 0,005 <sup>c,d</sup>
Nueva	7,06 ± 0,047 <sup>a</sup>	345,00 ± 0,009 <sup>b</sup>	195,00 ± 0,006 <sup>b</sup>	52,50 ± 0,006 <sup>a</sup>
Universidad Mejorada	3,62 ± 0,023 <sup>f</sup>	356,50 ± 0,006 <sup>a</sup>	201,00 ± 0,005 <sup>a</sup>	40,50 ± 0,003 <sup>e</sup>

a, b, c, d, e, f: valores con diferentes superíndices en cada columna difieren a  $p < 0,05$  (test de Duncan).

El contenido de cenizas se corresponde con lo reportado por Liang *et al.* (2012) en el estudio realizado para cultivares de morera en Jiangsu, China, quienes

reportaron valores entre 3,48 y 6,75 %. Por otra parte, son similares a los obtenidos por Lee y Hwang (2017) donde el contenido de cenizas osciló entre 4,3-8,3% y fue disminuyendo con el incremento de la maduración de los frutos de *M. alba* L. de una región de Corea.

En cuanto al contenido de calcio y magnesio, los resultados obtenidos para las variedades en estudio fueron superior a los reportados por Ercisli y Orhan (2007), Jiang y Nie (2015) y Lee y Hwang (2017), quienes reportaron un contenido de Ca y Mg con valores de 152 y 106 mg/100g; 71 y 32,5 mg/100g y 230 y 100 mg/100g, respectivamente, sin embargo, se corresponden con los obtenidos por Sánchez-Salcedo *et al.* (2015) donde informaron que los valores de Ca oscilaron entre 190-340 mg/100g y los de Mg entre 120-190 mg/100g, para diferentes clones de esta especie en España.

El contenido de fósforo fue inferior a los resultados obtenidos por Ercisli y Orhan (2007) y Sánchez-Salcedo *et al.* (2015), pero se corresponden con los obtenidos por Uslu *et al.* (2017) en estudios realizados con frutos de *M. alba* L. de dos regiones de Turquía.

La composición mineral de las frutas de morera no solo depende de la especie o los cultivares, sino también de las condiciones de crecimiento como el suelo, el clima, las condiciones geográficas, la adición de fertilizantes y las técnicas de manejo cultural (Gundogdu *et al.*, 2017).

En este estudio, aunque se determinó la presencia de tres elementos en todas las especies de morera, se encontró un predominio de Ca, seguido Mg y P. El calcio es un mineral primordial que ayuda al desarrollo de huesos, dientes y músculos entre otros. Juega un papel fundamental en la secreción de hormonas y enzimas que son indispensables para un correcto funcionamiento del organismo. El ion

calcio y la mayoría de sus compuestos tienen baja toxicidad, mientras que muchas enzimas requieren el Mg como cofactores y su deficiencia en la dieta está relacionada con la cardiopatía isquémica. Por otra parte, el fósforo ligado al calcio, es también fundamental para gozar de unos huesos fuertes y un sistema muscular en óptimo estado. Interviene también en el sistema nervioso y en el almacenamiento y utilización de energía. Tiene varias funciones vitales en el cuerpo del animal y se relaciona con la secreción de la leche, el metabolismo de la energía y el transporte de aminoácidos de los ácidos grasos, la síntesis de fosfolípidos y proteínas. Como resultado, el fósforo está implicado en el metabolismo celular, el sistema enzimático y el sistema de amortiguación (componente de la saliva).

En el cuerpo del animal un 80 a 86% del fósforo se encuentra en los huesos y los dientes, el resto se distribuye en los tejidos blandos. El fósforo, como el fosfato, se absorbe en el intestino delgado, y el proceso de absorción es mediada por la vitamina D (Barrios *et al.*, 2010).

La presencia de estos minerales convierte a las frutas de morera en un valioso producto hortícola, en base a su composición nutritiva beneficiosa que puede ser considerado para ser incluido en cualquier tipo de dieta (Rodrigues *et al.*, 2019).

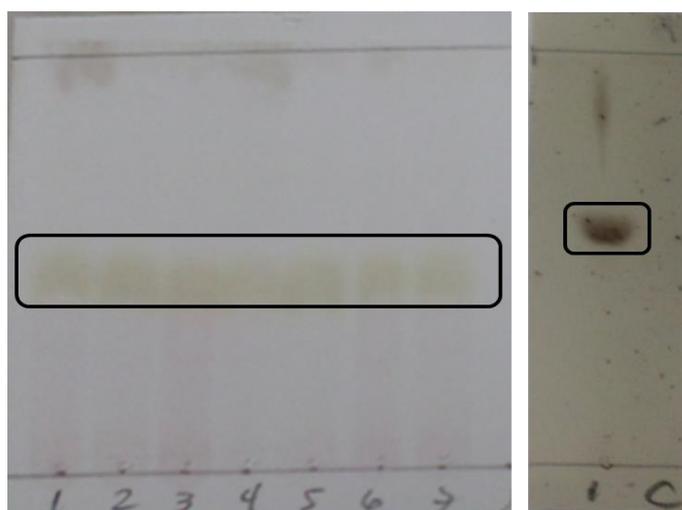
Otros estudios han reportado que los frutos de morera no solo presentan propiedades físicas-químicas que le proporcionan una constitución nutritiva rica y beneficiosa, sino que presentan además una amplia composición fitoquímica que presupone que constituyan una fuente de importantes sustancias químicas biológicamente activas.

## 3.2 Caracterización fitoquímica y cuantificación del contenido de antocianinas y Vitamina C

### 3.2.1 Caracterización fitoquímica por cromatografía en capa delgada (CCD)

La caracterización fitoquímica por cromatografía en capa delgada permitió la identificación de metabolitos secundarios como, terpenos, alcaloides, flavonoides, ácidos fenólicos, cumarinas y antocianinas en los frutos de las variedades de morera estudiadas, lo cual se corresponde con lo reportado por Chan *et al.* (2016) en cuanto a la composición fitoquímica de la especie.

A partir del revelado con el reactivo de Lieberman-Buchard, se determinó la presencia de esteroides, terpenos, esteroides y triterpenos, como se muestra en la figura 2.

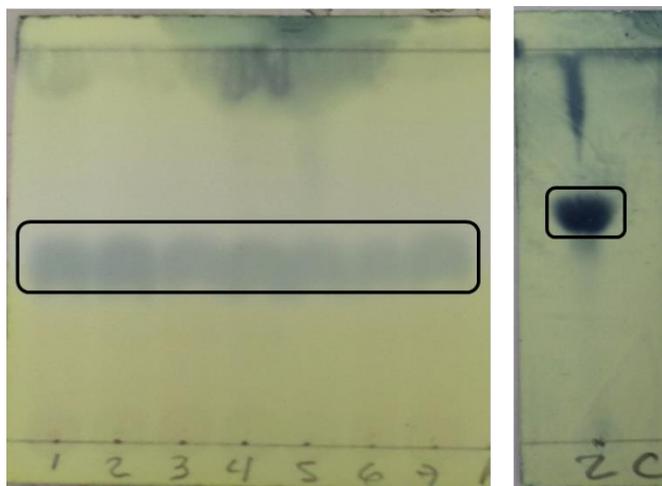


**Figura 2.** Cromatoplasmas de sílica gel reveladas con el reactivo de Lieberman-Buchard para detección de esteroides, terpenos, esteroides y triterpenos (1: Yu-12; 2: Yu-62; 3: Universidad; 4: Acorazonada; 5: Cubana; 6: Nueva; 7: Universidad Mejorada; 1 C: Control positivo, lanosterol).

En todas las variedades se observaron bandas a la misma altura en la placa comparables con la del patrón en cuanto a color, aunque menos intensas.

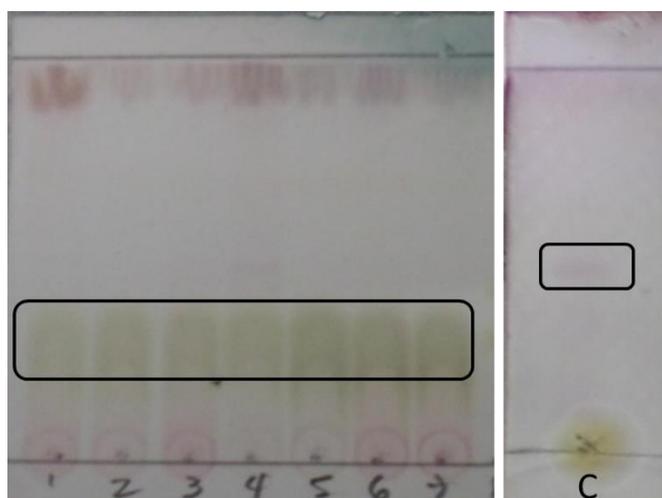
Las cromatoplasmas reveladas con el reactivo PMA, específico para la detección de terpenos, también mostraron manchas únicas en todas las variedades, menos

intensas en cuanto a color con respecto a la obtenida para el compuesto de referencia (figura 3).



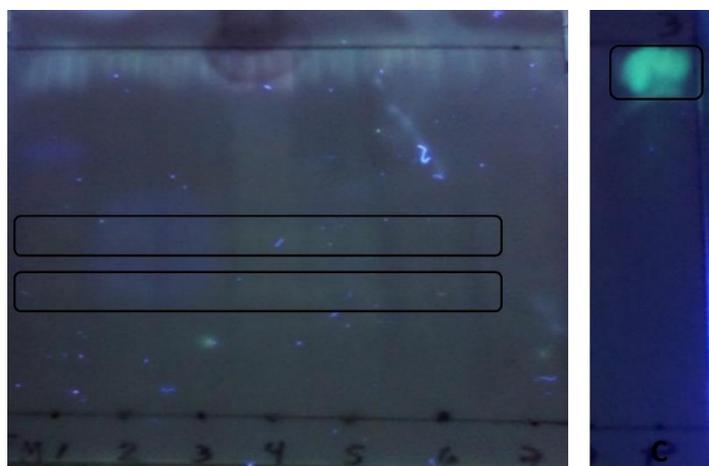
**Figura 3.** Cromatoplasmas de sílica gel reveladas con el reactivo PMA para detección de terpenos (1: Yu-12; 2: Yu-62; 3: Universidad; 4: Acorazonada; 5: Cubana; 6: Nueva; 7: Universidad Mejorada; 2 C: Control positivo, lanosterol).

El revelado con anisaldehído- $H_2SO_4$  para la determinación de saponinas, permitió identificar bandas mucho más gruesas que las obtenidas con los otros reveladores para todas las variedades, pero de color similar a la digitonina usada como patrón. En este caso el compuesto patrón se quedó en el punto de aplicación, probablemente debido a la polaridad del sistema de elución como se aprecia en la figura 4.



**Figura 4.** Cromatoplasmas de sílica gel reveladas con Anisaldehído- $H_2SO_4$  para la detección de saponinas (1: Yu-12; 2: Yu-62; 3: Universidad; 4: Acorazonada; 5: Cubana; 6: Nueva; 7: Universidad Mejorada; C: Control positivo, digitonina).

Por otro lado, las placas reveladas con  $AlCl_3$  para la identificación de flavonoides, mostraron bandas fluorescentes similares a la del patrón en todas las variedades, excepto en Universidad Mejorada, que no se pudo determinar la presencia de estas manchas. En este caso se observó la separación de dos grupos de compuestos. El kaempferol, compuesto usado como referencia, eluyó hasta la parte más alta de la placa, probablemente debido a la polaridad del sistema de elución (figura 5).



**Figura 5.** Cromatoplasmas de sílica gel reveladas con  $AlCl_3$  para la detección de flavonoides (1: Yu-12; 2: Yu-62; 3: Universidad; 4: Acorazonada; 5: Cubana; 6: Nueva; 7: Universidad Mejorada; C: Control positivo, kaempferol).

Actualmente, la cromatografía en capa delgada constituye un método muy útil para la identificación y separación de metabolitos de interés debido a su simplicidad y bajo costo (Yu *et al.*, 2016). Para la identificación de cada núcleo fitoquímico, el factor de retención ( $R_f$ ) permite complementar la información obtenida con la determinación de color, forma e intensidad de las manchas en las cromatoplasmas (Silva-Mata *et al.*, 2013).

En la tabla 8 se muestran los valores de  $R_f$  de los principales grupos de compuestos detectados en los extractos de frutos de *M. alba* L. mediante CCD. En las

cromatoplasmas reveladas con el reactivo de Lieberman-Buchard se apreciaron bandas con Rf de 0,39 para todas las variedades que se puede comparar con la obtenida para el lanosterol (0,48), que es un triterpenoide tetracíclico y fue el compuesto empleado como control.

En cuanto al revelador PMA, al igual que con el revelador anterior, se observaron bandas homogéneas para todas las variedades con Rf de 0,37. El control presentó un Rf de 0,47, lo que indica la posible presencia de compuestos terpénicos como saponinas y fitoesteroles en los extractos estudiados.

En las placas reveladas con anisaldehído-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se obtuvieron bandas con Rf de 0,20, mientras que para el compuesto de referencia fue de 0,39. Estos resultados están en correspondencia con lo observado con el revelador PMA.

El revelado con AlCl<sub>3</sub> permitió identificar bandas con Rf=0,28 y Rf=0,41 para seis de las variedades estudiadas, lo que indica la presencia de dos grupos de compuestos de similares características. Para la variedad Universidad Mejorada no se pudieron observar estas manchas, por lo que se reportaron como no determinadas (nd). En este caso el valor de Rf del patrón fue de 0,77.

**Tabla 8.** Factores de retención (Rf) de los principales núcleos fitoquímicos detectados por cromatografía en capa delgada (CCD) de los extractos etanólicos de frutos de siete variedades de *M. alba* L.

Núcleos fitoquímicos	Rf							
	Patrón	1	2	3	4	5	6	7
Esteroides, esteroles, terpenos y triterpenos	0,48	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
Terpenos	0,47	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
Saponinas	0,39	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Flavonoides	0,77	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	nd
		0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	nd

nd: no detectado

Los resultados de esta investigación demuestran la presencia de esteroides, esteroles, terpenos, triterpenos, saponinas y flavonoides en los extractos etanólicos de las variedades en estudio, lo que se corresponde con los estudios realizados para otras especies dentro del género. Díaz-Solares *et al.* (2015) en la evaluación cualitativa de metabolitos secundarios en extractos de variedades e híbridos de *M. alba* L. de Cuba, obtuvieron cantidades considerables de triterpenos y esteroides, así como fenoles y taninos en los extractos de n-hexano, etanol y agua en hojas de morera, mientras que no fueron detectados quinonas ni alcaloides en los mismos. Minhas *et al.* (2016) al evaluar los fitoquímicos presentes en frutos de *M. nigra* L. de una región de Pakistán por métodos colorimétricos, demostraron presencia de taninos, saponinas, alcaloides y glucósidos en los extractos de etanol, metanol, acetona, cloroformo y éter dietílico de las frutas de esta especie. Sin embargo, no encontraron aminoácidos libres y la prueba de carbohidratos y proteínas mostró la presencia de estos en los extractos de metanol y acetona, mientras que no se encontró en los extractos de cloroformo y éter dietílico.

Otros estudios realizados por Rollando *et al.* (2019), corroboran la presencia de flavonoides en frutos de morera por CCD, al igual que en esta investigación, aunque obtuvieron valores de Rf superiores. Estos autores plantean que este método simple y rápido les permitió aislar pigmentos de antocianina en frutas de la especie *M. nigra* L, donde obtuvieron valores de Rf de 0,81 y 0,82 para un sistema de elución de etanol-agua-ácido acético a una proporción (4:5:1), similares al control positivo. La diferencia entre los valores de Rf pudiera estar asociada a que el sistema de elución empleado no fue similar y que los frutos evaluados en ambas investigaciones pertenecen al mismo género *Morus*, pero a dos especies diferentes.

Al respecto, otros autores también han identificado la presencia de estos compuestos mediante estudios fitoquímicos en otros órganos de esta planta. Agusfina *et al.* (2019) en el estudio de los extractos etanólicos de corteza de tallos de *M. alba* L. por cromatografía de capa delgada no detectaron la presencia de apigenina en el extracto etanólico. Sin embargo, cuando el extracto fue hidrolizado con ácido se pudo apreciar una banda con valor de  $R_f=0,826$  correspondiente a la presencia de este flavonoide. Cuando fue cuantificado por HPLC dicho metabolito, informaron que el extracto etanólico hidrolizado con ácido mostró niveles de apigenina de 0,16% y de 0,04% para el extracto sin hidrolizar, lo que demostró la efectividad del método de hidrólisis ácida para la determinación de este flavonoide en dichos extractos.

Por otra parte, Dimitrova *et al.* (2015) en frutos maduros y hojas de tres especies de morera: blanca (*M. alba* L.), negra (*M. nigra* L.) y roja (*M. rubra* L.) de la región de Plovdiv en Bulgaria, mostraron en el análisis de cromatografía de capa delgada que los extractos etanólicos de todas las frutas se caracterizaron por la presencia de monosacáridos como: glucosa y fructosa con un factor de retención ( $R_f = 0,50$ ); ructooligosacáridos 1-kestosa a un valor de ( $R_f=0,37$ ) y nistasa e inulina de polisacárido a un valor de ( $R_f = 0,32$ ). En el caso de los extractos de las hojas de morera, solo se encontraron fructosa y sacarosa a un valor de ( $R_f = 0,44$ ). En la presente investigación no se realizaron estudios de identificación de carbohidratos, pero con estos antecedentes podrían ser metabolitos a tener en cuenta en estudios futuros.

Según lo reportado en la literatura han sido identificados los perfiles metabólicos de los frutos de *M. alba* mediante otras técnicas cromatográficas como, cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía gaseosa (CG), cromatografía

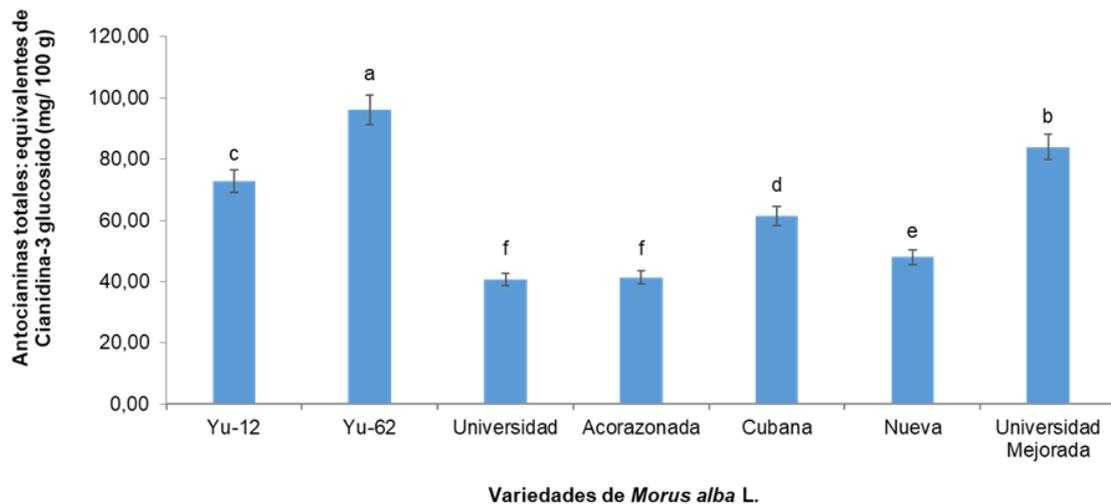
gaseosa acoplada a masas (CG-MS) y espectrofotometría. Lee *et al.* (2016) determinaron perfiles metabólicos completos de frutos de morera (*M. alba* L.) de Corea en diversas etapas de maduración por GC-MS y HPLC. En total, identificaron 48 compuestos, entre ellos dos azúcares, dos terpenos y dos cianidinas. Recientemente, Kwon *et al.* (2019) en el estudio de extractos de 12 variedades de fruta de morera coreana identificaron la presencia de flavonoides mediante cromatografía líquida de alta resolución y espectrometría de masas. Se identificaron seis derivados de quercetina por espectrometría de masas (MS), cuatro derivados de kaempferol y dos nuevos compuestos (morkotina A y morkotina C, derivados de quercetina) por primera vez en la fruta de morera.

La presencia de los diferentes núcleos fitoquímicos en los extractos etanólicos de frutos de *M. alba* L., sugiere la utilización de estas frutas como alimento saludable. Sin embargo, cuantificar el contenido de algunos de estos compuestos aporta una mayor información a tener en cuenta para otros estudios.

### **3.2.2 Cuantificación de antocianinas totales (TAC)**

Los pigmentos de antocianina en las frutas de morera constituyen una parte integral de los atributos sensoriales ya que sus niveles y diversas formas pertenecen directamente a la coloración del producto final. Se ha afirmado que poseen diversas propiedades biológicas, por lo tanto, se consideran metabolitos secundarios con un valor nutricional potencial (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015; Pham *et al.*, 2017).

El contenido de antocianinas totales (CAT), expresadas como equivalente cianidina-3- glucósido (mg/100g de extracto) presentó diferencias significativas entre las variedades (figura 6).



a, b, c, d, e, f: letras diferentes indican diferencias significativas para  $p < 0,05$  (Prueba de Duncan).

**Figura 6.** Contenido de Antocianinas totales en frutos de *M. alba* L.

La variedad Yu-62 fue la que mayor contenido mostró (96,074 mg/100g), seguido de Universidad mejorada y Yu-12. La variedad Universidad fue la de menor contenido de cianidina-3- glucósido (40,745 mg/100g).

Estos valores son similares a los obtenidos por Liu *et al.* (2004) en el estudio realizado para diferentes cultivares de *M. alba* L. de la provincia de Guangdong en China, donde el contenido total de antocianinas de los cultivares evaluados varió entre 147,68 y 2725,46 mg/L, equivalente a 14,768-272,546 mg/100g. Se encuentran también dentro del rango informado por Lee y Hwang (2017), quienes demostraron que el contenido de antocianinas totales expresado en mg/100g equivalentes de cianidina-3-glucósido a medida que los frutos maduraron, aumentaron de 0,0 a 2,0 g/100g equivalente a (0 a 2000 mg/100g).

Asimismo, los resultados obtenidos en este estudio se corresponden con los obtenidos por Jung *et al.* (2019), quienes reportaron un contenido de 75,85 mg/100g de cianidina-3-glucósido; 49,08 mg/100g de cianidina-3-rutinósido y 2,22 mg/100g

de pelargonidina-3-glucósido para extractos de frutos de *M. alba* L. de Corea, lo que representa un contenido total de antocianinas de 127,15 mg/100g.

Por otro lado, Farahani *et al.* (2019) informaron una variación del contenido de antocianinas entre 25,67 a 569,69 mg/100g de cianidina-3-glucósido para los diferentes genotipos de frutos de *M. alba* var. *nigra* de diferentes regiones de la provincia Markazi en Irán.

Otras variedades con alto valor nutritivo como *M. alba* cv. *legittimo nero*, *M. alba* cv. *nello* presentan contenidos de antocinina de 136,6 y 212,2 mg/100g de cianidina-3-glucósido, respectivamente. Este flavonoide fue el más abundante en las variedades analizadas, sin embargo, la especie *M. nigra* L. mostró menor contenido de este metabolito con un valor de 18,2 mg de cianidina-3-glucósido/100g de extracto (Negro *et al.*, 2019).

Sin embargo, dentro de la misma especie (*M. alba* L.) se han reportado valores inferiores a los mostrados en esta tesis. Aljane y Sdiri (2016) obtuvieron un contenido de antocianinas para *M. alba* L. de 1,35 mg cianidina-3-glucósido/100g en frutos de morera cultivados en regiones áridas de Túnez y para las especies *Morus rubra* L. valores de 1,53 mg cianidina-3-glucósido/100g, mientras que, para *M. nigra* L. fue de 10,05 mg cianidina-3-glucósido/100g. De igual forma hay estudios que evidencian contenidos superiores de antocianinas dentro de la misma especie (*M. alba* L.) pero en variedades diferentes a la presente investigación (Kim *et al.*, 2010 y Bhatt *et al.*, 2016). Estos autores informaron un contenido de antocianinas de 0,7–1,2 g/100 g en siete cultivares (equivalente a 700,0-1200,0 mg/100g) y 21,97 mg/g (equivalente a 2197,0 mg/100g) de cianidina-3-glucósido en frutos de morera de la región de Himalaya en la India, respectivamente.

En otro estudio, Zhao *et al.* (2018) reportaron valores superiores y un incremento en el contenido total de antocianinas durante la maduración del fruto de *M. alba* var. cheongil hasta alcanzar un valor de 59,16 mg/g de cianidina-3-glucósido (equivalente a 5916,0 mg/100g), mientras que, el cultivar *M. alba* var. turkey no tuvo presencia. Ambos cultivar están ubicados en la misma provincia de Corea.

Las diversas condiciones ambientales y las diferencias entre los genotipos inciden en la acumulación de estos metabolitos en mayor o menor cuantía en este órgano de la planta. Las condiciones medioambientales (intensidad de la luz, sequía o ataque de patógenos), son los principales estreses que influyen en la acumulación de los mismos, lo que podría explicar por qué se encontraron niveles diferentes de antocianinas en las frutas de las diferentes regiones estudiadas.

A la par de estas investigaciones, otros estudios han demostrado la carencia de antocianinas (cianidina-3-glucósido) en frutos de *M. alba* L. Sánchez-Salcedo *et al.* (2015) obtuvieron que las antocianinas totales variaron significativamente entre los clones de *M. nigra* L. (0,01 mg a 1,88 mg/g), mientras que *M. alba* L. careció de antocianinas. Por otra parte, Chen *et al.* (2016) encontraron que las antocianinas totales de cinco cultivares de *M. alba* L. en China, son inferiores a 900 µg/g peso fresco y no se observó antocianina en cultivares como Zhenzhubai, Jiguihua y Baiyuwang. Bao *et al.* (2016) informaron en otro estudio realizado con diferentes cultivares de frutos de morera de China que el contenido de cianidina-3-glucósido fue de 1,25 g/kg de peso fresco en *Morus atropurpurea* Roxb cv guangdong y 3,35 g/kg de peso fresco para el cultivar J33. Detectaron, además, un contenido de cianidina-3-rutinósido de 0,25 g/kg en *Morus multicaulis* Perr. cv guangdong, de 1,50 g/kg para el cultivar Hongguo y no se detectaron trazas de antocianina en morera blanca. También, Krishna *et al.* (2018), en el estudio de 10 genotipos de

frutos de morera de la India observaron que el contenido de cianidina-3-glucósido varió en el rango de 12,14–19,41 mg/100g para los genotipos de *M. rubra* L. y *M. leavigata*, sin embargo, no se detectó la presencia en los dos genotipos de *M. alba* L. estudiados.

La presencia o no de antocianinas en frutos de *M. alba* L., así como la concentración puede ser algo variable, en función del cultivar y la maduración.

La variación en el contenido de antocianinas puede deberse a la diversidad genética existente entre las variedades. Se ha reportado que este es uno de los factores que influye en la variación de los compuestos fenólicos en las frutas, así como el grado de madurez y las condiciones ambientales. Además, pueden atribuirse también a los métodos de extracción, los métodos analíticos para su determinación y a otras condiciones de crecimiento, como la temperatura, la humedad y la luz (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015, Natić *et al.*, 2015).

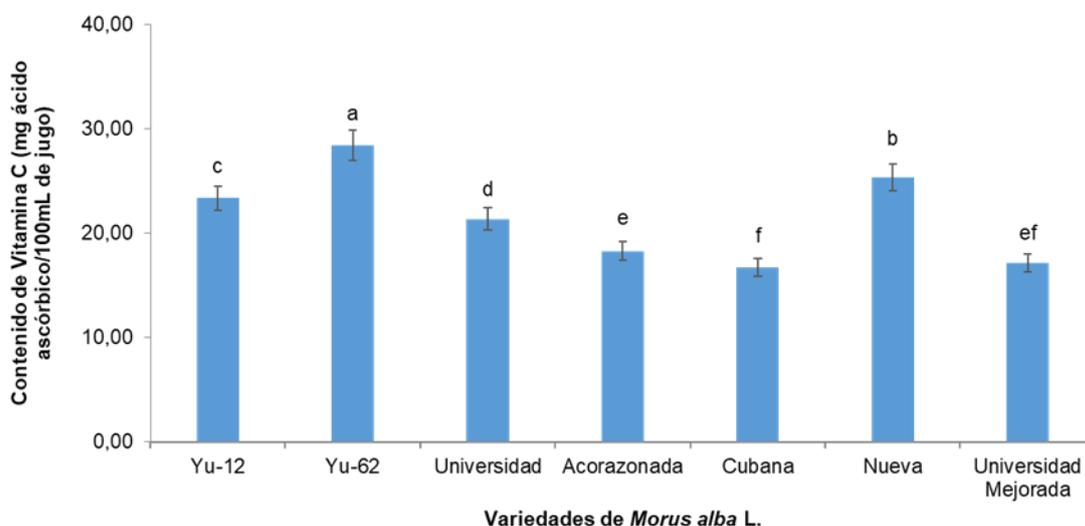
Se ha demostrado que las antocianinas, cianidina-3-glucósido y cianidina-3-rutinósido contribuyen a la reducción de la obesidad e intervienen en la disminución de la invasividad *in vitro* de las células de cáncer de pulmón (Chen *et al.*, 2006). Además de su actividad antioxidante, las antocianinas tienen el potencial de ser utilizada como ingrediente farmacéutico activo, pues presentan actividades anticancerígenas (Yan *et al.*, 2017; Thi y Hwang, 2018).

Otros investigadores plantean que las antocianinas tienen una potencialidad como inhibidoras de varias enzimas, incluidas la monoamino oxidasa A, la tirosinasa, la  $\alpha$ -glucosidasa y la dipeptidil peptidasa-4, así como la enzima responsable de enfermedades crónicas y degenerativas. Las actividades de inhibición enzimática de las antocianinas actúan sobre la ciclooxigenasa-2, que es responsable de las respuestas inflamatorias en el cuerpo (Cásedas *et al.*, 2017).

Al analizar los resultados de este estudio y los de investigaciones previas, la presencia de la antocianina (cianidina-3-glucósido) en los frutos de *M. alba* L., refuerzan el papel de las frutas de morera como posibles fuentes de alimentos funcionales debido a los diversos efectos biológicos y farmacológicos que presentan. Por otra parte, se hace evidente que las frutas de morera son una fuente prometedora de pigmentos y antioxidantes naturales potentes que deben considerarse para su futura explotación.

### 3.2.3 Contenido de Vitamina C (ácido ascórbico)

El contenido de vitamina C varió significativamente entre las variedades como se muestra en la figura 7. Los valores oscilaron entre 16,73 y 28,40 mg de ácido ascórbico/100mL de jugo. La variedad Yu-62 fue la que mayor contenido presentó, seguido de la variedad Nueva, Yu-12 y Universidad. La variedad con menor contenido de Vitamina C fue la Cubana.



a, b, c, d, e, f: letras diferentes indican diferencias significativas para  $p < 0,05$  (Prueba de Duncan).

**Figura 7.** Contenido de vitamina C en frutos de *M. alba* L. (mg Ácido ascórbico/100mL jugo).

Estos resultados son similares a los reportado por Gundogdu *et al.* (2011) quienes reportan contenidos de Vitamina C con un valor de 24,422 mg de ácido ascórbico /100g de peso fresco en frutos de *M. alba* L. de la provincia de Van en Turquía. Por otra parte, se corresponden con lo reportado por Ercisli y Orhan (2007) para frutos de esta misma especie de la región Este de Turquía, los que presentaron un contenido de vitamina C de 22,4 mg de ácido ascórbico/100mL de jugo (equivalente a igual valor en mg de ácido ascórbico/100g), superior a los contenidos de vitamina C de las especies *M. rubra* L. y *M. nigra* L. de la misma región. Krishna *et al.* (2018) encontraron una variación entre el contenido de vitamina C hasta valores de 27,10 mg de ácido ascórbico /100g peso fresco para los frutos de morera de la India. Por otro lado, se han reportado contenidos de vitamina C ligeramente inferiores a los de las variedades en estudio. Ercisli y Orhan (2008) declararon que el contenido de vitamina C de las frutas de diferentes genotipos de morera negra en la región noroeste de Anatolia en Turquía, varió entre 14,9 y 18,8 mg/100 mL. De igual forma, Imran *et al.* (2010) informaron que los frutos de *M. alba* L. y *M. nigra* L. contenían vitamina C en una cantidad de 15,20 y 15,37 mg de ácido ascórbico/100g, respectivamente. Eyduran *et al.* (2015) analizaron los frutos de *M. alba* L. y *M. nigra* L. del Valle de Aras en Turquía y reportaron un contenido de vitamina C para *M. alba* L. de 10,12 mg/100 g, Gecer *et al.* (2016), obtuvieron un contenido de vitamina C para *M. alba* L. de 12,74 mg/100g en la región de Anatolia Oriental. Sin embargo, se reportan otras investigaciones con contenidos superiores de vitamina C. Gundogdu *et al.* (2017), en el estudio comparativo realizado entre dos variedades de *M. alba* L. procedentes de dos regiones diferentes, encontraron un contenido de vitamina C para la variedad *M. alba* L. 24-MRK-01 de Turquía de 18,20 y de 31,34 mg/100g para el cultivar Thengxtang de China. En otro estudio en la región este de

Anatolia en Turquía Gundogdu *et al.* (2018) reportaron que el contenido de vitamina C en cuatro genotipos de *M. alba* L. varió entre 25,51 y 30,45 mg de ácido ascórbico/100 g de peso fresco, valores muy superiores a los de esta investigación. En función del contenido de vitamina C, las especies de frutas se pueden clasificar, en tres grupos (bajo, moderado y alto) y las moras generalmente se ubican dentro del grupo de contenido moderado de vitamina C (Eyduran *et al.*, 2015).

Diversos autores han comparado el contenido de vitamina C presentes en frutas de moreras con respecto a otras frutas (Farahani *et al.*, 2019; Balik *et al.*, 2019). Los reportados en esta tesis para los frutos de *M. alba* L., expresados en mg de ácido ascórbico/100 g, son comparables con frutas como las fresas (47,00 mg/100 g), las naranjas (33,00 mg/100g) y las uvas (25,00 mg/100g).

Se ha informado, además, que más del 85% de la vitamina C es proporcionada por las frutas y vegetales, por lo que los resultados de esta investigación indican que los frutos de todas las variedades en estudio, pueden promoverse como fuente natural de ácido ascórbico y que las diferencias en términos de contenido de vitamina C encontradas se debe a las diferencias entre las variedades estudiadas. La importancia del ácido ascórbico (vitamina C) es atribuida a sus propiedades como antioxidante hidrosoluble, que al encontrarse abundante en la sangre, está involucrado en muchos procesos fisiológicos y bioquímicos, lo que favorece la actividad enzimática al actuar como cofactor en diferentes reacciones y participar en el secuestro de varias formas de oxígeno, reducción de radicales libres, lo cual frena las reacciones en cadena y prevé daños en los alimentos, además al actuar en sinergia con la vitamina E evita la oxidación lipídica inducida por el radical superóxido (Oroian y Escriche, 2015).

El contenido de metabolitos secundarios y sustancias con propiedades antioxidantes en los frutos de *M. alba* L. pueden explicar las diferentes actividades biológicas beneficiosas para la salud animal y humana reportada para la especie hasta la actualidad. La detección de esteroides, esteroles, terpenos, triterpenos, saponinas y flavonoides, así como, altos contenidos de ácido ascórbico y antocianinas en los frutos de las siete variedades de morera estudiadas en esta tesis, presuponen un potencial antioxidante de los mismos. Por ello, una vez realizado el tamizaje fitoquímico se procedió a evaluar la capacidad antioxidante de los frutos de las variedades en estudio.

### **3.3 Actividad antioxidante de frutos de morera**

La capacidad antioxidante de los frutos puede ser determinada mediante el uso de diferentes métodos *in vitro*. Sin embargo, estos ensayos se basan en diferentes mecanismos de reacción, por lo que su predicción dependerá tanto de las condiciones experimentales, como la disponibilidad de los compuestos activos presentes en el extracto y sus interacciones sinérgicas para producir la respuesta antioxidante final a nivel celular (López-Alarcón y Denicola, 2013).

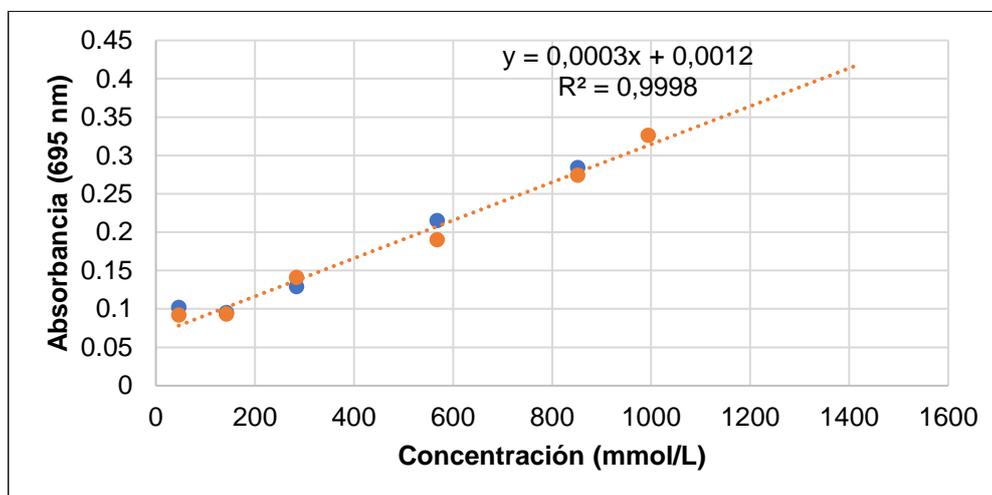
En la medicina tradicional se reporta la extracción de metabolitos de las plantas con solventes orgánicos, estas deben macerarse en soluciones hidroetanólicas ó etanólicas, debido a su baja toxicidad para consumo humano y animal, considerándose como un procedimiento de extracción seguro y eficiente. Cada solvente tiene diferentes capacidades de extracción y espectro de solubilidad, por lo que las cantidades de fitocompuestos presentes en uno u otro extracto dependerá de la afinidad de estos con el solvente de extracción utilizado (Rampadarath *et al.*, 2016; Kostić *et al.*, 2019). En este estudio se seleccionó etanol

como solvente por su índice de polaridad, su eficiente extracción de polifenoles y por la baja toxicidad que presenta.

Se utilizaron los métodos de actividad de captura del radical fosfomolibdato (capacidad antioxidante total) y la determinación del contenido de fenoles totales para evaluar la actividad antioxidante.

### 3.3.1 Actividad de captura del radical fosfomolibdato (CAT: Capacidad antioxidante total)

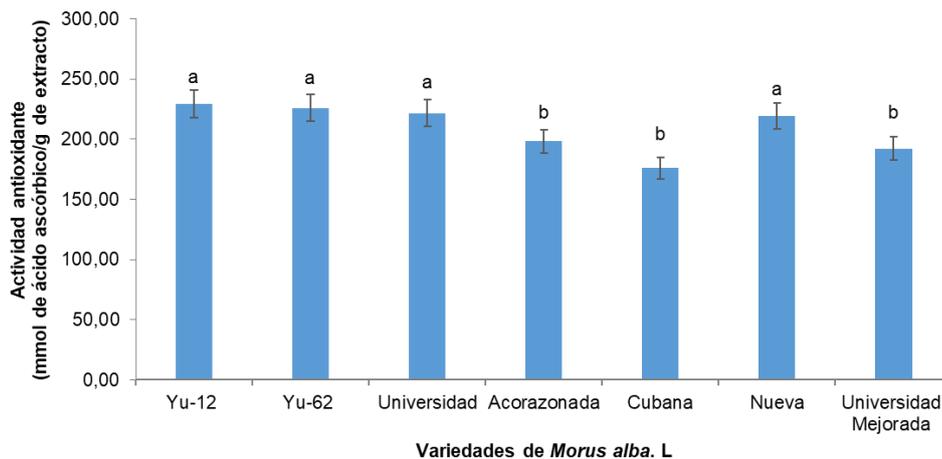
El ensayo de capacidad antioxidante total es un método espectroscópico que cuantifica la capacidad antioxidante, a través de la formación del complejo de fosfomolibdeno. Para la realización de este ensayo, se realizó una curva de calibración con el objetivo de expresar las mediciones obtenidas de los extractos evaluados como equivalentes de un compuesto de referencia, en este caso, ácido ascórbico, con un coeficiente de correlación de 0,9998 (figura 8).



**Figura 8.** Curva de calibración de ácido ascórbico para la cuantificación de la actividad antioxidante total de extractos etanólicos de frutos de siete variedades de *M.alba*.

El método se fundamenta en la reducción de molibdeno (VI) a molibdeno (V) por los extractos y la posterior formación de un complejo verde de fosfato de molibdeno

(V) a pH ácido. Los valores obtenidos indican que todos los extractos presentan una marcada actividad antioxidante y no se observan diferencias significativas entre las variedades en estudio como se muestra en la figura 9. La CAT osciló entre 175,959-229,482 mmol de ácido ascórbico/g de extracto y las variedades Yu-12, Yu-62, Universidad y Nueva mostraron las mejores actividades, a diferencia de la Acorazonada, Universidad mejorada y la Cubana.



a, b: letras diferentes indican diferencias significativas para  $p < 0,05$  (Prueba de Duncan).

**Figura 9.** Actividad antioxidante total de extractos etanólicos de frutos de siete variedades de *M. alba* L.

La actividad antioxidante total que muestran los frutos puede deberse a la presencia de fitoquímicos (taninos, terpenoides, esteroides, saponinas y flavonoides) que anteriormente se habían identificado de forma cualitativa, así como a la presencia de sustancias antioxidantes como la vitamina C.

Sande *et al.* (2016) en el estudio de la actividad antioxidante total de extractos de raíces de 11 variedades e híbridos de *M. alba* L. en Cuba, reportaron que el extracto etanólico fue el que mostró mejor actividad antioxidante total de todas las variedades estudiadas, seguido del extracto acuoso y por último el hexánico. El valor máximo para los extractos etanólicos de raíces, determinado mediante el

ensayo de captura de radical fosfomolibdato fue de 895 mmol de ácido ascórbico/g de extracto, muy superior al valor máximo de esta actividad para los extractos de frutos. La actividad antioxidante de las raíces fue superior a la de los frutos.

En otras especies, dentro del mismo género, Issa y Abd-Aljabar (2013), evaluaron por varios métodos la actividad antioxidante para diferentes extractos de fruta de *M. nigra* L. (etanólicos, flavonoide, antocianina y pigmento aislado) y reportaron que el extracto etanólico de las frutas exhibió mayor capacidad antioxidante total, evaluada por el ensayo del radical fosfomolibdato, seguido del extracto de flavonoide. Los autores plantearon que esta mayor actividad se debe a la presencia de compuestos fenólicos con propiedades redox, que les permitió actuar como agentes reductores, donantes de hidrógeno y extintores de oxígeno en estado de singlete.

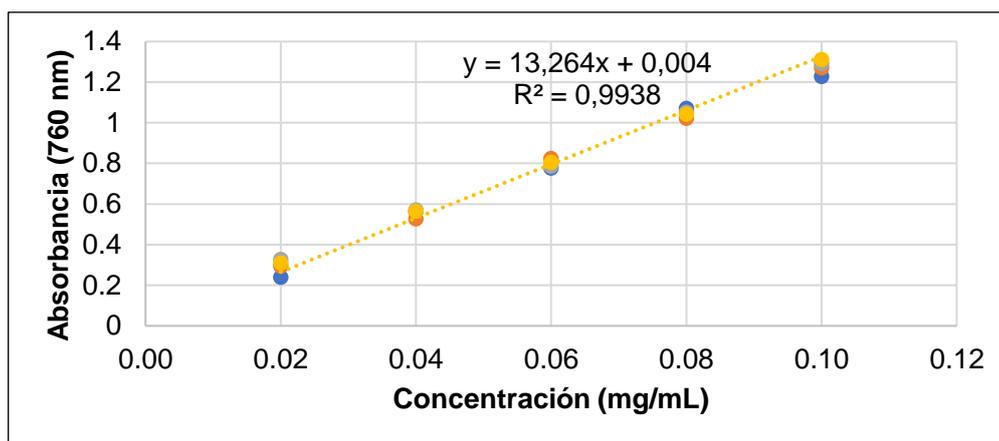
Diferentes estudios han indicado también que la capacidad de donación de electrones de los compuestos bioactivos está asociada con la actividad antioxidante lo que contribuye a reducir los intermedios oxidados de los procesos de peroxidación de lípidos, de modo que puedan actuar como antioxidantes primarios y secundarios (Lee *et al.*, 2015). En nuestra investigación, los extractos de las variedades evaluadas demostraron capacidad donadora de electrones, por lo tanto, pueden actuar como terminadores de la cadena radical y transformar especies reactivas de los radicales libres en productos no reactivos más estables.

### **3.3.2 Contenido de fenoles totales (FT)**

Una técnica para la estimación de fenoles totales en muestras vegetales muy utilizada es la reacción con el reactivo de Folin-Ciocalteu. El fundamento de la reacción está basado en la habilidad de los compuestos fenólicos de auto-oxidarse

con el fin de reducir la mezcla de ácidos a un complejo azul, cuantificable espectroscópicamente (Ocampo *et al.*, 2014).

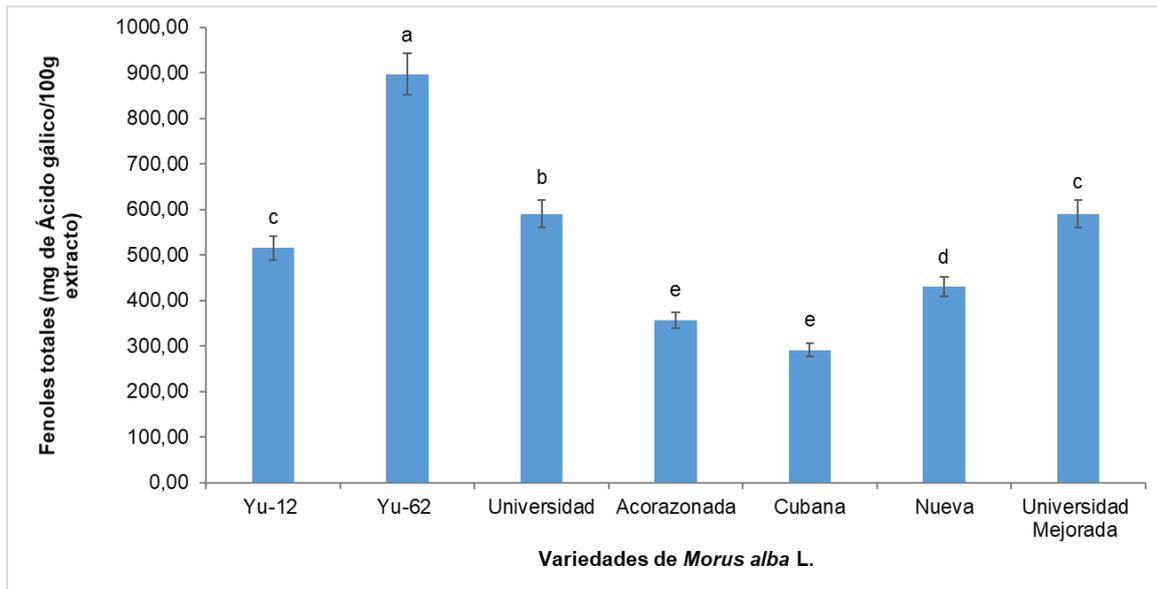
La curva de calibración realizada con el objetivo de poder expresar las mediciones obtenidas de los extractos de cada variedad como equivalentes de un compuesto de referencia, en este caso, ácido gálico, mostró un coeficiente de correlación de 0,9938 como se muestra en la figura 10.



**Figura 10.** Curva de calibración de ácido gálico para la determinación del contenido de fenoles totales.

El contenido de fenoles totales (FT) de los extractos, expresados en mg de ácido gálico/100g de extracto, oscilaron entre 291,52 y 897,17 mg de ácido gálico/100g de extracto (figura 11). Los niveles más altos se encontraron en la variedad Yu-62, seguido de la Universidad, Universidad mejorada, Yu-12, Nueva, Acorazonada y la variedad Cubana, en ese orden de significación.

A partir del análisis estadístico se encontraron diferencias significativas entre las variedades en cuanto al contenido de fenoles totales.



a, b, c, d, e: letras diferentes indican diferencias significativas para  $p < 0,05$  Prueba de Duncan).

**Figura 11.** Contenidos de fenoles totales en los extractos etanólicos de frutos de siete variedades de *M. alba* L.

Los resultados obtenidos en este estudio son similares a los reportados por otros autores. Jin *et al.* (2017) informaron que el contenido de fenoles totales (FT) en las frutas de *M. alba* L. osciló entre 0,67-7,70 mg de ácido gálico/g peso fresco, (equivalente a 67-770 mg de ácido gálico/100g de peso fresco) mientras que según Farahani *et al.* (2019) se obtuvieron 134,73-922,64 mg de ácido gálico/100g peso fresco. De igual forma, se corresponden a los reportados por Natić *et al.* (2015) para otras variedades de morera cultivadas en el norte de Serbia, donde obtuvieron un contenido de FT que osciló entre 43,84 y 326,29 mg de ácido gálico/100g de peso fresco. Sin embargo, en otros estudios se reportan contenidos de FT inferiores a los presentados en esta tesis. Ercisli y Orhan (2007) informaron para moreras de origen turco (*M. alba* L.), un contenido de FT de 181 mg de ácido gálico/100g de peso fresco, contenido inferior a las especies *M. nigra* L. y *M. rubra* L. Además, Lou *et al.* (2012) encontraron que el contenido de FT en la fruta de morera (*M. alba* L.)

varió de 185 a 344 mg de ácido gálico/100 mg de peso fresco. Estos autores refieren que, en las frutas con color rojo, los compuestos fenólicos aumentan en las etapas finales de la maduración de la fruta, lo que se debe a la acumulación máxima de flavonoles y antocianinas.

Sin embargo, en otras investigaciones, se encontraron valores más altos de FT que en las variedades de esta investigación. Lin y Tang (2007) e Imran, *et al.* (2010) reportaron FT en la fruta de morera con una variación entre 1516,0 y 1650,0 mg de ácido gálico/100g peso fresco, respectivamente para ambos estudios. Sánchez-Salcedo *et al.* (2015), informaron un contenido fenólico total para diferentes clones de *M. alba* L. cultivados en España con una variación de 7,7 a 11,2 mg de ácido gálico/g peso fresco, equivalente a 770-1120 mg de ácido gálico/g de peso fresco, contenido que fue más bajo que los encontrados en los clones de *M. nigra* L. La autora refiere que las diferencias genéticas, el medio ambiente y las etapas de madurez influyen en los compuestos fenólicos de la fruta y en la síntesis de otros metabolitos secundarios y que, además, la variación puede estar asociada con los métodos de extracción.

Según indicó Dhiman *et al.* (2019), existe gran variación en cuanto a la concentración de metabolitos secundarios en las diferentes partes de las plantas, pues no presentan un patrón de máxima producción ni órganos especiales de almacenaje. En estudios realizados en Cuba, Prieto (2015) reportó que en los extractos etanólicos de las hojas de tres variedades de *M. alba* L. (Tigreada, Universidad y Yu-62), hubo presencia de compuestos fenólicos y que la variedad Yu-62 fue la de mayor concentración, superior a 0,600 g de ácido gálico/100g de extracto. Por otra parte, García (2003) detectó altos contenidos de fenoles totales mediante métodos cualitativos en las hojas de la variedad Tigreada y se reportó por

Sande *et al.* (2016) en el estudio de 11 variedades de *M. alba* L. (Cubana, Indonesia, IZ 13/6, IZ 15/7, IZ 40, IZ 56/4, IZ 64, Murcia, Tigreada, Universidad, Yu-12 y Yu-62), que los extractos etanólicos de las raíces presentaron las mayores concentraciones de compuestos fenólicos (9,85 g de ácido gálico/100g de extracto), seguido por los extractos acuosos y por último los extractos hexánicos. Al comparar, los contenidos de fenoles totales de los extractos etanólicos de hojas, frutos y raíz de los estudios realizado en Cuba, se aprecia un mayor contenido de fenoles totales en las raíces, seguida las hojas y por último los frutos. De manera similar Sánchez-Salcedo (2017), reportó en el estudio realizado para diferentes clones de *M. alba* L. y *M. nigra* L. en España, que el contenido de FT en hojas fue superior al de los frutos y que los FT fueron superior en la especie *M. nigra* L.

Los fenoles se conocen como los compuestos responsables del aroma y color de muchas frutas. Esto se debe a que durante el proceso de maduración se acumulan en las vacuolas muchos compuestos secundarios productos del metabolismo de los fenilpropanoides, entre ellos, pigmentos, antocininas, flavonoides y fenoles. Gol *et al.* (2009) reportaron una variación en el contenido de antocianinas en frutos de morera de 2,80 mg/100 g en la etapa juvenil a 31,85 mg/100 g en la etapa de post-maduración. Este aumento estuvo acompañado de un incremento en el contenido de azúcares solubles, azúcares reductores y fenoles totales durante la etapa de maduración de los frutos. Es por ello que pequeños cambios en el metabolismo de los fenoles, que impliquen un incremento de estas moléculas, podría afectar severamente muchos procesos esenciales para el crecimiento normal y el desarrollo de las plantas (Jyothi *et al.*, 2014).

A pesar de las diferencias existentes en los contenidos de fenoles totales de las variedades en estudio, los resultados de esta investigación mostraron que los frutos

de morera podrían ser buenas fuentes de constituyentes fenólicos y merecen una atención especial centrada en el estudio de su perfil fitoquímico debido a sus propiedades beneficiosas para la salud.

La presencia de compuestos fenólicos, incluidas las antocianinas, los flavonoides y los ácidos fenólicos puede contribuir de forma y proporción diferente en la actividad antioxidante de las frutas y se ha demostrado la existencia de altas correlaciones entre estos indicadores (Rodrigues *et al.*, 2019; Belwal *et al.*, 2019).

### **3.3.3 Correlación entre la capacidad antioxidante total, el contenido de fenoles totales, de antocianinas y de vitamina C de los extractos etanólicos de frutos de *M. alba* L.**

Numerosos estudios han reportado la correlación existente entre la actividad antioxidante *in vitro* con el contenido de compuestos fenólicos y otras sustancias secuestradoras de radicales libres (Koss *et al.*, 2019). Sin embargo, Stinco *et al.* (2015) destacaron que los resultados de muchas variables que se correlacionan pueden variar, ya que dependerá de varios factores, como el tipo de compuesto, la estructura química, los efectos sinérgicos y las condiciones específicas aplicadas. Con respecto a ello, se pudo encontrar (tabla 9) que la correlación fue altamente significativa ( $p < 0,01$ ) y positiva entre los indicadores capacidad antioxidante total (CAT) y los fenoles totales (FT) ( $r=0,621$ ); así como para la CAT y el contenido de vitamina C ( $r=0,723$ ).

También se determinó que correlación positiva ( $p < 0,05$ ) entre los FT y antocianinas ( $r=0,436$ ), al igual que para esta última variable y el contenido de vitamina C ( $r=0,523$ ).

**Tabla 9.** Matriz de correlaciones.

Indicador	CAT	FT	Antocianinas	Vitamina C
CAT	-			
FT	0,621**	-		
Antocianinas	0,231	0,436*	-	
Vitamina C	0,723**	0,523*	0,289	-

\*\*  $p < 0,01$ \*  $p < 0,05$ 

Estos resultados se corresponden con lo reportado por Farahani *et al.* (2019). Por otro lado, Krishna *et al.* (2018) encontraron una correlación positiva entre el contenido de antocianinas con la capacidad antioxidante medida por CUPRAC (capacidad antioxidante de reducción del ión cúprico) de 0,95 y el FRAP (ensayo del poder reductor férrico) de 0,96. Asimismo, informaron una alta y positiva correlación entre el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante (0,88 para CUPRAC y FRAP, respectivamente).

Varios autores han reportado una correlación alta y positiva entre el contenido de fenoles totales, antocianinas y la actividad antioxidante total. Natić *et al.* (2015) informaron buena correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante, evaluada mediante el ensayo del poder reductor (PR) y el método de actividad de eliminación del radical anión superóxido (SAS), con una correlación de 0,838 y 0,933, respectivamente. Sin embargo, la correlación fue moderada cuando se evaluó con el método de habilidad de quelación metales (MCA) y ninguna correlación con el ensayo del radical 2,2 difenil-1-picrilhidracil (DPPH').

De manera similar, Shivashankara *et al.* (2010) reportaron una fuerte correlación entre las antocianinas y la capacidad antioxidante medida por el ensayo del poder reductor férrico (FRAP), atribuido a la presencia de antocianinas como principal responsable de la mayor actividad antioxidante. Sin embargo, los autores

obtuvieron que la capacidad antioxidante, evaluada por el ensayo de captación de radicales DPPH<sup>\*</sup>, mostró una mejor relación con el ácido ascórbico que cualquiera de los restantes fenólicos.

Kobus-Cisowska *et al.* (2020) en el estudio del potencial antioxidante y la composición principal de polifenoles en diferentes extractos de frutos de *M. alba* L., informaron que los extractos de acetona presentaron alta capacidad de eliminación de radicales DPPH<sup>\*</sup> y una correlación positiva entre el efecto antioxidante DPPH<sup>\*</sup> y los flavonoides totales ( $r=0,63$ ), rutina ( $r=0,69$ ) y ácido ferúlico ( $r=0,78$ ). Estos autores refieren que la actividad antioxidante de los polifenoles puede dar como resultado propiedades redox, que desempeñan el papel de agentes reductores o donantes de átomos de hidrógeno. En consecuencia, pueden actuar como constituyentes de quelatos metálicos o pueden eliminar los radicales libres (Zhang *et al.*, 2018).

En otras especies dentro del mismo género también se han reportado la existencia de correlaciones positivas entre la actividad antioxidante y el contenido de flavonoides y compuesto fenólicos. Hosseini *et al.* (2018) encontraron en el estudio realizado con frutos de *M. nigra* L. una correlación positiva entre el contenido de flavonoides y los compuestos fenólicos ( $r=0,94$ ). Además, la actividad antioxidante mostró correlaciones positivas con el contenido de compuestos fenólicos ( $r=0,80$ ) y el contenido de flavonoides ( $r=0,80$ ).

Por otro lado también, se ha reportado que, dentro de los compuestos fenólicos, los ácidos fenólicos constituyen fitoquímicos con marcada influencia en la capacidad antioxidante de las frutas y verduras. Estos ácidos actúan como inhibidores de la generación de radicales libres, pues son capaces de aumentar la actividad catalítica

de las enzimas endógenas que participan en la neutralización de los radicales libres (Jin *et al.*, 2017).

Según los resultados obtenidos en esta investigación, las variedades de *M. alba* L. no mostraron un comportamiento similar de actividad antioxidante según los diferentes métodos evaluados. Aspecto que, puede atribuirse a que cada componente fenólico puede contribuir de forma y proporción diferente con la actividad antioxidante y que la correlación no solo depende de la concentración y la calidad antioxidante, sino también de su interacción con otros metabolitos presentes en los extractos. Sin embargo, se demuestra una correlación positiva entre los indicadores en estudio y una marcada actividad antioxidante en todas las variedades debido al elevado contenido de antocianina (cianidina-3-glucósido), vitamina C, así como de otros metabolitos secundarios.

La actividad antioxidante es la principal línea de defensa contra los radicales libres formados como subproducto del metabolismo celular. La amplia gama de antioxidantes que se encuentran en los frutos de morera significa que pueden neutralizar estos radicales libres, por lo que resulta beneficioso para la salud humana y animal. Además de posibilitar formas nuevas y seguras de antioxidantes naturales para ser incorporados en alimentos funcionales y nutraceuticos.

## CONCLUSIONES

- La variedad Yu-62 mostró los valores más elevados en la mayoría de las propiedades físicas y químicas estudiadas.
- Los extractos etanólicos de los frutos de *M. alba* L. de todas las variedades contienen una amplia diversidad de metabolitos, entre ellos, esteroides, esteroles, terpenos, triterpenos, saponinas y flavonoides.
- Los frutos de *M. alba* L. presentan elevados contenidos de antocianinas y vitamina C. La variedad Yu-62 presentó las mayores concentraciones de estos compuestos.
- Los extractos etanólicos presentaron elevada actividad antioxidante, lo cual está fuertemente correlacionado con el alto contenido de fenoles totales, de antocianinas y de vitamina C presentes en los frutos.
- Los frutos de *M. alba* L. constituyen antioxidantes naturales debido a la presencia de fitoquímicos y compuestos bioactivos con efectos biológicos y farmacológicos importantes en la nutrición y la salud animal, por lo que podría considerarse su inclusión en cualquier tipo de dieta.

## RECOMENDACIONES

- Determinar el contenido de proteínas, carbohidratos solubles totales y azúcares reductores en todas las variedades.
- Realizar nuevas investigaciones con énfasis en la determinación de otras actividades biológicas que puedan estar relacionadas con mecanismos antioxidantes de los frutos de *M. alba* L.
- Estudiar *in vivo* la toxicidad de los extractos de frutos de morera.
- Promover la plantación a gran escala de las especies de *M. alba* L. a partir de las potencialidades que presentan sus frutos para prevenir numerosas enfermedades provocadas por exceso de radicales libres tanto en animales como en el hombre.
- Utilizar la información de esta tesis como material de consulta en futuras investigaciones y para estudiantes de pregrado y posgrado.

## NOVEDAD CIENTÍFICA

- Es la primera vez que se reporta en Cuba un estudio comparativo desde el punto de vista físico, químico, bromatológico y antioxidante de los frutos de diferentes variedades de *M. alba* L.
- Se aportan nuevos conocimientos para la explotación integral de *M. alba* L. como planta multipropósito y de interés para la alimentación y la salud animal y humana.
- Se asientan las bases para la realización de futuras investigaciones en las que se incluyan los frutos de morera.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbasi, A. M.; Khan, M. A.; Ahmad, M.; Munir, M.; Zafar, M.; Sultana, S.; & Ullah, Z. Ethnobotanical and taxonomic screening of genus *Morus* for wild edible fruits used by the inhabitants of Lesser Himalayas-Pakistan. *Journal Medicals Plants Res.* 8(25):889-898, 2014. <https://doi.org/10.5897/JMPR2010.733>.
- Agusfina, M.; Saputri, F. C.; Sakti, A. S. & Mun'im, A. Difference of Acidic Adding Effect in Ethanol Extraction of White Mulberry Stem Bark (*M. alba* L.) and DPP-4 Inhibiting Activity Screening for Identifying its Antidiabetic Potential. *Pharmacogn J.* 11(4):2019. <https://doi.org/10.5530/pj.2019.11.126>.
- Aljane, F. & Sdiri, N. Morphological, phytochemical and antioxidant characteristics of white (*Morus alba* L.), red (*Morus rubra* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry fruits grown in arid regions of Tunisia. *Journal New Sci.* 35 (1):1940–1947, 2016.
- Altuntas, E. The Volumetrical, Geometrical and Frictional Properties of White Mulberry (*M. alba* L.) Fruits. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology.* 4(11):987-990, 2016. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v4i11.987-990.932>.
- AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, USA: Association of Official Analytical Communities, 2000.
- Balik, A.; Gecer, M. K. & Aslantaş, R. Diversity of biochemical content in fruits of some indigenous mulberry genotypes. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry.* 43(1):28-35, 2019. <http://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/>.
- Bao, T.; Xu, Y.; Gowd, V.; Zhao, J.; Xie, J.; Liang, W. & Chen, W. Systematic study on phytochemicals and antioxidant activity of some new and common mulberry cultivars in China. *J. Functional Foods.* 25:537–547, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.07.001>.
- Barbour, J. R.; Ralph, A. R. & Robert L. B. *Morus* L, Mulberry. *Woody Plant Seed Manual.* p 728-732, 2008.
- Barrios, M.; Sandoval, E.; Camacaro, O. & Borges, J. Importancia del fósforo en el complejo suelo-animal. *Mundo Pecuario.* 6(2):151-156, 2010.

- Belwal, T.; Pandey, A.; Bhatt, I. D.; Rawal, R. S & Luo, Z. Trends of polyphenolics and anthocyanins accumulation along ripening stages of wild edible fruits of Indian Himalayan region. *Scientific Reports*.1-11, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42270-2>.
- Bhatt, I. D; Rawat, S.; Badhani, A. & Rawal, R. S. Nutraceutical potential of selected wild edible fruits of the Indian Himalayan region. *Food Chemistry*. 215: 84-91, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.143>.
- Bhutia, K. D.; Suresh, C. P.; Pala, N. A.; Gopal, G. & Chakravarty, S. Nutraceutical potential of some wild edible fruits of Sikkim, Himalaya, India. *Ethno Med*. 12 (2):106-112, 2018. DOI: <http://doi.org/10.1080/09735070.2017.1421132>.
- Borrego-Corchado, C. *Evolución de compuestos de interés biológico en moras a lo largo de la maduración del fruto*. Tesis presentada en opción del título de Máster en Agroalimentación: Facultad de Ciencias, Universidad de Cadiz. España, 2018. <http://hdl.handle.net/10498/21185>.
- Buchanan, B. B.; Gruissem, W. & Jones, R. L., Eds. *Biochemistry and molecular biology of plants*. 2nd ed. New Jersey, USA: John Wiley & Sons, 2015.
- Butt, M. S.; Nazir, A.; Sultan M. T. & Schroen K. *M. alba* L. nature's functional tonic. *Trends Food Sci Tech*. 19:505-12, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.06.002>.
- Cappelozza, L. Mulberry germplasm resources in Italy. *Animal production and Health Paper No. 147*. Rome: FAO, 2002.
- Carocho, M.; Morales, P. & Ferreira, I. C. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. *Trends in food science & technology*. 71:107-120, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.008>.
- Cásedas, G.; Les, F.; Gómez-Serranillos, M. P.; Smith, C. & López, V. Anthocyanin profile, antioxidant activity and enzyme inhibiting properties of blueberry and cran berry juices: A comparative study. *Food and Function*. 8(11):4187–4193, 2017. <https://doi.org/10.1039/C7FO01205E>.
- Chan, E. W.; Lye, P. Y. & Wong, S. K. Phytochemistry, pharmacology, and clinical trials of *M. alba*. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 14:17-30, 2016. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1009.2016.00017>.

- Chen, H.; Chen, J.; Yang, H.; Chen, W.; Gao, H. & Lu, W. Variation in total anthocyanin, phenolic contents, antioxidant enzyme and antioxidant capacity among different mulberry (*Morus sp.*) cultivars in China. *Scientia Horticulturae*. 213:186-192, 2016a. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.10.036>.
- Chen, H.; Pu, J.; Liu, D.; Yu, W.; Shao, Y. & Yang, G. Anti-Inflammatory and antinociceptive properties of flavonoids from the fruits of black mulberry (*Morus nigra* L.). *PLoS ONE*. 11: e0153080, 2016b. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153080>.
- Chen, H.; Yu, W.; Chen, G.; Meng, S.; Xiang, Z. & He, N. Antinociceptive and antibacterial properties of anthocyanins and flavonols from fruits of black and non-black mulberries. *Int. J. Mol. Sci.* 20:301, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules23010004>.
- Chen, P. N.; Chu, S. C.; Chiou, H. L.; Kuo, W. H.; Chiang, C. L. & Hsieh, Y. S. Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line. *Cancer Letters*. 235(2):248-259, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2005.04.033>.
- Choi, K. H.; Lee, H. A.; Park, M. H. & Han, J. S. Mulberry (*M. alba* L.) fruit extract containing anthocyanins improves glycemic control and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic C57BL/Ksj-db/db mice. *Journal of Medicinal Food*, 19(8):737–745, 2016. <http://doi.org/10.1089/jmf.2016>.
- Ciancaglini, P.; Santos, H. L.; Daghestanli, K. R. & Thedei Jr. G. Using a classical method of vitamin C quantification as a tool for discussion of its role in the body. *Biochemistry and Molecular Biology Education*. 29(3):110-114, 2001. [https://doi.org/10.1016/S1470-8175\(01\)00039-X](https://doi.org/10.1016/S1470-8175(01)00039-X).
- Cifuentes, C. A. & Sohn, K. W. Manual Técnico de Sericultura: cultivo de la morera y cría del gusano de seda en el trópico. Convenio Sena-Cdts, Colombia. p. 438, 1998.
- COVENIN. Determinación de acidez en frutas y productos derivados. 151-177, 1981.

- Dhiman, S.; Kumar, V.; Mehta, C. M.; Gat, Y. & Kaur, S. Bioactive compounds, health benefits and utilisation of *Morus spp.* A comprehensive review. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 00:1-11, 2019. <https://doi.org/10.1080/14620316.2019.1644969>.
- Díaz-Solares, M.; Cazaña-Martínez, Y.; Pérez-Hernández, Y.; Valdivia-Ávila, A.; Prieto-Abreu, M. & Lugo-Morales, Y. Evaluación cualitativa de metabolitos secundarios en extractos de variedades e híbridos de *M. alba* L.(morera). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 20(3):358-366, 2015.
- Dimitrova, M. P.; Petkova, N. Tr.; Denev, P. P. & Aleksieva, I. N. Carbohydrate Composition and Antioxidant Activity of Certain *Morus* Species. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 7:621-627, 2015. <https://www.researchgate.net/publication/277882553>.
- Du, Q.; Zheng, J. & Xu, Y. Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidant activity. *J. Food Compost Anal*. 21:390-395, 2008.
- Duncan, D. Multiple Range Tests and Multiple F Test. *Biometrics*, 11(1): 1-42, 1955.
- Eo, H. & Lim, Y. Combined mulberry leaf and fruit extract improved early stage of cutaneous wound healing in high-fat diet-induced obese mice. *J. Med. Food*. 19:161-169, 2015. <https://doi.org/10.1089/jmf.2015.3510>.
- Ercisli, S. & Orhan, E. Chemical composition of white (*Morus alba* L.), red (*Morus rubra* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry fruits. *Food Chem*. 3:1380-1384, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.054>.
- Ercisli, S. & Orhan, E. Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey. *Scientia Horticulturae*. 116(1):41–46, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.10.021>..
- Espada-Bellido, E.; Ferreiro-González, M.; Carrera, C.; Palma, M.; Barroso, C. G. & Barbero, G. F. Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra* L.) pulp. *Food Chemistry*. 219:23-32, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.122>.

- Eyduran, S. P.; Ercisli, S.; Akin, M.; Beyhan, O.; Gecer, M. K.; Eyduran, E. Organic acids, sugars, vitamin C, antioxidant capacity, and phenolic compounds in fruits of white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry genotypes. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 88:134-138, 2015. <http://dx.doi.org/10.5073/jabfq.2015.08>.
- Farahani, M.; Salehi-arjmand, H.; Khadivi, A. & Akramian, M. Scientia Horticulturae Chemical characterization and antioxidant activities of *Morus alba* var. nigra fruits. *Scientia Horticulturae.* 253:120-127, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.040>.
- Fenech, M.; Amaya, I.; Valpuesta, V. & Botella, M. A. Vitamin C content in fruits: biosynthesis and regulation. *Frontiers in plant science.* 9, 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.02006>.
- García, D.E. *Efecto de los principales factores que influyen en la composición fitoquímica de M. alba* (Linn). Tesis presentada en opción al título de Master en Pastos y Forrajes. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba, 2003.
- Gecer, M. K.; Akin, M.; Gundogdu, M.; Eyduran, S. P.; Ercisli, S. & Eyduran, E. Organic acids, sugars, phenolic compounds, and some horticultural characteristics of black and white mulberry accessions from Eastern Anatolia. *Can. J. Plant Sci.* 96:27-33, 2016. <https://doi.org/10.1139/cjps-2015-0070>.
- Ghasemnezhad, T. R.; Homayoun, M.; Mansouri, S.; Soukhtanloo, M.; Soleymanifard, S. & Seghatoleslam, M. Radio protective effect of black mulberry extract on radiation-induced damage in bone marrow cells and liver in the rat. *Radiation Physics and Chemistry.* 130:297-302, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.08>.
- Gol, N. B.; Ramana-Rao, T. V. & Patel, P. R. Certain biochemical changes associated with the growth and ripening of mulberry (*M. alba* L.) fruit. *Journal of Pure and Applied Sciences.* 17: 58-64, 2009.
- Gu, P. S.; Moon, M.; Choi, J. G. & Oh, M. S. Mulberry fruit ameliorates Parkinson's-disease-related pathology by reducing  $\alpha$ -synuclein and ubiquitin levels in a 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine/probenecid model. *J. Nut. Biochem.* 39:15-21, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio>.

- Gündeşli, M.A., Korkmaz, N., Okatan, V. Polyphenol content and antioxidant capacity of berries: A review. *Int. J. Agric. For. Life Sci.* 3(2): 350-361, 2019. <https://dergipark.org.tr/en/pub/ijafils/issue/47015/649812>.
- Gundogdu, M.; Canan, I.; Gecer, M. K.; Kan, T. & Ercisli, S. Phenolic compounds, bioactive content and antioxidant capacity of the fruits of mulberry (*Morus* spp.) germplasm in Turkey. *Folia Horticulturae.* 29 (2):251-262, 2017. <https://doi.org/10.1515/fhort-2017-0023>.
- Gundogdu, M.; Muradoglu, F.; Gazioglu-Sensoy, R. I. & Yilmaz, H. Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC. *Sci. Hortic.* 132:37-41, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta>.
- Gundogdu, M.; Tunçtürk, M.; Berk, S.; Şekeroğlu, N. & Gezici, S. Antioxidant Capacity and Bioactive Contents of Mulberry Species from Eastern Anatolia Region of Turkey. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research.* 52(4):96-101, 2018. <https://doi/10.5530/ijper.52.4s.82>.
- Hashemi, S. & Khadivi, A. Scientia Horticulturae Morphological and pomological characteristics of white mulberry (*Morus alba* L.) accessions. *Scientia Horticulturae.* 259:108827, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108827>.
- Hernández-Jiménez, A.; Pérez-Jiménez, J. M.; Bosch-Infante, D. & Castro-Speck, N. Clasificación de los suelos de Cuba 2015. Mayabeque, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Instituto de Suelos, *Ediciones INCA*, 2015.
- Hosseini, A. S., Akramian, M., Khadivi, A. & Salehi-Arjmand, H. Phenotypic and chemical variation of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes. *Industrial Crops and Products.* 117:260–271, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.007>.
- Hsu, L. S.; Ho, H. H.; Lin, M. C.; Chyau, C. C.; Peng, J. S. & Wang, C. J. Mulberry water extracts (MWEs) ameliorated carbon tetrachloride-induced liver damages in rat. *Food Chem. Toxicol.* 50 (9):3086-3093, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.05.055>.
- Huang, T. T.; Liu, F. G.; Wei, C. F.; Lu, C.C.; Chen, C.C.; Lin, H.C.; Ojcius, D.M. & Lai, H. C. Activation of multiple apoptotic pathways in human nasopharyngeal carcinoma cells by theprenylated isoflavone, osajin. *PLoS One.* 6(4), 2011.

- Hussain, F.; Rana, Z.; Shafique, H. & Hussain, Z. Phytopharmacological potential of different species of *M. alba* and their bioactive phytochemicals: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 7(10):950-6, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.09.015>.
- Ighodaro, O. M. & Akinloye, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*. 54 (4):287-293, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.
- Imran, M.; Khan, H.; Shah, M.; Khan, R. & Khan, F. Chemical composition and antioxidant activity of certain *Morus* species. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 11 (12):973-980, 2010. DOI: <http://doi.org/10.1631/jzus.B1000173>.
- Iqbal, S.; Younas, U.; Sirajuddin; Chan, K. W.; Sarfraz, R. A. & Uddin, K. Proximate composition and antioxidant potential of leaves from three varieties of mulberry (*Morus* sp.): a comparative study. *Int. J. Mol. Sci*. 13:6651-6664, 2012.
- Issa, Najlaa K. & Abd-Aljabar, R. S. Evaluation of antioxidant properties of *Morus nigra* L. fruit extracts (II). *Jordan Journal of Biological Sciences*. 6 (4):258-265, 2013. DOI: <https://doi.org/10.12816/0001623>. <https://doi.org/10.12816/0001623>.
- Jiang, Y. & Nie, W. J. Chemical properties in fruits of mulberry species from the Xinjiang province of China. *Food Chem*. 174:460-466, 2015. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.083>.
- Jiao, Y.; Wang, X.; Jiang, X.; Kong, F.; Wang, S. & Yan, C. Antidiabetic effects of *M. alba* fruit polysaccharides on high-fat diet and streptozotocin-induced type 2 diabetes in rats. *J. Ethnopharmacol*. 199:119-127, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.003>.
- Jin, Q.; Yang, J.; Ma, L.; Wen, D.; Chen, F. & Li, J. Journal of Food Composition and Analysis Identification of polyphenols in mulberry (genus *Morus*) cultivars by liquid chromatography with time of flight mass spectrometer. *Journal of Food Composition and Analysis*. 63:55-64, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.07.005>.
- Jung, S.; Lee, M. S.; Choi, A. J.; Kim, C. T. & Kim, Y. Anti-Inflammatory Effects of High Hydrostatic Pressure Extract of Mulberry (*Morus alba*) Fruit on LPS-

- Stimulated RAW264. 7 Cells. *Molecules*. 24(7):1425, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24071425>.
- Jyothi, M. M.; Pratap, T. N. & Thimma, S. Studies on biochemical constituents of different genotypes of *M. alba*. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 5(2):835, 2014.
- Kadam, R. A.; Dhumal, N. D. & Khyade, V. B. The mulberry, *Morus alba* (L.): the medicinal herbal source for human health. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 8 (4):2941-2964, 2019. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.804.341>.
- Kang, T. H.; Hur, J. Y.; Kim, H. B.; Ryu, J. H. & Kim, S. Y. Neuroprotective effects of the cyanidin-3-O- $\beta$ -d-glucopyranoside isolated from mulberry fruit against cerebral ischemia. *Neuroscience Letters*. 139 (3):122-126, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.08.053>.
- Khalifa, I.; Zhu, W.; Li, K. & Li, C. Polyphenols of mulberry fruits as multifaceted compounds: Compositions, metabolism, health, and stability — A structural review. *Journal of Functional Foods*. 40:28-43, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.10.041>
- Khan, T.; Ali, M.; Khan, A.; Nisar, P.; Ahmad, S.; Afridi, S.; and Khan, Z. Anticancer Plants: A Review of the Active Phytochemicals, Applications in Animal Models, and Regulatory Aspects. *Biomolecules*. 10 (47): 2-30, 2020. <https://doi.org/10.3390/biom10010047>.
- Kim, H. G.; Ju, M. S.; Shim, J. S.; Kim, M. C.; Lee, S. H.; Huh, Y. & Oh, M. S. Mulberry fruit protects dopaminergic neurons in toxin-induced Parkinson's disease models. *British Journal of Nutrition*. 104(1):8–16, 2010. <http://doi.org/10.1017/s0007114510000218>.
- Kim, S. B.; Chang, B. Y.; Jo, Y. H.; Lee, S. H.; Han, S.B. & Hwang, B. Y. Macrophage activating activity of pyrrole alkaloids from *M. alba* fruits. *J. Ethnopharmacol.* 145:393-396, 2013.
- Kobus-Cisowska, J.; Szczepaniak, O.; Szymanowska-Powalowska, D.; Piechocka, J.; Szulc, P. & Dziedziński, M. Antioxidant potential of various solvent extract from *Morus alba* fruits and its major polyphenols composition. *Ciência Rural*. 50(1): 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr201903>.

- Koss-Mikołajczyk, I.; Kusznerewicz, B.; and Bartoszek, A.; The relation ship between phytochemical composition and biological activities of differently pigmented varieties of Berry fruits; comparison between embedded in food matrix and isolated anthocyanins. *Foods*. 8, 646, 2019. <https://doi.org/10.3390/foods8120646>.
- Kostić, E.; Arsić, B.; Mitić, M.; Dimitrijević, D.; Pecev- Marinkovic, E. Optimization of the Solid-Liquid Extraction Process of Phenolic Compounds from Mulberry Fruit. *Not Bot Horti Agrobo*. 47(3):629-633, 2019. <https://doi.org/10.15835/nbha47311419>.
- Krishna, H.; Singh, D.; Singh, R. S.; Kumar, L.; Sharma, B. D. & Saroj, P. L. Morphological and antioxidant characteristics of mulberry (*Morus* spp.) genotypes. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.08.002>
- Kusano, G.; Orihara, S.; Tsukamoto, D.; Shibano, M.; Coskun, M. & Guvenc, A. Five new nortropane alkaloids and six new amino acids from the fruit of *Morus alba* Linn growing in Turkey. *Chem. Pharm. Bull.* 50:185-192, 2002.
- Kwon, O. C.; Ju, W. T.; Kim, H. B.; Sung, G. B. & Kim, Y. S. UPLC-DAD-QTOF/MS Analysis of flavonoids from 12 varieties of Korean Mulberry fruit. *Journal of Food Quality*. 1–8: 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/1528917>
- Lee, K. M.; Oh, T. J.; Kim, S. H.; Kim, H. Y.; Chung, H.; Min, D. S. Comprehensive metabolic profiles of mulberry fruit (*Morus alba* Linnaeus) according to maturation stage. *Food Sci. Biotechnol.* 25 (4):1035-1041, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0167-7>
- Lee, Y. & Hwang, K. T. Changes in physicochemical properties of mulberry fruits (*Morus alba* L.) during ripening. *Sci. Hortic., Amsterdam*. 217:189-196, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.042>.
- Lee, Y. C.; Lee, J. H.; Kim, S. D.; Chang, M. S.; Jo, I. S.; Kim, S. J.; Hwang, K. T.; Jo, H. B. & Kim, J. H. Chemical composition, functional constituents, and antioxidant activities of berry fruits produced in Korea. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 44:1295–1303, 2015. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.9.1295>.

- Li, F.; Chen, G. & Fu, X. Comparison of effect of gear juicer and colloid mill on microstructure, polyphenols profile, and bioactivities of mulberry (*Morus indica* L.). *Food and Bioprocess Technology*. 9 (7):1233-1245, 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-016-1715>.
- Liang, L.; Wu, X.; Zhu, M.; Zhao, W.; Li, F. & Zou, Y. Chemical composition, nutritional value, and antioxidant activities of eight mulberry cultivars from China. *Pharmacogn. Mag.* 8 (31):215-224, 2012. DOI: <http://doi.org/10.4103/0973-1296.99287>.
- Lin, J. Y., & Tang, C. Y. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry*. 101(1):140-147, 2007.
- Liu, X.; Xiao, G.; Chen, W.; Xu, Y. & Wu, J. Quantification and purification of mulberry anthocyanins with macroporous resins. *BioMed Research International*. (5):326–331, 2004.
- López-Alarcón, C. & Denicola, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*. 763:1-10, 2013.
- Lou, H.; Hu, Y.; Zhang, L.; Sun, P. & Lu, H. Non destructive evaluation of the changes of total flavonoid, total phenols, ABTS and DPPH radical scavenging activities: and sugars during mulberry (*M. alba* L.) fruit development by chlorophyll fluorescence and RGB intensity values. *Food Sci. Technol.* 47:19–24, 2012.
- Mahmood, T.; Anwar, F.; Abbas, M.; Boyce, M.C. & Saari, N. Compositional variation in sugars and organic acids at different maturity stages in selected small fruits from Pakistan. *Int. J. Mol. Sci.* 13(2):1380-1392, 2012.
- Mahmood, T.; Anwar, F.; Afzal, N.; Kausar, R.; Ilyas, S. & Shoaib, M. Influence of ripening stages and drying methods on polyphenolic content and antioxidant activities of mulberry fruits. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 11(4):2171–2179, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9602-6>

- Martín, G. J.; García, F.; Reyes, F.; Hernández, I.; González, T. & Milera, M. Estudios agronómicos realizados en Cuba en *Morus alba* L. *Pastos y Forrajes*. 23 (4):323-332, 2000.
- Martín, G.; Noda, Y.; Arias, Y.; Pentón, G.; Prieto, M.; Brunet, J. & Castañeda, L. Evaluation of the vegetative reproduction capacity of mulberry (*Morus alba* L.) varieties. *Pastos y Forrajes*. 37(2):217-21, 2014.
- Matsukawa, T.; Inaguma, T.; Han, J.; Villareal, M. O. & Isoda, H. Cyanidin-3-glucoside derived from black soybeans ameliorate type 2 diabetes through the induction of differentiation of preadipocytes into smaller and insulin-sensitive adipocytes. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 26:860-867, 2015.
- Mikulic-Petkovsek, M.; Schmitzer, V.; Slatnar, A.; Stampar, F. & Veberic, R. Composition of Sugars, Organic Acids, and Total Phenolics in 25 Wild or Cultivated Berry Species. *Journal of Food Science*. 77(10):1064–1070, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02896.x>
- Milera-Rodríguez, Milagros de la C. *Morera: un nuevo forraje para la alimentación del ganado*. La Habana, Cuba: Editorial Universitaria. p. 3-14, 2008.
- Minhas, M. A.; Begum, A.; Hamid, S.; Babar, M.; Ilyas, R.; Ali, S. Evaluation of antibiotic and antioxidant activity of *Morus nigra* L (black mulberry) extracts against soil borne, food borne and clinical human pathogens. *Pakistan J. Zoology*. 48 (5):1381-1388, 2016.
- Mittler, R. ROS are good. *Trends Plant Sci*. 22:11-19, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>.
- Nanasombat, S.; Yansodthee, K. and Jongjaited, I. Polyphenol content and antioxidant capacity of berries: A review. *Walailak J Sci & Tech*. 16(11): 851-866, 2019. <https://doi.org/10.48048/wjst.2019.3731>.
- Naowaratwattana, W.; De-Eknamkul, W. & De Mejia, E. G. Phenolic containing organic extracts of mulberry (*Morus alba* L.) leaves inhibit HepG2 hepatoma cells through G2/M phase arrest, induction of apoptosis, and inhibition of topoisomerase. *J. Med. Food*. 13:1045-1056, 2010.
- Natić, M. M.; Dabić, D.Č.; Papetti, A.; Fotirić Akšić, M. M.; Ognjanov, V.; Ljubojević, M. Analysis and characterisation of phytochemicals in mulberry (*Morus alba* L.)

- fruits grown in Vojvodina, North Serbia. *Food Chem.* 171:128-136, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.101>.
- Naude, A. & Nicol, W. Malic acid production through the whole-cell hydration of fumaric acid with immobilised *Rhizopus oryzae*. *Biochem. Eng. J.* 137:152-161, 2018.
- Negro, C.; Aprile, A.; De Bellis, L. & Miceli, A. Nutraceutical Properties of Mulberries Grown in Southern Italy (Apulia). *Antioxidants.* 8(7):223, 2019. <https://doi.org/10.3390/antiox8070223>.
- Noda, Y.; Martín, G. J. & Machado, R. Rendimiento y calidad bromatológica de *Morus alba* L. cosechada a diferentes alturas y frecuencias de defoliación. *Rev. cubana Cienc. agríc.* 41 (4):363-369, 2007.
- Nusrat, J.; Tabasum, F.; Tahiya, Q.; Gousia, G.; Gani, B.; Naseer, S. and Zameer, H. Pharmacological effects & quality parameters of *Morus* species: A review. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research.* 2(3): 01-04, 2018.
- Ocampo, D. M.; Valverde, C. L.; Colmenares, A. J. & Isaza, J. H. Fenoles totales y actividad antioxidante en hojas de dos especies colombianas del género *Meriania* (melastomataceae). *Revista Colombiana de Química.* 43(2):41-46, 2014. <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v43n2.53124>.
- Okatan, V. Phenolic compounds and phytochemicals in fruits of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from the Aegean region in Turkey. *Folia Horticulturae.* 30(1):93-101, 2018. <https://doi.org/10.2478/fhort-2018-0010>.
- Orhan, E. & Ercisli S. Pomological characteristics of selected promising mulberry genotypes (*Morus* sp.) from Northeast Anatolia. *J Food Agr.* 8(3&4): 898-901, 2010.
- Oroian, M. & Escriche, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International.* 74:10-36, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018>.
- Ozdemir, F. & Topuz, A. Some chemical composition of mulberries grown in Antalya. *Derim.* 15 (1):30–35, 1998.

- Padilha, M. M.; Vilela, F. C.; Rocha, C. Q.; Dias, M. J.; Soncini, R.; Santos, M. H. dos. Antiinflammatory properties of *Morus nigra* L. leaves. *Phytother. Res.* 24:1496-1500, 2010.
- Patel S, Chaubey MK, Das I, Pandey VN. Review on Bioactive and Antioxidant Potential of Coloured Fruits and Vegetables. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics.* 9(2):433-441, 2019. <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v9i2.2371>.
- Peña-Borrego, M. D.; Fermoselle-Cumbá, D.; Peña-Rueda, Y. F. & Bécquer-Granados, C. Análisis bibliométrico acerca de las investigaciones publicadas sobre *Morus alba* L. *Pastos y Forrajes*, 42 (1):81-87, 2019.
- Peng, C. H.; Liu, L. K.; Chuang, C. M.; Chyau, C. C.; Huang, C. N. & Wang, C.-J. Mulberry water extracts possess an anti-obesity effect and ability to inhibit hepatic lipogenesis and promote lipolysis. *J. Agric. Food Chem.* 59:2663-2671, 2011.
- Pentón-Fernández, G.; Martín-Martín, G. J.; Rivera-Espinosa, R.; Martín-Alonso, G. M.; Machado-Castro, R. & Herrera-Altuve, J. A. Efecto del intervalo de corte y el manejo de la nutrición en plantaciones de morera *Morus alba* (L.). I. Producción de forraje. *Pastos y Forrajes.* 39 (2):111-118, 2016.
- Pham, P. P.; Morales, N. P.; Pitaksuteepong, T. & Hemstapat, W. Antioxidant activity of mulberry stem extract: a potential used as supplement for oxidative stress-related diseases. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 39 (3):407-414, 2017.
- Phaniendra, A.; Jestadi, D. B. & Periyasamy, L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem.* 30 (1):11-26, 2015.
- Prieto Abreu, M. *Evaluación de tres variedades de M. alba en la crianza y producción del polihíbrido Chul Thai-6 de Bombyx mori*. Tesis presentada en opción al título académico de máster en Pastos y Forrajes. Universidad de Matanzas, Cuba, 2015.
- Rampadarath, S.; Puchooa, D. & Jeewon, R. *Jatropha curcas* L: Phytochemical, antimicrobial and larvicidal properties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 6(10):858-865, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.01.019>.

- Rapisarda, P.; Fanella, F. & Maccarone, E. Reliability of analytical methods for determining anthocyanins in blood orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(6): 2249-2252, 2000. <https://doi.org/10.1021/jf991157h>.
- Rodrigues, E. L.; Marcelino, G.; Silva, G. T.; Figueiredo, P. S.; Garcez, W. S.; Corsino, J. Nutraceutical and medicinal potential of the *Morus* species in metabolic dysfunctions. Review. *Int. J. Mol. Sci.* 20(2):301, 2019. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms20020301>.
- Rodríguez-Sánchez, S.; Hernández-Hernández, O.; Ruiz-Matute, A. I.; Sanz, M. L. A derivatization procedure for the simultaneous analysis of iminosugars and other low molecular weight carbohydrates by GC-MS in mulberry (*Morus* sp.). *Food Chem.* 126, 353-359, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.097>
- Rollando, R.; Kurniawan, C. D.; Nurdiani, R.; Yusnita, S.; Timur, W. & Moza, P. G. Simple and rapid method for isolating anthocyanin from wild mulberry (*Morus nigra* L.). *Jurnal farmasi sains dan komunitas*. 16 (1):13-18, 2019. <http://dx.doi.org/10.24071/jpsc.001675>
- Ruiz de la Torre, J. *Flora mayor*. Madrid: ICONA. Organismo Autónomo Parques Nacionales. Dirección General para la Biodiversidad. Madrid. pp. 581-585, 2006.
- Sadia, H.; Ahmad, M.; Sultana, S.; Abdullah, A. Z.; Teong, L.; Zafar, M. & Bano, A. Nutrient and mineral assessment of edible wild fig and mulberry fruits. *Fruits*. 69(2):159-166, 2014. <https://doi.org/10.1051/fruits/2014006>
- Sánchez-Salcedo, E. M. *Estudio de las propiedades físicas químicas de ocho clones de morera (Morus spp)*. Tesis presentada en opción del Título de Doctor en Ciencias. Universidad Miguel Hernández de Elche. España. 2017.
- Sánchez-Salcedo, E. M.; Calín-Sánchez, A.; Carbonell-Barrachina, A. A.; Melgarejo, P.; Hernández, F. & Martínez-Nicolás, J. J. Physicochemical characterisation of eight Spanish mulberry clones: Processing and fresh market aptitudes. *Int. J. Food Sci. Tech.* 49 (2):477-483, 2014. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12325>.
- Sánchez-Salcedo, E. M.; Mena, P.; García-Viguera, C.; Martínez, J. J. & Hernández, F. Phytochemical evaluation of white (*Morus alba* L.) and black

- (*Morus nigra* L.) mulberry fruits, and starting point for the assessment of their beneficial properties. *J. Funct. Foods.* 12:399-408, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.010>.
- Sande, D.; Solares, M. D.; Rodríguez, Y. E. M.; Cabrera, I. C.; Fonte, L. C.; Altunaga, N. P., & Takahashia, J. A. Roots from mulberries (*Morus alba* L) natural and hybrids varieties: phenolic contend and nutraceutical potential as antioxidant. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 6(11):63-69, 2016. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.601110>.
- Sarikaphuti, A.; Nararatwanchai, T.; Hashiguchi, T.; Ito, T.; Thaworanunta, S.; Kikuchi, K. *et al.* Preventive effects of *Morus alba* L. anthocyanins on diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Experimental and Therapeutic Medicine.* 6 (3):689-695, 2013. <https://doi.org/10.3892/etm.2013.1203>
- Shih, P. H.; Chan, Y. C.; Liao, J. W.; Wang, M. F. & Yen, G. C. Antioxidant and cognitive promotion effects of anthocyanin-rich mulberry (*Morus atropurpurea* L.) on senescence-accelerated mice and prevention of Alzheimer's disease. *J. Nut. Biochem.* 21 (7):598-605, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.03.008>
- Shivashankara K. S.; Jalikop S. H. & Roy, T. K. Species Variability for Fruit Antioxidant and Radical Scavenging Abilities in Mulberry. *International Journal of Fruit Science.* 10:355–366, 2010. <https://doi.org/10.1080/15538362.2010.530097>
- Silva-Mata, F. J.; Porro-Muñoz, D.; Talavera-Bustamante, I.; Hernández-González, N.; Vázquez-Vallejo, R. & Pérez-Pérez, Y. El procesamiento de imágenes de TLC como una nueva vía para la identificación de sustancias. *Revista Cubana de Química.* 25(3):295-306, 2013.
- Sirikanchanarod, A.; Bumrungpert, A.; Kaewruang, W.; Senawong, T. & Pavadhgul, P. The effect of mulberry fruits consumption on lipid profiles in hypercholesterolemic subjects: A randomized controlled trial. *J. Pharm. Nutr. Sci.* 60:7-14, 2016. <http://dx.doi.org/10.6000/1927-5951.2016.06.01.2>.
- Smeriglio, A.; Barreca, D.; Bellocco, E. & Trombetta, D. Chemistry, pharmacology and health benefits of anthocyanins. *Phytotherapy Research.* 30:1265-1286, 2016. <https://doi.org/10.1002/ptr.5642>

- Stinco, C. M.; Baroni, M. V.; Di Paola Naranjo, R. D.; Wunderlin, D. A.; Heredia, F.J.; Meléndez-Martínez, A. J. & Vicario, I. M. Hydrophilic antioxidant compounds in orange juice from different fruit cultivars: composition and antioxidant activity evaluated by chemical and cellular based (*Saccharomyces cerevisiae*) assays. *J. Food Compos. Anal.* 37:1–10, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.09.006>.
- Thi, N. D. & Hwang, E. S. Effects of black chokeberry extracts on metastasis and cell-cycle arrest in SK-Hep1 human liver cancer cell line. *Asian Pacific J. Trop. Biomed.* 8(6):285–291, 2018. <https://doi.org/10.4103/2221-1691.235313>
- Tongmai, J.; Chupeeruch, C.; Suttisansanee, U.; Chamchan, R.; Khemthong, C. & On-Nom, N. Development of anthocyanin-rich jelly by Thai mulberry (*Morus alba*) fruit powder. *Walailak Procedia.* 1: IC4IR.68, 2019. <http://wjst.wu.ac.th/index.php/wuresearch>
- Umamaheswari, M. & Chatterjee, T. K. In vitro antioxidant activities of the fractions of *Coccinia grandis* L. leaf extract. *Afr J Trad Compl Altern Med.* 5:61–73, 2008. <https://www.ajol.info/index.php/ajtcam/article/view/31258>.
- Uslu, N.; Doğu, S.; Ceylan, D.; Özcan, M. M. & Dursun, N. The effect of drying on total phenol, antioxidant activity, and mineral contents of white and black mulberry fruits. *J. Agroaliment. Processes Technol.* 23(1):31-35, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942910701558652>.
- Wagner, H. & Bladt, S. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. *Springer Science & Business Media*, 1996.
- Wang, F.; Du, B. L.; Cui, Z. W.; Xu, L. P. & Li, C. Y. Effects of high hydrostatic pressure and thermal processing on bioactive compounds, antioxidant activity, and volatile profile of mulberry juice. *Food Sci. Technol. Int.* 2016. <https://doi.org/10.1177/1082013216659610>
- Wu, T.; Yu, Z.; Tang, Q.; Song, H.; Gao, Z. & Zheng, X. Honeysuckle anthocyanin supplementation prevents diet-induced obesity in C57BL/6 mice. *Food and Function.* 4:1654-1661, 2013.
- Xiang, R., Chenga, J., Zhua, M., Liub, X. Effect of mulberry (*M. alba*) polyphenols as antioxidant on physiochemical properties, oxidation and bio-safety in

- Cantonese sausages. *Food Science and Technology*. 116, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108504>
- Xu, L.; Yang, F.; Wang, J.; Huang, H. & Huang, Y. Anti-diabetic effect mediated by *Ramulus mori* polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 117:63-69, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.09.052>
- Yan, F.; Chen, Y.; Azat, R. & Zheng, X. Mulberry Anthocyanin Extract Ameliorates Oxidative Damage in HepG2 Cells and Prolongs the Lifespan of *Caenorhabditis elegans* through MAPK and Nrf2 Pathways. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/7956158>
- Yan, F.; Dai, G. & Zheng, X. Mulberry anthocyanin extract ameliorates insulin resistance by regulating PI3K/AKT pathway in HepG2 cells and db/db mice. *J. Nutr. Biochem*. 36:68-80, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.07.004>
- Yan, J.; Ruan, J.; Huang, P.; Sun, F.; Zheng, D.; Zhang Y. & Wang, T. The structure–activity relation ship review of the main bioactive constituents of *Morus* genus plants. Review. *Journal of Natural Medicines*. 1-10, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01383-8>.
- Yang, X.; Yang, L. & Zheng, H. Hypolipidemic and antioxidant effects of mulberry (*M. alba* L.) fruit in hyperlipidaemia rats. *Food Chem. Toxicol*. 48:2374-2379, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.05.074>
- Yimam, M.; Jiao, P.; Hong, M.; Brownell, L.; Lee, Y. C.; Kim, H. J. Botanical Composition from *Morus alba*, *Ilex paraguariensis*, and *Rosmarinus officinalis* for body weight management. *J. Med. Food*. 20:1100-1112, 2017. <https://doi.org/10.1089/jmf.2017.0002>
- You, Y.; Yuan, X.; Lee, H. J.; Huang, W.; Jin, W. & Zhan, J. Mulberry and mulberry wine extract increase the number of mitochondria during Brown adipogenesis. *Food and Function*. 6:401-408, 2015.
- Yuan, Q. & Zhao, L. The mulberry (*M. alba* L.) fruit: a review of characteristic components and health benefits. *J. Agric. Food Chem*. 65(48):10383-10394, 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03614>

Zhang, H.; Ma, Z. F.; Luo, X. & Li, X. Effects of mulberry fruit (*M. alba* L.) consumption on health outcomes: a mini-review. *Antioxidants*. 7(5):69, 2018. <https://doi.org/10.3390/antiox7050069>.

Zhao, S.; Park, C. H.; Yang, J.; Yeo, H. J.; Kim, T. J.; Kim, J. K. & Park, S. U. Molecular characterization of anthocyanin and betulinic acid biosynthesis in red and white mulberry fruits using high throughput sequencing. *Food Chemistry*.11:101, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem>.