



Universidad Autónoma
Del Estado De México



Facultad de Química
Maestría en Ciencias Químicas

**Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de
bioactivos y actividad antioxidante del quintonil
(*Amaranthus hybridus*) cosechado en época de
primavera y otoño**

Tesis

Que para obtener el título de:

Maestro en Ciencias

Presenta:

I.Q. Guadalupe López García

Asesores:

Dr. Octavio Dublán García
Dr. Ramiro Baeza Jiménez
Dra. Leticia Xóchitl López Martínez

DEDICATORIAS

A mi hija, mi motor para vivir y para quien espero ser un buen ejemplo. Gracias por permitirme usar el tiempo que te correspondía. Te amo.

Al amor de mi vida porque tu respuesta siempre ha sido sí. ¡Gracias Gregorio!

A mis padres a quienes no solo debo la vida sino el incansable deseo de luchar para superarme cada día.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Leticia Xóchitl López Martínez por su confianza e invaluable apoyo para el ingreso a la maestría y en la realización de éste proyecto.

Al Dr. Ramón Baeza Jiménez por su ejemplo, por compartir sus conocimientos, por siempre disponer de su valioso tiempo, paciencia y motivación en la dirección de éste trabajo de tesis.

Al Dr. Octavio Dublán García por su motivación y consejo asesorando este trabajo de tesis.

A mis compañeros de la maestría y compañeros de laboratorio Jenny, Ale, Javier Ana, Paco, Livier y Selene por compartir sus conocimientos, por su compañía y por hacer tan ameno este viaje que emprendimos.

A mis amados amigos Angélica, Gregorio y Azucena por haber estado ahí cuando los necesite.

A CONACYT por la beca escolar otorgada bajo el número 680332/581488 al autor del proyecto.

Y sobre todo a Dios por que escogió esta vida tan hermosa para mí.

ÍNDICE

I. MARCO TEÓRICO	3
1.1 Quelites	3
1.1.1 Consumo de quelites en México y otros países	4
1.1.2 Valor nutricional y medicinal	7
1.2 Familia Amaranthaceae	9
1.3 Amaranthus	10
1.4 Quintonil (<i>Amaranthus hybridus</i>)	11
1.4.1 Aporte nutricional y a la salud	12
1.4.2 Formas de consumo del quintonil	15
1.5 Compuestos bioactivos	16
1.5.1 Compuestos fenólicos	17
1.5.1.1 Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos	18
1.5.1.2 Biodisponibilidad de los compuestos fenólicos	19
1.5.1.3 Relación de los compuestos fenólicos con diversas patologías	21
1.5.2 Clorofilas	24
1.5.2.1 Síntesis de clorofila	25
1.5.2.2 Degradación de la clorofila	27
1.5.2.3 Propiedades de la clorofila	29
1.5.3 Ácidos grasos	31
1.5.3.1 Clasificación	32
1.5.3.2 Digestión, absorción y transporte de los ácidos grasos	33
1.5.3.3 Propiedades funcionales de los ácidos grasos	34
II. JUSTIFICACIÓN	38
III. HIPÓTESIS	39

IV. OBJETIVOS	40
4.1 Objetivo general	40
4.2 Objetivos específicos	40
V. METODOLOGÍA	41
5.1 Material vegetal	41
5.2 Tratamiento térmico	41
5.3 Obtención de extractos	42
5.4 Determinación de clorofila	43
5.5 Determinación de compuestos fenólicos totales	43
5.6 Determinación de ácidos grasos	
44	
5.6.1 Extracción de lípidos	44
5.6.2 Perfil de ácidos grasos	
44	
5.7 Determinación de la actividad antioxidante	45
5.7.1 Porcentaje de inhibición de ABTS ^{•+} : 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico)	45
5.7.2 Porcentaje de inhibición de DPPH [•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	46
5.7.3 Efecto inhibidor de la formación de óxido nítrico (NO [•])	47
5.7.4 Efecto inhibidor de la formación del radical superóxido (O ₂ ^{-•})	47
5.8 Análisis estadístico	48
VI. RESULTADOS	49
6.1 Contenido de clorofila	49
6.2 Contenido de compuestos fenólicos totales	51
6.3 Actividad antioxidante	
54	
6.4 Contenido de ácidos grasos	58

6.4.1 Extracción de lípidos	58
6.4.2 Fracciones lipídicas y perfil de ácidos grasos	59
6.4.3 Procesamiento térmico	62
VII. CONCLUSIONES	66
VIII. REFERENCIAS	68
IX. ANEXOS	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Contenido de vitaminas A y C en quelites y otros alimentos	7
Figura 2. Contenido de hierro y calcio en quelites y otros alimentos	8
Figura 3. <i>Amaranthus hybridus</i> : (a) hoja, (b) florescencia y (c) semilla	12
Figura 4. Clorofila <i>a</i> y clorofila <i>b</i>	25
Figura 5. Esquema de la biosíntesis de clorofila	27
Figura 6. Subproductos de degradación de clorofila	28
Figura 7. Quintonil (<i>Amaranthus hybridus</i>)	41
Figura 8. Efecto del tratamiento térmico y época de cosecha sobre el contenido de clorofila	50
Figura 9. Efecto del tratamiento térmico y época de cosecha sobre el contenido de ácidos grasos	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de las hojas de <i>Amaranthus hybridus</i>	13
Tabla 2. Nutrientes presentes en las hojas de <i>Amaranthus hybridus</i>	14
Tabla 3. Clases principales de compuestos fenólicos	17
Tabla 4. Principales fuentes, efectos biológicos y aplicaciones de compuestos fenólicos como ingredientes funcionales en la formulación de alimentos funcionales	23
Tabla 5. Efecto del tratamiento térmico y época de cosecha del quintonil sobre el contenido de compuestos fenólicos totales en extractos acuosos y metanólicos	52
Tabla 6. Efecto del tratamiento térmico y época de cosecha del quintonil sobre la actividad antioxidante de extractos acuosos y metanólicos	56
Tabla 7. Eficiencia de los sistemas de solventes empleados para la extracción de lípidos de las hojas de quintonil crudo	57
Tabla 8. Fracciones lipídicas y perfiles de ácidos grasos extraídos de hojas frescas de quintonil	59
Tabla 9. Perfil de ácidos grasos para diferentes especies de <i>Amaranthus</i>	60

ABREVIATURAS

A	Absorbancia
ABTS ^{•+}	2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico)
<i>A. hybridus</i>	<i>Amaranthus hybridus</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ALA	Ácido α -linolénico
ATP	Adenosina trifosfato
CH	Sodio-cobre- clorofilina
DGA	Digliceridos
DHA	Ácido docosahexaenóico
DPPH [•]	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
EA	Extractos acuosos
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EM	Extractos metanólicos
EPA	Ácido eicosapentaenóico
FFA	Ácidos grasos libres
GC	Cromatografía de gases
IQ	2-amino-3-metilimidazo [4,5 -f] quinolina
LA	Ácido linoléico
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
MUFA	Ácidos grasos monoinsaturados
NADH	Dinucleótido de nicotinamida y adenina
NADPH	Dinucleótido fosfato de nicotinamida y adenina

NBT	Azul de nitrotetrazolio
NO•	Óxido nítrico
O ₂ ⁻	Superoxido
PC	Compuestos fenólicos
PDT	Terapia fotodinámica
PF	Peso fresco
PMS	Fenazina metosulfato
PS	Peso seco
PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados
SAGARPA	Secretaría de agricultura, ganadería desarrollo rural, pesca y alimentación
SFA	Ácidos grasos saturados
SOD	Superóxido dismutasa
TAG	Triglicéridos
TLC	Cromatografía en capa fina
TPC	Compuestos fenólicos totales
Trolox	Ácido 6 - hidroxil - 2, 5, 7,8 - tetrametilcroman - 2 - carboxílico
USDA	Departamento de agricultura de Estados Unidos
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México

RESUMEN

El quintonil (*Amaranthus hybridus*) es una planta silvestre mexicana, considerada como una maleza muy común y empleada como forraje para ganado. Es un vegetal típico mexicano y se consume en ciertas regiones después de un tratamiento térmico como frito, hervido o al vapor. Algunos reportes indican que el quintonil contiene compuestos bioactivos como vitaminas, proteínas, clorofila, ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y compuestos fenólicos (PC). En el presente trabajo se estudió el efecto de los tratamientos térmicos comúnmente aplicados para el consumo del quintonil cosechado en época de primavera y otoño, sobre los compuestos bioactivos que contiene y su actividad antioxidante. Se evaluaron extractos acuosos y metanólicos de quintoniles cosechados en dos estaciones del año (primavera y otoño) crudos, hervidos y cocidos al vapor y se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales (TPC), PUFA y capacidad antioxidante usando diferentes métodos como la inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•), 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) (ABTS•+), óxido nítrico (NO•) y superóxido (O_2^-). Los resultados indican que el tratamiento térmico, afectó significativamente ($p < 0.05$) el contenido de bioactivos en el quintonil, para el caso de PC éstos incrementaron con respecto al quintonil crudo en extractos acuosos (de 14.5 mg EAG/100g PF en primavera y 58.3 mg EAG/100g PF en otoño) como metanólicos (83.6 mg EAG/100g PF en primavera y 106.8 mg EAG/100g PF en otoño) y después de aplicar el tratamiento térmico al vapor (148-170.6 mg EAG/100g PF EA y 70.7-94.4 mg EAG/100g PF en EM), la clorofila disminuyó posterior a la cocción por hervido (27.7 mg de clorofila/100 g PF en primavera y 17.5 mg de clorofila/100 g PF en otoño) y al vapor (26.9 mg de clorofila/100 g PF en primavera y 18.8 mg de clorofila/100g PF en otoño) en comparación con el quintonil crudo (41.3 mg de clorofila/100g PF en primavera y 30.7 mg de clorofila/100g PF en otoño). Los principales ácidos grasos identificados son ácido palmítico, ácido palmitoléico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoléico (LA) y ácido α -linolénico (ALA), siendo este último el residuo más abundante en todos los tratamientos aplicados: 1417.8 – 1667.5 mg/100 g (fresco), 1621.4 – 1667.5 mg/100 g (hervido) y 1437.9 – 1912.6 mg/100 g (al vapor). Un comportamiento similar se observó para los demás ácidos grasos, por lo que el tratamiento térmico parece favorecer su liberación más que afectar su contenido. Por último, es de suma importancia destacar que los resultados obtenidos aportan conocimientos sobre el quintonil a la ciencia básica y coadyuvan a su consumo, no solo por su valor nutrimental, además de intentar preservar la biodiversidad mexicana y revalorizar este cultivo.

ABSTRACT

Quintonil (*Amaranthus hybridus*) is a Mexican wild plant, which is considered as shrub and is basically used as forage for livestock. This ancient crop is ingested in certain regions after a thermal treatment including frying, boiling or steaming. Some previous reports in technical literature have indicated that quintonil contains bioactive compounds such as vitamins, proteins, chlorophyll, polyunsaturated fatty acids (PUFA) and phenolic compounds (PC). In the present work, the effects of some typically thermal treatments were studied on bioactive compounds contents and antioxidant activity for quintonil harvested in spring and fall seasons. Different aqueous and methanolic extracts, corresponding to the different treatments, were assayed in order to measure total phenolic compounds (TPC), PUFA and antioxidant capacity using several analytical methods: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH•), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS•+), superoxide radical (O_2^-) and nitric oxide (NO•) scavenging assay. The results obtained show that thermal treatments significantly affected the bioactive content in quintonil ($p < 0.05$). In the case of TPC, these compounds increased with respect to crude quintonil in aqueous extracts (14.5 mg EAG/100 g PF in spring and 58.3 mg EAG/100g PF in fall) as well as methanolic extracts (83.6 mg EAG/100 g PF in spring and 106.8 mg EAG / 100 g PF in fall) and after thermal treatment (148-170.6 mg EAG/100 g PF EA and 70.7-94.4 mg EAG/100g PF in EM). With respect to chlorophyll, it decreased after both boiling (27.7 mg chlorophyll/100 g PF in spring and 17.5 mg chlorophyll/100 g PF in fall) and steaming (26.9 mg chlorophyll/100 g PF in spring and 18.8 mg chlorophyll/100 g PF in fall) compared to crude quintonil (41.3 mg chlorophyll/100 g PF in spring and 30.7 mg chlorophyll/100 g PF in fall). Finally, the fatty acid residues identified were: palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic (LA) and α -linolenic (ALA). The latter was the predominant residue in all the treatments: 1417.8 – 1667.5 mg/100g (fresh), 1621.4 – 1667.5 mg/100g (boiled) and 1437.9 – 1912.6 mg/100g (steamed). A similar behaviour was observed for the other fatty acids, indicating that thermal processing did not affect the fatty acid content of quintonil. Conversely, it seemed to favour their availability. Finally, it is worth mentioning that this research promotes quintonil consumption because of its health implications in an attempt to preserve Mexican biodiversity and reevaluate this ancient crop.

INTRODUCCIÓN

En México, se consume una gran variedad de vegetales conocidos como “quelites”, que son un grupo de plantas silvestres y arvenses cuyo follaje es comestible. Actualmente, se conocen más de 250 especies, pertenecientes a diferentes familias botánicas (Vázquez-García *et al.*, 2004). De acuerdo con las estadísticas agrícolas nacionales reportadas por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) en 2015 hay una baja explotación económica de quelites, por la reducida superficie y valor de la cosecha, sin embargo, tienen un gran valor en la alimentación por el contenido de fibra y porcentajes importantes de vitaminas y minerales. Los principales estados de la República Mexicana donde se cultivan los quelites son Puebla, Querétaro, Hidalgo, Morelos, Tlaxcala, Estado de México y la Ciudad de México.

Dentro de estas variedades de quelites, el quintonil (*Amaranthus hybridus*), una planta comestible autóctona del país, es considerado como una maleza muy común que se utiliza como forraje para animales y en menor proporción como un alimento de colecta, destaca por su alto rendimiento de grano, contenido balanceado de aminoácidos y por el contenido de compuestos bioactivos como clorofila, compuestos fenólicos (PC) y ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), que de acuerdo con estudios recientes, pueden ser benéficos en el control de ciertas enfermedades como diabetes mellitus, obesidad y algunos tipos de cáncer. Algunos estudios reportan un contenido de ácido α -linolénico (ALA) de 34.61 mg/100 g peso fresco (PF) cosechado en primavera, 317.65 mg/100 g PF cosechado en otoño (Torres-Acosta *et al.*, 2006) y 49.43 mg/g de TPC (Gutierrez Avella *et al.*, 2008).

Las formas tradicionales de consumo en estas regiones del país son: hervido, cocinado al vapor y frito con alguna grasa como manteca.

Los tratamientos térmicos anteriormente mencionados para la ingesta del quintonil, pueden modificar sus propiedades y el contenido de los compuestos bioactivos presentes. Por ello, el objetivo de este trabajo de tesis es establecer la relación entre el tratamiento térmico a vapor y hervido del quintonil, el contenido de bioactivos (clorofila, TPC, PUFA) y la actividad antioxidante (AA). De esta manera, se generará información que contribuya a la promoción del consumo y revaloración de los quelites mexicanos como parte de la

alimentación del hombre, considerando también el efecto de los tratamientos térmicos tradicionales que le aplican para su consumo. Además de ser una ventaja para el agricultor por su aprovechamiento, reducción en el uso de herbicidas, bajos requerimientos de agua y alta resistencia a enfermedades y plagas del quintonil.

I. MARCO TEÓRICO

1.1 Quelites

Los quelites son un grupo de plantas silvestres y arvenses cuyo follaje es comestible, eran plantas valoradas por los aztecas y hoy continúan siendo un recurso alimenticio importante para la gente del campo.

El nombre quelite se deriva del náhuatl *quitil* que es interpretado como hierba comestible o verdura. Para Bye (2000), el término quelites incluye hierbas anuales tiernas así como flores, inflorescencias y brotes de algunas especies perennes.

Actualmente, se conocen 358 especies de quelites, restringidas a las angiospermas y distribuidas en 25 superórdenes, 60 órdenes y 176 géneros, dentro de los cuales el 89% de las hierbas comestibles pertenecen a seis familias de las dicotiledóneas: *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Fabaceae*, *Chenopodiaceae*, *Brassicaceae* y *Amaranthaceae* (Bye *et al.*, 2000).

En las zonas rurales los quelites frescos se consumen al inicio del ciclo agrícola cuando termina la época de sequía. La disponibilidad temporal de estas plantas puede ser a lo largo de todo el año, pueden ser hierbas anuales de invierno, de primavera-verano y verano-otoño; son característicos de zonas templadas y crecen de manera espontánea en los campos de cultivo y a orillas de caminos. Por su hábitat se clasifican de tres formas: silvestres (plantas que crecen naturalmente formando parte de la vegetación primaria), arvenses (crecen dentro de tierras agrícolas) y ruderales (se desarrollan a orillas de caminos, lugares baldíos y hábitats perturbados).

Biológicamente un gran número de estas plantas son consideradas como productos ecológicos, evolutivos adaptados a vivir en hábitats perturbados por las actividades humanas con una capacidad de adaptación a diferentes cambios climáticos, tales como sequías, compactación del suelo e incendios. Los meses en que estas plantas dominan la dieta son de mayo a junio.

Los quelites se consumen de muchas formas. Algunas hojas y tallos se comen crudos. Otros se hierven o fríen y se combinan con sopas, tacos, quesadillas, pinole o esquites. En

algunos platillos constituyen el componente principal, pero también pueden ser un condimento que proporciona diferentes sabores y aromas.

1.1.1 Consumo de quelites en México y otros países

Los quelites son autóctonos de México y su consumo se remonta a la época prehispánica, en la que se conocían y aprovechaban cerca de 500 especies. Los conquistadores no aceptaron su consumo en México ya que no se cultivaban de la misma manera que en Europa y tenían una importancia en los rituales aztecas, por lo que se redujo el consumo de los quelites autóctonos no cultivados y se remplazaron por plantas traídas por los conquistadores como la acelga, el nabo y la col.

El consumo de quelites ha disminuido desde la conquista. La pérdida del conocimiento y uso de éstos vegetales comestibles por las diversas culturas mexicanas se calcula que ha sido de 55 a 90% en los últimos 500 años como impacto negativo de la colonización para estos recursos alimenticios (Bye *et al.*, 2000). Sin embargo, el uso y conocimiento de éstos continúa de manera local en zonas donde los grupos étnicos aún mantienen sus recursos nativos y su utilización tradicional.

De acuerdo con Linares y Bye (2015), en algunos estudios etnobotánicos realizados en el país las especies que destacan por su empleo en diversas regiones de México son la verdolaga (*Portulaca oleracea*), los quintoniles o amarantos (*Amaranthus* spp.) del que se reportan 8 especies principales (*Amaranthus hybridus*, *Amaranthus cruentus*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Amaranthus palmeri*, *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus scariosus*, *Amaranthus crassipes* y *Amaranthus spinosus*), el epazote (*Dysphania ambrosioides*), el pápalo (*Porophyllum ruderale* subsp. *macrocephalum*), el quelite cenizo (*Chenopodium berlandieri*), la yerba mora (*Solanum americanum*, *Solanum nigrescens*), el alache (*Anoda cristata*), el jaltomate (*Jaltomata procumbens*), la hierba mora (*Solanum nigrescens*), la lentejilla (*Lepidium virginicum*), el amolquilito (*Phytolacca icosandra*), los chepiles (*Crotalaria* spp.) con tres especies (*Crotalaria incana*, *Crotalaria longirostrata* y *Crotalaria pumila*), y la lengua de vaca (*Rumex mexicanus*).

La mayoría de las regiones geoeconómicas de México con especies representativas que continúan empleando especies de plantas nativas de uso tradicional subvaloradas y subutilizadas como los quelites, son: el Centro-Este (119 especies), Sur (81 especies), Norte (21 especies), el Golfo (15 especies), Centro Occidente (14 especies), Noreste (10 especies), Noroeste (8 especies) y la Península de Yucatán (4 especies).

Algunos territorios ocupados por grupos indígenas que emplean un mayor número de quelites son la Huasteca y Sierra Norte de Puebla (45 especies); Montaña de Guerrero, Sierras Taxco y Huautla (30 especies); Altos de Chiapas y Selva Lacandona (28 especies); Mixteca Alta, Baja y Costa (23 especies); Valle de Tehuacán (21 especies), Tarahumara (21 especies), El Triunfo (20 especies), Zongolica, Sierra Norte de Oaxaca (18 especies); Sierra de Chincua, Nevado de Toluca (16 especies); Sierra Nevada y la Malinche (13 especies), Chontalpa (11 especies) y Sierra Sur de Oaxaca (10 especies). Varios grupos étnicos del centro y centro-sur del país han conservado el uso de sus quelites. Los principales estados donde se cultivan los quelites son Puebla, Querétaro, Hidalgo, Morelos, Tlaxcala, Estado de México y la Ciudad de México.

De acuerdo con las estadísticas agrícolas nacionales de la SAGARPA (2015), en México presentan baja explotación económica por la reducida superficie cosechada y el valor por tonelada, sin embargo, tienen un gran valor en la alimentación por el contenido de fibra (1.93 g/100g) y porcentajes importantes de vitaminas (tiamina 0.07 mg, riboflavina 0.16 mg, niacina 0.58 mg y 45.1 mg de ácido ascórbico en 100 g de muestra) y minerales (306 mg de calcio, 75 mg de fósforo y 17.22 mg de hierro en 100 g de muestra).

Otros trabajos con quelites en México muestran que en Chihuahua con los Rarámuri se reconocieron 120 especies de quelites de las cuales 10 especies se consumen con frecuencia para satisfacer sus requerimientos nutricionales como complemento de la dieta, sobre todo cuando la existencia de los alimentos básicos es limitada. La ración promedio para un Rarámuri adulto es de 100 g de quelites (*Amaranthus reflexus*) y se estima que esta cantidad provee suficiente vitamina A, tiamina y riboflavina para satisfacer los estándares alimentarios apropiados para los EU (Bye, 1981). Katz (1990), reporta el uso de los quelites

en la comunidad de Yosotato, Oaxaca, y describe 45 especies de quelites y las formas de preparación resaltando que son consumidos crudos por su sabor ácido y aromático.

Debido a estas propiedades, Ysunza *et al.*, (1998), sugirieron 25 especies de quelites, recetas de preparación y análisis de nutrimentos en un manual con el propósito de contribuir al mejoramiento de la nutrición de los habitantes de la Sierra Juárez de Oaxaca. Además de que se ha abordado el papel de las mujeres en el abastecimiento de quelites, donde mostraron que ellas se encargan de recogerlos el doble de veces que los hombres en Ixhuapan, Veracruz y que la intensificación de la agricultura a través del uso de agroquímicos es de los principales factores sociales y económicos que afectan la disponibilidad de éstos alimentos (Vázquez *et al.*, 2004).

En México, Corea, Taiwán e India, aún persiste la costumbre de recolectar plantas silvestres comestibles así como en Argentina y Uruguay pero en menor proporción. En éstos y otros países, también se da el uso de plantas silvestres, arvenses como quelites o verduras, aunque se les llama de diferente forma como: malas hierbas (castellano y francés), infestantes (italiano), plantas dañinas (portugués) y yuyos (Argentina) (Rapoport, 2007). Rapoport *et al.*, (1974), describieron el papel de las plantas silvestres en la dieta nativa de Etiopía y la importancia de ésta en época de sequía, reportando 36 especies de plantas en los que incluyen hojas tallos y brotes tiernos de géneros como *Amaranthus*, *Brassica*, *Oxalis*, *Rumex* y *Portulaca*. Mejía-Ordóñez (1992) encontró 35 especies de plantas silvestres comestibles en la Región Occidental de Honduras, con importancia en las costumbres alimentarias y menciona las diferentes formas de preparación y valor nutritivo significativo como fuentes de proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales. Por otro lado, Ertug (1998), observó en el centro de Anatolia, Turquía el uso de 42 especies de vegetales silvestres recolectadas exclusivamente por las mujeres en las poblaciones rurales y señaló que las plantas silvestres constituyen un componente importante en la dieta local y que es posible obtenerlas aún en invierno. Algunos géneros que menciona son *Amaranthus*, *Rorippa*, *Campanula*, *Stellaria*, *Chenopodium*, *Malva*, *Rumex* y *Portulaca*. Ladio (2004), estudió el uso de plantas silvestres comestibles en las comunidades Mapuches de Paineo, Rams y Cayulef de Neuquén, Argentina e identificó 47 plantas nativas silvestres comestibles entre las que se encuentran las “verduras del campo” como las denominan los pobladores y las más comunes son la placa

de berro amarillo (*Mimulus glabratus*) que se comen en ensaladas, los brotes nuevos de la caña colihue (*Chusquea culeou*) que se consumen hervidos y las hojas del nolquín o apio silvestre (*Apium australe*) que se usan en ensaladas entre otras. Además muestra cuantitativamente que los conocimientos y el uso de las especies silvestres comestibles se está perdiendo entre los jóvenes, ya que estos saberes son sensibles a los procesos de aculturación y desarraigo a los que están sujetas las poblaciones Mapuches.

1.1.2 Valor nutricional y medicinal

Algunos quelites han demostrado tener excelentes cualidades alimentarias. De acuerdo con la Secretaría de Agricultura de EU (USDA), la quínoa blanca (*Chenopodium álbum*) es una buena fuente de vitaminas A y C, y contiene tres veces más calcio que la leche o el queso crema y junto con el diente de león (*Taraxacum officinale*) posee propiedades como estimulador de la función hepática ya que contienen más vitamina C que las naranjas (Figura 1).

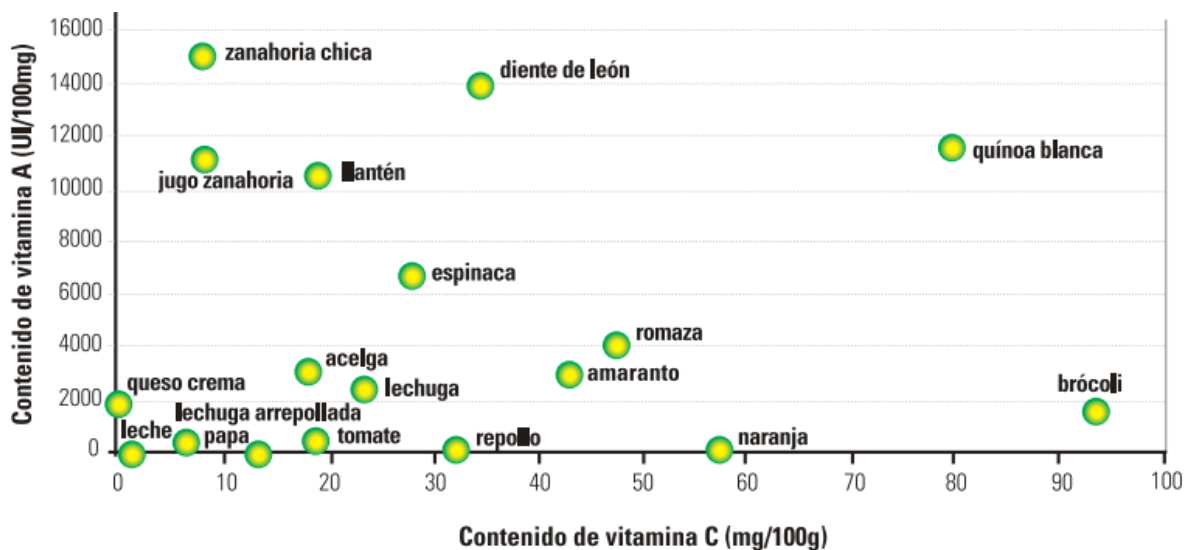


Figura 1. Contenido de vitaminas A y C en quelites y otros alimentos (González *et al.*, 2003)

González *et al.*, (2003), describen otras malezas cuyo aporte nutrimental también es destacado como la ortiga mayor (*Urticadioica*) que tiene un alto contenido de calcio, las hojas de diente de león crudas (*Taraxacum officinale*) con niveles similares de vitamina A

que las zanahorias recién crecidas, rico en hierro, más calcio que la leche y más hierro, magnesio y calcio que la mayoría de las hortalizas cultivadas (Figura 2).

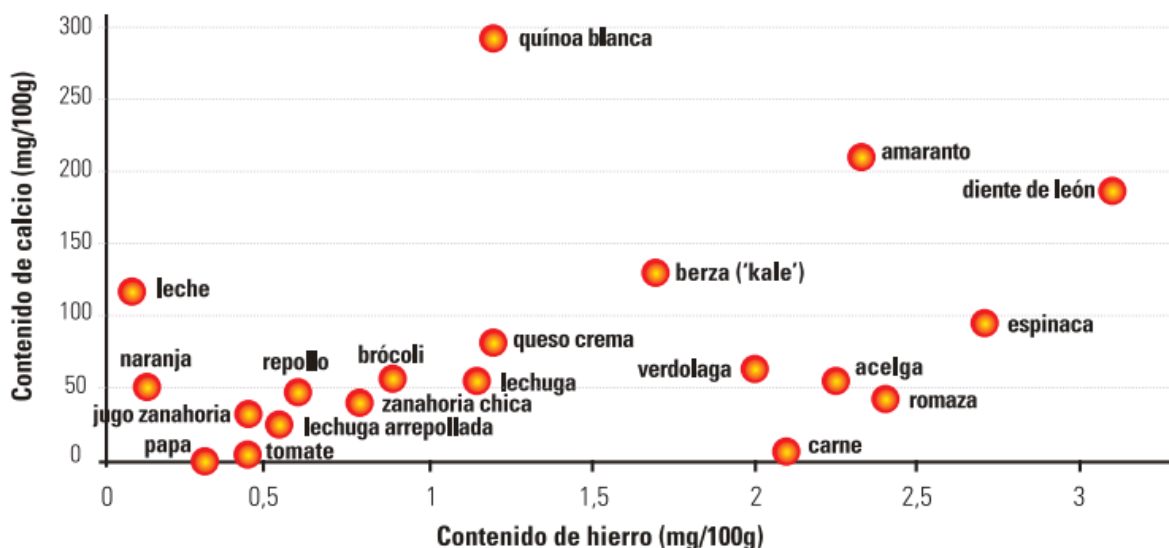


Figura 2. Contenido de hierro y calcio en quelites y otros alimentos (González *et al.*, 2003)

La concentración de proteínas en los quelites no es despreciable, el contenido de proteína en el diente de león (2.7 g/100 g de hojas) y amaranto (2.5 g/100 g de hojas) se acerca al de la leche (3.3 g/100 g de hojas), mientras que en la quinoa blanca es mayor (4.2 g/100 g de hojas).

La composición química de estas plantas puede variar según los suelos, etapa de crecimiento y región geográfica. Por ejemplo la romaza, en muestras analizadas en Puebla, México, por el Instituto Nacional de Nutrición “Salvador Zubirán”, presenta valores proteínicos mayores (3.6 g/100 g de hojas) que los reportados por la USDA (2 g/100 g de hojas).

Estudios epidemiológicos realizados por Cox *et al.*, (2000), y Stan *et al.*, (2008), indican que una dieta alta en frutas y vegetales disminuyen el riesgo de desarrollar cáncer, a pesar de que algunas sustancias contenidas en los vegetales no han sido identificadas, ni son conocidos los mecanismos bioquímicos que operan a través de ellas, pero acepta que la cantidad consumida y la variedad juegan un papel importante en la prevención de esas enfermedades. Antosiewicz *et al.*, (2008), y Sutatus ohail *et al.*, (2011), indican que el efecto protector de los quelites se atribuye a la presencia de antioxidantes naturales como

compuestos fenólicos (PC), vitaminas A, C y E así como isotiocianatos, que tienen la habilidad de contrarrestar o inhibir efectos negativos de las especies reactivas de oxígeno presentes en enfermedades crónicas degenerativas. Sin embargo, con respecto al cáncer de colon Ramos-Gómez *et al.*, (2011), evaluaron el efecto quimioprotector de la malva de quesitos (*Malva parviflora*) y verdolaga (*Portulaca oleraceae*) en un modelo inducido con 1,2-dimetilhidrazina e indican que a pesar que los extractos de malva y verdolaga (100 mg/kg) incrementan la actividad de las enzimas glutatión S-transferasa y quinona oxidoreductasa en hígado y colon, no protegieron contra el desarrollo de cáncer de colon.

1.2 Familia Amaranthaceae

Las hierbas comestibles pertenecen principalmente a seis familias de las dicotiledóneas: *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Fabaceae*, *Chenopodiaceae*, *Brassicaceae* y *Amaranthaceae*. La familia Amaranthaceae está formada aproximadamente por 70 especies y 1000 géneros que se encuentran distribuidas en las zonas tropicales y subtropicales del planeta. En el continente americano existen cerca de 40 especies agrupadas en los subgéneros *Acnida*, *Albersia* y *Amaranthus*.

La mayoría de sus miembros son hierbas anuales y perennes, junto con algunos arbustos o árboles pequeños, se han adaptado a suelos salinos, ambientes áridos y alterados por asentamientos humanos, en los que existen altas concentraciones de nitrógeno. Las hojas son simples, alternas u opuestas. Las flores son bisexuales o unisexuales (monoicas o dioicas), la semilla es de globosa a ovoide o en forma de lente y tiene un alto rendimiento, oscila entre 13, 000 y 50,000 semillas por planta, dependiendo de la riqueza del suelo. Las especies de *Amaranthus* más comunes son de origen americano, también se originan en gran medida en las estepas de Asia (Townsend, 1993; Bunce *et al.*, 2002).

La importancia económica de las amarantáceas se reduce a algunas especies, que se cultivan como hortalizas, por sus hojas y por sus semillas ricas en almidón. Por ejemplo el *Amaranthus cruentus*, *Amaranthus hypocondriacus* (amaranto), *Amaranthus mantegazzianus* *Passerini* (ataco) y *Amaranthus caudatus* (quinoa) considerados pseudocereales y el *Amaranthus quitensis* (yuyo colorado) que se considera una maleza común en los cultivos pero se usa en la cocina campestre para remplazar a la acelga y la

lechuga, en la elaboración de tortillas, sopas y guisos. Otros géneros exóticos utilizados como plantas ornamentales son la *Celosia cristata* L. (cresta de gallo), la *Gomphrena globosa* L. (perpetua) y el *Amaranthus caudatus*. Un gran número de especies son consideradas invasoras y, desde luego, algunos se encuentran entre las peores malezas del mundo, por ejemplo el *Amaranthus muricatus*.

Una cualidad importante en la familia *Amaranthaceae* son los fotoquímicos que contienen como las betalainas, entre ellas las betaxantinas (amarillo) y betacianinas (púrpura) y las betacianinas como la amarantina y betamina que también se encuentran en la *Chenopodiaceae*. También se han identificado saponinas, especialmente en las semillas de las especies de *Amaranthus*.

1.3 Amaranthus

Es un género de hierbas anuales y algunas perenes, pueden ser monoicas o de dos sexos, sus hojas son alternas, con pecíolos largos. Las flores son unisexuales y las semillas son comprimidas, negras y brillantes. Muchas de las especies de este género son comestibles y algunas son cultivadas por sus hojas. Incluye *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus spinosus*, *Amaranthus dubius*, *Amaranthus tricolor*, *Amaranthus thunbergii* y *Amaranthus hypocondriacus* entre otras (Ashagre *et al.*, 2016).

Algunas hierbas de este género se han estudiado por sus contribuciones a la salud y aporte nutricional. Wesche-Ebeling (1995), realizó un estudio bromatológico de *Amaranthus reflexus*, *Amaranthus viridis*, *Amaranthus palmeri* y *Amaranthus blitoides* (especies silvestres de *Amaranthus* de Nuevo León, México), donde mostró que las plantas analizadas enteras y sus secciones en las etapas de prefloración y madura pueden ser recomendadas como alimento animal ya que contienen altos niveles de proteína (20.6 – 24.7% planta entera, 25.3 – 32.9% hojas) y carbohidratos solubles (>40%). Además que las plantas de *Amaranthus* pueden ser consumidas como hortalizas en la etapa de prefloración, que las hojas de *Amaranthus reflexus* y *Amaranthus blitoides* contienen niveles altos de almidón, cantidades moderadas de taninos en todas las hojas (0.026 – 0.068 equivalentes de catequina) y alta concentración de proteína en tallos (7.7 – 13.6% base seca) y hojas (24.8 – 25.6% base seca). Los factores antinutricionales identificados en éstas especies fueron

nitratos (0.40 – 1.15%), oxalatos (0.17 - 3.92% base seca), glucósidos cianogénicos (no detectados) y fitatos (0.25 – 0.62% base seca) en la etapa de prefloración y solamente los nitratos se encontraron en niveles arriba de los considerados seguros (0.34% base seca) pero a niveles similares a los de la espinaca (1.22% base seca).

Zeashan *et al.*, (2009), mencionan que extractos etanólicos (50%) de *Amaranthus spinosus* tienen un efecto hepatoprotector en hepatocitos aislados de ratas con daño inducido con tetracloruro de carbono (CCl₄). Concentraciones de 6, 7, 8, 9 y 10 µg/mL mostraron una restauración significativa de los parámetros bioquímicos alterados. Girija *et al.*, (2011) encontraron que los extractos de metanol de *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus spinosus* y *Amaranthus viridis* a 400 mg/Kg presentan una significativa actividad antidiabética y anticolesterolemica en ratas diabéticas inducidas con streptozotocina (STZ). Bagepalli *et al.*, (2009), indican que el *Amaranthus viridis* tiene actividad analgésico, antipirética y actividad antioxidante mientras que Ayhok *et al.*, (2011), Sravan *et al.*, (2011), Girija *et al.*, (2011) y Muhammad *et al.*, (2012) en estudios realizados a ésta misma especie, encontraron que tiene actividad antimicrobiana, actividad hepatoprotectora contra daños inducidos con paracetamol, actividad antiinflamatoria, antihelmíntica, antifúngica y antihiperlicemiente.

1.4 Quintonil (*Amaranthus hybridus*)

El quintonil (*A. hybridus*) es una planta herbácea de 0.5 – 1 m, en ocasiones hasta de 2 m de alto, con frecuencia tendiendo a rojiza, ramificada, hojas de posición alterna en forma aovada de 5 – 15 cm de largo y de 1 – 7 cm de ancho y puntiagudas; flores diminutas y numerosas, dispuestas en conjuntos compactos simples o ramificados, cilíndricos y alargados hasta de 18 cm de largo y hasta 4 cm de diámetro, situados en los extremos de las ramas o en las axilas de las hojas, de color verdosas, amarillentas o rojizas, formadas por lo común de 5 piezas alargadas de hasta 2 mm de largo, pajizas y espinosas en la punta; fruto seco, casi globoso, con una sola semilla oscura y brillante de alrededor de 1 mm de diámetro (Figura 3).

Se considera una maleza común, se encuentran en flor de abril a enero. Con frecuencia se localiza en forma abundante entre los cultivos de maíz, alfalfa, cacahuete,

alfalfa, garbanzo y avena, así como en orillas de los caminos y dentro de las poblaciones. Se consume como verdura en la alimentación humana y como forraje.



Figura 3. *Amaranthus hybridus*: (a) hojas, (b) florescencias y (c) semillas

De acuerdo con la biblioteca de medicina tradicional mexicana de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), el quintonil es nombrado de diferente manera en las zonas en que es cultivado y consumido: bledo en Yucatán y la Ciudad de México; quelite blanco, quelite cochino en Coahuila y la Ciudad de México; quintonil, quelite bueno, quelite grande o quintonile en Hidalgo, la Ciudad de México y el Estado de México. Algunas zonas conservan aún el nombre indígena: cal' unit, ka (totonaco), huauquiltil (nahua) y xidha (otomí) en Puebla y kithal toro, je' pal (tenek) en San Luis Potosí. Las formas tradicionales de consumo en estas regiones del país son: hervido, al vapor y frito con alguna grasa como manteca.

1.4.1 Aporte nutrimental y a la salud

Existen pocos estudios al respecto del quintonil, uno de ellos realizado sobre el *A. hybridus* de Nigeria (Akubugwo *et al.*, 2007) en el que se destaca el aporte nutricional y químico de sus hojas. Se describe también que tiene un buen contenido de proteínas de acuerdo con Pearson (1976) quien indica que si una planta provee más del 12% de su valor calorífico en proteínas, se considera una buena fuente de proteínas (Tabla 1). Además si se considera el requerimiento diario de proteínas para adultos, niños, embarazadas y mujeres en periodo de lactancia que es de 34 – 56, 13 – 19, 17 y 71 g de proteína diario, respectivamente y si se asume la absorción total de la proteína, 100 g peso seco (PS) de hojas de *A. hybridus*

pueden contribuir con cerca de 32 – 53, 94 – 134, 25 y 25 % de su proteína diaria, respectivamente (FND, 2002).

Con respecto al contenido de lípidos en hojas de *A. hybridus* existen reportes que refieren contenidos de ácidos grasos esenciales como ALA: 34.61 mg/100 g peso fresco (PF), cosechado en primavera y 317.65 mg/100 g PF, cosechado en otoño (Torres-Acosta *et al.*, 2006). Hang- Ping *et al.*, (2003), refieren un contenido de 22% de ácido palmítico, 1.3% de ácido esteárico, 26.3% de ácidos oleico y 47.4% de ácido linoléico (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de las hojas de *A. hybridus*

<i>Parámetro</i>	<i>Concentración (% base seca)</i>
Contenido de humedad	83.48
Contenido de cenizas	13.80
Proteínas	17.92
Lípidos	4.65
Fibra cruda	8.61
Carbohidratos disponibles	52.18
Contenido energético (kcal/100g)	258.22

(Akubugwo *et al.*, 2007)

El *A. hybridus* es capaz de contribuir con 34 – 45, 23 – 41, 31 y 30 % de sus respectivos requerimientos diarios cuando se consumen 100 g de hojas secas ya que la dosis diaria recomendada de fibra para los niños, adultos, mujeres embarazadas y madres lactantes son de 19 – 25, 21 – 38, 28 y 29 g, respectivamente. Se ha reportado que las hojas de *A. hybridus* son ricas en polisacáridos, vitaminas y minerales, Akubugwo *et al.*, (2007) señalan el contenido de químico y valor nutrimental de las hojas de *A. hybridus* en Nigeria. De igual manera, las hojas contienen diecisiete aminoácidos: isoleucina, leucina, lisina, metionina, cisteína, fenilalanina, tirosina, treonina, valina, alanina, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico, glicina, histidina, prolina y serina (Tabla 2).

Tabla 2. Nutrientes presentes en las hojas de *A. hybridus*

<i>Minerales</i>	<i>mg / 100 g</i>	<i>Vitaminas</i>	<i>mg / 100 g</i>	<i>Aminoácido</i>	<i>g/100g de proteína</i>	<i>Aminoácido</i>	<i>g/100g de proteína</i>
Sodio	7.43	Caroteno	3.29	Isoleucina	3.39	Valina	3.50
Potasio	54.20	Tiamina	2.75	Leucina	6.70	Histidina	2.15
Calcio	44.15	Riboflavina	4.24	Lisina	3.03	Alanina	3.35
Magnesio	231.22	Niacina	1.54	Metionina	1.76	Arginina	3.94
Hierro	13.58	Piridoxina	2.33	Cisteína	0.46	Ácido aspártico	5.40
Zinc	3.80	Ácido ascórbico	25.40	Fenilalanina	4.00	Ácido glutámico	15.79
Fósforo	34.91	Tocoferol	0.50	Tirosina	3.05	Glicina	3.81
				Treonina	2.62	Prolina	3.43
						Serina	3.04

(Akubugwo *et al.*, 2007)

Estudios realizados por Hang-Ping *et al.*, (2003), muestran que semillas de *A. hybridus* originarias de China, Argentina, EU, Brasil y México tienen un contenido de escualeno de 5.89, 4.14, 6.00, 4.94 y 7.30% en aceite, respectivamente, además de otros componentes bioquímicos importantes como vitamina E (5.99 mg/100g de semillas de plantas originarias de EU y 6.69 mg/100g de semillas de plantas originarias de México) y CF totales (Gutiérrez Avella *et al.*, 2008). Así como alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, compuestos fenólicos, ácido cianhídrico y ácido fítico (3.54, 0.83, 1.68, 0.49, 0.35, 16.99 y 1.32 mg / 100 g base seca, respectivamente).

Este rico contenido en bioactivos confiere beneficios importantes a la salud cuando son consumidos a través del quintonil. Antinutrientes, como el ácido cianhídrico han sido identificados como sustancias que producen daño cerebral y letargo en el hombre y animales. Los taninos son capaces de disminuir disponibilidad de las proteínas y por tanto puede provocar síndrome de deficiencia de proteínas, mientras que el ácido fítico tiene un efecto en el sistema humano que produce indigestión de alimentos y flatulencia (Maynard, 1997). Los antinutrientes presentes en esta planta se encuentran dentro de los límites permitidos y pueden ser fácilmente desintoxicados por remojo, ebullición o freído (Eka *et al.*, 1998; Ekop *et al.*, 2004; Ekop *et al.*, 2005).

1.4.2 Formas de consumo del quintonil

Las formas de consumo del *A. hybridus* son variadas. En México, se consume crudo en ensaladas, hervido, al vapor o frito en algún tipo de grasa como manteca. En Nigeria se combina con los condimentos y se utiliza para preparar sopa (Oke, 1983; Mepba *et al.*, 2007). En el Congo, sus hojas se comen como las espinacas o vegetales verdes (Dhellit *et al.*, 2006). Las hojas hervidas, se mezcla con una salsa de cacahuets y se comen como ensalada en Mozambique y en África Occidental (Oliveira *et al.*, 1975; Martin *et al.*, 1979).

1.5 Compuestos bioactivos

La industria de los alimentos ha logrado progresar en los conceptos de nutrición, pasando de nutrición adecuada a la búsqueda de nutrición óptima. Para ello, ha respaldado con investigaciones científicas el diseño de nuevos productos que permitan ofrecer al consumidor alimentos con excelentes características sensoriales, que aporten las sustancias básicas para contribuir a un buen estado nutricional a través del desarrollo de nutraceuticos que son provenientes de alimentos funcionales (alimentos de origen natural o diseñados y procesados para expresar de manera significativa funciones relacionadas al mecanismo de defensa del cuerpo y la prevención y recuperación de enfermedades) que contienen bioactivos.

Los compuestos bioactivos, son compuestos biológicamente activos que cuando se ingieren en determinadas cantidades proporcionan un beneficio para la salud clínicamente probada y documentada (Juárez *et al.*, 2005). Son componentes minoritarios de alimentos, considerados no nutrientes y su función biológica o metabólica en el organismo humano no está completamente establecida.

Las propiedades atribuidas a los alimentos funcionales radican en la adición de compuestos bioactivos que han demostrado tener un efecto benéfico para la salud en el organismo humano. Los compuestos bioactivos que han sido más comúnmente utilizados en la formulación de alimentos funcionales son las vitaminas y minerales, carotenoides, fitoesteroles, compuestos fenólicos, ácidos grasos insaturados, glucosinolatos, fibra dietética, prebióticos y probióticos. Algunos se están obteniendo de los subproductos agrícolas como la piel, cascara, tallo y hojas, y son utilizados como ingredientes funcionales en el desarrollo de alimentos, ya que tienen efectos positivos en la salud y la reducción de enfermedades crónicas degenerativas por lo que son una forma viable de sustitución de los compuestos sintéticos utilizados en la industria de los alimentos ya que aumentan la seguridad y aceptación de los alimentos en el mercado además de ayudar a la industria a reducir los residuos generados en el proceso de alimentos para la obtención de sus productos primarios, al generar subproductos de valor comercial (Juárez *et al.*, 2005; Velderrain *et al.*, 2014).

Para el desarrollo de este trabajo de tesis, tres son los compuestos bioactivos de interés: compuestos fenólicos totales (TPC), clorofila y ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Todos ellos están presentes en el quintonil (*A. hybridus*) y a continuación se describen.

1.5.1 Compuestos fenólicos (PC)

Los compuestos fenólicos (PC) son compuestos químicos que poseen un anillo aromático unido a uno más sustituyentes hidroxilo. Son metabolitos secundarios de las plantas, que permiten su actividad fisiológica, participan en el transporte electrónico fotosintético, regulan la actividad enzimática, actúan como fitoalexinas, como inhibidores de la germinación y absorben luz ultravioleta. Su biosíntesis puede ser por la ruta biosintética del ácido shikímico o la ruta del acetato (Porrás-Loaiza *et al.*, 2009).

Los PC pueden ser desde moléculas simples como ácidos fenólicos hasta compuestos poliméricos como los taninos conjugados. De acuerdo con Bravo (1998) se dividen en 10 clases diferentes dependiendo de su estructura química (Tabla 3).

Tabla 3. Clases principales de compuestos fenólicos

<i>Clase</i>	<i>Esqueleto carbonado básico</i>
Fenoles simples y Benzoquinonas	C ₆
Ácidos fenólicos	C ₆ -C ₁
Acetofenonas y Ácidos fenilacéticos	C ₆ -C ₂
Ácidos hidroxicinámicos, Fenilpropanoides, Cumarinas, Isocumarinas y Cromonas	C ₆ -C ₃
Naftoquinonas	C ₆ -C ₄
Xantonas	C ₆ -C ₁ - C ₆
Estilbenos y Antraquinonas	C ₆ -C ₂ - C ₆
Flavonoides e Isoflavonoides	C ₆ -C ₃ - C ₆
Lignanós y Neolignanós	(C ₆ -C ₃) ₂
Biflavonoides	
Ligninas, Melaninas de catecol y Flavolanos	(C ₆ -C ₃) _n , (C ₆) _n , (C ₆ -C ₃ - C ₆) _n

(Bravo, 1998)

En las plantas, los PC dan color a las flores, frutas y semillas atrayendo a los polinizadores y dispersores de las semillas promoviendo la fertilización y germinación del polen, les brindan protección contra los rayos UV y funcionan como defensa contra microorganismos patógenos y herbívoros. Protegen las hojas de las plantas, las frutas (hasta que están maduras) y semillas (hasta que están listas para ser dispersadas) de los herbívoros, omnívoros y otros predadores, ya que actúan como repelentes alimenticios. Por su parte, los taninos, incrementan la resistencia del sorgo contra los pájaros y causan pérdida de peso en ratas y pollos y causan necrosis mucosa gastrointestinal y renal en los herbívoros, ya que inhiben enzimas digestivas como la tripsina, α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa ya que tienen la capacidad de unirse a macromoléculas, principalmente a proteínas y reducen la digestibilidad de los nutrientes. Otros como los ácidos fenólicos, son antimicrobianos y su contenido en las plantas está directamente relacionado con los microorganismos, ya que se incrementa después de una infección (Porrás-Loaiza *et al.*, 2009).

Los PC, están reconocidos como inhibidores de la absorción de distintos minerales, ya que tienen la capacidad de quelar cationes divalentes, principalmente Fe y Zn, a través de su unión a los grupos hidroxilos y carboxilos, reduciendo la biodisponibilidad de los mismos en el intestino.

Una de las características más sobresalientes y por la que hay un gran interés es su reactividad con los radicales libres ya que son capaces de neutralizarlos donando un átomo de hidrógeno o un electrón y convertirse en un radical antioxidante estabilizado por resonancia, siendo eficaces como antioxidantes no solo en la conservación de alimentos sino también en su empleo como bioactivos útiles en la prevención y tratamiento de enfermedades crónicas degenerativas en las que se sabe que los radicales libres están implicados en su desarrollo (Roleira *et al.*, 2015).

1.5.1.1 Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

Las propiedades biológicas de los PC son diversas, presentan actividad como antioxidantes, antiinflamatorios, antialérgicos, hepatoprotectores, antivirales, anticarcinogénicos y vasodilatadores (Velderrain *et al.*, 2014).

Las funciones biológicas de éstos compuestos han sido atribuidas a su efecto antioxidante, ya que actúan directamente como secuestrantes de radicales libres e indirectamente como quelantes de iones metálicos prooxidantes. La capacidad antioxidante de los PC, depende de su estructura, particularmente del grado de hidroxilación de los anillos aromáticos, de la posición de los grupos hidroxilo y de su solubilidad en fase acuosa o lipídica. Son efectivos para atrapar radicales peroxil, radicales alquil peroxil, el superóxido, los radicales hidroxil, el óxido nítrico y el peroxinitrito, tanto en ambientes lipídicos como acuosos (Duthie, 2000; Posada *et al.*, 2003). En un estudio llevado a cabo por Owen *et al.*, (2000), con aceite de oliva, se demostró que todas las clases de compuestos fenólicos son antioxidantes potentes y los relacionan con la actividad anticancerígena.

Dentro de los PC, los flavonoides son uno de los grupos más estudiados por su gran capacidad antioxidante. Se han descrito numerosas acciones terapéuticas tales como efectos antivirales, antiinflamatorios, antiateroescleróticos, anticancerígenos y antialérgicos. Son eficientes atrapadores de radicales libres de oxígeno, protegen de la oxidación a las lipoproteínas de baja densidad (LDL), son quelantes de iones de metal y protegen al ADN de daño oxidativo (Bravo, 1998; Duthie G., 2000).

Los PC son moduladores de la actividad de algunas enzimas como citocromo P450, la óxido nítrico sintetasa, la ciclooxigenasa y las lipooxigenasas, además de proteger los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos del daño oxidativo (Wollgast, 2000).

Algunas fuentes dietarias de PC son la manzana, la cereza, la fresa, las cebollas y algunas bebidas como el té verde, el vino tinto y el chocolate.

1.5.1.2 Biodisponibilidad de los compuestos fenólicos

La absorción y el metabolismo de los PC de los alimentos están determinados principalmente por su estructura química y depende de factores como el grado de glicosilación, acilación, su estructura básica (benceno o derivados de flavonas), la conjugación con otros compuestos fenólicos, tamaño molecular, grado de polimerización, y solubilidad.

La absorción de los PC se produce en el intestino. Buchanan *et al.*, (1996), mostraron que los ácidos ferúlico y p-cumárico se liberan de la pared celular. Algunos ácidos fenólicos son liberados parcialmente en el intestino superior debido a la naturaleza lábil de álcali, sus enlaces de éster con polisacáridos de la pared celular y por la acción de las bacterias fermentativas en el intestino (especialmente en el íleon terminal). Los PC libres se absorben rápidamente por la mucosa intestinal y la mayor parte de grupos fenólicos que alcanzan el intestino grueso, se solubilizan a partir de la pared celular. Los PC libres (ácido cumárico y ferúlico) se liberan tras la fermentación bacteriana de los polisacáridos de la pared celular. Los PC resistentes a la degradación microbiana no se absorben en el intestino y se excretan en las heces (Petti *et al.*, 2009).

Los PC son comunes en todas las dietas donde se consumen frutas y verduras pero la información disponible sobre la ingesta cuantitativa es incompleta por lo que se ha estudiado la eficiencia de dicha absorción y la permanencia de los PC o sus conjugados y derivados en el cuerpo.

Estudios en animales con PC marcados con C¹⁴ indican que sólo se lleva a cabo la absorción parcial. El 20% de la quercetina que se administró a ratas fue absorbida, 30% se excreto, y el 50% restante fue metabolizado, produciendo ácidos fenólicos. King *et al.*, (1995) informaron de una absorción aproximada del 20% de las isoflavonas de soya administrados a ratas, con una excreción fecal de aproximadamente 21% de la dosis ingerida. Mostraron que el 19% de los PC (p-cumárico y ácidos ferúlico) unidos a los polisacáridos de la pared celular son excretados en las heces de rata. Alrededor del 20% de la dosis se excreta en la orina y más de 34% se incorporó en los tejidos corporales 18 horas después de la alimentación forzada; experimentos con seres humanos (restringidos al estudio de flavonoides), también muestran la absorción parcial de PC. La absorción de quercetina administrada por vía oral en individuos sanos varió entre el 24 – 52% de la aglicona y glucósido ingerido respectivamente. En isoflavonas de soya administradas a seres humanos varió desde el 9 – 21%, dependiendo de las concentraciones isoflavonas en sangre.

Otras investigaciones acerca de la biodisponibilidad *in vitro* de los PC, son sobre el cacao, del que se ha observado incrementa la capacidad antioxidante del plasma a un 31% y

una reducción de 40% de las sustancias óxido-reductoras. Lo que apoya el concepto de que los PC, como los flavonoides del chocolate, son bien absorbidos y su consumo disminuye las concentraciones plasmáticas de sustancias oxidantes (Balasundram *et al.*, 2005).

1.5.1.3 Relación de los compuestos fenólicos con diversas patologías

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

Los PC, pueden interferir en distintas etapas que conducen al desarrollo de tumores malignos al proteger al ADN del daño oxidativo, inactivando los carcinogénicos e inhibiendo los genes mutagénicos de la actividad de las enzimas encargadas de la activación de procarcinógenos. Diferentes estudios epidemiológicos, han puesto en evidencia el efecto preventivo de los PC frente al cáncer de vejiga y pulmón (Galati *et al.*, 2004). Estudios epidemiológicos sugieren que el alto consumo de flavonoides disminuye la mortalidad por enfermedad coronaria hasta un 65%, generalmente disminuye el riesgo de accidente cerebrovascular, así como para pulmón y los cánceres de recto, el asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Tienen actividad contra el virus de la gripe humana y aviar debido principalmente a la inhibición de la hemaglutinina viral, mientras que la actividad contra el citomegalovirus es atribuido a la inhibición de los receptores del factor de crecimiento epidérmico.

En animales y estudios *in vitro* se han demostrado efectos importantes como la disminución de la inmovilización de leucocitos, la inducción de la apoptosis, proliferación celular y la inhibición de la angiogénesis, y actividad fitoestrogénica, así como un efecto contra la caries dental ya que reducen la presencia de *Streptococcus mutans*. Hay evidencia de que el alto consumo de PC tiene un efecto preventivo contra el cáncer oral, de esófago y faringe. Otros PC, su fuente y los efectos biológicos sobre la salud se muestran en la tabla 4.

Con lo mencionado anteriormente sobre los PC, se evidencia la importancia de consumir de manera regular alimentos con alto contenido de PC, por los múltiples beneficios que dichos compuestos confieren a la salud. Trabajos como la presente tesis, buscan poner en manifiesto las ventajas del consumo de quintonil desde un punto de vista nutricional, químico y cultural, porque no hay que olvidar que el quintonil es un alimento endémico de México.

Tabla 4. Principales fuentes, efectos biológicos y aplicaciones de compuestos fenólicos como ingredientes funcionales en la formulación de alimentos funcionales

Compuesto bioactivo	Fuentes	Efectos biológicos
Ácidos fenólicos	Fresas, frambuesas, moras, arándanos, cerezas, kiwis, ciruelas, mango y vegetales como cebollas y rábanos.	Actividad antioxidante e inhibición de la oxidación de la lipoproteína de baja densidad.
Flavonoides	Frutos como cítricos, cerezas, grosellas, arándanos y manzanas, entre otros. Vegetales como cebollas, espárragos, apio, brócoli, espinacas, hojas de remolacha, tomate, perejil y hierbas aromáticas. Soya como fuente importante de isoflavonas.	<p>Prevención del envejecimiento por daño celular causado por especies reactivas de oxígeno.</p> <p>Prevención de enfermedades cerebro-vasculares.</p> <p>Efectos anticancerígenos. Actúan como agentes bloqueantes en estadios de iniciación, estimulan la detoxificación de carcinógenos, inhiben la formación y el crecimiento de tumores e inhiben la proliferación celular.</p> <p>Prevención y tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer.</p>
Estilbenos	Uvas, vino, cacahuates, arándanos, frambuesa y zarzamoras. <i>Polygonum cuspidatum</i> .	<p>Prevención del envejecimiento.</p> <p>Modulación del metabolismo de lípidos e inhibición de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad.</p> <p>Efectos anticarcinogénicos, antiinflamatorios y antioxidantes que son relevantes en el desarrollo de enfermedades crónicas.</p>
Lignanos	Semillas de linaza, cereales, zanahorias, brócoli y bayas.	Protección frente a enfermedades cardiovasculares y cáncer de pecho, colon y piel.

(Velderrain *et al.*, 2014)

1.5.2 Clorofilas

Las clorofilas, son el pigmento fotoreceptor más importante que absorbe luz. Se encuentran en orgánulos específicos como los cloroplastos y están asociadas a lípidos y lipoproteínas. Son pigmentos verdes con estructuras policíclicas planas que se parecen a la porfirina de la hemoglobina, excepto que la posición central está ocupada por Mg^{2+} en lugar de Fe^{2+} . En las plantas de orden superior existen dos tipos de clorofila: clorofila *a* y clorofila *b*. La clorofila *a*, presente en los cloroplastos de todas las plantas verdes, contiene cuatro anillos pirrólicos sustituidos, uno de los cuales (anillo IV) está reducido y un quinto anillo que no es un pirrol (Lehninger *et al.*, 2006). La clorofila *b* se diferencia de la clorofila *a* por que es más estable y tiene un grupo aldehído en lugar de un grupo metilo unido al anillo II. Todas las clorofilas tienen una cadena lateral larga de fitol, esterificado a un grupo carboxilo sustituyente del anillo IV. Los cuatro átomos de nitrógeno orientados hacia el interior de la clorofila *a* están coordinados con el Mg^{2+} (Figura 4).

Las clorofilas, tienen coeficientes de absorción molar elevados, están capacitadas para absorber la luz visible durante la fotosíntesis. El proceso global implica la producción de electrones capaces de reducir el CO_2 que junto con el H^+ dan lugar a hidratos de carbono y la energía atrapada se libera en procesos oxidantes de la planta y en último lugar en los animales que producen la energía química y mecánica para el desarrollo de la vida.

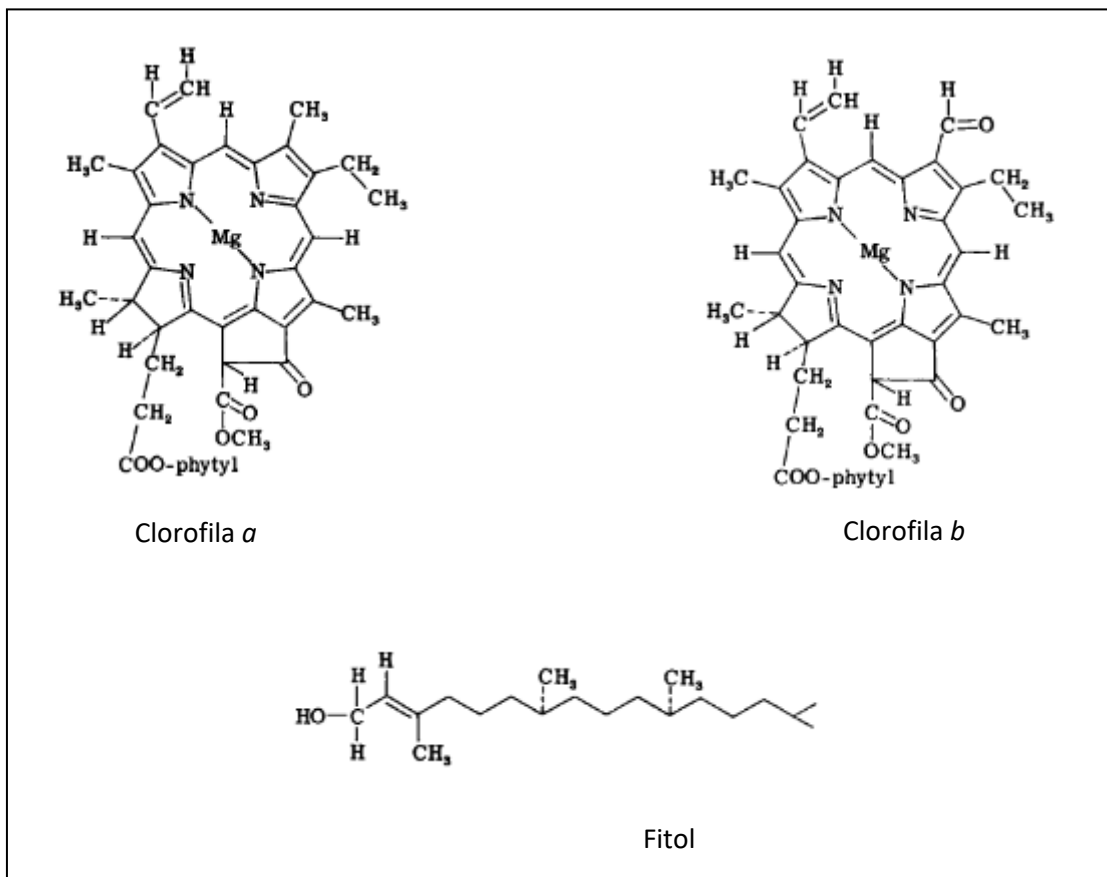


Figura 4. Clorofila *a* y clorofila *b* (Aronoff, 1966).

1.5.2.1 Síntesis de clorofila

En las plantas, la clorofila se dispone en agrupaciones de unos centenares de moléculas y su principal función es actuar como antena para captar la luz mientras que en menor proporción actúa como centro de reacción.

El primer precursor de la clorofila es el ácido δ -aminolevulínico, compuesto de cinco carbonos que se produce por la condensación de succinil-CoA y glicina en animales y bacterias. En las plantas y las algas se forma ácido δ -aminolevulínico por otra ruta utilizando el esqueleto carbonado intacto del ácido glutámico. Todos los átomos de carbono y nitrógeno del núcleo porfirínico de la clorofila se derivan de este compuesto. El ensamblaje del esqueleto tetrapirrólico se produce por la condensación de dos moléculas de ácido δ -aminolevulínico para formar unidades de porfobilinógeno, que son los primeros intermediarios pirrólicos en esta ruta. Posteriormente se enlazan secuencialmente, cabeza con

cola, cuatro unidades de porfobilinógeno, para dar un tetrapirrol inestable que tiene las condiciones de formar el ciclo tetrapirrólico Uroporfirinógeno III. Este isomero tiene un anillo D invertido, la secuencia de sustituyentes es posición β y es la inversa con respecto a los otros anillos.

La conversión a Coproporfirinógeno III está ligada a la descarboxilación de cuatro moléculas de ácido acético liberando grupos metilo y se descarboxilan oxidándose dos de los cuatro ácidos propiónicos (en los anillos A y B), para dar grupos vinilo formando la Protoporfirina IX, que tiene sustituyentes vinilo en estas posiciones. La escisión de seis electrones del macrociclo porfirinógeno confiere al Proto características aromáticas. El Proto es el último precursor común de los hemos, bilinas y clorofilas.

A partir del último paso, la ruta de la clorofila comienza con la inserción del Mg en el núcleo Proto. Esto está seguido por la metilación del grupo ácido propiónico en el anillo C y a continuación el grupo vinilo del anillo B se reduce a etilo y nuevamente el ácido propiónico metilado, se oxida a carbonilo en la posición β y se une a su carbono en α para dar el carbono γ -meso de la porfirina, formando la protoclorofilida, que contiene un quinto anillo isocíclico que está presente en todas las clorofilas. La conversión de protoclorofilida a clorofilida requiere generalmente luz en las angiospermas.

El paso final en la formación de clorofila *a* consiste en la adición de la larga cadena de fitil-polisopreno. Este proceso se inicia mediante esterificación del ácido propiónico en el anillo D con geranylgeraniol del fitilo (Figura 5).

Las evidencias de que se disponen sugieren que la clorofila *b* se deriva directamente de la clorofila *a* mediante la oxidación del grupo metilo en el anillo B de un grupo formilo (Castelfranco, 1983).

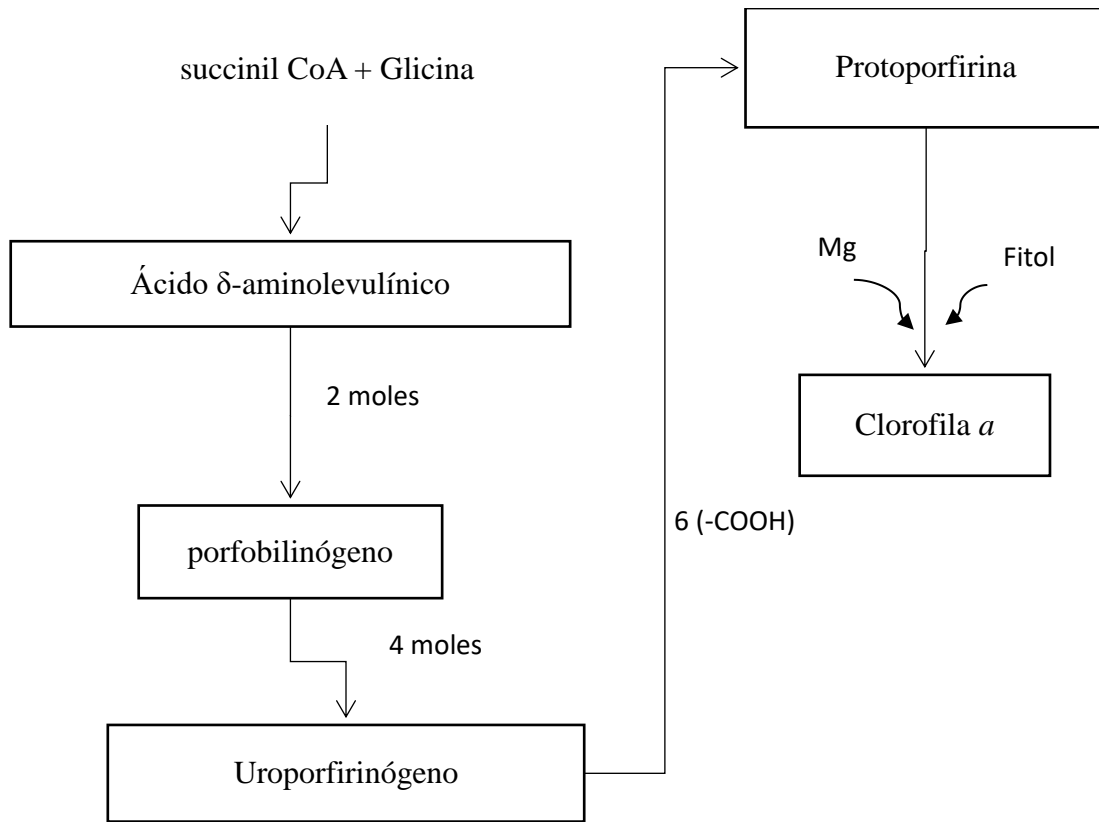


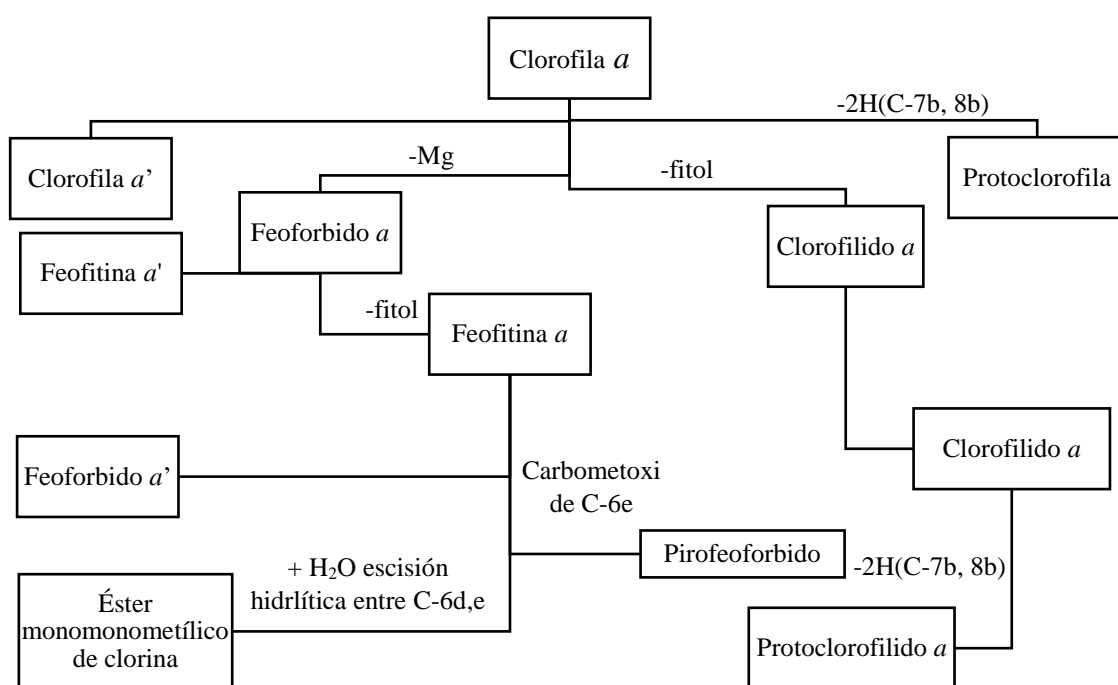
Figura 5. Esquema de la biosíntesis de clorofila (Castelfranco, 1983)

1.5.2.2 Degradación de la clorofila

En las plantas, el cambio de los pigmentos se caracteriza por una degradación de la clorofila y por la formación de carotenoides. La pérdida de la clorofila puede ocurrir en forma paralela con las primeras etapas de maduración (como en el caso del plátano) o más raramente después de que han finalizado otros cambios de maduración, también puede ser el resultado de la degradación de la clorofila con poca o ninguna formación de carotenoides (jitomate, mango), o antocianinas (fresa, algunas variedades de manzana).

Químicamente, las clorofilas se pueden alterar de muchas formas pero en el procesado de alimentos, la alteración más común es la feofitinización que es la sustitución del átomo central de magnesio por hidrógeno y la consecuente formación de feofitinas de color pardo oliváceo mate.

Los clorofilidos se forman por eliminación de la cadena de fitol; éstos compuestos son verdes y tienen esencialmente las mismas propiedades espectrales que las clorofilas, si se elimina el magnesio de los clorofilidos se forman los correspondientes feoforbidos (Figura 6) que tienen un mismo color y las mismas propiedades espectrales que las feofitinas. Pueden ocurrir otras reacciones debidas a los grupos funcionales laterales de las clorofilas, el anillo isocíclico se puede oxidar para formar clorofila allomerizada y la ruptura del anillo tetrapirrólico para formar productos finales incoloros que durante el procesado de los alimentos es posible que se formen en cierto grado pero son limitadas si se comparan con la feofitinización (Aronoff, 1966).



Clorofila a' = isómero estructural de Clorofila a

Figura 6. Subproductos de degradación de clorofila (Aronoff, 1966)

1.5.2.3 Propiedades de la clorofila

La clorofila, sus derivados (feofitina, pirofeofitina, clorofilida, feoforbida) y sus sales solubles en agua (clorofilinas) son considerados como un bioactivo ya que han mostrado tener un efecto benéfico sobre la salud. Han sido utilizadas clínicamente y se han incluido en la terapia fotodinámica (PDT) de tumores ya que tiene propiedades quimiopreventivas entre ellas la inhibición de mutaciones de la Salmonella, el 3-metilcolantreno y la carcinogénesis por aflatoxina B₁ (Simonich *et al.*, 2007).

Algunos estudios han descrito las actividades inhibitoras de la clorofila *a*, clorofila *b*, sodio-cobre-clorofilina (CHL), varias porfirinas y clorinas en diversos ensayos de genotoxicidad a corto plazo (Hayatsu *et al.*, 1993; Waters *et al.*, 1996). Estudios realizados en la década de 1930 y 1940 sugieren que las clorofilas y otras porfirinas pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer, con evidencia de su acumulación en carcinomas mamarios y sarcomas (Dupont *et al.*, 1935; Figge, 1948; Bachor *et al.*, 1991; Akhlynina *et al.*, 1995). Estudios en PDT emplean el uso reducido de porfirinas (clorinas), ya que estos compuestos absorben en las longitudes de onda que mejor penetran tejidos de mamíferos si generar sensibilización de la piel (Roberts *et al.*, 1989; Spikes, 1990).

Entre diversas clorofilas y porfirinas *a* se ha estudiado el CHL (conocido como cobre trisódico cloro e6), derivado soluble en agua de la clorofila que se ha utilizado en el tratamiento de diversas dolencias humanas sin evidencia de toxicidad, sensibilización de la piel, u otros efectos secundarios graves (Chernomorsky *et al.*, 1988). En el tratamiento de cortes y abrasiones, el CHL actúa como un agente de desbridamiento y se ha utilizado en pomadas para acelerar la velocidad de cicatrización de la herida (Chernomorsky *et al.*, 1988). El CHL también actúa como un desodorante por vía oral cuando se administra en una base diaria, y se ha utilizado clínicamente en el control de cuerpo, olor fecal y urinario en pacientes geriátricos y de ostomía (Young *et al.*, 1980; Nahata *et al.*, 1983).

Gran parte del interés actual en clorofilas como agentes quimiopreventivos se deriva de pruebas para determinar su actividad inhibitora en ensayos de genotoxicidad a corto plazo. Las clorofilas son eficaces contra una amplia variedad de mutágenos, cancerígenos, y clastógenos (Roderick, 1997; Chernomorsky *et al.*, 1999; Simonich *et al.*, 2007). Resultados

indican que las clorofilas inhiben tanto directa e indirectamente la acción de mutágenos *in vitro* mediante mecanismos como la formación de complejos moleculares carcinógenos aromáticos planos, la inhibición de la activación de carcinógenos, la degradación de los agentes carcinógenos y la reducción de radicales libres por su actividad antioxidante.

Conclusiones similares fueron obtenidas de estudios en los cuales se les dio CHL a ratas y 2-amino-3-metilimidazo [4,5 -f] (IQ) quinolina donde se observó que el CHL y el IQ marcado se ligaron en secciones del intestino delgado *in situ* e inhibieron la absorción de carcinógeno de la tripa (Dashwood, 1992).

Otro estudio demostró que la exposición posterior a la iniciación al 0.1% de CHL en el agua de bebida durante 1 semana protegió contra daños inducidos en la rata por 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo [4,5 -b] piridina (PhIP), pero también combinado en la iniciación y posterior a la iniciación era más eficaz (Guo *et al.*, 1995).

La actividad anticancerígena de CHL fue reportada por primera vez en el trucha arcoiris. La incidencia de la formación de tumores en el hígado se redujo de una manera dependiente de la dosis cuando el carcinógeno y el inhibidor se administraron conjuntamente en la dieta (Breinholt, 1995).

Sin embargo, también hay estudios tumorales que sugieren que la exposición prolongada después de la iniciación a una dosis alta de CHL podría proporcionar un estímulo promocional en algunos tejidos.

Estudios epidemiológicos evidencian una correlación inversa entre la incidencia de cáncer y el consumo de vegetales verdes y frondosos y frutas (Rogers *et al.*, 1993), aunque, aún deben realizarse más estudios para la comprensión del papel de las clorofilas de la dieta, contra carcinógenos y mutágenos.

Como puede verse, la clorofila es un importante bioactivo presente en las plantas. Tal y como se describió en la sección 1.4, el quintonil presenta diferentes coloraciones, las cuales no solo se atribuyen a la presencia de CF sino a su contenido de clorofila. Por tanto, el consumo regular de quintonil tendría un alto impacto en la salud mexicana.

1.5.3 Ácidos grasos

Las grasas aportan, energía, ácidos grasos esenciales y sirven de vehículo para la absorción de las vitaminas A, D, E, K y de los carotenoides. Son una fuente de antioxidantes, compuestos bioactivos, ácidos grasos insaturados, tocoferoles y fitoesteroles (Baeza *et al.*, 2014).

En su mayoría, los lípidos de origen vegetal son obtenidos de plantas oleaginosas, cuya semilla es rica en aceites. Estos productos se utilizan principalmente para aplicaciones nutricionales y elaboración de alimentos, aunque en los últimos años ha aumentado su uso en la producción de biocombustibles, también se generan materias primas químicas, entre ellos nutraceuticos (Rodríguez-Cruz *et al.*, 2005).

Los principales compuestos químicos con potencial nutraceutico presentes en alimentos grasos de origen vegetal son ácidos grasos, tocoferoles y fitoesteroles.

Los ácidos grasos, están constituidos por cadenas alifáticas de carbono e hidrógeno unidas a un carboxilo, son cualquiera de los ácidos monocarboxílicos alifáticos que pueden ser liberados por hidrólisis de grasas naturales y aceites. Se representan con la formula general R-COOH, donde R representa la cadena alquílica formada por átomos de carbono e hidrógeno y el COOH que es el grupo carboxilo terminal. Son principalmente ácidos de cadena lineal de 4 a 24 átomos de carbono, pueden ser saturados o insaturados; ácidos grasos ramificados e hidroxilados y ácidos de cadena larga de más de 30 átomos de carbono como los que se encuentran en las ceras (Nelson and Cox, 2014).

Los aceites vegetales, consisten casi enteramente en triacilglicerol (TAG), ésteres que contienen tres ácidos grasos, con longitudes de cadena de C₈ – C₂₄, siendo los de C₁₆ y C₁₈ los más comunes. El valor y aplicación de un aceite está determinado por su composición de ácidos grasos (Nelson and Cox, 2014).

1.5.3.1 Clasificación

Los lípidos forman parte de los tejidos de plantas y animales y son clasificados como: esteroides, fosfolípidos, esfingomielinas, ceras y grasas. Los principales componentes de todas las grasas son los ácidos grasos y se identifican como:

Ácidos grasos saturados (SFA): ácidos grasos que no tienen enlaces dobles. Proviene principalmente de productos de origen animal, como la carne y productos lácteos. En general son sólidas a temperatura ambiente. El ácido esteárico, es un ejemplo de ácidos grasos saturados y tiene diferentes efectos biológicos. Las diferentes fuentes de ácido esteárico son la carne, chocolate y aceites vegetales hidrogenados o parcialmente hidrogenados.

Ácidos grasos trans: Los ácidos grasos *trans* son ácidos grasos insaturados que contienen al menos un doble enlace en la configuración *trans*. La hidrogenación parcial de los aceites poliinsaturados causa isomerización de algunos de los enlaces dobles restantes y la migración de los demás, lo que resulta en un aumento en el contenido de ácido graso *trans* y el endurecimiento del aceite.

El ácido eláídico (t9-C18:1) es el principal ácido graso *trans* en las grasas procesadas. Las principales fuentes de ácidos grasos *trans* son los aceites vegetales total o parcialmente hidrogenados que se utilizan para hacer manteca y productos comerciales horneados, botanas, alimentos fritos y margarina.

En el aceite que está totalmente hidrogenado (es decir los ácidos grasos insaturados se han convertido en ácido esteárico), no hay ácidos grasos insaturados *trans*.

Los ácidos grasos *trans* se han considerado nutricionalmente indeseables desde la época de los 70's. Diversos datos sugieren que los ácidos grasos *trans* pueden aumentar los niveles de lipoproteína de baja densidad (LDL) en sangre, en la misma que los ácidos grasos saturados, además que la ingesta de ácidos grasos *trans* se asocia con la incidencia de enfermedad cardíaca, y que el tipo, no la cantidad de grasa en la dieta contribuye al riesgo de esta enfermedad (Stuchlik *et al.*, 2002; Ganguly *et al.*, 2012).

Ácidos grasos monoinsaturados (MUFA): Los MUFA, tienen un doble enlace. Las fuentes ricas en grasas monoinsaturadas, incluyen nueces y aceites vegetales por ejemplo aceite de canola, aceite de oliva, cártamo de alto contenido oleico y aceite de girasol que son líquidos a temperatura ambiente.

Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA): Los PUFA tienen dos o más dobles enlaces y pueden ser omega-3 (n-3), omega-6 (n-6) y omega-9 (n-9), en base a la posición del doble enlace en los átomos de carbono a partir del grupo metilo o terminal omega (Badui, 1996). Algunos de éstos son el ácido α -linolénico (ALA) y ácido linoléico (LA), ácidos grasos representativos de los familias n-3 y n-6, respectivamente. Los n-6 se encuentran principalmente en los aceites vegetales líquidos como aceite de soya, de maíz y de cártamo. Los n-3, se obtiene a partir de fuentes vegetales como el aceite de soya, aceite de canola, nueces y linaza. El ácido eicosapentaenóico (EPA) y ácido docosahexaenóico (DHA) son ácidos grasos n-3 que se encuentran en peces y mariscos.

Una característica importante de los PUFA es que son reconocidos como ácidos grasos esenciales ya que el organismo humano no los puede sintetizar y es necesario obtenerlos de la dieta (son exclusivos de las plantas y productos marinos). Los componentes que se derivan a partir del consumo de éstos ácidos son la prostaglandinas, tromboxanos, prostacioclinas y leucotrienos, compuestos activos biológicamente. Las prostaglandinas promueven la contracción del músculo liso incluyendo el del intestino y el útero, regulan el dolor y la inflamación en todos los tejidos y los tromboxanos regulan la función plaquetaria y la coagulación (Ronayne de Ferrer, 2000; Del Prado *et al.*, 2003; Rodríguez-Cruz *et al.*, 2005).

1.5.3.2 Digestión, absorción y transporte de los ácidos grasos

Los ácidos grasos que provienen de la dieta entran en los enterocitos por medio de una proteína que transporta ácidos grasos localizada en la pared intestinal. Los ácidos grasos con más de 14 carbonos, como el ALA y LA, se esterifican para formar TAG dentro del enterocito y pasan a la circulación sanguínea a través de la vía linfática en forma de quilomicrones.

La enzima lipoproteína lipasa, que se encuentra en la pared interna de los capilares sanguíneos hidroliza los TAG presentes en las lipoproteínas de los quilomicrones liberando ácidos grasos incluyendo PUFA. Los PUFA liberados se incorporan en los TAG del tejido adiposo e inhiben la expresión genética de enzimas involucradas en la lipogénesis; en el músculo incrementan la oxidación de ácidos grasos y reducen la acumulación de TAG; en la glándula mamaria lactante se utilizan para la síntesis de lípidos de la leche; en el hígado son incorporados a TAG y suprimen la síntesis de lípidos y estimulan la oxidación de ácidos grasos (Rodríguez-Cruz *et al.*, 2005).

1.5.3.3 Propiedades funcionales de los ácidos grasos

En los últimos años se ha incrementado el interés por el consumo de PUFA debido a que se les ha asociado una amplia gama de beneficios a la salud. Los ácidos grasos n-3 por ejemplo son componentes estructurales del cerebro y de la retina durante el desarrollo del feto en la gestación. Se ha estimado que aproximadamente 600 mg de ácidos grasos esenciales son transferidos de la madre al feto. Algunos estudios sugieren que el consumo de pescado y suplemento con aceite de pescado durante la gestación puede prolongarla, reduce la incidencia de partos prematuros e incrementa el peso al nacimiento (Del Prado *et al.*, 2003).

Durante el crecimiento, en niños amamantados o alimentados con fórmulas que contienen DHA se ha observado una mejor agudeza visual y una mejor capacidad para responder a la luz, lo cual está asociado con una mejor habilidad cognitiva para integrar información.

Aunado a esto, hoy se sabe que los ácidos grasos n-3 no solo son esenciales para el crecimiento y desarrollo sino también son importantes en la prevención y tratamiento de enfermedades.

Bruckner (2000), indica que los ácidos grasos n-3 tienen efectos antitrombóticos y antiarrítmicos, aumentan el tiempo de sangrado evitando la adherencia de plaquetas en las arterias, previene la aterosclerosis al reducir las concentraciones de colesterol en plasma y son útiles en pacientes hipertensos ya que contribuyen a bajar la presión sanguínea y reducen

la concentración de triglicéridos. También son considerados como candidatos para formar parte del tratamiento contra el SIDA por su habilidad para disminuir la producción de interleucina-6 y los factores de necrosis tumoral que son sustancias que favorecen la replicación del virus y otras citosinas responsables de los aspectos clínicos de la enfermedad del SIDA, como dolor de cabeza, fiebre, anorexia, disfunciones motoras y caquexia (Del Prado *et al.*, 2003; Rodríguez-Cruz *et al.*, 2005).

Sobre el sistema nervioso, los ácidos grasos n-3 son esenciales para un adecuado desarrollo y funcionamiento del cerebro. Se concentran en la retina y la corteza cerebral y tienen la capacidad de corregir problemas visuales y cerebrales en pacientes con deficiencia demostrada.

Muchos aspectos de ubicación, ansiedad, habilidad en el aprendizaje, memoria, función retinal se ven favorecidos con el consumo de ácidos grasos n-3 (Hoffman, 2000). Son precursores de compuestos hormonales como los prostanoides que facilitan la transmisión de mensajes en el sistema nervioso central (Simopoulos, 1999), contribuyen al patrón de organización del sueño en los niños (Connor, 1996), se ha demostrado que el DHA dietario tiene efectos protectores contra un aumento en hostilidad en estudiantes bajo condiciones de estrés (Hibbeln, 1997). Bajas concentraciones de DHA son un indicador útil para predecir mayores problemas de conducta en niños a quienes se les ha diagnosticado el síndrome de déficit de atención con hiperactividad. Estos problemas pueden ser un reflejo en parte de la neurotransmisión serotoninérgica (Hibbeln *et al.*, 1995).

Otras enfermedades sobre las cuales los ácidos grasos tienen efectos benéficos son la diabetes tipos 2, cáncer, colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, obstrucción pulmonar crónica, enfermedades renales, artritis reumatoide (Asif, 2011). De acuerdo con Simopoulos (2008), en la prevención secundaria enfermedades cardiovasculares, una proporción de ácidos grasos n-6/n-3 de 4/1 se asocia con una disminución del 70% en la mortalidad total. Una proporción de 2.5/1 se asocia con una reducción de la proliferación celular rectal en pacientes con cáncer colorectal. La proporción más baja de n-6/n-3 en mujeres con cáncer de mama se asocia con un menor riesgo y el consumo de ácidos grasos n-3 beneficia la calidad

de vida, el estado funcional y la actividad física de pacientes con cáncer pulmonar (Van der Meij *et al.*, 2012).

Proporciones de 2-3/1 suprimen la inflamación de pacientes con artritis reumatoide y una relación de 5/1 tiene efectos beneficiosos en pacientes con asma, mientras que una de 10/1 puede tener consecuencias adversas por lo que la recomendación de ingesta de n-6 por encima de 5%, e idealmente alrededor de 10% de la energía total se considera la adecuada (Czernichow *et al.*, 2010).

Las dietas enriquecidas en MUFA previenen las modificaciones oxidativas de LDL más que la dieta enriquecida con PUFA y la oxidación de LDL en pacientes con enfermedad vascular periférica.

El incremento dietario de PUFA n-3 disminuye el riesgo de enfermedad cardiovascular o ejerce un efecto cardioprotector sin importar la relación n-6/n-3 (Lee *et al.*, 2012). El consenso actual es que los ácidos grasos n-3 son componentes integrales de una dieta sana y que juegan un papel importante en la prevención de muchas enfermedades. Actualmente existen numerosas fuentes de éstos ácidos grasos en los alimentos comúnmente consumidos. La formulación de n-3 y los alimentos funcionales con un mayor contenido de n-3 son cada vez más disponibles. Los concentrados de n-3 ofrecen las ventajas de una alta concentración de éstos compuestos y una baja concentración de colesterol y grasa saturada por cápsula. Sin embargo, se ha demostrado que estos concentrados no tienen los mismos efectos biológicos que las fuentes naturales. Esto hace importante la promoción de una buena nutrición, conocer las variables de los aceites vegetales y familiarizarse con los alimentos que contiene ácidos grasos.

Por todo lo que se ha descrito en la sección 1.5, es de suma importancia destacar el potencial que el quintonil (*A. hybridus*) tiene como alimento funcional al contener los bioactivos mencionados: PC, clorofila y PUFA.

El consumo regular de quintonil puede contribuir de manera significativa a las necesidades de nutrientes del hombre y puede ser utilizado como una fuente de nutrientes para complementar otras fuentes importantes, sin embargo, el análisis químico, no es el único

criterio para juzgar el valor nutricional de esta planta. Es necesario tener en cuenta otros aspectos como la biodisponibilidad de los nutrientes y los efectos del procesamiento sobre los valores nutritivos y químicos de la planta, por ello, este trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de bioactivos y actividad antioxidante del *A. hybridus* así como el efecto de la época en que se cosecha, contribuyendo a determinar su utilidad e idoneidad como un vegetal comestible o de otra manera.

II. JUSTIFICACIÓN

El quintonil (*Amaranthus hybridus*) es una planta comestible autóctona del país, que merece atención no solo por el valor nutritivo, contenido balanceado de aminoácidos y alto rendimiento de grano que tiene, sino porque contiene bioactivos como compuestos fenólicos y ácidos grasos poliinsaturados, que de acuerdo con estudios recientes, pueden ser benéficos en el control de ciertas enfermedades como la diabetes mellitus, la obesidad y algunos tipos de cáncer.

Las formas de preparar los quelites son variadas como por ejemplo hervido y al vapor, que son los tratamientos térmicos comúnmente aplicados para su consumo en la vida cotidiana, la época de cosecha también es un factor que podría modificar los componentes de ésta especie. Se sabe que los tratamientos térmicos modifican las propiedades del alimento por lo que es importante conocer los efectos de los tratamientos tradicionales aplicados al quintonil para su consumo. Éste trabajo, tiene como objetivo, establecer la relación entre los tratamientos térmicos y la época de cosecha sobre el contenido de bioactivos (clorofila, ácidos grasos omega-3, omega-6, compuestos fenólicos totales) y la actividad antioxidante del quintonil (*Amaranthus hybridus*) con la finalidad de dar un aporte a la ciencia básica y coadyuvar a su consumo, no solo por su valor nutrimental, sino como una ventaja para el aprovechamiento por parte del agricultor y del consumidor, ya que tiene bajos requerimientos nutrimentales como el agua además de que presenta una alta resistencia a enfermedades y plagas y su contenido nutrimental y compuestos bioactivos lo hacen potencialmente explotable como fuente de alimento y como un alimento nutracéutico y funcional. Además de intentar preservar la biodiversidad mexicana y revalorizar este cultivo.

III. HIPÓTESIS

Los procesamientos térmicos y época de cosecha en el quintonil (*Amaranthus hybridus*), tendrán un efecto en el contenido de bioactivos y actividad antioxidante.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de bioactivos y la actividad antioxidante del quintonil cosechado en primavera y otoño.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar el contenido de bioactivos (compuestos fenólicos totales, clorofila y ácidos grasos poliinsaturados) del quintonil cosechado en primavera y otoño.
- Evaluar la capacidad antioxidante del quintonil cosechado en primavera y otoño.
- Evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de bioactivos y la actividad antioxidante del quintonil cosechado en primavera y otoño.
- Relacionar el efecto del tratamiento térmico y la época de cosecha del quintonil sobre el contenido de bioactivos y la actividad antioxidante mediante un modelo de correlación múltiple.

V. METODOLOGÍA

5.1 Material vegetal

Los quintoniles, se colectaron en una hortaliza local de la comunidad de San Lorenzo Tlacotepec, Atlacomulco, Estado de México, durante las épocas de primavera y otoño (2015-2016). Como las hojas son la parte comestible del quintonil, constituyeron el objeto de estudio de este trabajo de tesis y por ello fueron previamente lavadas y desinfectadas (Figura 7). La identificación taxonómica de los quintoniles empleados en este trabajo de tesis, se llevó a cabo por la Dra. Hilda Flores Olvera en el Herbario Nacional de México y se depositó en el acervo con número de folio 1434640.



Figura 7. Quintonil (*Amaranthus hybridus*)

5.2 Tratamiento térmico

Los tratamientos térmicos frecuentemente aplicados por la población mexicana para la cocción de los quintoniles son: hervido y al vapor. Por ello, dichos tratamientos se aplicaron a hojas de quintonil como a continuación se describe:

Cocción a vapor. 5 g de hojas de quintonil fresco se cocinaron en una vaporera Ekco de acero inoxidable por efecto del vapor saturado (producido con 200 mL de agua a ebullición y presión atmosférica) durante 10 min. Se utilizó una estufa con control de temperatura. Después de este tiempo, las muestras, se colocaron en un baño con agua a 4°C durante 30

segundos para detener la cocción y se drenaron sobre papel secante durante 30 seg para eliminar el exceso de agua.

Hervido. 5 g de hojas de quintonil fresco se cocinaron en agua a ebullición a presión atmosférica, durante 10 min. Después de éste tiempo, la olla se colocó en un baño con agua a 4°C por 30 seg para detener la cocción y se drenaron sobre papel secante durante 30 seg para eliminar el exceso de agua.

5.3 Obtención de extractos

Después de la cocción de las muestras, se obtuvieron extractos acuosos y metanólicos adaptando técnicas estandarizadas y reportadas por López-Martínez *et al.*, (2014) para un análisis comparativo de los bioactivos presentes en las hojas quintonil. Los extractos acetónicos para la evaluación del contenido de clorofila se obtuvieron utilizando la metodología reportada por Vernon (1960) y se analizaron extractos de quintonil crudo como control.

Extractos acuosos (EA). 5 g de las hojas de quintonil, previamente sometidas a tratamiento térmico (hervidas y al vapor), se cortaron en trozos de 0.5 cm X 0.5 cm y se colocaron en tubos de 40 mL, se adicionaron 20 mL de agua destilada y se colocaron en agitación orbital (Lab-Line Orbit Environ, Modelo 3527, Melrose Plaza, IL) a 200 rpm durante 4 h a temperatura ambiente y en ausencia de luz. 5 g de hojas de quintonil crudo se emplearon como patrón de referencia. El sobrenadante se retiró y centrifugó a 11000 rpm durante 15 min. Los extractos se almacenaron a -20°C en la oscuridad hasta el momento de ser utilizados.

Extractos metanólicos (EM). 5 g de las hojas de quintonil, previamente sometidas a tratamiento térmico (hervidas y al vapor) y el control (quintonil crudo), se cortaron en trozos de 0.5 cm X 0.5 cm y se colocaron en tubos de 40 mL, se adicionaron 20 mL de metanol y se colocaron en agitación orbital (Lab-Line Orbit Environ, Modelo 3527, Melrose Plaza, IL) a 200 rpm durante 4 h a temperatura ambiente en ausencia de luz. El sobrenadante se retiró y centrifugó a 11000 rpm durante 15 min. Los extractos se almacenaron a -20°C en la oscuridad hasta el momento de ser utilizados.

Extractos acetónicos. 7 g de las hojas de quintonil, previamente sometidas a tratamiento térmico (hervidas y al vapor) y el control, se cortaron en trozos de 0.5 cm X 0.5 cm y se colocaron en tubos de 40 mL, se adicionaron 25 mL de acetona y se colocaron en agitación orbital (Lab-Line Orbit Environ, Modelo 3527, Melrose Plaza, IL) a 200 rpm durante 1 h a temperatura ambiente en ausencia de luz. El sobrenadante se retiró y centrifugó a 11000 rpm durante 15 min. Los extractos se almacenaron a -20°C en la oscuridad hasta el momento de ser utilizados.

5.4 Determinación de clorofila

La determinación de clorofila se realizó de acuerdo a la técnica de Vernon (1960). La absorbancia (A) de los extractos acetónicos obtenidos se leyó a 665 y 649 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Velaquin Modelo VE-5600UV). La concentración de clorofila, se obtuvo con las siguientes ecuaciones:

$$\text{Clorofila a (mg/L)} = 11.63 (A_{665}) - 2.39 (A_{649}) \quad (1)$$

$$\text{Clorofila b (mg/L)} = 20.11 (A_{649}) - 5.18 (A_{665}) \quad (2)$$

$$\text{Clorofila total (mg/L)} = 6.45 (A_{665}) + 17.72 (A_{649}) \quad (3)$$

Donde:

A_{649} = absorbancia de la muestra a 649 nm

A_{665} = absorbancia de la muestra a 665 nm

5.5 Determinación de compuestos fenólicos totales

La determinación de TPC se realizó de acuerdo a la propuesta de Gao *et al.*, (2002), utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu. 60 µL de los extractos se diluyeron en 690 µL de agua destilada, y se le adicionaron 375 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu, se mezclaron y dejaron reposar por 3 min a 25°C, posteriormente se adicionaron 900 µL de Na₂CO₃. La mezcla se dejó reposar durante 90 min en la oscuridad. Después de ese tiempo se midió la

absorbancia a 765 nm. Los TPC se expresaron en mg de ácido gálico/100 g de muestra peso fresco (mg eq ácido gálico/100g muestra) con base a una curva estándar de 0 a 600 mg/g.

5.6 Determinación de ácidos grasos

5.6.1 Extracción de lípidos

Con la finalidad de recuperar la mayor cantidad de lípidos contenidos en las hojas de quintonil, se ensayaron tres sistemas de disolventes. El sistema 1 fue hexano, el sistema 2 fue $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (2:1) y el sistema 3 fue $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (1:2).

5 g de hojas de quintoniles frescos se colocaron en un equipo Soxhlet con los diferentes sistemas de disolventes a 60°C, con agitación magnética por una hora. La mezcla de aceite- disolvente se filtró a través de papel filtro para separar las hojas de la fase líquida, que se evaporó en un rotavapor para remover el solvente correspondiente a 40°C. La fracción lipídica obtenida en los extractos fue calculada por diferencia de peso.

5.6.2 Perfil de ácidos grasos

Los quintoniles crudos, hervidos y cocidos al vapor, fueron analizados por cromatografía. Primero se llevó a cabo un análisis por TLC para identificar las diferentes fracciones de lípidos presentes en los extractos. Las muestras (30 μL) fueron disueltas en cloroformo (120 μL) y fueron colocadas en placas de TLC de Merk (Silica gel 60 F₂₅₄) para ser desarrolladas usando diferentes mezclas de disolventes: (1) hexano: dietil éter (96:4, v/v) para separar triglicéridos (TAG), (2) hexano: dietil éter: ácido acético (100:2:0.2, v/v) para separar ácidos grasos libres (FFA) y (3) hexano: acetato de etilo (85:15, v/v) para separar diglicéridos (DAG) de acuerdo con Prieto *et al.*, (1992). Las placas fueron reveladas con una lámpara de luz ultravioleta a 254 nm para permitir la identificación de las diferentes bandas. Posteriormente, las placas fueron raspadas y disueltas en $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (2:1, v/v).

Después de esto, la solución resultante fue filtrada y sometida a derivatización selectiva para analizar por GC (Miranda *et al.*, 2013).

La derivatización se realizó como a continuación se indica: 200 μL de cada uno de los extractos se colocaron en un tubo de ensayo y se mezclaron con 1 mL de 0.2 N HCl- CH_3OH y se calentaron a 60°C , durante 4 h, luego se adicionaron 0.2 mL de agua destilada y 2 mL de hexano. Después de agitar la mezcla, se recuperaron los metil ésteres presentes en el hexano y se colectaron para analizarse por GC

2 μL de los extractos colectados, se inyectaron en un cromatógrafo de gases Varian 3800 (Palo Alto, CA) acoplado con una columna capilar Agilent HP-Innowax (30 m X 0.32 mm X 0.25 μm). Las temperaturas del inyector (CP-8410) y detector (FID) fueron de 250. La temperatura del horno se mantuvo en 50°C durante 2 min para posteriormente alcanzar 220°C a razón de $30^\circ\text{C}/\text{min}$ y se mantuvo durante 25 min. Posteriormente se elevó la temperatura a 255°C y se mantuvo así por 7 min más. Los distintos ácidos grasos fueron identificados comparando sus tiempos de retención con los del estándar Supelco 37 FAME Mix.

5.7 Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se evaluó contra radicales sintéticos como el DPPH y $\text{ABTS}^{\bullet+}$ así como contra radicales biológicos como el óxido nítrico y superóxido (especies reactivas de nitrógeno y oxígeno).

5.7.1 Porcentaje de inhibición de $\text{ABTS}^{\bullet+}$: 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico)

La medición de la actividad antioxidante se llevó a cabo de acuerdo a López-Martínez *et al.*, (2009). La solución stock de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se preparó mezclando 5 mL de una disolución ABTS (7 mM) y 88 μL de persulfato de potasio (140 mM), seguido de reposo en la oscuridad durante 12 h hasta producir una disolución de color verde oscuro. Posteriormente la disolución se diluyó con metanol hasta que la absorbancia alcanzó 0.74 a 734 nm. Se tomaron lecturas de absorbancia (A) de un blanco del reactivo, posteriormente se colocó 1 mL de la disolución del reactivo $\text{ABTS}^{\bullet+}$ y se combinó con 100 μL de cada extracto de las especies a una concentración estandarizada de 0.6 mg/mL (TPC) y una mezcla de 1 mL de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ y 100 μL de metanol como control. La lectura de la absorbancia se midió después de 10

minutos de combinar el extracto con la disolución del reactivo ABTS. El porcentaje de inhibición del $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \times 100 \quad (4)$$

Donde:

A control = absorbancia del control

A muestra = absorbancia de la muestra

5.7.2 Porcentaje de inhibición de DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

La actividad anti-radical fue adaptada del método de López-Martínez *et al.*, (2009). Los extractos se ensayaron a una concentración estandarizada de 0.6 mg/mL (TPC). La reacción con el radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) tuvo lugar a temperatura ambiente. Los extractos ensayados se adicionaron a 2.8 mL del radical (DPPH•, 98.9 mM en metanol) y se agitaron en vortex por 15 seg. La disminución en la absorbancia del DPPH• se midió a 520 nm en un espectrofotómetro, iniciando en el tiempo en que recién se añadió la disolución y cada 10 min hasta que ningún otro cambio se observó en la absorbancia de las muestras. Se utilizó metanol como blanco, Trolox (0.02 mM) como un control positivo antioxidante y una mezcla de 2.8 mL de DPPH• y 100 μL de metanol como control. La actividad antioxidante se calculó como % de inhibición con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \times 100 \quad (5)$$

Donde:

A control = absorbancia del control

A muestra = absorbancia de la muestra

5.7.3 Efecto inhibidor de la formación de óxido nítrico (NO[•])

La determinación se realizó de acuerdo al método de Giraldo *et al.*, (2003), utilizando nitroprusiato de sodio y el reactivo de Griess. 150 μ L de los extractos se diluyeron hasta 1.5 mL con agua destilada, enseguida, se adicionaron 300 μ L de nitroprusiato de sodio 113 μ M, se agitaron y dejaron a temperatura ambiente durante 150 min. Posteriormente se agregó el reactivo de Griess: primero 600 μ L del reactivo A (ácido sulfamídico 1% en ácido fosfórico), se dejó reposar durante 10 min y se agregaron 600 μ L del reactivo B (N-1-naftilenediamina al 0.1% en agua destilada). Después de 15 min de la dilución, se midió la absorbancia (A) del cromóforo a 546 nm. Se utilizó una muestra control que no contenía extracto y un blanco que contenía todos los reactivos excepto nitroprusiato de sodio. El porcentaje de inhibición de la formación de óxido nítrico se calculó acorde con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A_{\text{control}} - (A_{\text{mtra}} - A_{\text{blanco}})}{A_{\text{control}}} \quad (6)$$

Donde:

A control = absorbancia del control

A muestra = absorbancia de la muestra

5.7.4 Efecto inhibidor de la formación del radical superóxido (O₂⁻)

Se determinó mediante el método de Rojano *et al.*, (2012). El O₂⁻ se generó por medio de un sistema fenazina metosulfato-NADH-azul de nitrotetrazolio (PMS-NADH-NBT) en un buffer de fosfatos 75 mM y pH 7.4. 150 μ L de los extractos se adicionaron a un tubo que contenía 1650 μ L de PMS (10 μ M), en seguida, se adicionaron 600 μ L de NADH (468 μ M) y 600 μ L de NTB (156 μ M), se agitó y luego de 5 min a temperatura ambiente se midió la absorbancia a 560 nm. Los blancos se prepararon para cada extracto y contenían toda la mezcla excepto NADH y el control no contenía extractos de quintonil. El porcentaje de inhibición de la formación de O₂⁻ se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A_{\text{control}} - (A_{\text{mtra}} - A_{\text{blanco}})}{A_{\text{control}}} \quad (7)$$

Donde:

A control = absorbancia del control

A muestra = absorbancia de la muestra

5.8 Análisis estadístico

Los análisis se realizaron por triplicado y se evaluaron mediante un ANOVA, una diferencia de medias por la técnica de Tukey ($p < 0.05$) y se utilizó un modelo de correlación múltiple para establecer la relación entre el contenido de bioactivos, tratamiento térmico y actividad antioxidante mediante el paquete estadístico Statgraphics.

VI. RESULTADOS

Los resultados obtenidos se presentan en tres etapas diferentes. En la primera etapa se describen los resultados medidos para el contenido de clorofila y el efecto que los tratamientos térmicos y las estaciones del año para la cosecha del quintonil sobre los mismos. En la segunda etapa se discuten los resultados alcanzados durante la determinación de compuestos fenólicos totales contenidos en el quintonil y su actividad antioxidante así como el efecto que los tratamientos térmicos y estaciones de cosecha del año. Finalmente, la tercera etapa corresponde a los grupos de lípidos y perfil de ácidos grasos presentes en hojas de quintonil y el efecto que tuvieron sobre los mismos los tratamientos térmicos aplicados y las estaciones de cosecha del año.

Importantes e interesantes observaciones se encontraron en el desarrollo de este trabajo, lo cual no solo nos permite afirmar que el objetivo de esta tesis se cumplió si no que se genera conocimiento nuevo acerca de este cultivo ancestral.

6.1 Contenido de clorofila

De acuerdo con los resultados obtenidos en éste estudio el quintonil crudo contiene 29.2 ± 0.7 mg de clorofila *a*/100 g peso fresco (PF) cosechado en primavera y 21.6 ± 1.9 mg de clorofila *a*/100 g PF cosechado en otoño, una cantidad de clorofila *a* mayor comparada con los resultados reportados por Mepba *et al.*, (2007) para otros vegetales como el brócoli (0.230 mg/g PF), el repollo (0.080 mg/g PF) y la col rizada (0.200 mg/g PF), pero menor que la espinaca (0.780 mg/g PF) y la acelga (0.590 mg/g PF).

Los tratamientos térmicos aplicados produjeron cambios significativos en el contenido de clorofila presente en *A. hybridus*, la mayor cantidad de clorofila total se encontró en los quintoniles crudos (41.3 mg/100 g cosechados en primavera y 30.7 mg/100 g cosechados en otoño) mientras que los quintoniles que se trataron térmicamente, presentaron una reducción significativa ($p < 0.05$) y entre tratamientos térmicos (vapor y hervido) no hubo diferencias (Figura 8).

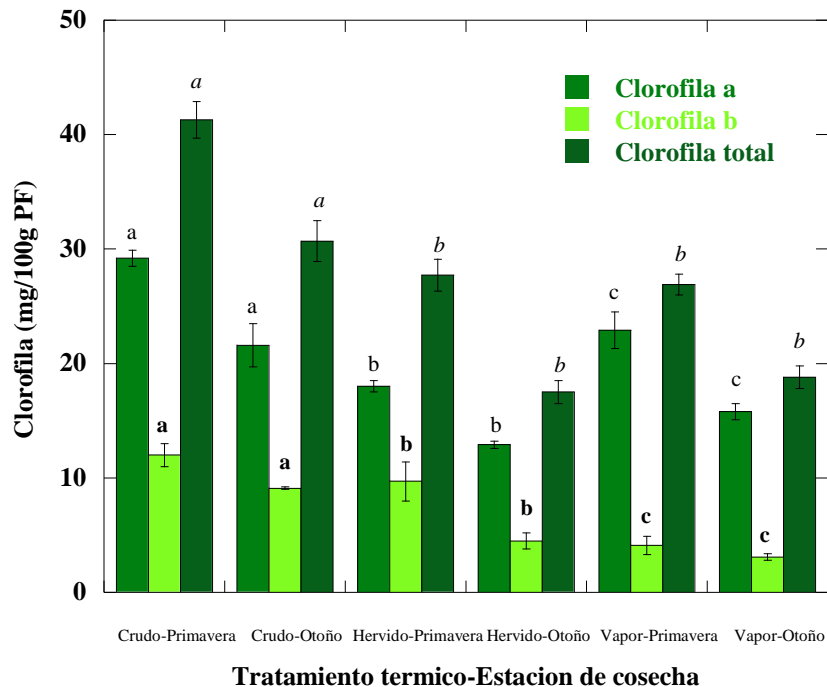


Figura 8. Efecto del tratamiento térmico y época de cosecha sobre el contenido de clorofila

Turkment *et al.* (2006) y Mitic' *et al.* (2013), reportan que el contenido de clorofila *a* y *b* presente en el brócoli, repollo blanco, col rizada, acelga y espinaca hervidos, es menor que en los vegetales frescos, lo que concuerda con nuestro estudio ya que la clorofila presente en el quintonil hervido y cocido al vapor presentó un comportamiento similar.

La reducción del contenido de clorofila se atribuye a la degradación de la clorofila en sus feofitinas correspondientes por la influencia de los ácidos producidos durante el proceso térmico y la pérdida del átomo de magnesio dando como producto derivados de la clorofila (Aronoff, 1966).

Los resultados de la influencia de la época cosecha muestran la composición y variación de la clorofila total, clorofila *a* y clorofila *b* de los quintoniles por el efecto de las condiciones climáticas. Se observó una reducción de clorofila en los quintoniles cosechados en otoño (30.7 mg/100 g) comparados con los cosechados en primavera (41.3 mg/100 g), estos resultados

coinciden con Cordero *et al.*, (2005) y Blinchov *et al.* (1977) quienes estudiaron la variación en el contenido de pigmentos en diferentes épocas del año del follaje verde de *Eucalyptus citriodora hook* y el *P. silvestris* y también observaron un menor contenido de pigmentos en otoño.

El mayor contenido de clorofila en primavera, se atribuye al reforzamiento de los procesos químicos de la planta por el aumento de las temperaturas y precipitaciones, mientras que la disminución del contenido de clorofila en otoño está dada por el estado de dormancia que presentan las plantas en determinado período anual de desarrollo y con las condiciones climáticas (temperatura, precipitaciones, radiación solar), que producen un letargo químico reduciendo la actividad metabólica de las plantas en épocas de sequía y de menores temperaturas Cordero *et al.*, (2005).

6.2 Contenido de compuestos fenólicos totales

El contenido de TPC en el quintonil, se cuantificó en EA y EM para comparar la eficiencia de los disolventes de extracción y los resultados obtenidos en la determinación se han expresado en mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra peso fresco (mg EAG/100 g PF) para las distintas muestras de quintonil.

De acuerdo con Amin *et al.*, (2004) para los análisis cuantitativos de TPC, varios investigadores han usado una mezcla metanol: agua para obtener resultados más eficientes y confiables en los vegetales ya que el metanol rompe las paredes celulares y permite una extracción eficientemente los TPC ligados a la pared celular y los que se encuentran en forma de glucósidos. En éste estudio se utilizó agua y metanol como solventes de extracción y no se observaron diferencias significativas ($p < 0.5$) en la cantidad de TPC extraídos por ambos disolventes, por lo que el agua fue preferida como medio de extracción ya que la práctica habitual en el hogar es cocinar con agua (Tabla 5).

El tratamiento térmico aplicado podría favorecer la destrucción térmica de las paredes celulares y los compartimentos subcelulares donde se encuentran los TPC así como la mayor disponibilidad de los mismos ya que los extractos acuosos del quintonil cocido al vapor (148.0 ± 5.5 mg EAG/100 g PF quintonil cosechado en primavera y 170.6 ± 1.6 mg EAG/100 g PF quintonil cosechado en otoño), presentaron un incremento con respecto a los

EA de quintonil crudo (14.5 ± 1.4 mg EAG/100 g PF quintonil cosechado en primavera y 58.3 ± 0.2 mg EAG/100 g PF quintonil cosechado en otoño) (Tabla 5).

Tabla 5. Efecto del tratamiento térmico y época de cosecha del quintonil sobre el contenido de compuestos fenólicos totales en extractos acuosos y metanólicos

<i>Tratamiento térmico</i>	<i>Época de cosecha</i>	<i>Disolvente de extracción</i>	<i>Compuestos fenólicos totales (mg EAG/100 g PF)</i>
<i>Crudo</i>	Primavera	Agua	14.5 ± 1.4 ^{a,a}
		Metanol	83.6 ± 0.3 ^{a,a}
	Otoño	Agua	58.3 ± 6.2 ^{a,a}
		Metanol	106.8 ± 3.7 ^{a,a}
<i>Hervido</i>	Primavera	Agua	15.0 ± 0.3 ^{b,a}
		Metanol	19.2 ± 1.8 ^{b,a}
	Otoño	Agua	29.2 ± 1.3 ^{b,a}
		Metanol	33.8 ± 0.3 ^{b,a}
<i>Vapor</i>	Primavera	Agua	148.0 ± 5.5 ^{c,a}
		Metanol	70.7 ± 2.5 ^{c,a}
	Otoño	Agua	170.6 ± 1.6 ^{c,a}
		Metanol	94.4 ± 2.6 ^{c,a}
<i>Agua de cocción</i>	Primavera	Agua	62.2 ± 2.1 ^{a,a}
	Otoño	Agua	74.2 ± 4.3 ^{a,a}

Los resultados son expresados en peso fresco (FW) como el valor principal \pm desviación estándar. Las diferentes letras de cada columna, indican la diferencia significativa de los tratamientos térmicos y de los disolventes de extracción (nivel de confianza 95%).

El quintonil hervido (15.0 ± 0.3 mg EAG/100 g PF quintonil cosechado en primavera y 29.2 ± 1.3 mg EAG/100 g PF quintonil cosechado en otoño) mostró un decremento significativo con respecto al quintonil crudo ya que ocurre una lixiviación por la que se pierden hasta un 75% de los TPC y en su mayoría se disuelven en el agua de cocción que presenta un contenido de 62.2 ± 2.1 a 74.2 ± 4.3 mg EAG/100 g PF de quintonil cosechado en primavera y otoño respectivamente.

Este estudio encontró un contenido máximo de TPC de 170.6 ± 1.6 mg EAG/100 g PF en EA de quintonil cosechado en otoño y cocido al vapor. Otros estudios realizados por Gutiérrez Avella *et al.*, (2008), Nana *et al.* (2012) y Jiménez Aguilar *et al.*, (2017), reportan

49.43 mg EAG/g peso seco (PS) en EM, 7.75 mg EAG/100 g PS en EA, 8.30 mg EAG/100 g PS en EM y 3.7 mg EAG/g PF en extractos de metanol:HCl 1.2 M (90:10, v/v). La diferencia podría atribuirse al secado de la muestra, los métodos y los tiempos de extracción empleados, las condiciones climáticas y de siembra así como los tratamientos térmicos aplicados.

A pesar de la diferencia en la concentración de TPC entre los resultados obtenidos y estudios anteriores, la cantidad de TPC encontrada para el quintonil en este estudio, es mayor que la reportada para otros quelites de mayor consumo en México entre ellos la espinaca (1.1-1.2 mg GAE/g PF) (Isabelle *et al.*, 2010; SAGARPA, 2015).

Con respecto a la época de cosecha, los quintoniles que se cosecharon en otoño presentaron un mayor contenido de TPC en comparación con los quintoniles cosechados en primavera. El estrés hídrico y luminoso que se genera en la planta por la época de sequía y menores temperaturas da como resultado el incremento en la producción de metabolitos secundarios para la protección y defensa de la planta. Saibo *et al.*, (2009) y Qing *et al.*, (2016) reportaron que la cantidad, la calidad y el tipo de radiación durante el brote de los cultivos afecta el contenido de TPC ya que la luz promueve la producción de malonil-CoA y cumaril-CoA que son precursores en la biosíntesis de PC.

Además las condiciones de sequía, salinidad y bajas temperaturas afectan la síntesis de ATP y la actividad del ciclo del Calvin se reduce generándose especies reactivas de oxígeno, que reaccionan y dañan componentes celulares constituyendo un estrés oxidativo, que debe ser reducido por mecanismos de defensa al estrés abiótico por ejemplo la superóxido dismutasa (SOD) y la glutatión-ascorbato proteínas implicadas en la producción de osmoprotectores y antioxidantes (Saibo *et al.*, 2009; Kwack *et al.*, 2015; Quian *et al.*, 2016).

6.3 Actividad antioxidante

Los resultados obtenidos en la determinación de la actividad antioxidante por los métodos indicados (Tabla 6) se han expresado en porcentaje de inhibición para las distintas muestras de quintonil con tratamiento térmico. De todos los EA y EM ensayados del quintonil,

los EA del quintonil cocido al vapor son los más efectivos para inhibir los radicales libres estudiados en ésta investigación (Tabla 6).

Algunos autores reportan una alta correlación entre el contenido de TPC y la actividad antioxidante (Conforti *et al.*, 2011; Venskutonis *et al.*, 2013), mientras que otros no han encontrado relación (Kähkönen *et al.*, 1999). En el presente estudio, se observa una respuesta lineal entre la determinación de TPC de los EM de quintonil crudo y al vapor y la actividad antioxidante para el método ABTS⁺ ($r=0.98$ y $r = 0.96$, respectivamente).

Con respecto a la inhibición de DPPH•, el empleo de diferentes solventes de extracción mostró un efecto significativo. Los EM de quintoniles mostraron la mayor actividad antioxidante sobre el radical DPPH•. Esto, puede atribuirse a la solubilidad de los radicales ya que el ABTS⁺ es soluble en medio acuoso y orgánico y el DPPH• es más soluble en medios orgánicos (Tabla 6).

El contenido de TPC de los EM y EA de quintonil crudo y cocinados al vapor con respecto a la inhibición de DPPH•, presentaron una respuesta lineal negativa ($r = -0.92$, -0.94 , -0.98 y -0.94 , respectivamente), hay un menor contenido de TPC y una mayor actividad antioxidante mientras que el contenido de TPC de los EM y EA de quintonil hervido tuvieron una correlación positiva ($r = 0.95$ y 0.99 , respectivamente) respecto a la inhibición de DPPH•, se observa que a mayor contenido de TPC la actividad antioxidante incrementa lo que muestra que la actividad que presentaron los extractos del quintonil no depende solo de su contenido de TPC, también podría atribuirse al tipo de tratamiento térmico aplicado ya que por ejemplo en los quintoniles hervidos existió una lixiviación y en los quintoniles cocidos al vapor se produjo la destrucción térmica de las paredes celulares sin perder CPT en el agua de cocción además de la inactivación térmica de enzimas oxidativas y la naturaleza y tipo de CP .

En la inhibición de la formación de radicales de óxido nítrico se observó que los extractos de quintonil tratado al vapor (78.3%, 83.3% en EA y 83.0, 73.3% en EM de quintoniles cosechados en primavera y otoño, respectivamente) tuvieron un incremento significativo del porcentaje de inhibición del radical con respecto al quintonil crudo (66.7%, 79.2% en EA, 63.2%, 55.8% en EM de quintoniles cosechados en primavera y otoño, respectivamente). En la inhibición del radical superóxido por los extractos de quintonil, se observó que existe un incremento significativo en el porcentaje de inhibición del radical

superóxido por los EA, principalmente de los que fueron tratados al vapor y cosechados en primavera (87.7%) con respecto a los quintoniles crudos (68.2%). En la actividad antioxidante contra los radicales óxido nítrico y superóxido, no se observó ninguna correlación con el contenido de TPC.

Los resultados de éste estudio coinciden con lo obtenido por Morales *et al.* (2002), Dewanto *et al.*, (2002) y Nindo *et al.*, (2003), quienes sugieren que el incremento de la actividad antioxidante después de aplicar un tratamiento térmico se puede producir por la liberación de altas cantidades de componentes antioxidantes debido a la destrucción térmica de las paredes celulares y los compartimentos subcelulares, por la inactivación térmica de las enzimas oxidativas, la producción de nuevos antioxidantes no nutritivos (ascorbato de sodio, sinergia entre ácido ascórbico y tocoferoles) o la formación de nuevos compuestos como productos de la reacción de Maillard (melanoidinas, tetrametilpirazina, pronil-L-lisina, fracciones de elevado peso molecular formadas tras el calentamiento de mezclas de glucosa, fructosa y ribosa con lisina) con actividad antioxidante.

Con respecto a la época de cosecha, la actividad antioxidante de los extractos de quintoniles cosechados en primavera y otoño, se vio afectada en la inhibición del ión superóxido donde los porcentajes de inhibición más altos se obtuvieron de los extractos de quintoniles cosechados en primavera mientras que la inhibición de ABTS⁺, DPPH• y óxido nítrico fue mayor con los extractos de quintoniles cosechados en otoño (Tabla 6)

Esta reportado que la producción de ácido ascórbico y carotenoides (Nana *et al.*, 2012) se ve favorecida por la temperatura y exposición a la luz de primavera mientras que la producción de TPC se ve favorecida en los meses de noviembre a enero en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno (Dumas *et al.*, 2003; Raffo *et al.*, 2006), por lo que la variación podría deberse a las condiciones climáticas entre las dos estaciones y contenido de nutrientes de la tierra.

Tabla 6. Efecto del tratamiento térmico y época de cosecha del quintonil sobre la actividad antioxidante de extractos acuosos y metanólicos

<i>Tratamiento térmico</i>	<i>Época de cosecha</i>	<i>Disolvente</i>	<i>Inhibición de ABTS (%)</i>	<i>Inhibición de DPPH (%)</i>	<i>Formación de óxido nítrico (% inhibición)</i>	<i>Formación de superóxido (% inhibición)</i>
Crudo	Primavera	Agua	28.9 ± 4.3 ^{a,a}	16.1 ± 1.3 ^{a,a}	66.7 ± 4.6 ^{a,a}	68.2 ± 2.6 ^{a,a}
		Metanol	26.3 ± 4.7 ^{a,a}	89.3 ± 0.9 ^{a,b}	63.2 ± 3.5 ^{a,b}	45.6 ± 1.6 ^{a,b}
	Otoño	Agua	37.6 ± 4.9 ^{a,a}	11.8 ± 0.7 ^{a,a}	79.2 ± 3.8 ^{a,a}	52.8 ± 2.1 ^{a,a}
		Metanol	47.5 ± 0.4 ^{a,a}	86.0 ± 0.4 ^{a,b}	55.8 ± 3.8 ^{a,b}	20.7 ± 3.5 ^{a,b}
Hervido	Primavera	Agua	28.6 ± 5.1 ^{a,a}	14.6 ± 1.2 ^{b,a}	78.9 ± 1.8 ^{a,a}	65.8 ± 2.6 ^{a,a}
		Metanol	31.2 ± 4.6 ^{a,a}	34.0 ± 3.7 ^{b,b}	60.8 ± 5.6 ^{a,b}	16.6 ± 0.6 ^{a,b}
	Otoño	Agua	32.2 ± 2.4 ^{a,a}	38.5 ± 1.2 ^{b,a}	66.5 ± 1.3 ^{a,a}	54.0 ± 5.3 ^{a,a}
		Metanol	36.6 ± 2.4 ^{a,a}	53.3 ± 3.3 ^{b,b}	66.7 ± 2.9 ^{a,b}	59.8 ± 5.3 ^{a,b}
Vapor	Primavera	Agua	30.4 ± 1.4 ^{a,a}	84.2 ± 1.8 ^{c,a}	78.3 ± 1.0 ^{b,a}	87.7 ± 1.0 ^{a,a}
		Metanol	25.5 ± 2.9 ^{a,a}	94.7 ± 0.4 ^{c,b}	83.0 ± 4.4 ^{b,b}	42.0 ± 1.3 ^{a,b}
	Otoño	Agua	38.6 ± 1.4 ^{a,a}	73.6 ± 2.6 ^{c,a}	83.3 ± 3.8 ^{b,a}	59.8 ± 2.0 ^{a,a}
		Metanol	50.1 ± 3.4 ^{a,a}	89.9 ± 0.9 ^{c,b}	73.3 ± 2.9 ^{b,a}	34.5 ± 6.9 ^{a,b}
Agua de cocción	Primavera	Agua	16.4 ± 1.7 ^{a,a}	87.4 ± 0.3 ^{d,a}	45.6 ± 6.3 ^{c,a}	48.4 ± 1.3 ^{a,a}
	Otoño	Agua	48.2 ± 0.6 ^{a,a}	82.8 ± 2.1 ^{d,a}	63.3 ± 3.8 ^{c,a}	37.6 ± 3.5 ^{a,a}

Los resultados son expresados como el valor principal ± desviación estándar. Las diferentes letras de cada columna, indican la diferencia significativa de los tratamientos térmicos y de los disolventes de extracción (nivel de confianza 95%).

6.4 Contenido de ácidos grasos

6.4.1 Extracción de lípidos

Las hojas de quintonil se ensayaron para extraer la mayor cantidad de lípidos y ser analizados para identificar y cuantificar las diferentes fracciones lipídicas y perfiles de ácidos grasos. El equipo Soxhlet se utilizó para evaluar la eficacia de tres sistemas disolventes con el fin de recuperar la cantidad máxima de lípidos de las hojas de quintonil. En la tabla 7, puede observarse que la mezcla consistente en $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (2:1) permitió extraer el mayor contenido de lípidos, (762.4 mg), logrando un rendimiento de 15.3%. Conforti *et al.* (2012) alcanzaron un rendimiento similar para *A. retroflexus*, Venskutonis y Kraujalis (2013) afirmaron que las partes frondosas del amaranto contienen bajas cantidades de lípidos, por lo que rara vez se analizan. Sin embargo, decidimos analizar las hojas de quintonil porque representan la parte comestible.

Tabla 7. Eficiencia de los sistemas de disolventes empleados para la extracción de lípidos de las hojas de quintonil crudo

<i>Muestra (mg)</i>	<i>Sistema de disolventes</i>	<i>Contenido de lípidos (mg)</i>	<i>Rendimiento (%)</i>
5000	Hexano (100%)	140	2.8
5000	$\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (2:1)	762.4	15.3
5000	$\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (1:2)	192.5	3.9

La extracción de Soxhlet se ha empleado típicamente para recuperar lípidos en semillas de amaranto, con disolventes orgánicos no polares y siguiendo los procedimientos estándar pero también el rendimiento de extracción también puede depender del tamaño de partícula, tiempo de proceso o el número de ciclos de extracción (Venskutonis *et al.*, 2013). Los miembros de la familia *Amaranthaceae* también han sido sometidos a molienda que aumentó el rendimiento de recuperación (Gamel *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009). También se ha aplicado presión-presión controlada instantánea, sin embargo, se sugirió que después de un rectificado muy fino, no se requerirían tratamientos previos especiales. La

extracción de fluido supercrítico utilizando dióxido de carbono como disolvente es una técnica novedosa para la extracción de semillas de amaranto (Venskutonis *et al.*, 2013).

6.4.2 Fracciones lipídicas y perfil de ácidos grasos

Los extractos de lípidos recuperados se analizaron por TLC y se identificaron tres fracciones: TAG, DAG (incluyendo tanto 1,2-DAG como 1,3-DAG) y FFA. Los rendimientos para cada fracción son 83, 7.2, 4.5 y 3.6%, respectivamente (Tabla 8). Sin embargo, debe observarse que los residuos de ácidos grasos presentes para cada fracción son diferentes. En su revisión, Venskutonis y Kraujalis (2013) indicaron que los principales componentes de la fracción lipofílica de las semillas de *Amaranthus* incluyen TAG, fosfolípidos, escualeno y tocoferoles. También se han encontrado diversos componentes menores, tales como fitoesteroles, ceras y alcoholes terpénicos en diferentes especies de *Amaranthus*. Gamel *et al.* (2007) caracterizaron los aceites de semilla de *A. caudatus L.* y *A. cruentus L.* y observaron que las fracciones lipídicas consistían en 80.3-82.3% de TAG, 9.1-10.2% de fosfolípidos y el contenido de escualeno varió entre 4.8-4.9% en ambos tipos de aceite.

Con respecto al perfil de ácidos grasos, se identificaron: ácido palmítico (C16:0), ácido palmitoléico (C16:1 n-7), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1 n-9), ácido linoléico:2 n-6) y ácido α -linolénico (ALA, C18:3 n-3). Estos ácidos grasos se identificaron en todas las fracciones pero el residuo de ácido graso principal fue diferente en cada fracción (Tabla 8). Los ácidos grasos predominantes para cada fracción fueron ALA (38.7%) en el caso de TAG, ácido palmítico (40.7%) para 1,2-DAG, ácido oleico (52.4%) en 1,3-DAG y ácido linoléico (40.7%) en FFA. Otros estudios de hojas de quintonil se refirieron a esta composición: ALA (56.5-62%), linoléico (15.5-24.7%) y palmítico (13.5-15.5%) (Guill-Guerrero *et al.*, 2000; He *et al.*, 2003).

Tabla 8. Fracciones lipídicas y perfiles de ácidos grasos extraídos de hojas frescas de quintonil

<i>Fracción lipídica</i>	<i>Perfil de Ácidos grasos (%)*</i>		<i>Rendimiento de fracciones (%)</i>
TAG	C16:0	13.2	83
	C16:1 (n-7)	2.8	
	C18:0	5.1	
	C18:1 (n-9)	16.5	
	C18:2 (n-6)	23.6	
	C18:3 (n-3)	38.7	
1,2-DAG	C16:0	40.7	7.2
	C16:1 (n-7)	0.9	
	C18:0	19.5	
	C18:1 (n-9)	22.8	
	C18:2 (n-6)	6.7	
	C18:3 (n-3)	8.3	
1,3-DAG	C16:0	14.9	4.5
	C16:1 (n-7)	2.9	
	C18:0	6.7	
	C18:1 (n-9)	52.4	
	C18:2 (n-6)	1.9	
	C18:3 (n-3)	19.3	
FFA	C16:0	9.6	3.6
	C16:1 (n-7)	0.5	
	C18:0	0.2	
	C18:1 (n-9)	2.4	
	C18:2 (n-6)	62.9	
	C18:3 (n-3)	23.9	

La tabla 9 muestra un resumen de los diferentes perfiles de ácidos grasos identificados en diferentes especies de la familia *Amaranthaceae*: las hojas de quintonil ensayadas en esta investigación y otros perfiles previamente reportados en la literatura para diferentes semillas de *Amaranthus*. En ella se puede observar que, el perfil de ácidos grasos de las hojas difiere de los obtenidos para las semillas, el ALA fue el componente principal para las hojas de quintonil mientras que el ácido linoléico fue para las semillas y las relaciones de ácidos grasos saturados/insaturados (S/U).

Tabla 9. Perfil de ácidos grasos para el quintonil y su comparación con diferentes especies de *Amaranthus*

Ácido graso (%)	Quintonil	<i>A. hybridus</i>			<i>A. caudatus</i>			<i>A. cruentus</i>				<i>A. dubis</i>		<i>A. hypochondriacus</i>		
		[1]	Var. 1 [2]	Var. 2 [2]	[1]	[4]	[6]	[1]	[3]	[5]	[6]	[7]	[8]	[1]	[1]	[3]
C16:0	13.2	20.5	19.35	18.47	18.3	16.54	20.5	20.1	22.2	23.45	19.4	20.75	17.02	16.9	21.8	21.4
C16:1 (n-7)	2.8	-	-	-	-	-	-	-	0.11	-	-	16.57	0.09	-	-	0.1
C18:0	5.1	2.8	2.95	3.48	3.1	4.64	2.2	3.3	3.57	4.16	4.5	3.79	2.12	3.5	3.0	3.98
C18:1 (n-9)	16.5	20.8	30.64	26.44	28	26.19	25.5	27.5	30.1	24.66	32.9	23.57	19.13	20.4	16.3	22.8
C18:2 (n-6)	23.6	46.4	37.13	40.48	35.6	46.91	49.8	43	42.2	47.05	40	35.31	24.84	46.9	52.5	49.1
C18:3 (n-3)	38.7	-	0.69	0.74	0.3	-	0.6	-	0.69	0.69	0.5	-	1.29	0.4	-	0.93
S/U	0.22	0.35	0.33	0.32	0.33	0.29	0.3	0.33	0.35	0.38	0.32	0.32	0.42	0.3	0.36	0.35

[1] Budin *et al.* (1996), [2] Dhellot *et al.* (2006), [3] Jahaniaval *et al.* (2000), [4] Bruni *et al.* (2001), [5] Ogradowska *et al.* (2014), [6] Gamel *et al.* (2007), [7] Escudero *et al.* (2004), [8] Sujak *et al.* (2010).

S/U: Proporción entre ácidos grasos saturados/ácidos grasos insaturados radio

Las proporciones S/U representadas para *A. hybridus* (0.33), *A. caudatus* (0.31), *A. cruentus* (0.36), *A. dubis* (0.30) y *A. hypocondriacus* (0.35), indican contenidos elevados de ácidos grasos insaturados. En comparación con las especies relacionadas, la relación S/U obtenida para las hojas de quintonil es altamente insaturada (0.22 relación S/U), lo que sugiere que es una fuente promisoría de omega-3 (38.7%) y omega-6 (23.6%) PUFA. Sin embargo, una baja relación S/U también indica que los aceites pueden ser fácilmente oxidados.

De acuerdo con los resultados obtenidos y comparado con otras malezas como *Anchusa azurea* (2.57% C18:2, 5.02% C18:3), *Cichorium intybus* (0.36% C18:2, 1.58% C18:3), *Portulaca orelacea* (0.70% C18:2, 1.78% C18:3), *Raphanus raphanistrum* (1.65% C18:2, 9.43% C18:3) y *Sochus oleraceus* (1.26% C18:2, 2.6% C18:3), el *Amaranthus hybridus* contiene mayores cantidades de PUFA (11.0% C18: 2 y 58.80% C18: 3) (Conforti *et al.*, 2012).

6.4.3 Procesamiento térmico

Las hojas de los quintoniles se consumen frescas, así como después de un tratamiento térmico. Una baja relación S/U también indica que los aceites pueden ser fácilmente oxidados por lo que el procesamiento puede afectar a los PUFA presentes por lo que sometimos las hojas de quintonil a ebullición y vapor para evaluar su efecto sobre el contenido de PUFA. Los resultados obtenidos después del tratamiento térmico se muestran en la figura 9.

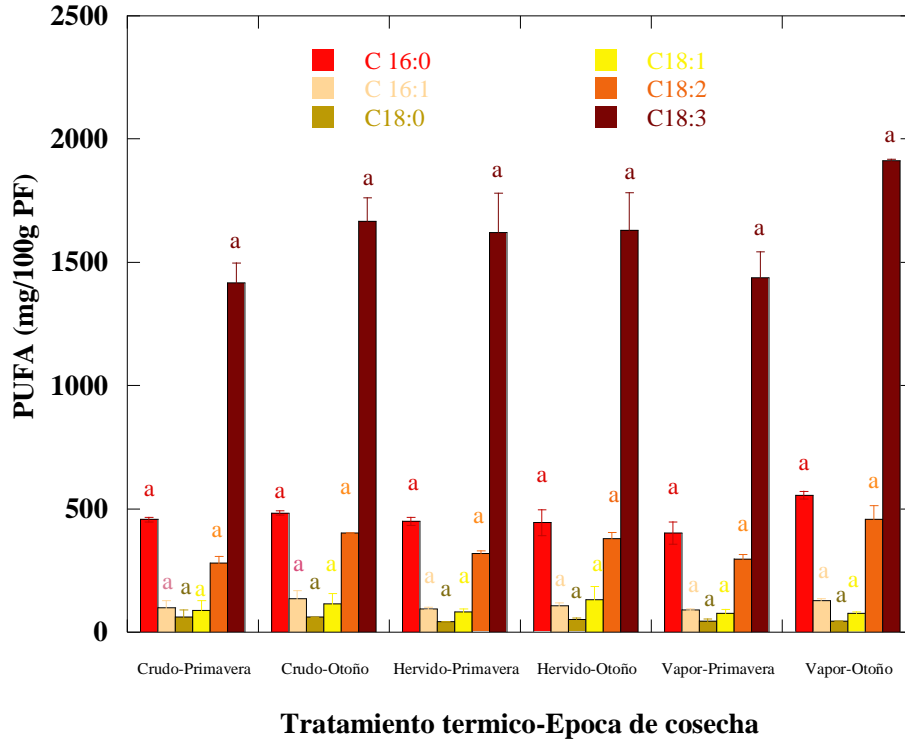


Figura 9. Efecto del tratamiento térmico y época de cosecha sobre el contenido de ácidos grasos

Se puede observar que en cuanto a la forma de consumo, así como la estación del año, ALA es el componente principal de todos los tratamientos ensayados: 1417.8 mg/100 g (fresco), 1621.4 mg/100 g (hervido) y 1437.9 mg/100 g (al vapor) para el quintonil cosechado en primavera y 1667.5 mg/100 g (fresco), 1629.2 mg/100 g (hervido) y 1912.6 mg/100 g (al vapor) para el quintonil cosechado en otoño. Para los otros ácidos grasos presentes en hojas de quintonil, también se observaron variaciones en su contenido, sin embargo, la evaluación estadística de los contenidos promedio no reveló diferencias significativas ni entre el proceso térmico ni entre las estaciones del año (Figura 9).

Mediante la inspección de los resultados, podemos proponer que el procesamiento térmico tuvo un efecto positivo en el perfil de ácidos grasos lo que implica mayores cantidades de los diferentes ácidos grasos presentes en las hojas (Figura 9). Estos resultados concuerdan con otros informes. En un estudio similar, Torres Acosta *et al.*, (2006) encontraron los siguientes contenidos de ALA: 26.55 mg/100 g (fresco), 34.85 mg/100 g (hervido) y 34.61 mg/100 g (vapor), así como contenidos de 99.97, 81.75 y 174.3 mg/100 g para ácido linoléico en quintoniles frescos, hervidos y al vapor, respectivamente. Nuestros contenidos para tales PUFA fueron más altos. Las diferentes concentraciones pueden explicarse por las diferencias en los protocolos analíticos, el tiempo de procesamiento y los cultivos.

Esta reportado que durante el resoplado y estallado de las semillas de *Amaranthus cruentus* el porcentaje de instauración disminuye de 75.5% a 62.3% y la cantidad de ácido linoléico disminuye de 46.8% a 27%, pero no en la aplicación de tratamientos térmicos (Venskutonis *et al.*, 2013). Esto concuerda con los resultados obtenidos por éste estudio ya que a pesar de que los ácidos grasos en los quintoniles varían con los tratamientos térmicos aplicados, no existe una diferencia estadísticamente significativa en el contenido de ácidos grasos después de la cocción. Por el contrario, la cocción podría favorecer la disponibilidad y extracción de estos bioactivos ya que se encuentran valores más altos en los tratamientos hervidos y al vapor que en el quintonil fresco (Figura 9).

Con respecto a la influencia de la época de cosecha, los ácidos grasos no mostraron cambios significativos solo el ALA que presentó un incremento.

La síntesis de ácidos grasos se produce en el cloroplasto, donde NADPH también se produce por las reacciones de luz de la fotosíntesis. El palmitato (C16:0) es el precursor del estearato (C18:0) y los ácidos grasos saturados de cadena más larga, así como los palmitoleatos de ácidos monoinsaturados (C16:1 Δ^9) y oleato (C18:1 Δ^9). Los mamíferos no pueden convertir el oleato en linoleato (C18:2 $\Delta^{9,12}$) o α -linolenato (C18:3 $\Delta^{9,12,15}$), mientras que en las plantas, el oleato es producido por la estearoil-ACP desaturasa en el estroma del cloroplasto que utiliza Ferredoxina como donador de electrones. Las plantas también pueden sintetizar las desaturasas que introducen enlaces dobles en las posiciones Δ^{12} y Δ^{15} y están

localizadas en el retículo endoplásmico y el cloroplasto. Las enzimas del retículo endoplásmico actúan no sobre FFA sino sobre un fosfolípido, fosfatidilcolina, que contiene al menos un oleato unido al glicerol. Tanto las plantas como las bacterias deben sintetizar PUFA para asegurar la fluidez de la membrana a temperatura reducida. Estas implicaciones bioquímicas permiten entender los resultados de la figura 9 donde en la primavera, debido a una alta actividad fotosintética, los lípidos se convierten en una forma práctica de almacenamiento de carbono y energía para los brotes y raíces en crecimiento de las plántulas, mientras que en los lípidos de otoño se mantienen principalmente para la membrana biogénesis (Nelson and Cox, 2014). Según Torres Acosta *et al.*, (2006) el grado de instauración es mayor cuando los vegetales crecen en zonas más frías.

VII. CONCLUSIONES

El tratamiento térmico aplicado al quintonil, afecta significativamente el contenido de bioactivos. La clorofila disminuye posterior a la cocción por vapor y hervido con respecto al quelite crudo; los TPC se hacen más disponibles en la cocción al vapor, mientras que en el hervido ocurre una lixiviación por la que se pierden hasta un 75% de los TPC y en su mayoría se disuelven en el agua de cocción. Los ácidos grasos, no son afectados por los tratamientos térmicos aplicados, ya que se mantienen y únicamente se favorece su extracción.

Los extractos de los quintoniles con tratamiento térmico presentan mayor actividad antioxidante con respecto a los extractos de quintoniles crudos por lo que un moderado tratamiento térmico puede ser útil para ayudar a mantener las propiedades antioxidantes de los vegetales que comemos.

Los quintoniles del mismo cultivo, en condiciones similares de siembra en la misma área geográfica y cosechados en una etapa similar de madurez pero en diferentes épocas del año mostraron marcadas diferencias en el contenido de TPC, ácidos grasos y clorofila así como diferente AA, sin embargo, para una evaluación precisa de los efectos de los factores climáticos en el contenido de fitoquímicos, son necesarios ensayos de campo a gran escala durante varios años, aunque nuestros resultados confirman que a pesar de la marcada variabilidad mostrada en el contenido de fitoquímicos las condiciones de otoño favorecieron la producción de TPC y ALA en el quintonil, mientras que las condiciones climáticas presentadas en primavera favorecen factores que permiten una mayor inhibición del radical libre superóxido.

Los PUFA, clorofila y TPC presentes en los quintoniles, así como su AA posterior a la aplicación de un tratamiento térmico, lo hacen un importante recurso alimenticio, con un potencial funcional y de bajo costo en comparación con otros alimentos, por lo que merece atención ya que podría contribuir de manera significativa a las necesidades de nutrientes del hombre y ser utilizado como una fuente de bioactivos.

VIII. REFERENCIAS

- Akubugwo, I.E., Obasi, N.A., Chinyere, G. C., Ugbogu, A.E. (2007) Nutritional and chemical value of *Amaranthus hybridus* L. leaves from Afikpo, Nigeria. *African Journal of Biotechnology*. 6(24):2833-2839.
- Amin I, Norazaidah KI, Emmy H (2004) Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched *Amaranthus* species. *Food Chemistry* 94:47-52.
- Antosiewicz, J., Ziolkowski, W., Kar, S., Powolny, A.A., Singh, S.V. (2008). Role of reactive oxygen intermediates in cellular responses to dietary cancer chemopreventive agents. *Planta Medicinal*. 74:1570-1579.
- Aronoff, S. (1966) . *The Chlorophylls* L. P. Vernon y G. R. Seely. ed (15) Academic Press New York and London p. 3-19.
- Baeza Jiménez, R., García, H.S. (2014). Lípidos funcionales de origen animal. In: *Los alimentos funcionales: Un nuevo reto para la industria de alimentos*, (AGT eds.), Pp 509-533. AGT Editor, S.A. México, D.F.
- Blinchov, I. K., Chai, V.V. (1977) Influencia del tratamiento del suelo y fertilización en el contenido de clorofila en el follaje de pino. *Lesnoi Jaciaisba*. 10:24.
- Bravo L. (1998) Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56(11):317-333.
- Bruni, R., Medici, A., Guerrini, A., Scalia, S., Poli, F., Muzzoli, M. and Sacchetti, G. (2001). Wild *Amaranthus caudatus* seed oil, a nutraceutical resource from Ecuadorian flora. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(11), 5455 – 5460.
- Budin, J.T., Breene, W.A. and Putnam, D.H. (1996). Some compositional properties of seeds and oils of eight *Amaranthus* species. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73(4), 475 – 481.

Bunce J., Charadattan R., Martínez A., Parker C., Press M., Riches C. (2002). The world's worst weeds. *Pest Control*. 44:55-58.

Bye, R.A. Jr. Quelites- Ethnoecology of edible greens-Past, present, and future. [En línea] 1981 (1)1:109-123 [fecha de consulta: 11 de enero de 2017] Disponible en: <http://ethnobiology.org/publications/journal>.

Bye, R., Linares, E. (2000). Los quelites, plantas comestibles de México: una reflexión sobre intercambio cultural. CONABIO. *Biodiversistas*. 31:11-14.

Cai Y., Sun M., Corke H. (2003). Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 2288-2294.

Conforti, F., Marrelli, M., Colica, C., Menichini, F., Valentina, P., Uzunov, D., Statti, G.A., Duez, P. and Menichini, F. (2011). Bioactive phytonutrients (omega fatty acids, tocopherols, polyphenols), *in vitro* inhibition of nitric oxide production and free radical scavenging activity of non-cultivated Mediterranean vegetables. *Food Chemistry* 129:1413-1419.

Cordero, E., Carballo, L., Orea, U. Variación en el contenido de pigmentos en diferentes épocas del año y la influencia del tiempo de almacenaje del follaje verde de *Eucalyptus citriodora* Hook. *Avances*. [En línea] enero – marzo 2005 (7)1 [fecha de consulta: 11 de enero de 2017] Disponible en: <http://www.ciget.pinar.cu/Revista/No.2005-1/follaje.htm>

Cox, B.D., Whichelow, M.J., Prevost, A.T. (2000). Seasonal consumption of salad vegetables and fresh fruit in relation to the development of cardiovascular disease and cancer. *Public Health and Nutrition*. 3(1):19-29.

Dewanto, V., Wu, X., Liu, RH. (2002). Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:4959–4964.

Del Prado M. y Villalpando S. (2003). Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados en el crecimiento y desarrollo del recién nacido. *Cuadernos de Nutrición* 26:149-156.

Dhellot, JR, Matouba, E., Maloumbi MG., Nzikou, JM., Safou-Ngoma, DG, Linder M, Desobry S, Parmentier, M. (2006). Extraction, chemical composition and nutritional

characterization of vegetable oils: Case of *Amaranthus hybridus* (Var 1 and 2) of Congo Brazzaville. *African Journal of Biotechnology*. 5(11):1095-1101.

Dumas, Y., Dadomo, M., Di Lucca, G., Grolier, P. (2003). Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 8:369–382.

Eka, OU, Osagie, AU. (1998). Nutritional quality of plant food. Post harvest publishers, University of Benin, Nigeria. pp. 38-54.

Ekop, AS, Eddy, NO. (2005). Comparative studies of the level of toxicants in the seed of Indian Almond (*Terminalia catappa*) and African walnut (*Coula edulis*). *Chemclass Journal*. 2: 74-76.

Ekop, AS, Eddy, ND, Udofia, PG. (2004). Effect of processing on the elemental composition of beans. En 28^a Conferencia anual del Instituto Nigeriano de Ciencia y Tecnología Alimentaria (NIFEST), Ibadan. pp. 217-218.

Escudero, N.L., De Arellano, M.L., Luco, J.M., Gimenez, M.S. and Mucciarelli, S.I. (2004). Comparison of the chemical composition and nutritional value of *Amaranthus cruentus* flour and its protein concentrate. *Plant Foods for Human Nutrition* 59(1), 15–21.

Gamel, T.H., Mesallam, A.S., Damir, A.A., Shekib, L.A. and Linssen, J.P. (2007). Characterization of amaranth seed oils. *Journal of Food Lipids* 14(3), 323 – 334.

Gao, L. Oomah, B. D., Mazza, G. (2002). Wheat quality: antioxidant activity wheat millstreams. En P. Ng, & C. W. Wrigley (Eds.), Wheat quality elucidation. St. Paul, MN: AACC International, ACCC Press. p. 233

Giraldo, B. L., Hernández, P. M, Angulo, H. P., Fuertes R. C. (2003). Actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa* Willd. D.C. (uña de gato). *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 69(4):229-242.

Girija K., Lakshman K., Udaya C., Sabhya S. G., Divya T. (2011). Anti-diabetic and anti-cholesterolemic activity of metanol extracts of three species of *Amaranthus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 133-138.

Guil-Guerrero, J.L., Garcia-Maroto, F., Campra-Madrid, P. and Gomez-Mercado, F. (2000). Occurrence and characterization of oils rich in α -linolenic acid Part II: fatty acids and squalene from *Macaronesian echium* leaves. *Phytochemistry* 54(5), 525 – 529.

González D.A, Janke, R., Rapoport, H.E. (2003) Valor nutricional de las malezas comestibles. *Ciencia hoy*. (13) 76: 41-47.

Gutiérrez Avella, D. M., Ortíz García, C. A. y Cisneros Mendoza, A. (2008) Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. En Centro Nacional de Metrología. *Simposio de metrología*. Octubre, 2008, Santiago de Queretaro, Querétaro pp. 1-5.

Han-Ping, HE, Harold C. (2003) Oil and Squalene in *Amaranthus* Grain and Leaf. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:7913-7920.

He, H.P., Corke, H. and Cai, J.G. (2003). Supercritical carbon dioxide extraction of oil and squalene from *Amaranthus* Grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(27), 7921 - 7925.

Isabelle M, Lee BL, Lim MT, Koh WP, Huang D, Ong CN (2010) Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore. *Food Chem*.123:77-84.

Jahaniaval F, Kakuda Y, Marccone MF. (2000) Fatty acid and triacylglycerol compositions of seed oils of five *Amaranthus* accessions and their comparison to other oils. *J Am Oil Chem Soc* 77: 847-52.

Jiménez –Aguilar DM, Grusak MA (2017) Minerals, vitamin C, phenolics, flavonoids and antioxidant activity of *Amaranthus* leafy vegetables. *J. Food Comp. Anal.* 58:33-39

Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS (1999) Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem* 47: 3954-3962.

Kelhy Miranda, Ramiro Baeza-Jiménez, Juan A. Noriega-Rodríguez, Cristina Otero and Hugo S. García. 2013. Optimization of structured diacylglycerols production containing n-3 via enzyme-catalysed glycerolysis of fish oil. *European Food Research and Technology*. 236: 435 – 440.

King RA, Broadbent JL, Head RJ (1995) Absorption of the soy isoflavone genistein in rats. *J Nutr* Jung HJG, Fahey GC. Effects of phenolic monomers on rat performance and metabolism. *J Nutr* Wolfram S, Weber T, Grenacher B, Scharrer E. A Na⁺ dependent mechanism is involved in mucosal uptake of cinnamic acid across the jejunal brush border in rats. *J Nutr* 125:1300-8.

Kwack Y, Koo Kim K, Hwang H, Chun C (2015) Growth and quality of sprouts of six vegetables cultivated under different light intensity and quality. *Hortic. Environ. Biotechnol*. 56(4):437-443.

López Martínez, Leticia Xóchitl; García-Galindo, H. Sergio. (2009) Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano. *Nova Scientia*. 2-1(3):51-65.

Martin, FW, Telek, L. (1979). Vegetables for the hot humid. Part 6: Amaranth and Celosia. U.S. Departamento de Agricultura, New Orleans, LA. pp. 156-163.

Mepba, H.D., Eboh, L., Banigo, D.E.B. (2007). Effects of processing treatments on the nutritive composition and consumer acceptance of some Nigerian edible leafy vegetables. *African journal of food agriculture nutrition and development* 7(1):1-18.

Miranda, K., Baeza-Jiménez, R., Noriega-Rodríguez, J.A., Otero, C. and García, H.S. (2013). Optimization of structured diacylglycerols production containing n-3 via enzyme-catalysed glycerolysis of fish oil. *European Food Research and Technology* 236(3): 435 – 440.

Mitic´ V, Stankov Jovanovic´ V, Dimitrijevic´ M, Cvetkovic´ J, Petrovic´ G, Stajonavic´G (2013) Chemometric analysis of chlorophyll a, b and carotenoid content in green leafy vegetables. *Biologica Nyssana* 4(1-2):49-55.

Morales, FJ, Babel, M-B. (2002). Antiradical efficiency of Maillard reacting mixtures in a hydrophilic media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:2788–2792.

Nana, F.W, Hilou, A., Millogo, J.F., Nacoulma, O.G. (2012). Phytochemical composition, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of *Amaranthus cruentus* L. and *Amaranthus hybridus* L. extracts. *Pharmaceuticals*. 5:613-628

Nelson, D.L., Cox, M.M. (2014). Lipid biosynthesis. In: Lehninger Principles of Biochemistry, Pp. 787-832. W. H. Freeman and Company, Fourth Edition, USA.

Nindo, CI., Sun, T., Wang, SW, Tang, J., Powers, JR. (2003). Evaluation of drying technologies for retention of physical quality and antioxidants in asparagus (*Asparagus officinalis*, L.). *Lebensm Wiss Technol*. 36:507–16.

Ogrodowska, D., Zadernoski, R., Czaplicki, S., Derewiaka, D. and Wronowska, B. (2014). *Amaranth seeds and products – The source of bioactive compounds*. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 64(3):165 – 170.

Oke, OL. (1983). Amaranth. En: Handbook of Tropical Foods. Chan HT (ed). Marcel-Dekker, Inc., New York. pp. 1-14.

Oliveira, J.S, De Carvalho, F.M. (1975). Nutritional Value of some edible leaves in Mozambique. *Economic Botany* 29(3):255-263.

Porrás-Loaiza A.P, López-Malo A. (2009) Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos* 3(1):121-134.

Prieto, J.A., Ebri, A., Collar, C. (1992). Optimized separation of nonpolar and polar lipid classes from wheat flour by solid-phase extraction. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 69(4): 387 – 391.

- Hongmei Q., Liu T., Mingdan D., Huiying M., Congxi C., Wangshu S., Qiaomei W. (2016) Effects of light quality on main health-promoting compounds and antioxidant capacity of Chinese kale sprouts. *Food Chem* 196: 1232-1238
- Raffo A., Giuseppe, M. L., Fogliano V., Maiani, G., Quaglia, G. (2006.) Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. *Naomi F1*). *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 11–19
- Rodríguez-Cruz M., Tova A.R., Del Prado M., Torres N. (2005) Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Revista de investigación clínica* 57(3):457-472.
- Rojano B. A., Zapata, A. K., Cortes, C. F. (2012). Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 17(4):408-419.
- Roleira F.M.F., Tavares-da-Silva E.J., Varela C.L., Costa S.C., Silva T., Garrido J., Borges F. (2015) Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. *Food Chemistry* 183:235-258.
- Ronayne de Ferrer P. A. (2000). Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados en la alimentación del lactante. *Arch. Argent. Pediatr.* 98:321-238.
- SAGARPA. 2015. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Disponible en: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx> (2 de junio de 2015) s/p.
- Saibo N J M, Lourenco T, Oliveira M M (2009) Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. *Annals of Botany* 103: 609-623.
- Stan, S.D., Kar, S., Stoner, G.D., (2008). Bioactive food components and cancer risk reduction. *Journal Cell Biochemistry* 104:339-536.

Sujak, A. and Dziwulska-Hunek, A. (2010). Minerals and fatty acids of amaranth seeds subjected to pre-sowing electromagnetic stimulation. *International Agrophysics* 24(4), 375–379.

Sutatus ohail, N., Bial, N., Khan, H.Y., Hasan, S., Sharma, S., Khan, F., Mansoor, T., Banu, N. (2011). Effect of vitamins C and E on antioxidant status of breast-cancer patients undergoing chemotherapy. *Journal of Clinical Pharmacology and Therapy*.

Torres Acosta, I., Juárez, S.M.E., Villarreal Delgado, E., Pérez-Gil, R.F., Hernández Lara, J. A. y Téllez Romero, I. (2006) Comparación del contenido de ácidos grasos omega 3 y omega 6 durante primavera y otoño en quelites comestibles de la ciudad de México. En: Universidad Autónoma de Nuevo León. *VIII Congreso Nacional de los alimentos*. Junio 2006, Monterrey N.L., México.

Turkment N, Poyrazoglu E S, Sari F, Sedat Velioglu Y (2006) Effects of cooking methods on chlorophylls, pheophytins and color of selected green vegetables. *International Journal of Food Science & Technology* 41(3):281-288.

T. Simonich, M., Egner, P.A., Roebuck, B.D., Orner, G.A., Jurbert, C. & Pereire, C. (2007) Natural chlorophyll inhibits aflatoxin B1- induced multi-organ carcinogenesis in the rat. *Carcinogenesis*. 28(6), p. 1294-1302.

UNAM. (2016). Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx> (13 de enero de 2016). s/p.

Vázquez-García, V., Godínez-Guevara, L., Montes –Estrada, M. y Ortíz-Gómez, A.. (2004) Los quelites de Ixhuapan, Veracruz: Disponibilidad, abastecimiento y consumo. *Agrociencia*. 38(4), p. 445-455

Vernon, L.P. (1960). Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extracts. *Analytical Chemistry*. 50(9):1144-1150.

Venskutonis, P.R., Kraujalis, P. (2013). Nutritional Components of Amaranth seeds and vegetables: A review on composition, properties, and uses. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12, 381 – 412.

Wesche-Ebeling P., Ratikanta M., García-Díaz G., González I. D., Sosa-Alvarado F. (1995). Contributions to the botany and nutritional value of some wild *Amaranthus* species (Amaranthaceae) of Nuevo León, México. *Economic Botany*. 49(4):423-430.

IX.ANEXOS

Anexo I

Effect of the thermal processing on bioactive compounds and antioxidant activity from quintonil (*Amaranthus hybridus*) harvested in spring and fall seasons

By

G. López-García¹, L.X. López-Martínez², H.S. García³, O. Dublán-García¹ and R. Baeza-Jiménez^{4,*}

¹ Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseos Colón y Tollocan. 50000. Toluca, Estado de México, México.

² CONACyT-Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carr. a Eldorado Km. 5.5. 80110. Culiacán, Sinaloa, México.

³ UNIDA, Instituto Tecnológico de Veracruz. M.A. de Quevedo 2779. 91897. Veracruz, Veracruz, México.

⁴ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Av. Cuarta Sur 3820. Fracc. Vencedores del Desierto. 33089. Delicias, Chihuahua, México.

* Corresponding author:

Tel.: +52 (639) 474 8400

E-mail: ramirobaezajimenez@gmail.com

Manuscript submitted to the editor of the *Plant Foods for Human Nutrition* journal for review and possible publication

May 2017

Abstract

Quintonil (*Amaranthus hybridus*) is an ancient crop that it is still harvested and consumed, fresh or after a thermal processing, in certain regions of Mexico. However, this plant is undervalued even when some reports have claimed its richness in nutritive compounds such as vitamins, proteins, chlorophyll, phenolic compounds and polyunsaturated fatty acids, thus the aim of the present work was to evaluate the effect of cooking treatments (boiling and steaming), solvent (aqueous, methanolic) and time of the year (spring, fall) on the chlorophyll, total phenolic compounds and the antioxidant activity of the extracts of quintonil. Heat treatments resulted in a significant decrease in the total chlorophyll, and chlorophyll *a* and *b*, total phenolic content of steamed quintonil were higher than those of the boiled and fresh samples mainly in spring.

DPPH \cdot , ABTS \cdot and NO \cdot inhibition activity for quintonil fresh and processed collected in spring were much higher than the one collected during fall, however, quintonil fresh and processed collected in fall had higher \cdot O₂ inhibition activity than collected during spring. In general, the antioxidant activity of the quintonil increased with the treatments. There were significant correlations between total phenolic compounds and the antioxidant capacity.

Key words: Quintonil, thermal processing, chlorophyll, phenolic compounds, antioxidant activity

Abbreviations

- ABTS 2, 2-azino-bis 3 ethyl benzothiazoline-6-sulfuric acid
- DPPH \bullet 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical
- GAE Gallic acid equivalent

NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide
NBT	Nitrotetrazolium blue
NO•	Nitric oxide
PMS	Phenazine methosulfate
O ₂ ⁻	Superoxide radical
TPC	Total phenolic compounds
Trolox	6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid

Introduction

Quintonil (*Amaranthus hybridus*) belongs to quelites family, which is a wild and arable group of plants with edible foliage. Previous reports found in technical literature have highlighted the nutritional value of quintonil leaves due to their polysaccharides, vitamins, minerals and amino acids [1, 2]. Quintonil is able to contribute with ca. 30% of the daily fibre requirements for human. It also contributes with almost 25% of the recommended daily protein intake when 100 g of dried leaves are consumed [3].

Typically, quintonil is consumed fresh (as salad) or after a thermal processing (frying, boiling or steaming), these process change the colour from bright green to olive brown caused by chlorophyll degradation [4], affect the level of phytochemicals such as phenolic compounds [5, 6] and the antioxidant activity [7, 8].

Consumption of vegetables in the average diet has been highlighted for its contribution towards lowering the risks of several diseases such as heart disease, stroke, diabetes and different types of cancer [9–10]. The benefits are due to the presence of polyphenols,

flavonoids, carotenoids, and vitamins. Of these phytochemicals, polyphenols are largely recognized as anti-inflammatory and antioxidant agents [11]. The concentrations of phenolic and other secondary metabolites in fruits and vegetables are influenced by many factors, including soil, irrigation, and climatic conditions, although the time of the year [12]. Providing that studies conducted in Mexico on quintonil are mainly related to cultivation and adaptation of this crop, the aim of the present research was to evaluate the effect of two thermal processing on the chlorophyll, total phenolic compounds, total flavonoids contents and the antioxidant activity for quintonil harvested in spring and fall seasons.

Material and methods

Plant material Quintonil was identified and authenticated at the National Herbarium of Mexico, by Dra. Hilda Flores Olvera and was registered with the number 1434640. It was harvested in San Lorenzo Tlacotepec, Atlacomulco, state of México, during two different seasons: spring and fall (2015 – 2016). Leaves as edible portions were employed to conduct this study.

Reagents Folin–Ciocalteu reagent and gallic acid were purchased from Sigma–Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO), as well as DPPH•, ABTS•⁺, sodium nitroprusside, PMS, NADH and NBT. Solvents used in methods were of analytical grade.

Cooking Procedures Boiling and steaming were selected to perform the thermal treatments as follows. For the boiling method, each sample were covered with water and boiled at 95°C at atmospheric pressure for 10 min. For the steaming method, fresh quintonil leaves were cooked in a stainless steel Ekco steamer by direct incidence of saturated steam that was

produced with 200 mL of boiling water at 95°C, for 10 min. After the treatments, the samples were placed in a water bath at 4°C during 30 sec to stop cooking, excess of water was further removed with desiccant paper. The fresh and treated samples were cut in pieces of 0.5 cm X 0.5 cm.

Preparing the extracts Aqueous and methanolic extracts were prepared according to from López-Martínez et al. [13], with slight modifications. For aqueous extraction, 5 g of fresh and processed quintonil leaves were placed in tubes (40 mL). 20 mL of distilled water were added and then the tubes were placed in an orbital shaker (Lab-Line Orbit Environ, Model 3527, Melrose Plaza, IL) at 200 rpm during 4 h at room temperature and in the absence of light. For methanolic extractions, the protocol was the same as above except for the addition of 20 mL of methanol to the tubes instead of distilled water. After shaking, all the extracts were centrifuged at 11000 rpm during 15 min. The supernatant was recovered and stored at -20°C and kept in the dark until used.

Determination of chlorophyll This analysis was carried out according to Vernon [14], measuring the absorbance of acetonic extracts at 649 and 665 nm (Spectrophotometer UV-Vis VE-5600UV). The concentration of chlorophyll was calculated as follows:

$$\text{Chlorophyll } a \text{ (mg/L)} = 11.63 (A_{665}) - 2.39 (A_{649})$$

$$\text{Chlorophyll } b \text{ (mg/L)} = 20.11 (A_{649}) - 5.18 (A_{665})$$

$$\text{Chlorophyll total (mg/L)} = 6.45 (A_{665}) + 17.72 (A_{649})$$

Where: A_{649} = absorbance of the sample at 649 nm and A_{665} = absorbance of the sample at 665 nm

Determination of total phenolic content TPC was quantified using the Folin-Ciocalteu method [15]. The absorbance was measured at 765 nm (Spectrophotometer UV-Vis VE-5600UV) and TPC were expressed as mg of gallic acid equivalents per 100 g of fresh weight sample (mg GAE/100 g FW) based on a calibration curve (0 to 600 mg/g).

Antioxidant capacity was measured by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) [16] and 2,2'-azinobis(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) [17] methods with slight modifications. The extracts (190 µl) were transferred into a quartz cuvette and the assay was started by addition of 1 mL of ABTS•+, with Trolox at 0.02 mM as a positive antioxidant control. The extracts were tested at a standardized concentration of 0.6 mg/mL (TPC). Absorbance at 734 nm was measured after 10 min. For the DPPH assay, 50 µL aliquot of the extract was dissolved in 3 mL of methanol and reacted with 300 µL of DPPH reagent. The decrease in the absorbance of the DPPH• was measured at 520 nm starting at the time when the solution was freshly added and every 10 min until no other change was observed in the absorbance of the samples. Methanol, Trolox (0.02 mM) was used as a positive antioxidant control for both assays. Antioxidant activity was calculated as percentage inhibition with the equation.

$$\% \text{ inhibition} = \frac{A \text{ control} - A \text{ sample}}{A \text{ control}} \times 100$$

Where: A control = absorbance of the control and A sample = absorbance of the sample

Inhibitory effect of nitric oxide formation (NO•) The determination was performed according to the method reported by Giraldo et al. [18] using sodium nitroprusside and the Griess reagent. The absorbance (A) of the chromophore was measured at 546 nm. A control sample containing no extract and a blank containing all reagents except sodium

nitroprusside was used. The percentage inhibition of nitric oxide formation was calculated according to the following equation:

$$\% \text{ inhibition} = \frac{A \text{ control} - (A \text{ sample} - A \text{ reagent blank})}{A \text{ control}}$$

Where: A control = absorbance of the control and A sample = absorbance of the sample

Inhibitory effect of superoxide radical formation (O_2^-) It was determined according to Rojano et al. [19]. O_2^- was generated by means of a PMS-NADH-NBT system in a 75 mM phosphate buffer and pH 7.4. Targets were prepared for each extract and contained the entire mixture except NADH and the control contained no quintonil extracts. The percentage of inhibition of O_2^- formation was calculated using the previous equation.

Statistical analysis *All the trials were performed by triplicate, using a correlation model to establish the relation of bioactive contents, antioxidant activity, thermal processing and season of the year. ANOVA was conducted at a significance level of $p < 0.05$ using Statgraphics software.*

Results and discussion

Chlorophyll content The colour of green vegetables is mainly determined by chlorophyll pigments available in plant materials, which to catch the energy from the sunlight. In most cases, colour changes for cooking process are reflected in the chemical and biochemical reactions [20]. Results revealed that thermal treatments applied to quintonil produced significant changes in chlorophyll contents (chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total chlorophyll) (Fig. 1). Total chlorophyll content in fresh samples was higher than in processed

samples, on wet basis. The highest amount of total chlorophyll was found in fresh quintonil harvested in spring (41.3 mg/100g), while the quintoniles that were submitted to thermal processing underwent a significant reduction ($p < 0.05$). Although the largest degree of degradation was observed in quintoniles boiled harvested in fall (42.9%), in both thermal treatments (steaming and boiled) at the same time of the year there was no difference in content of total chlorophyll (Fig.1).

Chlorophyll *a* content measured for fresh quintonil (0.292 mg/g FW harvested in spring and 0.216 mg/g FW harvested in fall) was higher compared to other vegetables such as broccoli (0.230 mg/g FW), cabbage (0.080 mg/g FW) and kale (0.200 mg/g FW), but lower than spinach (0.780 mg/g FW) and chard (0.590 mg/g FW) [26]. In general, the reduction of the content of chlorophyll is attributed to the degradation of chlorophyll to its corresponding pheophytins caused by the acids produced during the thermal process and the loss of magnesium released from chlorophyll [4].

The influence of the harvest period shows the composition and variation of total chlorophyll, chlorophyll *a* and chlorophyll *b* of the quintoniles by the effect of the climatic conditions. A reduction of chlorophyll was observed in quintoniles harvested in the fall (30.7 mg/100 g) compared to those harvested in spring (41.3 mg/100 g), these results coincide with Cordero et al. [20] and Blinchov [21] who studied the variation in pigment content at different times of the year of the green foliage of the *Eucalyptus citriodora hook* and the *P. silvestris* and also observed a lower pigment content in fall. The highest values of chlorophyll in spring are attributed to the strengthening of chemical processes by the increase of temperatures and precipitations, while the decrease in chlorophyll content in fall was probably attributed to the

state of dormancy displayed by plants in a given annual development period and with climatic conditions (temperature, precipitation, solar radiation), which produce a chemical lethargy, thereby reducing the metabolic activity of plants in times of drought and lower temperatures [21].

Total phenolic compounds Several researchers have used a methanol:water mixture to obtain more reliable results on the bioactive compounds content in plants since methanol breaks down cell walls and allows efficient extraction of bound phenolic compounds to the cell wall and those in the form of glucosides [22] Significant differences ($p < 0.5$) were observed in the amount of TPC extracted by both solvents, water was preferred as extraction medium since the usual practice in the Mexican household is cooking with water (Table 1). The heat treatment applied favoured the thermal destruction of cell walls and the subcellular compartments where the TPC are localized. Aqueous extracts of steamed quintonil (148.0 and 170.6 mg GAE/100 g FW) showed an increase over aqueous extracts of fresh quintonil (14.5 and 58.3 mg GAE/100 g FW) harvested in spring and fall respectively; however, when quintonil was boiled, the material showed a significant decrease with respect to fresh quintonil, which was caused by leaching whereby up to 75% of the phenolic compounds were lost dissolved in the cooking water (62.2 and 74.2 mg GAE/100g FW) harvested in spring and fall, respectively.

Our results found a maximum TPC content of 170.6 mg GAE/100 g FW in aqueous extracts of quintonil steamed, harvested in fall. Studies performed previously [23,24,8] reported 49.43 mg GAE/g DW, 7.75 mg GAE/100 g DW and 8.30 mg GAE/100 g DW and 3.7 mg GAE/g FW, although our results were lower, this concentration was higher than that reported for

spinach (1.1-1.2 mg GAE/g FW), which is one of the most consumed quelite in Mexico [25]. The difference observed among studies could be attributed to the generic background, the analytical methods and extraction procedures employed, the climatic and planting conditions as well as the applied thermal treatments.

With regard to the harvesting season, fresh as well as thermally treated quintonil exhibited the highest TPC content in fall. This could be caused by the hydric and luminous stress that exerted on the plant by the drought season and lower temperatures. This results in increased production of secondary metabolites, such as phenolic compounds for the protection and defense of the plant [26].

Antioxidant activity Some authors described a high correlation between the content of phenolic compounds and antioxidant activity [27, 28] while others have found no relationship [29]. In the present study, there was no correlation between the content of thermally treated quintonil phenolic compounds and the inhibition of the ABTS radical. Conversely, there were no significant differences in the percentage of inhibition of the ABTS radical between the different extraction solvents (water and methanol) and the thermal treatments applied (boiling and steaming) with respect to fresh quintonil. The use of different extraction solvents had a significant effect on the inhibition of DPPH•. Methanolic extracts had the highest antioxidant activity for DPPH•, possibly caused by the solubility of the radicals, since ABTS•⁺ is soluble in aqueous and organic medium and the DPPH is dissolved in organic media (Table 2). In the fresh and boiled quintonil extracts, a linear correlation between TPC content and inhibition of ABTS•⁺ was observed for the methanolic extracts of crude quintonil ($r=0.96$) and the aqueous and methanolic extracts of boiled quintonil ($r=0.97$ and 0.98 , respectively), in the

inhibition of DPPH•, the methanolic and aqueous extracts of quintonil fresh and steamed also presented a linear but negative correlation ($r=-0.92$, -0.94 , -0.98 and -0.94 , respectively), while the aqueous and methanolic extracts of boiled quintonil had a positive correlation ($r = 0.95$ and 0.99), which shows that antioxidant activity does not depend only on their TPC content, but also on the nature and type of TPC, the polarity of the components present in the extracts and the type of radical to be inhibited.

Nitric oxide scavenging capacity of fresh and cooked quintonil extracts are show in Table 2. Extracts of fresh quintonil displayed a range of nitric oxide inhibition from 55.8 to 79.2%, boiled from 60.8 to 78.29%, whereas steamed from 73.6 to 94.7%. Nitric oxide scavenging activity cooking water is also depicted in Table 2. The cooking water shows inhibition of nitric oxide between 45.6 and 63.3%. The scavenging activities of each extract against nitric oxide are attributable to the phenolics content which are known as free radical scavengers, effective in suppressing NO, ONOO- [30,31].

Superoxide radical scavenging capacity of extracts from raw quintoniles is presented in Table 2. It can be noticed a significant increase in the percentage of radical inhibition by aqueous extracts, mainly those that were steamed and harvested in spring (87.7%), compared to the fresh and boiled samples (68.2 and 65.8%, respectively). Significant differences ($p<0.05$) in superoxide inhibition percentage were found among treatments, solvents and time of the year. The superoxide inhibition percentages of boiled extracts were from 16.6 to 65.8%, and the steamed were from 34.1 to 87.7%. It appears that the extracts from quintonil showed strong superoxide anion radical scavenging potential in spring, which was reduced in fall. Similar results were reported by Xie *et al.* [6] who analyzed the antioxidant

activity of *Dryopteris erythrosora* with respect to the season; they concluded that the extracts from leaves showed strong superoxide anion radical scavenging potential in spring, which were reduced in summer and autumn and diminished further in winter.

In the antioxidant activity against nitric oxide and the superoxide radicals, a negative correlation with the content of TPC was observed.

Conclusions

The thermal treatment applied to “quintonil” affected significantly the content of bioactive constituents. Chlorophyll decreased after steam cooking and boiling with respect to crude quelite; phenolic compounds became more available after steam cooking, while after boiling, leaching occurred whereby up to 75% of the phenolic compounds were lost and mostly dissolved in the cooking water.

Quintonil samples from the same crop, produced under similar conditions of planting in the same geographical area and harvested at a similar stage of maturity, but at different times of the year, showed marked differences in antioxidant content; however, for a more precise evaluation of the effects of climatic factors on the phytonutrient content, large-scale field trials are necessary for several years. Our results confirm that despite the marked variability shown in the antioxidant content, the autumn conditions favored the production of total phenolic compounds, whereas the conditions in spring favored greater inhibition of the superoxide free radical.

The chlorophyll and phenolic compounds present in the quintoniles, as well as their antioxidant activity after the application of a given heat treatment, make it an important

food resource, with a functional potential and of low cost in comparison with other foods, and deserves attention as it could contribute significantly to the nutrient needs of consumers and could be used as a source of bioactives.

Acknowledgments

Author López-García gratefully acknowledges financial support for her MSc studies (scholarship no. 680332/581488) from the National Council of Science and Technology (CONACYT) of Mexico.

References

1. Akubugwo IE, Obasi, NA, Chinyere GC, Ugbogu AE (2007) Nutritional and chemical value of *Amaranthus hybridus* L. leaves from Afikpo, Nigeria. *Afr. J. Biotechnol* 6:2833-2839
2. Mepba HD, Eboh L, Banigo DEB (2007). Effects of processing treatments on the nutritive composition and consumer acceptance of some Nigerian edible leafy vegetables. *AJFAND* 7(1):1-18
3. FND (2002) Dietary Reference Intake for Energy, Carbohydrate, Fibre, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acid (Micronutrients). FND, National Academy of Sciences, USA
4. Chen BH, Chen YY (1993). Stability of chlorophylls and carotenoids in sweet potato leaves during microwave cooking. *J. Agric. Food Chem* 41: 1315-1320
5. Wu S, Li J, Wang Q, Cao H, Cao J, Xiao J. (2016). Seasonal dynamics of the phytochemical constituents and bioactivities of extracts from *Stenoloma chusanum* (L.) Ching. *Food Chem Toxicol*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2016.10.003>
6. Xie YH, Zheng YX, Dai XL, et al., (2015) Seasonal dynamics of total flavonoid contents and antioxidant activity of *Dryopteris erythrosora*. *Food Chem.* 186, 113-118

7. Routray W, Orsat, V (2014). Variation of phenolic profile and antioxidant activity of North American highbush blueberry leaves with variation of time of harvest and cultivar. *Ind Crops Prod* 62, 147-155.
8. Jiménez–Aguilar DM, Grusak MA (2017) Minerals, vitamin C, phenolics, flavonoids and antioxidant activity of Amaranthus leafy vegetables. *J. Food Comp. Anal.* 58:33-39
9. Tomas M, Beekwilder, J, Hall RD, Sagdic O, Boyacioglu D, Capanoglu E. (2017). Industrial processing versus home processing of tomato sauce: Effects on phenolics, flavonoids and in vitro bioaccessibility of antioxidants. *Food Chem* 220, 51-58.
10. Akdaş ZZ, Bakkalbaşı, E (2017). Influence of different cooking methods on color, bioactive compounds, and antioxidant activity of kale. *Int J Food Prop* 20, 877-887.
11. Leyva-López N, Nair V, Bang W Y, Cisneros-Zevallos L, Heredia, J B (2016). Protective role of terpenes and polyphenols from three species of Oregano (*Lippia graveolens*, *Lippia palmeri* and *Hedeoma patens*) on the suppression of lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophage cells. *J Ethnopharmacol*, 187, 302-312.
12. Routray W, Orsat V (2014). Variation of phenolic profile and antioxidant activity of North American highbush blueberry leaves with variation of time of harvest and cultivar. *Ind Crops Prod* 62, 147-155.
13. López Martínez LX, García-Galindo SH (2009) Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano. *Nova Scientia* 2-1(3):51-65
14. Vernon L P (1960) Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extracts. *Anal. Chem* 50, 1144-1150
15. Gao L, Oomah BD, Mazza G (2002) Wheat quality: antioxidant activity wheat millstreams. In P. Ng, & C. W. Wrigley (Eds.) *Wheat quality elucidation*. St. Paul, MN: AACC International, AACC Press pp 233
16. Fernández-López J, Almela L, Obón J, Castellar R (2010) Determination of antioxidant constituents in cactus pear fruits. *Plant Foods Hum Nutr* 65(3):253–259
17. Pellegrini G, Miller N, Rice-Evans CA (1999) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2, 2'-azinobis (3

- ethylenbenzothiazoline- 6-sulfonic acid radical cation) decolorization assay. In: Packer L (ed), *Methods in Enzymology*, Vol. 299. Oxidants and Antioxidants. New York: Academic Press Part A, pp. 379–389
18. Giraldo BL, Hernández PM, Angulo HP, Fuertes RC (2003). Actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa* Willd. D.C. (uña de gato). *Rev. Soc. Quím. Perú* 69(4):229-242.
 19. Rojano B A, Zapata A K, Cortes C F (2012). Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 17,408-419
 20. Cordero E, Carballo L, Orea U (2005) Variación en el contenido de pigmentos en diferentes épocas del año y la influencia del tiempo de almacenaje del follaje verde de *Eucalyptus citriodora* Hook. *Avances*. <http://www.ciget.pinar.cu/Revista/No.2005-1/follaje.htm>. Accessed 11 January 2017.
 21. Blinchov IK, Chai VV (1977) Influencia del tratamiento del suelo y fertilización en el contenido de clorofila en el follaje de pino. *Lesnoi Jaciaisba* 10:24
 22. Amin I, Norazaidah KI, Emmy H (2004) Antioxidant activity and phenolic content of crude and blanched *Amaranthus* species. *Food Chem* 94:47-52
 23. Gutiérrez Avella DM, Ortíz García CA, Cisneros Mendoza A (2008) Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. En Centro Nacional de Metrología. Simposio de metrología. Octubre, 2008, Santiago de Queretaro, Queretaro pp 1-5
 24. Nana FW, Hilou A, Millogo JF, Nacoulma OG (2012). Phytochemical composition, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of *Amaranthus cruentus* L. and *Amaranthus hybridus* L. extracts. *Pharmaceuticals* 5, 3-628
 25. Isabelle M, Lee BL, Lim MT, Koh WP, Huang D, Ong CN (2010) Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore. *Food Chem.*123:77-84
 26. Oke OL (1983). *Amaranth*. In: *Handbook of Tropical Foods*. Chan HT (eds). Marcel-Dekker, Inc., New York. pp 1-14.

27. Conforti F, Marrelli M, Colica C, Menichini F, Valentina P, Uzunov D, Statti GA, Duez P, Menichini F (2011) Bioactive phytonutrients (omega fatty acids, tocopherols, polyphenols), in vitro inhibition of nitric oxide production and free radical scavenging activity of non-cultivated Mediterranean vegetables. *Food Chem* 129, 1413-1419
28. Oliveira JS, De Carvalho FM (1975). Nutritional Value of some edible leaves in Mozambique. *Economic Botany* 29(3):255-263
29. Quian H, Liu T, Deng M, Miao H, Cai C, Shen W, Wang Q (2016) Effects of light quality on main health-promoting compounds and antioxidant capacity of Chinese kale sprouts. *Food Chem* 196: 1232-1238
30. López-Martínez L X, Parkin K L, Garcia H S (2012). Effect of processing of corn for production of masa, tortillas and tortilla chips on the scavenging capacity of reactive nitrogen species. *Int J Food Sci Tech*, 47, 1321-1327
31. Yen G C, Duh P D, Su H J, Yeh C T, Wu C H (2006). Scavenging effects of lotus seed extracts on reactive nitrogen species. *Food Chem*, 94, 596–602

Figure caption

Fig. 1 Effect of heat treatment and harvest time on chlorophyll content

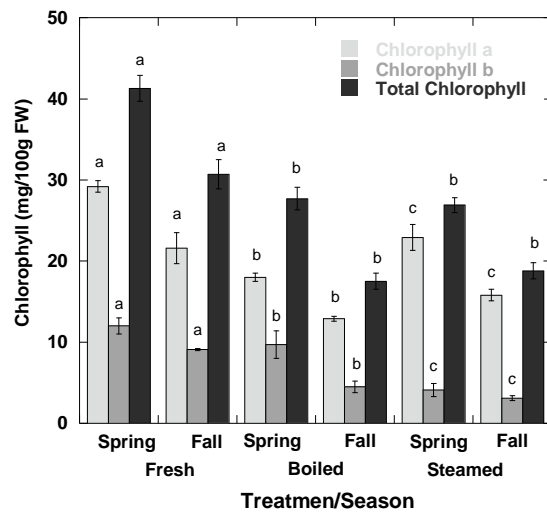


Fig. 1 Effect of heat treatment and harvest time on chlorophyll content

Table 1 Effect of thermal processing and harvesting season on the TPC content for aqueous and methanolic extracts

Thermal processing	Harvesting season	Extraction solvent	TPC (mg GAE/100g)
Fresh	Spring	Water	14.5 ± 1.4 ^{a,a}
		Methanol	83.6 ± 0.3 ^{a,a}
Boiling	Fall	Water	58.3 ± 6.2 ^{a,a}
		Methanol	106.8 ± 3.7 ^{a,a}
	Spring	Water	15.0 ± 0.3 ^{b,a}
		Methanol	19.2 ± 1.8 ^{b,a}
Steaming	Fall	Water	29.2 ± 1.3 ^{b,a}
		Methanol	33.8 ± 0.3 ^{b,a}
	Spring	Water	148.0 ± 5.5 ^{c,a}
		Methanol	70.7 ± 2.5 ^{c,a}
Cooking water	Fall	Water	170.6 ± 1.6 ^{c,a}
		Methanol	94.4 ± 2.6 ^{c,a}
Cooking water	Spring	Water	62.2 ± 2.1 ^{a,a}
		Water	74.2 ± 4.3 ^{a,a}

The results are expressed in FW as the main value ± standard deviation. The different letters of each column indicate the significant difference of the heat treatments and extraction solvents (95% confidence level).

Table 2 Effect of thermal processing and harvesting season on the antioxidant activity for aqueous and methanolic extracts

Thermal processing	Harvesting season	Extraction solvent	ABTS• ⁺ (%)	DPPH • (%)	NO• (%)	O ₂ ⁻ (%)
Fresh	Spring	Water	28.9 ± 4.3 ^{a,a}	16.1 ± 1.3 ^{a,a}	66.7 ± 4.6 ^{a,a}	68.2 ± 2.6 ^{a,a}
		Methanol	26.3 ± 4.7 ^{a,a}	89.3 ± 0.9 ^{a,b}	63.2 ± 3.5 ^{a,b}	45.6 ± 1.6 ^{a,b}
	Fall	Water	37.6 ± 4.9 ^{a,a}	11.8 ± 0.7 ^{a,a}	79.2 ± 3.8 ^{a,a}	52.8 ± 2.1 ^{a,a}
		Methanol	47.5 ± 0.4 ^{a,a}	86.0 ± 0.4 ^{a,b}	55.8 ± 3.8 ^{a,b}	20.7 ± 3.5 ^{a,b}
Boiling	Spring	Water	28.6 ± 5.1 ^{a,a}	14.6 ± 1.2 ^{b,a}	78.9 ± 1.8 ^{a,a}	65.8 ± 2.6 ^{a,a}
		Methanol	31.2 ± 4.6 ^{a,a}	34.0 ± 3.7 ^{b,b}	60.8 ± 5.6 ^{a,b}	16.6 ± 0.6 ^{a,b}
	Fall	Water	32.2 ± 2.4 ^{a,a}	38.5 ± 1.2 ^{b,a}	66.5 ± 1.3 ^{a,a}	54.0 ± 5.3 ^{a,a}
		Methanol	36.6 ± 2.4 ^{a,a}	53.3 ± 3.3 ^{b,b}	66.7 ± 2.9 ^{a,b}	59.8 ± 5.3 ^{a,b}
Steaming	Spring	Water	30.4 ± 1.4 ^{a,a}	84.2 ± 1.8 ^{c,a}	78.3 ± 1.0 ^{b,a}	87.7 ± 1.0 ^{a,a}
		Methanol	25.5 ± 2.9 ^{a,a}	94.7 ± 0.4 ^{c,b}	83.0 ± 4.4 ^{b,b}	42.0 ± 1.3 ^{a,b}
	Fall	Water	38.6 ± 1.4 ^{a,a}	73.6 ± 2.6 ^{c,a}	83.3 ± 3.8 ^{b,a}	59.8 ± 2.0 ^{a,a}
		Methanol	50.1 ± 3.4 ^{a,a}	89.9 ± 0.9 ^{c,b}	73.3 ± 2.9 ^{b,a}	34.5 ± 6.9 ^{a,b}
Cooking water	Spring	Water	16.4 ± 1.7 ^{a,a}	87.4 ± 0.3 ^{d,a}	45.6 ± 6.3 ^{c,a}	48.4 ± 1.3 ^{a,a}
	Fall	Water	48.2 ± 0.6 ^{a,a}	82.8 ± 2.1 ^{d,a}	63.3 ± 3.8 ^{c,a}	37.6 ± 3.5 ^{a,a}

The results are expressed in FW as the main value ± standard deviation. The different letters of each column indicate the significant difference of the heat treatments and extraction solvents (95% confidence level).

Anexo II



COLEGIO MEXICANO DE INGENIEROS BIOQUÍMICOS, A.C.

CERTIFICATE OF PARTICIPATION

It is certified, that:


Guadalupe López García; Leticia Xochitl López Martínez; Ramiro Baeza Jiménez


Authors of the work:

EFFECT OF THE THERMAL PROCESSING ON BIOACTIVE COMPOUNDS FROM QUINTONIL (*Amaranthus hybridus*)

Keyword: **CAL45RAM20151215**

Participated in the *poster* session of the IX International Congress, XX National Congress on Biochemical Engineering and the XIV Biomedicine and Molecular Biotechnology Scientific Meetings, held at World Trade Center, Boca del Río, Veracruz, Mexico, March 16-18 2016.


IBQ Miguel Rosales Domínguez
President of the CMIBQ


Dra. Deifilia Ahuatzi Chacón
Chair Scientific Committee



UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE QUERÉTARO

La Red ALFaNutra
A través de la Universidad Autónoma de Querétaro



Otorga la presente constancia a:

Guadalupe López García

Por supponencia de cartel:

" Efecto del proceso térmico tradicional sobre compuestos bioactivos de quintonil (*Amaranthus hybridus*)"

Co-autores:

Leticia Xóchitl López Martínez, Ramiro Baeza Jiménez, Octavio Dublán García

Dentro del:



Realizado el 22 al 24 de junio de 2016 en las Instalaciones del Posgrado de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Comité Organizador

Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar
Presidente de la Red-ALFaNutra



5° Congreso
Internacional de
Investigación en
Ciencias Básicas y
Agronómicas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
COLEGIO DE POSTGRADUADOS
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA

A: Guadalupe López García, Leticia Xóchitl López Martínez, Ramiro Baeza Jiménez, Octavio Dublán García

Por su participación como PONENTES del tema: EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO SOBRE EL CONTENIDO DE BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE QUINTONIL (*AMARANTHUS HYBRIDUS*), en el 5° Congreso Internacional de Investigación en Ciencias Básicas y Agronómicas, llevado a cabo los días 29 y 30 de Septiembre de 2016 en la Universidad Autónoma Chapingo.

Chapingo, México, septiembre de 2016.


Dr. Abel Pérez Zamorano
Director General de la DICEA


Dr. Francisco Pérez Soto
Coordinador General del Congreso

