



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**VALORACIÓN NUTRIMENTAL DE ALGUNAS PLANTAS
SILVESTRES COMESTIBLES DEL ESTADO DE OAXACA**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A:
HEBE MARINA CHAGOYA HERNÁNDEZ



MÉXICO, D. F.

2004

**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA**





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALI
DE LA BIBLIOTECA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Chagoya Hdez Hebe Marina

FECHA: 27/08/04

FIRMA: [Signature]

Jurado Asignado

- | | |
|----------------------------|-------------------------------------|
| Presidente | Profa. Angela Sotelo López |
| Vocal | Profa. Lucía Cornejo Barrera |
| Secretario | Profa. Leticia Gil Vieyra |
| 1 ^{er} . Suplente | Profa. Inés Miranda Martínez |
| 2 ^{do} . Suplente | Profa. Luz Sandra Sánchez del Angel |

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorio 111, Departamento de Farmacia.
Conjunto E. Facultad de Química, U.N.A.M

Asesor: M. en C. Angela Sotelo López

Supervisor Técnico: M. en C. Rosa María Argote Espinosa

Sustentante: Hebe Marina Chagoya Hernández

[Signature]
[Signature]
[Signature]

Índice general

Resumen	III
1. Introducción	1
2. Objetivos	4
2.1. General	4
2.2. Específicos	4
3. Antecedentes	5
3.1. <i>Amaranthus hybridus</i> L.	6
3.2. <i>Brassica rapa</i>	7
3.3. <i>Crotalaria longirostrata</i>	9
3.4. <i>Cucurbita pepo</i> L.	10
3.5. <i>Malva parviflora</i> L.	10
3.6. <i>Solanum nigrescens</i>	11
3.7. Factores tóxicos y antinutricionales	12
3.7.1. Alcaloides	13
3.7.2. Glucósidos cianogénicos	15
3.7.3. Hemaglutininas	16
3.7.4. Ácido fítico	17
3.7.5. Taninos	21
3.8. Hierro	22
4. Metodología	25
4.1. Recolección y clasificación botánica del material de estudio	25
4.2. Preparación de las muestras (Acondicionamiento)	26
4.3. Análisis proximal	26
4.3.1. Humedad	26

4.3.2. Cenizas	28
4.3.3. Grasa cruda	29
4.3.4. Proteína cruda	30
4.3.5. Fibra cruda	32
4.3.6. Hidratos de Carbono	34
4.4. Tóxicos y factores antinutricionales	34
4.4.1. Alcaloides	34
4.4.2. Glucósidos Cianogénicos	37
4.4.3. Hemaglutininas	41
4.4.4. Ácido Fítico	45
4.4.5. Taninos	48
4.5. Cuantificación de Hierro	50
5. Resultados y discusión	53
5.1. Composición proximal	53
5.2. Factores tóxicos y antinutricionales	56
5.3. Determinación de Hierro	58
6. Conclusiones	59
7. Recomendaciones	60
A. Gráficos	61
B. Preparación de reactivos	65
Bibliografía	70

Resumen

La presente investigación surge por la necesidad de buscar información acerca de algunas plantas silvestres comestibles que, frecuentemente, son consumidas por gran parte de la población en el estado de Oaxaca. En este proyecto se dan a conocer los resultados del estudio químico (análisis proximal) y toxicológico de seis especies vegetales:

Amaranthus hybridus L. (quintonil)

Brassica rapa (mostaza)

Crotalaria longirostrata (chepil)

Cucurbita pepo L. (puntas de guía)

Malva parviflora L. (malva)

Solanum nigrescens (hierba mora)

Se evaluó la composición de las especies anteriormente mencionadas por medio de un análisis proximal en el cual se incluyeron determinaciones de Humedad, Cenizas, Proteína cruda, Grasa cruda, Fibra cruda e Hidratos de Carbono (estos últimos calculados por diferencia). También se determinó la presencia de sustancias tóxicas entre los que figuran los Alcaloides, Hemaglutininas, Glucósidos cianogénicos; así como factores antinutricionales, entre los que se encuentran Taninos y ácido fítico. Debido a que las muestras estudiadas eran hojas verdes, se llevó a cabo una determinación de Hierro.

Con base a los resultados obtenidos se realizó una comparación con otros vegetales comestibles, ya que se encontraron niveles altos de cenizas y fibra cruda. Paralelamente se hace un símil con algunas leguminosas por haber encontrado cifras considerables de proteína. En el caso de las especies que ya han sido previamente estudiadas, se pretende aumentar la información existente y en los demás casos se brindará información para saber su aportación de nutrimentos en la alimentación de una población que cada vez crece más y requiere de una nutrición integral.

Capítulo 1

Introducción

La alimentación es uno de los problemas que se debe atender a nivel mundial, una alternativa para la solución de este problema es el uso de especies vegetales silvestres o de uso restringido. En la actualidad la alimentación mundial se basa en el consumo de unas cuantas especies vegetales, que fueron domesticadas hace aproximadamente 10 000 años, estudios etnobotánicos han demostrado que existe una gran cantidad de plantas silvestres con un alto valor alimenticio, las cuales no se emplean masivamente [1,2].

Entonces resulta necesario volver los ojos a las «plantas cenicienta» (llamadas así porque han sido pasadas por alto por los investigadores y los mercados, a pesar de su gran potencial y valor para satisfacer las necesidades básicas de la humanidad) o a los «gigantes dormidos» (que pueden ser domesticados y cultivados, al igual que hace 500 años como la papa, algodón, coco, café, maíz, frijol, entre otras) [3].

Si se considera que el problema alimentario debe atacarse desde una perspectiva multidisciplinaria o por medio de una ciencia con enfoques holísticos o totalizadores, se sugiere el enfoque teórico de la etnobotánica, la cual a su vez recurre a campos de estudio de las ciencias químicas, médicas, agronómicas, biológicas o de las humanidades [4]. Bajo esta perspectiva, los profesionales de la química juegan un papel central, ya que al ser ésta una Ciencia que estudia la estructura de la materia y sus transformaciones, resulta evidente que tales conocimientos son esenciales para analizar problemas complejos, ofrecer alternativas y eventualmente coadyuvar a la resolución de los mismos[5].

Los reinos vegetal y animal han representado desde siempre recursos decisivos para la supervivencia del ser humano, principalmente con fines alimenticios y terapéuticos. Las múltiples observaciones y numerosas ex-

periencias acumuladas sobre el empleo de dichos recursos, se encuentran determinadas por los límites geográficos, la disponibilidad práctica de los mismos y la filosofía propia que han desarrollado los diferentes grupos étnicos y sociales sobre determinadas especies animales o vegetales[6]. Es importante citar, que el área mesoamericana es una de las pocas en el mundo que cuenta con una gran diversidad biológica, en ella se desarrollaron varias civilizaciones antiguas que poseían un gran conocimiento astronomía, matemática, botánica, medicina, entre otras además de ser un centro de plantas cultivadas, las cuales constituyen una gigantesca reserva de genes.

En las últimas décadas, muchos recursos naturales han sido sobre explotados de manera tal que peligran no sólo la producción industrial, sino la existencia del mismo recurso y el equilibrio ecológico mundial donde los problemas ambientales han pasado a ocupar un sitio relevante en las preocupaciones de las colectividades de diversas regiones del mundo. Tal es el caso de la vegetación, que durante siglos se consideró como un recurso natural ilimitado cuya explotación a nivel mundial ha alcanzado niveles alarmantes, lo cual ha obligado a la creación de grupos multidisciplinarios tendientes a generar un conocimiento integral sobre dichos recursos, donde destaca su aprovechamiento racional y preservación[7,8]. La pérdida de diversidad genética, a medida que desaparecen las especies por la destrucción de su hábitat, se amenaza la continuidad de la sociedad.

Al hablar sobre la vegetación de nuestro país, es importante mencionar que México es considerado entre los países llamados de «megadiversidad» debido a que cuenta con 26 mil especies, lo cual lo sitúa en el cuarto lugar a nivel mundial[9]. Sin embargo, el conocimiento sobre este recurso es muy deficiente y fragmentado, aún en sus aspectos básicos: descripción botánica, estudios químicos, toxicológicos, farmacológicos, alimenticios, entre otros. Existen todavía muchas especies que no se han catalogado ni evaluado desde el aspecto de su valor comercial o utilitario[10].

Resulta importante aclarar que la expansión de los vegetales de consumo de sus regiones originarias sólo encuentra un límite en las condiciones naturales requeridas para su cultivo, aunque incluso este límite pueda superarse con frecuencia gracias a las condiciones artificiales que la tecnología agrícola es capaz de crear. Todos estos obstáculos resultan lógicos si tenemos en cuenta que los hábitos alimentarios son los más difíciles de cambiar, como aún hoy puede verse en las reacciones que generan los intentos de modificar las dietas locales con objeto de suplir determinadas carencias[11-13].

En resumen, es necesario contribuir al conocimiento nutrimental de los recursos vegetales comestibles que son ampliamente disponibles, específi-

camente de las plantas que son estudiadas en este trabajo y que ya son consumidas en varias regiones de Oaxaca.

Capítulo 2

Objetivos

2.1. General

- Conocer el valor nutrimental de seis plantas silvestres que se consumen frecuentemente en el estado de Oaxaca, con la finalidad de conocer su aportación de nutrimentos en la alimentación.

2.2. Específicos

- Evaluar la composición química de plantas comestibles en estudio
- Determinar la presencia de sustancias tóxicas como Alcaloides, Glucósidos cianogénicos y Hemaglutininas así como factores antinutricionales entre los que se encuentran el ácido fítico y Taninos.
- Cuantificar la cantidad de Hierro presente en cada una de las muestras y su posterior comparación con otros vegetales.
- Comparar el valor nutricional de algunas plantas evaluadas (con base en los resultados) con plantas de la misma especie sólo que de diferente región.

Capítulo 3

Antecedentes

Los estados de Oaxaca y Chiapas albergan la mayor parte de las especies de plantas de la República Mexicana[14]. Sólo que en Oaxaca se concentra la mayor riqueza de especies, de algunas familias y géneros, un alto número de endemismos y zonas consideradas como refugio de algunos grupos o especies de plantas relicticas. Asimismo, se estima que en el estado se encuentran entre 9,000 y 15,000 especies de plantas vasculares[15,16].

No obstante los esfuerzos dedicados a los trabajos florísticos, aún falta por coleccionar y describir una parte importante de la flora en algunas regiones como la Depresión del Balsas, los Valles Centrales, la Sierra Norte y la Sierra Atravesada, entre otras[7]. Entre las familias que registran su mayor riqueza de especies en el estado se encuentran Leguminosae [17], Pteridophyta [18] y Commelinaceae. La familia Graminae presenta su mayor proporción de especies endémicas en Oaxaca y de igual manera, ocurre con los grupos laurásicos de la familia Lamiaceae (p.e. los géneros *Salvia* y *Scutellaria*); de los cuales, el género *Salvia* presenta su mayor riqueza de especies en el estado. Además, cerca de la mitad de especies del género *Pinus* del país se encuentran en territorio de Oaxaca, donde al menos cuatro de ellas son endémicas. Oaxaca también se considera un refugio de especies relictas de la familia Commelinaceae, y de comunidades como los bosques de *Engelhardtia (Oreomunnea) mexicana* [19-21].

Además de la riqueza de especies y de los endemismos de plantas, Oaxaca destaca entre todos los estados de la República porque posee la mayor diversidad en tipos de vegetación. Los intentos por clasificarla, datan desde 1926 y hasta la fecha se continúa con esta tarea. Sin embargo, estas ordenamientos han quedado rebasadas en su propósito de representar su complejidad. Tradicionalmente, los tipos de flora de Oaxaca han sido considerados en

los mapas de vegetación del país y en mapas o representaciones de la flora y la fisiografía de algunas regiones del estado. Aunque la representación cartográfica en estos trabajos ha implicado un gran esfuerzo, comúnmente se ha tenido dificultad para representar todos los tipos de vegetación y para establecer un lenguaje común con los sistemas internacionales de clasificación. Además de la multitud de criterios seguidos, la escala manejada para la cartografía ha propiciado distintas inexactitudes, situación que limita su utilidad práctica [22].

Recientemente, en el Inventario Nacional Forestal 2000 (INF) se generó una cartografía de escala 1:125,000, donde se introdujo una leyenda jerárquica para designar los tipos de vegetación y sus comunidades asociadas, a nivel de todo el país.

Esta gran riqueza vegetal ha sido introducida desde hace ya varios siglos a todo el mundo, sin embargo es importante resaltar que gran cantidad de especies de plantas comestibles que fueron introducidas al viejo mundo, tienen su origen en México. Además, en nuestro país (específicamente Oaxaca) muchos de los alimentos consumidos tradicionalmente han sido sustituidos por productos elaborados industrialmente y su empleo en ocasiones no logra el balance adecuado de la dieta. En las comunidades indígenas la introducción de estos productos conduce a olvidar el uso de las plantas comestibles y por tanto, se pierde el conocimiento tradicional sobre los vegetales [23-25].

3.1. *Amaranthus hybridus* L. Familia: Amaranthaceae

NOMBRE(S) COMÚN(ES): Ba-llaa (zapoteca), Bledo, Ca´ara´i (cora), Cani (otomí), Chacua (tarasco), Chu´yaca, Cuiritze (purépecha), Huasoli (tarahumara), Quelite, Quelite blanco, Quelite de cochino (Coah), Quintonil, Qulitl (náhuatl), Saua-sacacaca (totonaco), Saua-shalsoco (totonaco), tsaua (totonaco), Uemi (guarigía), Yiwa ticú´uni (mixteca) [26].

DESCRIPCIÓN: Hierba monoica, erguida, hasta de 2 m de alto, pero generalmente de 1 m o menos, glabra o pubescente; tallos estriados, a veces rojizos, con frecuencia muy ramificados; pecíolos delgados hasta de unos 10 cm de largo, hojas lanceoladas a ovadas u ovado-rómbicas, de 3-15 cm de largo por 1-7 cm de ancho, a veces algo teñidas de rojo, inflorescencia de numerosas flores dispuestas en abundantes espigas paniculadas, la inflorescencia terminal es erguida, de 4-12 cm de largo por 1-2.5 cm de ancho, las laterales de la mitad de esas dimensiones, erguidas o extendidas; brácteas ovadas o lanceoladas y espinosas en la punta, del doble del largo que los tépalos, éstos generalmente

en número de 5, oblongos a linear-oblongos, de 1.5-2 mm de largo uninervados, agudos; estambres generalmente 5; ramas del estilo 3; utrículo subgloboso, igual o más corto que los tépalos; semilla de 1 mm de diámetro, de color café-rojizo o negro, brillante. Maleza arvense y ruderal [27].

USOS:

Comestible: Las plántulas se consumen guisadas con huevo. La planta tierna también es comestible, se guisa en caldo junto con la verdolaga.

Forrajero: La planta completa especialmente los brotes tiernos son utilizados como alimento del ganado.

Medicinal: No se tiene definida la parte de la planta que se usa para tratar dolor de pecho y espalda. Se toma hervida junto con flor de granada. Se utiliza en desórdenes digestivos, en problemas de embarazo, parto y puerperio, del sistema respiratorio, sistema cutáneo y en dolores.

HÁBITAT: Especie de hábito terrestre, arvense. Creciendo en bosques de encino, pino-encino, otras coníferas y otras latifoliadas. Se desarrolla de los 1200 a los 3000 metros sobre el nivel del mar.

MANEJO: Herbácea arvense tolerada y fomentada de forma abundante en campos de cultivo y solares, la floración es de junio a julio. El consumo es estacional frecuente.

RECOLECTA: Entre abril y junio están disponibles las hojas y tallos tiernos y la semilla de septiembre a noviembre. El quintonil rojo es el más apreciado.

COMERCIALIZACIÓN: Los brotes tiernos se venden en muchos mercados y tianguis de la República, especialmente en zonas rurales[28,29].

3.2. Brassica rapa Familia: Cruciferae

NOMBRE(S) COMÚN(ES): A'lasini (tarahumara), Cedrón, Col de Arbol, Coles, Flor de nabo, Mekuásare (tarahumara), Mostaza, Mostacilla, Mostaza, Moxtiz-las (zapoteca), Mustasa tsipambiti (purépecha), Nabo amarillo, Rabanillo, Reina, Yiwa calishi (mixteca) [27,30].

DESCRIPCIÓN: Planta herbácea erecta, anual, casi glabra, de 30 cm a 1.2 m de alto; hojas inferiores pecioladas, pinnatifidas o lobadas, de 10-20 cm de largo; hojas superiores más chicas, auriculadas, amplexicaules, con el borde entero; flores en racimos largos; sépalos 4 de 4-5 mm de largo; pétalos 4 de 6-10 mm de largo, de color amarillo; estambres 6; ovario súpero, bicarpelar, bilocular por un falso tabique; silicuas dehiscentes, lineares, atenuadas en un pico cilíndrico, de 2-5 cm de largo, con un pico de 1-1.5 cm de largo, las

valvas convexas con uno a tres nervios; semillas colocadas en una hilera en cada lóculo.

Usos:

Comestible: Las hojas y tallos jóvenes se consumen como quelites o verdura, crudos o cocidos. También se cuecen al vapor con cebolla y chile posteriormente son fritos y generalmente se les come en tortillas.

Forrajero: La parte aérea se utiliza en pastoreo cerril.

Medicinal: Las semilla se muelen con ajo para aliviar el dolor de rodillas, frotándose en la parte afectada. También tiene uso médico contra el «empacho». Aún no se encuentra bien definida la parte o partes de la planta que se usan para el dolor de cabeza.

Uso doméstico: Las semillas son apreciadas como alimento de aves en cautiverio.

HÁBITAT: Especie de hábito terrestre, es una abundante maleza arvense y ruderal, en asociación con bosques de encino a 2450 metros sobre el nivel del mar; pino-encino a 1600 metros sobre el nivel del mar. La planta prefiere sitios abiertos soleados, crece

generalmente alrededor de los campos de cultivo y en sitios perturbados por acción del hombre.

MANEJO: Especie introducida de Europa a las regiones templadas. En algunas zonas del país se cultiva en traspatio. Se pueden encontrar poblaciones grandes en algunos campos de cultivo en descanso. Se considera una especie protegida por el uso comestible y forrajero, por lo que se permite su desarrollo en los campos de cultivo y huertos familiares. En la sierra Tarahumara la planta se colecta en el verano en los campos de cultivo, las semillas se cosechan en septiembre para alimentar aves de corral. *Brassica rapa* es considerada en proceso de domesticación.

APROVECHAMIENTO: Esta especie se recolecta en época de floración. A pesar de que su aprovechamiento no está sujeto a alguna normatividad, aunque la NOM-005 RECNAT-1997 establece algunos criterios generales a los que se debe someter el aprovechamiento de plantas completas, mismos que pueden ser aplicables a esta especie. Es especialmente importante en invierno, cuando casi no hay otra planta comestible verde para el ganado. Además es una especie de la que se puede extraer aceite, lo cual está permitido por la Secretaría de Salud para este fin.

COMERCIALIZACIÓN: El manajo de ramas frescas se vende al precio de \$ 8.00, para consumirse como quelites, para alimento de las aves se vende el manajo de frutescencias de aproximadamente 100 gramos al precio de \$5.00. Se encuentra disponible en muchos mercados y tianguis de la república casi todo el año. [29]

3.3. *Crotalaria longirostrata* Familia: Fabaceae (Leguminosae)

NOMBRE(S) COMÚN(ES) Chepil grueso, Chipil, chipilín, Sonajilla, Vaca, Empanadilla[27, 31, 32].

DESCRIPCIÓN: Herbácea o hierba leñosa de 1-3 m de alto ramificada, erecta o algunas ramas inclinadas; estriguloso o glabro; hojas de 10 cm de largo; pecíolos 3-4 cm de largo, folíolos 3, elípticos, redondeados o retusos a agudos hacia el ápice, cuneados hacia la base, glabras por encima; estriguloso por debajo; hojas largas (terminal) 2-4 cm de largo, 7-20 mm de ancho, folíolos laterales similares, pequeños, estípulas triangular-subuladas, cerca de (ca).1-1.5 mm de largo, racimos comúnmente alargados pedunculados, con frecuencia erectos y aparentemente terminales, subuladas, 1.5-2.5 mm de largo, pedicelos 3-5 mm de largo; bracteolas subuladas, ca. 1 mm de largo subpersistentes; cáliz 6-8 mm de largo (desde la inserción de las brácteas hasta la punta de los largos dientes), el tubo en forma de copa contraído hacia la base y prolongadamente cuneado hacia el nivel de las bractéolas. En la quilla se forma un lóbulo de 4-6 mm de largo; 3 dientes libres de 2.5-4 mm de largo; flores (11-) 14-17 mm de largo; corola amarilla con la edad se torna naranja o rojiza; el estandarte café-marrón con el margen amarillo, alas amarillas; quilla verde-amarillenta; la lámina del estandarte frecuentemente reflexa, por encima con una corta uña, 10-15 mm de ancho; alas (8-) 10-14 mm de largo extendidas casi hacia el extremo de la quilla; quilla con una protección paralela larga (abaxial); 3 dientes lobados de el cáliz, la punta se prolonga, con una abrupta tendencia hacia el interior en ángulo recto; la punta se prolonga en un pico enroscado, la quilla desde la curva hasta la punta del pico es de 11-14 mm; anteras largas 1.6-2.2 mm de largo; frutos 1.5-2.5 cm de largo, 5-7 (-9) mm de diámetro, estrigoso, 10-16 semillas; ca. 3 mm de largo y ancho.

Usos:

Comestible: Las hojas, tallos y yemas, tiernas se emplean en la elaboración de tamales y caldo, cocidos como verdura. Se toma como té y la flor guisada con cilantro y ajo.

Medicinal: Se utiliza toda la planta, es un antidiarreico para niños.

Melífera: Las flores son visitadas por las abejas por lo que en las áreas de su distribución es común la presencia de apiarios.

HÁBITAT: En barrancas húmedas con vegetación de selvas bajas caducifolias, subcaducifolias o de bosques deciduos o mesófilos de montaña, desde los 100 a los 2200 metros sobre el nivel del mar.

MANEJO: No recibe manejo. Sin embargo por ser una especie comestible y melífera se regula por la Norma Oficial Mexicana NOM-007-RECNAT-1997 y por su empleo medicinal y comestible por la Norma NOM-005-RECNAT-1997.

COMERCIALIZACIÓN: La planta se vende en los mercados de varias comunidades locales, junto con otras especies de *Crotalaria*[29].

3.4. Cucurbita pepo L. Familia: Cucurbitaceae

NOMBRE COMÚN: Puntas de guía de calabaza[27, 30]

DESCRIPCIÓN:Planta rastrera o trepadora con tallos pecíolos, pedicelos y pedúnculos cortamente áspero, setosos. Flores amarillo pálido con anaranjado en el ápice. Frutos de diversas formas (subcilíndricos, globosos, oblatos) de coloraciones verde pálido a oscuro con o sin manchas. Generalmente con costillas realzadas y pedúnculos anguloso, surcado. Se cultiva en climas de templados a cálidos.

Usos:

Comestible: Las puntas de la guía, flores, frutos tiernos o maduros y semillas son comestibles. En Oaxaca se acostumbra comer las puntas de la guía en caldo, agregándole «cazuelitas» de masa y acompañándole otras verduras.

Medicinal: Las semillas del fruto son empleadas en el tratamiento de los problemas de próstata (ha sido una práctica frecuente en Europa) [29].

La acción que se le atribuye al componente lipídico-esteroidal de la semilla de calabaza es, por una parte antiinflamatoria, debido a los ácidos grasos que actúan como inhibidores de la ciclo-oxigenasa y reguladores de las prostaglandinas, y por otra, antiandrogénica de los fitoesteroles, que producen la inhibición natural de la 5- α -reductasa y disminución de la unión entre dihidrotestosterona y su receptor. Este efecto hormonal puede resultar beneficioso también en el tratamiento de la alopecia androgénica causada por la presencia de dihidrotestorena [33].

3.5. Malva parviflora L. Familia: Malvaceae

NOMBRE(S) COMÚN(ES): Malva, Malva de castilla, Yiwa taio [27, 30, 32].

DESCRIPCIÓN:Planta herbácea de 30 a 60 cm de longitud, de flor morada a lila, frutos inmaduros verdes. Esta especie se caracteriza por crecer a una altura de 1840 – 1950 metros sobre el nivel del mar.

Usos:

Comestible: Las plantulitas se consumen como quelite. Las hojas se comen crudas. También es cocida con carbonato o tequezquite más cebollas y ajos, se le agrega limón. Otra manera de prepararse es en caldo junto con diferentes hierbas de la región.

Forrajero: El follaje se usa como alimento para los cerdos.

Medicinal: La parte aérea en infusión se utiliza para curar enfermedades renales y niños recién nacidos. En cataplasma es usada contra tumores, úlceras, fiebre, indigestión, dolor estomacal, gases y dolor de cabeza.

El follaje para el dolor del cuerpo, se toma el té sin azúcar. Para heridas superficiales, el agua del hervor junto con las hojas se frota en la parte afectada.

Las hojas en cataplasma con leche curan abscesos e hinchazones con fiebre. Para desinflamar los intestinos se utiliza la infusión en emplastos de las hojas. Para la diarrea, a veces sólo se mastican las hojas. El cocimiento de las hoja se usa para aliviar golpes inflamados, baños de asiento, dolor de muela, sobre almorranas, para el dolor de estómago, lavado vaginales; se considera antiséptico y cicatrizante. Para curar granos, en emplastos. Las hojas en unguento, alivia tumores, úlceras, es purgante y catártico. Para las llagas y la disentería, se usa el cocimiento de 1 g de hojas en 300 mL de agua, las llagas se lavan con el agua y para la disentería se toma el té.

Veterinario: El cocimiento de las hojas se utiliza para curar a los animales atorzonados.

HÁBITAT: Especie de hábito terrestre en asociación con bosque de encino, pino-encino y otras coníferas a una altitud de 1200 a 2450 m.

MANEJO: La especie es fomentada y protegida en los huertos familiares y en los alrededores de los campos de cultivo.

RECOLECTA: El aprovechamiento de la especie es generalmente doméstico. Su colecta se rige de manera general por la NOM-007-RECNAT-1997, que establece los procedimientos, criterios y especificaciones para realizar el aprovechamiento, transporte y comercialización de ramas, hojas o pencas, flores, frutos y semillas.

COMERCIALIZACIÓN: La mayoría de la colecta es para autoconsumo. Es frecuente su venta en los mercados locales[29].

3.6. *Solanum nigrescens* Familia: Solanaceae

NOMBRE(S) COMÚN(ES): Chicua (purépecha), Cielo raso, Hierba mora, Hierbamora, Mora, Rahalkan (maya), Rama de mulata, Sirani (purépecha),

Tomatillo, Toma quililit (zapoteca), Tsikutakua, Vara de cuete, Yerba mora [27, 32, 34].

DESCRIPCIÓN: Planta herbácea de postrada o erecta de 30 a 80 cm de longitud de flor blanca de 1 cm, estambres amarillos; el fruto una baya verde y negra al madurar. Es típica del bosque mesófilo de montaña (altura de 1900 sobre el nivel del mar).

USOS:

Comestible: La hoja se usa como condimento en diversos platillos o se consume tierna y cocida con huevo, también se le prepara en caldo.

Medicinal: El follaje hervido se emplea para lavar heridas, en baños de asiento para hemorroide y reumatismo. El fruto cura el catarro constipado se agregan tres gotas a través de las fosas nasales, También se utiliza para aliviar cólicos y disipela. La parte aérea se usa cuando los niños tienen chincual, se les dan baños, con el cocimiento, las cataplasmas de hojas y tallos cocidos, se aplican en granos y abscesos, ablandan partes duras de la piel, machacada en vinagre para bajar la fiebre se usa en baños refregada en agua, bañar a los niños cuando por el calor presentan urticaria, aplicada en cataplasma para heridas, hinchazón y la calentura en fomentos, refregada en agua se aplica en forma de emplastos sobre la frente para calmar el dolor de cabeza y la fiebre.

El cocimiento de hojas y tallos se usa para lavados vaginales. No se tiene definida la parte de la planta que se utiliza para aliviar bilis, dolor estomacal, hígado, estreñimiento de bebés, bronconeumonía, catarro, Inflamación del vientre y riñón, cicatrizante, tónico, vulnerario.

Uso doméstico: El fruto se usa como alimento para aves.

HÁBITAT: Bosque de encino, pino, encino-pino, en altitud de 1900 a 2500 metros sobre el nivel del mar, presentan un hábito terrestre crecen sobre suelo.

MANEJO: La especie no tiene un manejo específico para su propagación en el bosque. Se fomenta en huertos familiares y campos de cultivo.

RECOLECTA: El aprovechamiento de la especie es generalmente doméstico.

COMERCIALIZACIÓN: La mayor parte de la colecta es para autoconsumo ocasional [29].

3.7. Factores tóxicos y antinutricionales

Es conveniente diferenciar las sustancias xenobóticas que causan daño cuando son ingeridas a través de los alimentos (aquellas que producen un daño directo sobre un órgano o tejido), de las que interfieren con la biodisponibilidad de algún nutrimento, ya que con frecuencia se les engloba en un sólo

término, conocido como «factor tóxico». Sin embargo, se puede distinguir dos tipos de sustancias dañinas que pueden ser ingeridas a través de los alimentos, que son: agente tóxico y agente antinutricional. En el cuadro 3.1 se observa la clasificación y se proporciona respectiva definición [35,36]. Es necesario hacer la distinción entre agente tóxico y antinutricional, ya que en ocasiones se asume que ambos causan un daño fisiológico o anatómico; sin embargo, hay una distinción en cuanto al tiempo de presentarse el daño; además, un factor muy importante, es el hecho de que un agente antinutricional puede ser corregido en un principio por una suplementación o fortificación del alimento implicado en este efecto.

A continuación se hará una explicación breve de los agentes tóxicos que son estudiados: Alcaloides, Glucósidos cianogénicos y Hemaglutininas.

3.7.1. Alcaloides

Se incluyen en este grupo de compuestos aquellas sustancias de origen vegetal o animal que contienen en sus moléculas sistemas heterocíclicos nitrogenados y poseen carácter básico. Por esta razón recibieron el nombre de alcaloides. Los alcaloides se encuentran distribuidos en diversas familias de plantas en forma de ácidos orgánicos, también se encuentran en forma de glucósidos de la ramnosa, galactosa y glucosa, otras están en forma de ésteres de ácidos orgánicos. Es común observar que la composición de los alcaloides puede variar con las condiciones ambientales como son, el nivel de nutrimentos en la tierra, el tipo de tierra, pH, altitud, drenaje y luz [37].

Los alcaloides forman un grupo muy heterogéneo de acción farmacológica potente en los animales. No todos los alcaloides poseen la misma toxicidad, ni su efecto tóxico es el mismo en todos ellos; así, se puede encontrar alcaloides neurotóxicos, hepatotóxicos, teratogénicos, cardiotoxicos, entre otros. Su acción, en general, sobre los humanos se da sobre el sistema nervioso y el endocrino, siendo su acción, principalmente sobre el sistema nervioso [38].

Para obtener los alcaloides de los vegetales en que se encuentran, se agotan las partes de la planta que los contienen, reducidas a porciones pequeñas, con agua sola si aquellos se encuentran en forma de sales solubles, o con ácido clorhídrico diluido si están en forma insoluble. Cuando se emplea solamente agua, se trata la disolución obtenida con carbonato sódico; si se emplea como disolvente el ácido clorhídrico, se adiciona a la disolución de cal, que pone en libertad el alcaloide. Este se purifica cristalizándolo en el alcohol o éter. Para separar entre sí los diversos alcaloides que pueden coexistir en una disolución se recurre a cristalizaciones fraccionadas y repetidas de sus sales.

<p>Actividad dañina de sustancias xenobióticas presentes en alimentos</p>	<p>Agente tóxico: Cualquier sustancia xenobiótica que es capaz de producir una anormalidad fisiológica y/o anatómica a corto plazo (Toxicidad aguda o subaguda), la cual no puede ser atenuada por una simple fortificación o suplementación del alimento que lo contiene.</p>	
	<p>Agente antinutricional: Sustancia presente en el alimento, que tiene la capacidad de reaccionar o interferir con un nutrimento, disminuyendo su biodisponibilidad y a largo plazo (Toxicidad crónica) es capaz de producir una anormalidad fisiológica y/o anatómica, que en la mayoría de los casos es irreversible. Sin embargo, el propio nutrimento puede actuar como antagonista; por lo cual, una fortificación de éste, en la etapa inicial del efecto dañino, puede atenuar o eliminar el problema.</p>	<p>Antivitaminas: Sustancias que inactivan o aumentan los requerimientos de vitaminas (Anti-tiaminasas, ascórbico -oxidasa, avidina, etc.)</p>
		<p>Antienzimas: Sustancias que inhiben la acción de enzimas digestivas endógenas. (Inhibidores de proteasas, amilasas, etc.)</p>
		<p>Secuestrantes de minerales: Sustancias que interfieren con la asimilación de los minerales (Anti-tiroideos, fitatos, ácido oxálico, ovotransferrina, etc.)</p>

Cuadro 3.1: Sustancias dañinas presentes en los alimentos

La mayor parte de los alcaloides se encuentran en las plantas dicotiledóneas en forma de sales (malatos, tanatos, citratos, etc.). A excepción de algunos como la nicotina, que son líquidos, los restantes son sólidos, poseen sabor amargo y reacción alcalina. Insolubles generalmente en el agua, lo son más en el éter y fácilmente solubles en el alcohol. Con los ácidos forman sales y con ciertos cuerpos dan reacciones, coloreadas o no, pero características. Tienen por lo común, carácter de aminas terciarias, y son en su mayor parte venenos muy violentos; como antídoto se emplea, entre otros, infusiones de té muy cargadas.

Se clasifican los alcaloides teniendo en cuenta los núcleos fundamentales de sus moléculas. Según ellos, se dividen en los grupos siguientes, en los que se hace un estudio somero de los principales alcaloides en ellos contenidos: alcaloides de núcleo pirídico, de núcleo quinoleico, de núcleo isoquinoleico, de núcleo tropánico, de núcleo indólico, de núcleo fenantrénico, y alcaloides de constitución mal definida (según familia de los vegetales, o sea, alcaloides de solanáceas, de papaveráceas, etc; o alcaloides oxigenados o no oxigenados). [39,40]

La función de los alcaloides en plantas es aún materia de controversia, sin embargo entre éstas, se ha sugerido [41]:

- Actúan como reserva de nitrógeno, pero existe poca evidencia de que sean utilizadas en condiciones de deficiencia de éste.
- Actúan como reguladores del crecimiento en particular como inhibidores de la germinación.
- Actúan como sustancias protectoras, es decir, evitan el ataque de animales o insectos.
- Ayudan a mantener un balance iónico en virtud de su poder quelante.

3.7.2. Glucósidos cianogénicos

La presencia de glucósidos cianogénicos en el reino vegetal está ampliamente distribuida aunque en cantidades traza. Estos glucósidos pueden contener en su molécula un monosacárido, generalmente glucosa o bien un disacárido como la gentobiosa, unidos a un grupo ciano [35,42].

El ácido cianhídrico (HCN) es un potente inhibidor del sistema respiratorio a nivel celular, ya que su sitio de acción es sobre la citocromo oxidasa, quien es catalizador respiratorio terminal de los organismos aerobios. La sensibilidad al HCN varía de acuerdo al organismo, así que las dimensiones del envenenamiento son variables.

La amigdalina fue el primer glucósido cianogénico identificado en las almendras amargas, presentándose también en otra clase de semillas. La durrina se encuentra en el sorgo y algunos pastos, en la linaza se puede encontrar lotaustralina y linamarina, ésta última se ha encontrado en diferentes variedades de leguminosas [43, 44].

Los glucósidos cianogénicos no son tóxicos por sí mismos, sino lo son por el HCN liberado, la forma como se libera el HCN de ellos es por vía enzimática, esto ocurre cuando se presenta daño físico en la planta. La liberación espontánea del ácido cianhídrico en la planta depende de la presencia de una enzima específica, la β -glucosidasa y de un medio acuoso. Dicha enzima se encuentra en forma extracelular y actúa sólo después de la ruptura de los tejidos de la semilla [45].

La dosis letal de HCN, por vía oral, para un individuo se ha estimado entre 0.5 – 3.5 mg/Kg de peso corporal. Con esta dosis se presentan síntomas iniciales de adormecimiento periférico con ligeros mareos seguidos por confusión mental, cianosis, temblores, convulsiones, coma y finalmente la muerte. En caso de que las dosis sean menores a la dosis letal, puede presentarse dolor de cabeza, sensación de opresión en la garganta, palpitaciones y debilidad muscular. En estos casos, el organismo es capaz de llevar a cabo un proceso de destoxicación ya que existe una sulfotransferasa (rodanasa) que cataliza la reacción del HCN con el tiosulfato formando sulfito y tiocianato, el cual es eliminado por la orina[46].

3.7.3. Hemaglutininas

En una amplia variedad de plantas y en distintas partes de las mismas resulta común encontrar sustancias de origen proteínico, las cuales son capaces de aglutinar los glóbulos rojos de distintos animales; a estas sustancias se les conoce por el nombre de fitohemaglutininas o lectinas [36].

Las lectinas son proteínas, algunas presentan uniones covalentes con azúcares y otras contienen grupos sulfhidrilos. Poseen una actividad específica para ciertas moléculas de azúcar, así la actividad hemoaglutinante se explica por la reacción entre las lectinas con ciertos grupos receptores situados en la superficie de las membranas de los glóbulos rojos [47].

Para que una lectina presente algún efecto dañino sobre el organismo, es necesario que resista el proceso de digestión. Se han encontrado que todas las lectinas producen síntomas semejantes, de mayor a menor gravedad, entre los que resalta en primer lugar, la intensa inflamación de la mucosa intestinal, con la posterior destrucción de los epitelios, el edema y hemorragia del tejido linfático.

Sin embargo las hemaglutininas como la mayoría de las proteínas, son termolábiles y generalmente, su efecto tóxico se puede eliminar o disminuir notablemente por medio del tratamiento térmico adecuado. Se manifiesta que con los métodos tradicionales de cocimiento casero se puede obtener una adecuada inactivación de estas proteínas tóxicas [48-50]

3.7.4. Ácido fítico

El ácido fítico (AF) y sus sales constituyen la principal forma de almacenamiento de fósforo (P) en semillas de cereales y leguminosas [51,52]. Sin embargo, en esta forma el P permanece no disponible para el hombre y animales monogástricos [53,54], debido a que éstos no están provistos de suficiente actividad de fosfatasas endógenas (fitasas) que sean capaces de liberar el grupo fosfato de la estructura del fitato. El AF es además un compuesto con actividad antinutricional, debido a su capacidad de formar complejos insolubles con minerales y proteínas convirtiéndolos en no asimilables por el organismo bajo condiciones fisiológicas. Paradójicamente, el AF, a bajas dosis, presenta también efectos positivos sobre la salud como son su acción protectora frente al cáncer, reducción de la formación de cálculos renales y prevención de enfermedades cardiovasculares [55].

En los últimos años, la divulgación dada a los potenciales efectos beneficiosos de dietas bajas en grasas y con alto contenido de fibra, ha supuesto un fuerte empuje en el uso de leguminosas y semillas en grano en la alimentación humana. Estos cambios en los hábitos alimentarios hacia una alimentación rica en fibra han conducido a una mayor ingesta de fitatos en la dieta. No obstante, es importante considerar que durante el procesado de los alimentos y la digestión, la cantidad final de AF disminuye significativamente como consecuencia de su hidrólisis, enzimática o química, en problemas encontrados en la interpretación de los datos existentes sobre el AF en la bibliografía es el derivado de la variabilidad de resultados asociada a la utilización de diferentes procedimientos analíticos para su determinación [56]. En la actualidad, dado que los efectos del AF y sus derivados desfosforilados en la nutrición humana son diferentes, aquellos métodos que permiten su separación son considerados los más adecuados [52,57].

Estructura química y propiedades

Se han propuesto varios modelos para la estructura del AF. Según el modelo propuesto por Anderson, el AF sería una molécula con seis grupos ortofosfato (InsP6), de nombre químico myo-inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 - hexaquis (dihidrógeno fosfato). Según esta estructura, el AF, a pH neutro y al pH que normalmente presentan los alimentos, es una molécula cargada negativamente

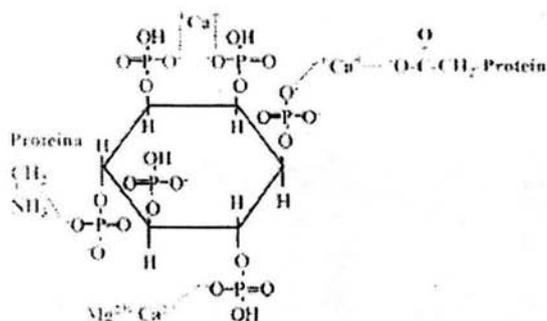


Figura 3.1: Interacciones del AF con proteínas y minerales

y por tanto muy reactiva, por lo que presenta una elevada capacidad para formar complejos o unirse a moléculas cargadas positivamente como cationes o proteínas. La interacción del AF con las proteínas es pH-dependiente, mientras que con los cationes la interacción es debida exclusivamente a sus numerosos grupos fosfato: éstos pueden unirse bien a un sólo grupo fosfato, a dos grupos fosfato de una misma molécula o a grupos fosfato de distintas moléculas de AF (Fig. 3.1). En la semilla el AF se encuentra como una mezcla de sales con varios cationes como K, Mg, Ca, Mn, Zn y Fe; el término fitina se ha empleado para designar una mezcla de sales de Ca y Mg del AF [58].

La poca solubilidad del AF es la principal causa de su comportamiento antinutricional y de sus propiedades fisicoquímicas. Sin embargo, es importante considerar que la solubilidad de las sales del AF varía con el pH, ya que el grado de protonación de los grupos fosfato que no se han unido a los metales está en función de dicho parámetro. Aparentemente, en la semilla el AF se encuentra como sales relativamente solubles de sodio o potasio más que como fitina insoluble. Las sales de calcio y magnesio son solubles a pH bajos e insolubles a pH elevados, por lo tanto a pH fisiológico serían insolubles, de ahí el descenso de la biodisponibilidad mineral. En general, las sales hidrogenadas y monovalentes del AF son solubles en agua, mientras que las sales metálicas divalentes y trivalentes son bastante insolubles.

El grado de interacción entre AF y proteínas es dependiente de la carga neta de la proteína, de su conformación y de las interacciones con minerales a un pH dado. A bajo pH, por debajo del punto isoeléctrico de las proteínas, éstas se encuentran cargadas positivamente y el AF negativamente. En estas condiciones, se produce una fuerte interacción electrostática entre

grupos amino terminal de las proteínas, y ésteres fosfato aniónicos del AF, formándose un complejo binario (Fig. 3.1). A pH intermedio, por encima del punto isoeléctrico de las proteínas, dado que la carga de las proteínas al igual que la del AF es negativa, su interacción sería imposible, sin embargo si puede realizarse a través de la formación de un complejo ternario con cationes divalentes como el Ca^{2+} o el Mg^{2+} (Fig. 3.1). Esta unión se realiza a través de los grupos carboxilos ionizados y el grupo imidazol desprotonado de la histidina, siendo necesaria una concentración mínima de estos cationes para mantener estos complejos. A pH intermedio también pueden existir algunos complejos binarios, ya que a dicho pH los residuos lisil y arginil de las proteínas están aún cargados positivamente. A pH elevado la interacción entre las proteínas y el AF disminuye, los grupos lisil y arginil pierden su carga, y por tanto su capacidad de formar complejos binarios. Los complejos ternarios se desestabilizan ya que la fuerza iónica aumenta a pH elevado; un incremento en la concentración del ión Na^+ hace que la reacción de equilibrio del complejo ternario se desplace hacia la derecha liberándose fitato cálcico insoluble y proteína-Na soluble (Fig.3.1). Como hemos visto la formación de complejos entre AF y proteínas no sólo afecta a la solubilidad y propiedades funcionales de las mismas, sino que también tiene una gran influencia en la biodisponibilidad mineral. Además, el AF puede unirse también al almidón, bien directamente a través de puentes de hidrógeno o indirectamente mediante las proteínas a las que se asocia [59, 60].

Distribución, localización y contenido

El AF se encuentra ampliamente distribuido en el reino vegetal. En la mayoría de las plantas una gran proporción de P (80 %) está presente en forma de fitato, especialmente en aquellas semillas en las que el AF se encuentra en concentraciones elevadas, desde 1-7 % (48). Así, en las semillas de cereales, oleaginosas y leguminosas los niveles de AF son elevados y constituyen el mayor porcentaje (60- 82 %) del P total; varias raíces y tubérculos presentan cantidades moderadas de AF, siendo el fósforo fítico el 21-25 % del total, mientras que en verduras las cantidades de AF encontradas son muy pequeñas.

Efectos antinutricionales

Los fitatos reducen la biodisponibilidad mineral e inhiben enzimas proteolíticas y amilolíticas. A pesar de que la naturaleza exacta y el grado de unión del AF a minerales y proteínas son difíciles de determinar, y su papel en la nutrición es complejo, sí está claro

que altos niveles de AF en la dieta están asociados con efectos nutricionales adversos en el hombre.

Efectos en la proteína

La interacción del AF con las proteínas ha sido ampliamente estudiada, principalmente en soya, sin embargo su naturaleza no es totalmente conocida y los efectos antinutricionales en la disponibilidad de dichas proteínas no están aun claros.

Efectos en la biodisponibilidad mineral

Por su estructura altamente reactiva, el AF es un excelente agente quelante presentando gran afinidad por todos los elementos trazas polivalentes y minerales como Cu^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+}/Fe^{3+} , Mg^{2+} y Ca^{2+} . La mayor parte de los estudios realizados sobre la interacción entre el fitato y los minerales ponen de manifiesto la existencia de una relación inversa entre la absorción de estos micronutrientes y el AF, aunque existen grandes diferencias en el comportamiento.

Los efectos adversos del AF en la biodisponibilidad mineral dependen de un gran número de factores entre los que se destacan la concentración de AF y la fuerza de su unión con los diferentes minerales. También influyen otros factores como [61]:

- Las condiciones de procesado del alimento (especialmente el pH), así como el tipo de AF (añadido o endógeno) y la concentración de minerales en dicho alimento.
- Si el AF es ingerido en la misma comida que la fuente mineral o en comidas separadas.
- La concentración de proteínas de la dieta, y por tanto la presencia de proteínas, péptidos o aminoácidos en el intestino que pueden interferir en la formación del complejo fitato- mineral.
- La presencia de otros agentes quelantes como fibra dietética, ácido oxálico, ácido ascórbico, ácido cítrico o taninos, que pueden competir con el AF en su unión con minerales.
- La presencia de fitasa de origen intestinal, bacteriana o de la dieta, así como la inhibición de dicha enzima.
- La adaptación metabólica del individuo a altos niveles de AF

Efectos farmacológicos

Las funciones del AF a bajas concentraciones han sido descritas bibliográficamente, se ha encontrado efectos positivos, entre los que se pueden citar: retardo de la digestibilidad del almidón y disminución de la respuesta a la glucosa en sangre, hipocolesterolemia, prevención de cálculos renales,

control de la caries dental y cáncer, y mejora de la capacidad de captación de oxígeno de los glóbulos rojos. Estudios epidemiológicos y estudios en ratas sugieren también un posible papel preventivo del AF frente a diversas patologías cardíacas, derivado del control de la hipercolesterolemia y la arteriosclerosis en el hombre. También se ha indicado el papel del AF como antídoto frente a la intoxicación aguda por plomo, debido principalmente a su capacidad de unirse a minerales .

3.7.5. Taninos

Los taninos son compuestos polifenoles que aportan tanto color como astringencia a los alimentos. Con frecuencia, las plantas poseen estos compuestos. Quizás el mejor conocido es el pigmento pardo que se encuentra en las hojas de té que se puede usar como colorante marrón. (Tanino es un término que se usó previamente para los compuestos fenólicos que intervienen en el pardeamiento enzimático). Hay dos tipos de sustancias que juegan un papel importante: la catequina y el tanino, derivado del ácido gálico. Su acción consiste en que forman puentes de Oxígeno entre los hidroxilos fenólicos y los grupos peptídicos de las fibrillas de colágeno, estableciendo enlaces cruzados entre las cadenas peptídicas vecinas. La oxidación de los grupos fenólicos de los taninos a quinonas puede formar enlaces covalentes entre los grupos amino épsilon de las lisinas y de las argininas en las cadenas peptídicas. Así se precipitan las proteínas.

Para la formación del complejo proteína-tanino es necesaria la presencia de grupos o-dihidroxifenol, que forman enlaces hidrófobos. La unión de los taninos a las enzimas digestivas impide su acción; la unión con las proteínas de la mucosa intestinal estorba la absorción de las materias alimenticias. Por esta acción se emplean los taninos, desde hace

mucho tiempo, en el tratamiento de las diarreas. La unión con las proteínas de la saliva y de la mucosa bucal provoca el conocido efecto astringente. Con la maduración de los frutos se polimerizan los taninos y pierden su acción astringente, ya que reaccionan menos con las proteínas. Pierden también su sabor amargo [62,63].

Los taninos impiden la reabsorción del hierro, con el que forman un complejo difícilmente soluble. También inhiben la absorción de las soluciones acuosas de sales de hierro. Igualmente inhiben la absorción del hierro contenido en los alimentos vegetales. Así, es posible una deficiencia de hierro en personas cuya dieta es preferentemente vegetal.

Clasificación:

1. Taninos Hidrosolubles o Pirogálicos: Son ésteres fácilmente hidrolizables formados por una molécula de azúcar (en general glucosa) unida a un número variable de moléculas de ácidos fenólicos (ácido gálico o su dímero, el ácido elágico). Son comunes de observar en plantas Dicotiledóneas. Cuando se destilan en seco producen pirogalol.
2. Taninos no Hidrosolubles ó Condensados: Tienen una estructura química similar a la de los flavonoides. Por hidrólisis forman glucosa y ácido elágico. Se subdividen en[64]:
 - a) Catéquicos
 - b) Leucoantocianidinas ó proantocianidina oligoméricas (pignogenoles).

3.8. Hierro

El hierro es un elemento esencial para la vida, puesto que participa prácticamente en todos los procesos de oxidación-reducción. Lo podemos hallar formando parte esencial de las enzimas del ciclo de Krebs, en la respiración celular y como transportador de electrones en los citocromos. Está presente en numerosas enzimas involucradas en el mantenimiento de la integridad celular, tales como las catalasas, peroxidasas y oxigenasas. Su elevado potencial redox, junto a su facilidad para promover la formación de compuestos tóxicos altamente reactivos, determina que el metabolismo de hierro sea controlado por un potente sistema regulador[65].

Puede considerarse que el hierro en el organismo se encuentra formando parte de 2 compartimientos: uno funcional, formado por los numerosos compuestos, entre los que se incluyen la hemoglobina, la mioglobina, la transferrina y las enzimas que requieren hierro como cofactor o como grupo prostético, ya sea en forma iónica o como grupo hemo, y el compartimiento de depósito, constituido por la ferritina y la hemosiderina, que constituyen las reservas corporales de este metal.

El contenido total de hierro de un individuo normal es aproximadamente de 3,5 a 4 g en la mujer y de 4 a 5 g en el hombre. En individuos con un estado nutricional óptimo alrededor del 65 % se encuentra formando parte de la hemoglobina, el 15 % está contenido en las enzimas y la mioglobina, el 20 % como hierro de depósito y solo entre el 0,1 y 0,2 % se encuentra unido con la transferrina como hierro circulante[66-68].

Absorción

En un individuo normal, las necesidades diarias de hierro son muy bajas en comparación con el hierro circulante, por lo que sólo se absorbe una pequeña proporción del total ingerido. Esta proporción varía de acuerdo con la cantidad y el tipo de hierro presente en los alimentos, el estado de los depósitos corporales del mineral, las necesidades, la actividad eritropoyética y una serie de factores lumbinales e intralumbinales que interfieren o facilitan la absorción[69].

La absorción depende en primer lugar del tipo de compuesto de hierro presente en la dieta, en dependencia de lo cual van a existir 2 formas diferentes de absorción: la del hierro hemo y la del hierro inorgánico. Aproximadamente el 40 % del hierro de los alimentos cárnicos es hierro hemo. El 60 % del hierro de los alimentos cárnicos y *todo el hierro de los alimentos vegetales es hierro no-hemo.*

Entonces tenemos que:

Hierro no hemo = Forma Férrica (Fe^{3+}): más abundante

Hierro hemo = Forma Ferrosa(Fe^{2+}): más soluble, mejor absorbible

Su deficiencia puede provocar:

- Fatiga
- Bajo rendimiento
- Anemia
- Dificultad para realizar esfuerzos
- Partos prematuros
- Inapetencia.
- Uñas y pelo frágiles y quebradizos.
- Dificultad de concentración.
- Debilidad muscular.
- Repercute en el desarrollo mental de bebés y niños.

Causas que favorecen su deficiencia:

- La elevada ingesta de té, café y bebidas alcohólicas dificultan la asimilación del hierro.
- Dietas bajas en proteínas.

- Alimentación desequilibrada donde se abuse de las grasas, harinas y azúcares refinados.
- Hemorragias o diarreas crónicas.
- Un medio intestinal alcalino [70].

Dosis recomendadas

El aporte aconsejable de Hierro está entre 7 a 16 mg en condiciones normales; una mujer fértil requerirá 20 mg diarios; mujeres embarazadas o que estén lactando necesitarán entre 25 y 30 mg diarios.

Cabe señalar que una dieta sana y equilibrada aporta todo el hierro que necesitamos.

Los tratamientos con suplementos de hierro, sobre todo durante períodos largos, deben ser siempre supervisados por un profesional de la salud [69,70].

Nutrientes sinérgicos

- Complejo B
- Ácido fólico
- Vitamina C
- Cobre, Cobalto
- Manganeso

Capítulo 4

Metodología

4.1. Recolección y clasificación botánica del material de estudio

En primer lugar, se acudió directamente a la Ciudad de Oaxaca, específicamente a uno de sus mercados regionales, el cual lleva por nombre *Las Flores* en él se preguntó acerca de las hierbas o plantas más consumidas y se compraron algunas. Cabe mencionar que se recabó información básica de las plantas: el nombre vulgar y detalles de la forma en que son consumidas. Después fue necesario dirigirse hacia la Sierra de Juárez, específicamente al pueblo *Santa Catarina Lachatao* en donde se recolectaron algunas plantas más.

El problema que se enfrentó fue que se desconocía el nombre científico de las mismas por lo que fue necesaria la colaboración del botánico *Dr. Francisco Basurto Peña*, así como la realización de una búsqueda en el Herbario Nacional ubicado en el Instituto de Biología, esto con la finalidad de cotejar las muestras. La selección de las plantas se hizo con base en la información que se tenía sobre ellas: frecuencia de su consumo, cantidad disponible así como la certeza de su clasificación herbaria.

En el siguiente cuadro se muestra el nombre común, científico y lugar de recolección de las plantas en estudio.

Nombre común	Nombre científico	Lugar de recolección en Oaxaca
Quintonil	<i>Amaranthus hybridus</i> L.	Mercado zonal Las Flores,
Mostaza	<i>Brassica rapa</i>	Sierra de Juárez (Lachatao)
Chepil	<i>Crotalaria longirostrata</i>	Mercado zonal Las Flores
Puntas de guía	<i>Cucurbita pepo</i> L.	Mercado zonal Las Flores
Malva	<i>Malva parviflora</i> L.	Sierra de Juárez (Lachatao)
Hierba mora	<i>Solanum nigrescens</i>	Sierra de Juárez (Lachatao)

4.2. Preparación de las muestras (Acondicionamiento)

Para el estudio químico fue necesario secar las muestras al sol, con excepción del chepil, todas las demás se consumen frescas, sin embargo para su conservación (evitar contaminación por hongos) y análisis requerían de un secado. Así, fueron deshidratadas siete días con la finalidad de perder la mayor cantidad de agua libre presente en cada una de ellas. Al cabo de dicho tiempo se cuantificó humedad inicial. Una vez secas, se realizó una molienda fina en un molino *Thomas Wiley* pasando por una malla de 1 mm de diámetro, la muestra molida se guardó en recipientes de plástico perfectamente limpios y secos; así mismo se les cerró perfectamente para evitar cualquier tipo de contaminación microbiana o que las muestras adquirieran humedad del medio ambiente. De esta manera fueron almacenadas hasta que fueron requeridas para su análisis.

4.3. Análisis proximal

Se realizaron todas las pruebas de acuerdo con los métodos descritos en el AOAC[71] y se determinó: Humedad, Cenizas, Proteína cruda, Grasa cruda, Fibra cruda e Hidratos de Carbono asimilables por diferencia.

4.3.1. Humedad

Fundamento

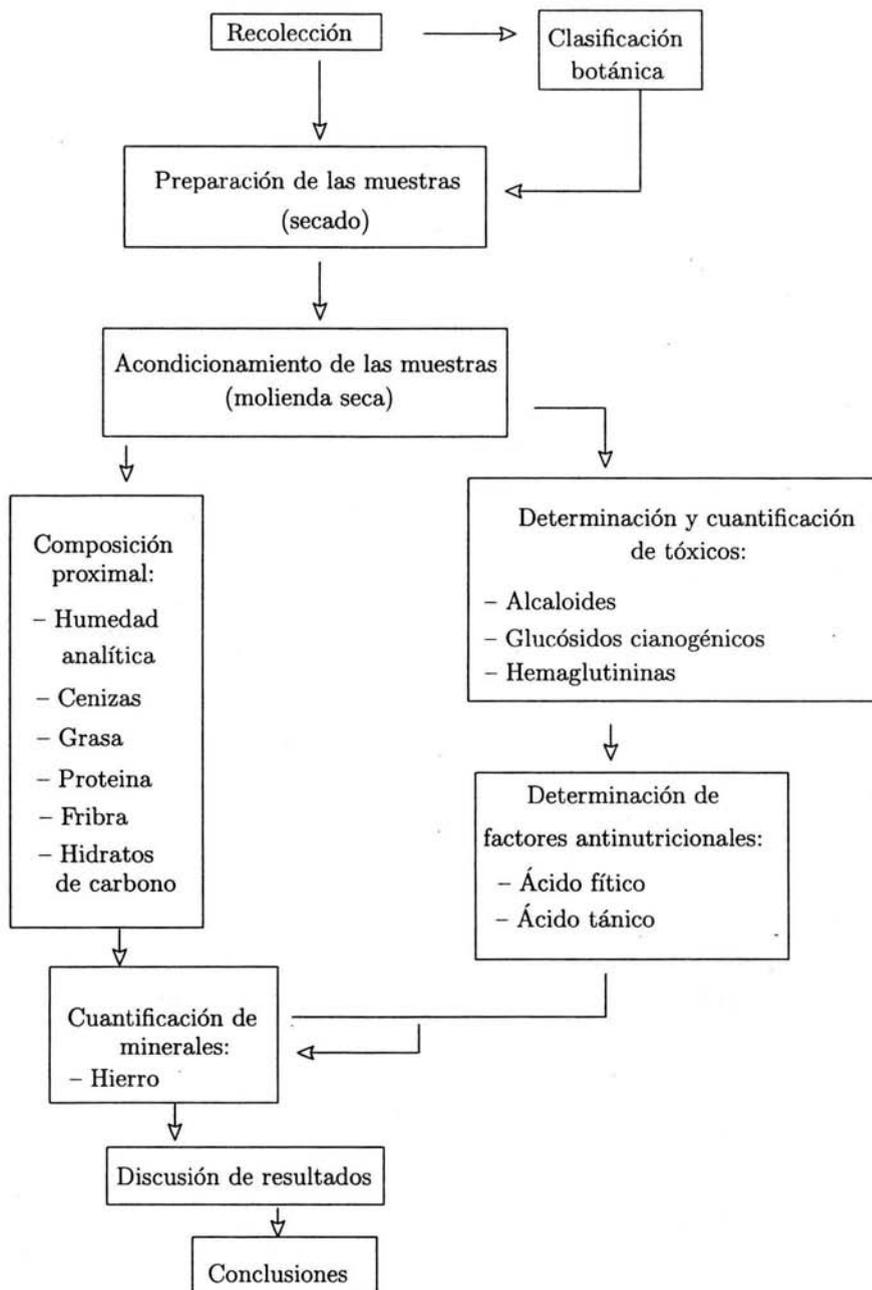


Diagrama general de la investigación. En éste esquema se muestra la secuencia del trabajo realizado durante la investigación.

Se basa en la pérdida de agua de la muestra por efecto de la temperatura. Es indispensable conocer la humedad de la muestra para otorgarle un valor real a la cantidad de los otros componentes. Así mismo, el dato de humedad está relacionado con la edad y / o el estado de conservación de la muestra.

Material

- Estufa de vacío
- Balanza analítica digital SARTORIUS
- Desecador
- Pesafiltros

Procedimiento

Pesar de 2 – 3 gramos de muestra preparada en un pesafiltro con tapa, que ha sido previamente puesto a peso constante a $130^{\circ} \pm 3^{\circ}C$. Secar la muestra a la estufa a $100^{\circ} \pm 3^{\circ}C$ con la tapa del pesafiltro a un lado las horas que sea necesario hasta que dos pesadas sucesivas no registren diferencia de 0.001 g. Retirar de la estufa, tapar, dejar enfriar en desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente.

Cálculos

$$\%Humedad = \frac{A - B}{C} \times 100$$

En donde tenemos que:

A = Peso del pesafiltro con muestra

B = Peso del pesafiltro más muestra después de secar a la estufa

C = Peso de muestra en gramos

4.3.2. Cenizas

Fundamento

Las cenizas incluyen todos los compuestos inorgánicos fijos de la muestra, tanto los originales como los de contaminación. Al incinerarse una muestra se logra la destrucción de la materia orgánica, obteniéndolas así como residuos, los cuales pueden cuantificarse.

Material

- Mufla

- Balanza analítica SARTORIUS
- Parrillas de incineración
- Crisoles de porcelana
- Desecador

Procedimiento

Pesar aproximadamente de 3 a 5 gramos de muestra en un crisol (la muestra no debe sobrepasar la mitad del crisol) previamente puesto a peso constante después de introducirlo a la mufla a 600°C . Calcinar la muestra, para ello carbonizar primero con mechero hasta que no se desprendan humos y meter a la mufla cuidando que la temperatura no pase de 550°C para evitar que los cloruros se volatilicen. Se suspende el calentamiento cuando las cenizas estén blancas o grises, aproximadamente 3 a 4 horas (si se observaran puntos negros, se humedecen con unas gotas de agua destilada, se secan en la estufa a 130°C y se vuelven a calcinar). Enfriar en desecador y pesar.

Cálculos

$$\% \text{Cenizas} = \frac{\text{Peso crisol con cenizas} - \text{peso crisol vacío}}{\text{Peso de muestra en gramos}} \times 100$$

4.3.3. Grasa cruda

Fundamento

Esta determinación se basa en la solubilidad de las grasas en compuestos no polares como el éter etílico, de petróleo, etc; el cual se calienta hasta que se volatilice y al hacer contacto con la superficie fría (refrigerante) se condensa y pasa a través de la muestra arrastrando consigo las sustancias solubles.

Material

- Aparato de extracción Goldfish
- Cartuchos de celulosa
- Vasos de borde esmerilado
- Estufa de vacío

- Balanza analítica SARTORIUS
- Desecador

Reactivos

- éter de petróleo

Procedimiento

Poner un vaso para Goldfish a peso constante (100°C), enfriar y pesar. Pesar en un cartucho de celulosa 4 – 5 g de muestra, tapar con algodón y colocarlo en un sostenedor o recipiente con el fondo perforado. El sostenedor se coloca en un aparato. Por otro lado, en el vaso ya pesado se depositan, aproximadamente 40 mL de éter de petróleo y se coloca en el aparato de Goldfish mediante un anillo de hierro con empaque de hule. Se sube la parrilla dando medio giro para un lado y después para el otro. Calentar 4 horas y comprobar que la extracción haya sido completa (hasta que el solvente esté libre de grasa). Al finalizar, se cambia el sostenedor con el cartucho por otro recipiente cerrado sin perforación y se vuelve a calentar para recuperar el éter. Al evaporarse totalmente el éter del vaso, éste se quita del aparato y se mete 30 minutos a la estufa, se enfría en el desecador y se pesa.

Cálculos

$$\% \text{Grasa cruda} = \frac{\text{Peso del vaso con extracto} - \text{Peso del vaso vacío}}{\text{Peso de muestra en gramos}} \times 100$$

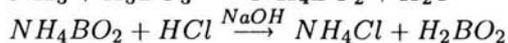
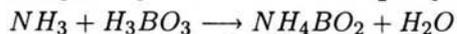
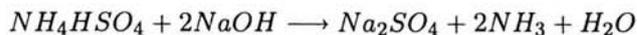
4.3.4. Proteína cruda

Fundamento (Método micro Kjeldahl)

Las proteínas y demás materia orgánica son oxidadas por acción del ácido sulfúrico concentrado; el nitrógeno que se encuentra en forma orgánica se fija como sulfato de amonio que posteriormente será reducido hasta amoníaco, el cual queda en la solución en forma de sulfato de amonio debido a que en la mezcla de reacción siempre hay un exceso de ácido.



Se reduce el tiempo de digestión debido a la adición de sulfato de sodio o potasio, los cuales elevan la temperatura de digestión. La adición de peróxido acelera la digestión y reduce la formación de espuma. El amoníaco obtenido después de la digestión es liberado con la destilación por acción de un álcali (NaOH) para ser atrapado en ácido valorado para su posterior titulación ácido-base.



Material

- Digestor BÜCHI, Mod. K-437
- Dispositivo de destilación BÜCHI, Mod. K-437
- Tubos de digestión BÜCHI de 75 mL
- Balanza analítica digital SARTORIUS

Reactivos

- Peróxido de hidrógeno al 30 %
- Sulfato de potasio (R.A)
- Solución de hidróxido de sodio al 36 %
- Solución de ácido clorhídrico 0.01 N (solución valorada)
- Mezcla digestiva (ver anexo no. 2)
- Solución de ácido bórico con indicadores (ver anexo no. 2)

Procedimiento

- Digestión de la muestra

Se pesan en una balanza analítica de 10 – 100 mg de muestra (dependiendo del contenido de proteína esperado) en un papel delgado blando, con todo y papel se introduce en el tubo de digestión, se agregan 0.5 g de sulfato de potasio (K_2SO_4). También se adicionan 3 mL de la mezcla digestiva. El tubo es colocado por 15 minutos a una temperatura menor de $370^\circ C$ en el digestor. Después de este tiempo, se retira el tubo y se deja enfriar. Agregar 1.5 mL de H_2O_2 al 30 % y nuevamente se coloca el tubo en el digestor, que debe alcanzar la temperatura de $370^\circ C$, hasta que la digestión termine (cuando el tubo no muestre manchas ni puntos negros y además la mezcla de digestión sea incolora, translúcida o verde-azuloso translúcido). Posteriormente se deja enfriar el tubo antes de comenzar a destilar. Es necesario colocar desde el inicio, un blanco de reactivos.

- Destilación y titulación

Se lleva a cabo en el dispositivo de destilación BÜCHI, Mod. K-437. La destilación se lleva a cabo por arrastre de vapor para lo cual se adicionan 15 mL de NaOH al 36 %, se recibe en 50 mL de ácido bórico hasta alcanzar un volumen de 100 – 125 mL.

Una vez terminada la destilación, se titula con HCl (valorado) 0.01 N hasta el vire de color: verde esmeralda a rosa tenue. De igual forma se destila y titula el blanco de reactivos.

Cálculos

$\% \text{nitrógeno} =$

$$\frac{(mL \text{ de blanco} - mL \text{ de problema}) \times \text{Normalidad HCl} \times 0,014}{\text{Peso de la muestra en gramos}} \times 100$$

Para obtener el contenido de proteína de la muestra, se relaciona el contenido de nitrógeno determinado que está presente en la proteína de la muestra por medio del siguiente factor:

$$\% \text{ Proteína cruda} = \% \text{ nitrógeno} \times F$$

$$F = \text{Factor de conversión} = 6,25$$

4.3.5. Fibra cruda

Fundamento

La fibra cruda es la fracción orgánica de la muestra que resiste un tratamiento alternado de ácido sulfúrico y sosa hirvientes al 1.25 %. El compuesto más abundante de este residuo es el hidrato de carbono llamado celulosa, y en menos cantidades: hemicelulosa, ligninas y pentosanas.

Material

- Vasos Berzelius de 600 mL
- Aparato de digestión
- Estufa de vacío
- Mufia
- Crisoles de porcelana
- Perlas de ebullición

- Filtro de lino
- Desecador
- Balanza analítica digital marca SARTORIUS

Reactivos

- Solución de ácido sulfúrico al 1.25 %
- Solución de hidróxido de sodio al 1.25 %
- Antiespumante
- Alcohol etílico

Procedimiento

Pesar de 3 – 5 gramos de muestra desengrasada y seca (se utiliza la muestra que quedó en el cartucho de la determinación de grasa cruda). Colocar la muestra en el vaso digestor, añadir 0.5 g de silicato de aluminio, 200 mL de solución de ácido sulfúrico al 1.25 % (0.255 N) hirviendo, antiespumante y perlas de ebullición. Se coloca el vaso Berzelius en el aparato de digestión, el cual debe ser previamente calentado, debe empezar a hervir antes de 1 min., hervir hasta el reflujo durante 30 minutos, rotando el vaso de vez en cuando para permitir que se incorporen las partículas que se adhieren a la pared del vaso. Después de dicho tiempo, se vacía el contenido sobre un buchner que contenga filtro de lino y se realiza la filtración con ayuda de vacío; el residuo es lavado con 4 porciones de 50 mL de agua destilada caliente hasta que no de reacción ácida al rojo de metilo. El residuo que quedó en el filtro se pasa por medio de una espátula al vaso digestor y se repite la operación con 200 mL de hidróxido de sodio al 1.25 % (0.313 N) hirviendo y antiespumante. Después de que haya hervido hasta el reflujo los 30 minutos, se filtra y después se le adiciona 25 mL de ácido sulfúrico al 1.25 % y con tres porciones (50 mL cada una) de agua destilada caliente, finalmente con 25 mL de alcohol etílico.

Posteriormente se pasa cuantitativamente el residuo a un crisol y se mete a la estufa para su secado, después será pesado (registrar peso constante), en seguida se carboniza para su incineración (500°C), finalmente se introduce en la mufla hasta obtener cenizas blancas a grises, se mete al desecador y después se pesa.

Cálculos

$$\%Fibra = \frac{A - B}{C} \times 100$$

En donde:

A = Peso del crisol con residuo, después del secado (en gramos)

B = Peso del crisol con residuo, después de la calcinación (en gramos)

C = Peso de la muestra (en gramos)

4.3.6. Hidratos de Carbono

Son los carbohidratos no fibrosos como los almidones y los azúcares. Si se suman los porcentajes de humedad, cenizas, proteínas, grasa cruda y fibra cruda y el total se resta de cien, se puede suponer que esta diferencia son los carbohidratos asimilables.

4.4. Determinación de tóxicos y factores antinutricionales

4.4.1. Alcaloides

Fundamento

El material seco y desengrasado de la planta se extrae con metanol. Una solución acuosa de la porción soluble en ácido del extracto con metanol fue hecho básico con amoníaco y sujeto a extracción diferencial con cloroformo-etanol. Los extractos así obtenidos fueron entonces ensayados con siete reactivos para alcaloides [72, 73]:

1. Reactivo de MAYER (cloruro de mercurio yoduro de potasio)
2. Reactivo de WAGNER (triyoduro de potasio)
3. Reactivo de DRAGENDORFF (nitrato de bismuto y yoduro de potasio)
4. Reactivo de SONNENSCHNEIN (ácido fosfomalibdénico)
5. Reactivo de HAGER (ácido pícrico)
6. Reactivo de SCHEIBLER (ácido fosfotúngstico)
7. Reactivo de ÁCIDO SILICOTUNGSTÉNICO

El precipitado formado con los reactivos para alcaloides varían en cantidad con los diferentes alcaloides; en consecuencia, una estimación de la concentración de alcaloides a partir de la cantidad de precipitado con un reactivo, es solamente aproximado. La exactitud puede ser mejorada usando varios reactivos y el método está basado en la comparación de la cantidad de precipitado obtenido con los 7 diferentes reactivos de alcaloides, comparando con los precipitados obtenidos con una solución de estricnina de concentración conocida.

Material y equipo

- Embudo de separación de 125 mL
- Parrilla de agitación
- Estufa de vacío marca LAB-LINE INSTRUMENTS
- Papel filtro Whatman No. 1
- Rotavapor marca BÜCHI MOD. R
- Agitadores magnéticos

Reactivos

- Ácido clorhídrico (1 % v/v)
- Ácido nítrico (30 % ó $\delta=1.180$ g/ mL)
- Ácido silicotúgstico ($4\text{H}_2\text{O}-\text{SO}_2-12\text{WO}_2-22\text{H}_2\text{O}$)
- Metanol (R.A)
- Amoníaco concentrado (aprox. 25 %)
- Cloroformo (R.A)
- Etanol (R.A)
- Sulfato de sodio anhidro (R.A)
- Estrictina (U.S.P)

Para la preparación de los siguientes reactivos, consultar el anexo indicado.

- Reactivo de MAYER (ver anexo no. 2)

- Reactivo de SANGER (ver anexo no. 2)
- Reactivo de DRAGENDORFF (ver anexo no. 2)
- Reactivo de SONNENSCHNEIN (ver anexo no. 2)
- Reactivo de HAGER (ver anexo no. 2)
- Reactivo de SCHEIBLER (ver anexo no. 2)
- Reactivo de ÁCIDO SILICOTUNGSTÉNICO (ver anexo no. 2)

Procedimiento

Pesar 2 a 4 gramos de muestra seca y molida (por debajo de 50°C se debe secar), es mantenida toda la noche con 40 mL de metanol; a continuación se calienta durante 4 horas a 50°C (agitando intermitentemente). La mezcla es entonces filtrada y el residuo es lavado con 20 mL de metanol y los extractos se combinan y se evapora el metanol en un rotavapor. El residuo es resuspendido con 2 mL de metanol y 12 mL de HCl al 1 %, la mezcla es agitada y filtrada; para lavar el residuo se usan 8 mL de HCl al 1 %, se combinan los extractos filtrados y se hace básico con amoníaco concentrado (aprox. 25 %). Se extrae con tres porciones de 20 mL de cloroformo cada una, dando la fracción A.

A la solución acuosa residual de la anterior extracción, se procede a extraerla con una mezcla de cloroformo-etanol (3:2 v/v), con tres porciones de 20 mL, cada una, con lo cual se obtiene la fracción B.

Las fases orgánicas son lavadas con 5 mL de solución media saturada de sulfato de sodio y secada con sulfato de sodio anhidro. Las dos fracciones A y B, son evaporadas en un rotavapor por separado y el residuo es resuspendido con 1.5 mL de HCl al 1 % y 1.5 mL de cloroformo, se agita vigorosamente y la fase acuosa de cada fracción es separada y filtrada a través de algodón y dividida en 7 porciones; estas alícuotas son ensayadas con los siguientes reactivos de alcaloides:

1. Reactivo de MAYER: El reactivo sólo debe añadirse a soluciones previamente aciduladas con HCl o H₂SO₄ diluidos. La disolución no debe contener ácido acético o etanol porque disuelven el precipitado. Sólo debe agregarse unas cuantas gotas de reactivo porque algunos alcaloides son solubles en exceso del mismo.
2. Reactivo de WAGNER: La mayoría de las disoluciones aciduladas de alcaloides forman precipitados floculentos color marrón.

3. Reactivo de DRAGENDORFF: Se usa sobre soluciones aciduladas. Se puede recoger el precipitado anaranjado-marrón, liberar los alcaloides con solución de carbonato de sodio y extraerse con éter etílico o un disolvente similar.
4. Reactivo de SONNENCHEIN: Los alcaloides y sales de amonio producen precipitados amarillos. Se puede recuperar los alcaloides disolviendo en amoníaco.
5. Reactivo de HAGER: La mayoría de soluciones aciduladas de alcaloides forman precipitados color amarillo.
6. Reactivo de SCHEIBLER: La solución acidulada proporciona un precipitado blanco-grisáceo.
7. Reactivo de ÁCIDO SILICOTUNSTÉNICO: La solución acidulada da un precipitado blanco-grisáceo.

Resultados

Debido a la frecuencia de reacciones Falsas-Positivas con los reactivos comunes de alcaloides, sólo se considera como positiva la presencia de ellos en la selección de plantas, cuando cualquiera de las dos fracciones (A y/o B) dan reacción positiva con los siete reactivos anteriormente enumerados.

Cabe mencionar que para en el caso del Reactivo de HAGER (ácido pícrico) debido a su baja sensibilidad, cuando da una reacción negativa y todas las demás dan reacción positiva, este resultado se puede descartar; considerando positiva la presencia de alcaloides en la muestra.

Esta prueba preliminar de selección para la determinación de alcaloides, se puede manejar en forma semi-cuantitativa cuando los precipitados formados se comparan con soluciones de estricnina de concentración conocida.

4.4.2. Glucósidos Cianogénicos

Fundamento

Se aprovecha la reacción sensible y específica de Guignard, la cual es ampliamente utilizada en pruebas cualitativas para la detección tanto de glucósidos cianogénicos como del propio HCN. Para poder cuantificar el HCN total que potencialmente puede ser liberado, se hace uso de una hidrólisis enzimática por medio de una β -glucosidasa, del correspondiente glucósido cianogénico. Para poder cuantificar en forma precisa el HCN liberado, se hace reaccionar con tiras de papel impregnadas de ácido pícrico, produciéndose una coloración visible café-rojiza debido a la isopurpurina formada [74].

Material y equipo

- Celdas para el espectrofotómetro
- Estufa
- Congelador comercial
- Tubos de cultivo con tapón rosca PYREX 39825 y 9826
- Balanza analítica digital marca SARTORIUS
- Espectrofotómetro SEQUOIA-TURNER
- Baño de agua con agitación LAB-LINE
- Preparación de papeles con ácido pícrico (ver anexo no. 2)

Reactivos

- Solución de HCl 0.5 N
- Solución buffer de fosfatos pH 7.0
- Solución de KCN equivalente a 100 μL HCN / mL (24.1 mg KCN / 100 mL)
- Solución de picrato de sodio alcalinizada (ver anexo no. 2).
- Solución de β -glucosidasa con activador (ver anexo no. 2).

Procedimiento

- Para la muestra

La muestra se guarda en un frasco que cierre perfectamente y se utiliza para la determinación del contenido de glucósidos cianogénicos, si no se va a utilizar la muestra inmediatamente, se procede a guardar la muestra ya molida en el congelador.

- Determinación cualitativa
1. Colocar en un tubo de cultivo Pyrex de 20-500 mg de muestra, dependiendo de su contenido aproximado de glucósidos cianogénicos (cuando no se tiene la información se coloca la cantidad máxima de 500 mg).

2. Adicionar 5 mL de la solución de β -glucosidasa (fría).
3. Homogeneizar y colocar la tira de papel indicador humedecida (aproximadamente con 8 gotas de agua) en la boca del tubo y cerrar herméticamente con un tapón de rosca.
4. Colocar en el baño maría a la temperatura de 40°C por 4 horas, con el control de velocidad de agitación ajustado a 3.5
5. Sacar los tubos y colocarlos en el congelador por 30 minutos.
6. Sacar el tubo y destapar para adicionarle 1 mL de HCl 0.5 N (frío). La tira de papel debe quedar adherida al tapón para evitar problemas de manipulación.
7. Volver a cerrar perfectamente.
8. Homogeneizar teniendo la precaución de que el líquido no toque el papel indicador.
9. Colocar en la estufa por 15 minutos a la temperatura de 60°C .
10. Sacar de la estufa y realizar visualmente la detección cualitativa, ya que aquellos tubos que no muestren por lo menos una ligera coloración café-rojiza en el papel indicador, se consideran negativos; en tanto que aquellos que sí muestran aunque fuera una tenue coloración, se consideran positivos y se procede a su detección cuantitativa.

Determinación cuantitativa

1. Recuperar el papel indicador y colocar en un tubo de cultivo Pyrex.
2. Adicionar 20 mL de agua destilada (medidos con bureta).
3. Tapar y agitar vigorosamente con el fin de extraer el pigmento de isopurpurina del papel indicador en el agua.
4. Después de extraer el pigmento (aproximadamente 2-5 minutos) recuperar el solvente (agua), eliminando los residuos del papel por una simple filtración con papel de filtración rápida. Cuando se requiera, se puede hacer otra adición de agua (20 mL) para extraer completamente el pigmento (dilución).

5. Colocar la solución filtrada en la celda para su lectura en el espectrofotómetro a 520 nm, ajustando previamente a 100 % de transmitancia con el blanco de la muestra.

■ Curva Patrón

1. Tomar 0.0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mL de la solución estándar de KCN cuya concentración es equivalente a 100 $\mu\text{g HCN} / \text{mL}$ y colocarlos en tubos de cultivo Pyrex. Las concentraciones de HCN son 0.0 (blanco), 5.0, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0, 50.0, 60.0 μg de HCN, respectivamente. Entonces la curva estándar va de 5.0 a 60.0 $\mu\text{g HCN}$, ya que fue el rango óptimo encontrado, en donde se cumple la ley de Lambert-Beer.
2. Adicionar 500 mg de fécula de maíz comercial, llamada también matriz alimenticia, con el propósito de simular la interacción muestra-HCN liberado.
3. Adicionar 5.0 mL de solución buffer pH 7.0
4. Homogeneizar y colocar la tira de papel indicador humedecida (aproximadamente con 8 gotas de agua) en la boca del tubo y cerrar herméticamente con un tapón de rosca.
5. Colocar en un baño maría a la temperatura de 40°C por 4 horas con el control de velocidad ajustado a 3.5
6. Sacar los tubos y colocar en el congelador por 30 minutos.
7. Sacar el tubo y destapar para adicionarle 1 mL de HCl 0.5 N (frío). La tira de papel debe quedar adherida al tapón para evitar problemas de manipulación.
8. Volver a cerrar perfectamente.
9. Homogeneizar teniendo la precaución de que el líquido no toque el papel indicador.
10. Colocar en la estufa por 15 minutos a la temperatura de 60°C.
11. Sacar de la estufa y recuperar el papel indicador y colocar en un tubo de cultivo Pyrex
12. Adicionar 20 mL de agua destilada (medidos con bureta).

13. Tapar y agitar vigorosamente con el fin de extraer el pigmento de isopurpurina del papel indicador en el agua.
14. Después de extraer el pigmento (aproximadamente 2-5 minutos) recuperar el solvente (agua), eliminando los residuos del papel por una simple filtración con papel de filtración rápida.
15. Colocar la solución filtrada en la celda para su lectura en el espectrofotómetro a 520 nm, ajustando previamente a 100 % de transmitancia con el blanco de la curva patrón (0.0 mL de la solución estándar de KCN).

Cálculos

Trazar la curva patrón usando los valores de absorbancia en el eje de las ordenadas y las correspondientes concentraciones de HCN en μg en el eje de las abscisas. Interpolar el valor de absorbancia de la muestra en la gráfica para obtener el contenido de HCN liberado en μg . Para obtener el contenido de HCN en la muestra:

$$\text{mg de HCN}/100\text{g de muestra} = \frac{X \times D}{M} \times 100$$

En donde:

X = μg de HCN

D = número de veces de adición de 20 mL de agua (dilución)

M = mg de muestra

$$\frac{\text{mg HCN}}{\text{g muestra}} = \frac{\text{mg HCN} \times D}{\text{mg muestra}} \times \frac{1 \text{ mg HCN}}{1000 \text{ mg HCN}} \times \frac{1000 \text{ mg muestra}}{1 \text{ g muestra}}$$

$$\begin{array}{l} \text{mg HCN} \rightarrow \text{g muestra} \\ X \rightarrow 100 \text{ g muestra} \end{array}$$

$$\frac{\text{mg HCN}}{100 \text{ g muestra}} = \frac{\text{mg HCN}}{\text{g muestra}} \times 100$$

4.4.3. Hemaglutininas

Fundamento

La determinación de hemaglutininas o lectinas en extractos de plantas se lleva a cabo con una técnica de diluciones seriadas, en la cual se determina el punto final por una estimación visual de la aglutinación de los glóbulos rojos

en estudio. El método de micro titulación es rápido y requiere una mínima cantidad de muestra. Se necesita trabajar con glóbulos rojos (de hámster), lavados y activados con una solución de proteasa disponible (pronasa, tripsina o papaína) debido a que la sensibilidad de la aglutinación se mejora considerablemente con este tratamiento [75, 76].

Material y equipo

- Incubadora marca BLUE-M
- Espectrofotómetro SEQUOIA-TURNER, modelo 430
- Adaptador para celdas de 10×75 mm (acondicionado a una abertura de 1 cm²)
- Celdas para el espectrofotómetro
- Microtiter Kit (Cook Eng-Alexander Virginia USA)
- Centrífuga para tubos marca DINAC
- Tubos de centrifuga graduados de 15 mL
- Balanza analítica digital marca SARTORIUS
- Agitador magnético con tacómetro marca THERMOLINE
- Fibra de vidrio

Reactivos

- Sangre de hámster desfibrinada y lavada
- Solución salina al 1 %
- Solución salina al 0.9 %
- Tripsina de páncreas porcino (SIGMA T-8128)
- Pronasa de Streptomyces griseus (SIGMA P-5147)
- Solución anticoagulante -heparina- (ver anexo no. 2).
- Solución de proteasa al 0.1 % en solución salina (ver anexo no. 2).

Procedimiento

- Preparación del extracto

1. Suspender 1 g de la muestra finamente molida y desengrasada, si el contenido de grasa es mayor a 5 %, en 10 mL de solución salina al 1 %.
2. Efectuar una extracción con agitación mecánica durante 2 horas a 300 rpm, a temperatura ambiente.
3. Centrifugar el extracto a 1400 rpm (40 U) durante 15 minutos para eliminar el residuo insoluble.
4. Filtrar el sobrenadante a través de la fibra de vidrio y lavar, si es necesario, con solución salina al 1 % para llevar el extracto filtrado al volumen inicial.

- Preparación de la sangre

1. Sangrar al animal (en este caso al hámster se le realiza una toma de sangre por medio de un capilar que es introducido a un lado del ojo, después de haber sido anestesiado) y colocar la sangre en un matraz pequeño que contenga solución anticoagulante.
2. Agitar suavemente para la completa homogenización de la sangre, con la solución anticoagulante (no interrumpir hasta el momento de diluirla).
3. Trasvasar la sangre con anticoagulante a tubos de centrífuga para lavarla 3 veces con solución salina al 0.9 %. La relación sangre : solución salina es 1:5.
4. Centrifugar a 1500 rpm (50 U) durante 10 minutos.
5. Después del último lavado se mide en el tubo de centrífuga el paquete de eritrocitos y se diluyen al 4 % para lo cual se adicionan por cada mL de glóbulos rojos, 24 mL de solución salina al 0.9 %.

- Sensibilización de los glóbulos rojos

1. Por cada 10 mL de la suspensión de glóbulos rojos al 4 %, adicionar 1 mL de solución de pronasa al 0.2 % (en solución salina).
2. Incubar por 1 hora a 37°C.
3. Centrifugar para eliminar la enzima sobrenadante dando 3 lavados con solución salina al 0.9 %.

4. Después del último lavado, resuspender el paquete de glóbulos rojos al 3% para lo cual se adiciona 32 mL de solución salina al 0.9%, por cada mL de paquete de eritrocitos.
 - Ajuste de la suspensión de glóbulos rojos
 1. Tomar 0.1 mL de la suspensión de glóbulos rojos ya sensibilizados y adicionar 4.9 mL de solución salina al 0.9%
 2. Leer en el espectrofotómetro a $\lambda = 620$ nm (la lectura que se debe obtener es de 24 -29% de transmitancia, en caso contrario se realiza la dilución necesaria para que la suspensión se ubique en dicho intervalo); usando un adaptador de celdas que permita el paso de sólo 1 cm² de luz. Emplear como blanco solución salina al 0.9%.
 - Microtitulación
 1. Colocar en cada pozo de una hilera de las placas tipo V, 50 μ L de solución salina al 0.9% con el pipeteador de gota, evitando tocar las paredes del pozo.
 2. Llenar el microdilutor de 50 μ L por contacto con la superficie del extracto problema. Realizar las diluciones sucesivas en la hilera escogida, introduciendo el microdilutor en el pozo y rotándolo sin presionar excesivamente. Se recomienda verificar que el volumen que esté tomando el microdilutor sea el requerido, esto se realiza con solución salina al 0.9% en una placa de prueba. Cuando se trabaja un extracto de alto título, es conveniente realizar un mayor número de diluciones, para lo cual se pueden tomar hasta 3 hileras, realizando la serie de dilución en forma de culebra japonesa.
 3. Con un pipetero de gota, colocar en cada pozo 50 μ L de la suspensión de glóbulos rojos sensibilizada y ajustada.
 4. Rotar la placa en forma circular.
 5. Incubar la placa por 1 hora a 37°C.
 6. Colocar la placa de plástico sobre el dispositivo de lectura y se observa a través del espejo el fondo de los pozos de cada hilera de prueba.

Cálculos

Se reporta la máxima dilución que presente aglutinación.

4.4.4. Ácido Fítico (Método de Fruhbeck)

Fundamento

Este método emplea una columna de intercambio iónico con el fin de purificar los extractos del ácido fítico, eliminando las fracciones menores de fosfatos de inositol que comúnmente se incluyen en otros métodos, permitiendo una cuantificación real del ácido fítico. La determinación colorimétrica se basa en la medida de la disminución de la absorbancia del complejo FeCl_3 (ácido Sulfosalicílico, Reactivo de Wade) debido al enlace del Fe (III) con el ácido fítico [77].

Material y equipo

- Vasos de precipitados de 50 mL
- Vasos de precipitados de 30 mL
- Matraz aforado de 100 mL
- Matraces aforados de 25 mL
- Probetas de 25 mL
- Probetas de 50 mL
- Columnas de purificación (ver anexo no. 2)
- Espátulas
- Gradilla de madera
- Tubos de ensaye
- Parrillas de agitación magnética marca THERMOLINE, mod. SP-13025
- Micropipetas de 5-50 μL , 50-250 μL , 100-1000 μL
- Tubos graduados de 25 mL para centrífuga
- Balanza analítica digital marca SARTORIUS
- Potenciómetro marca CORNING, mod. 430
- Centrífuga para tubos marca DINAC
- Espectrofotómetro marca SEQUOIA-TURNER, Mod. 430

Reactivos

- Solución de HCl 0.65 N
- Solución de NaOH 1 N
- Solución de NaCl 0.1 N
- Solución de NaCl 0.7 N
- Soluciones de fitato de sodio conteniendo de 5 a 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en agua desionizada (ver anexo no. 2)
- Reactivo de Wade (ver anexo no. 2)

Procedimiento

- Extracción del ácido fítico

Pesar 1 g de alimento (el cual debe contener menos de 5 % de grasa), se coloca dentro de un vaso de precipitado de 50 mL y se le adiciona 20 mL de HCl 2.4 % (0.65 N), el pH de la mezcla debe estar entre 0 y 1, lo cual es necesario para disociar al fitato de complejos con minerales y proteínas. Se somete a agitación vigorosa durante 2 horas a temperatura ambiente y el extracto obtenido se transfiere cuantitativamente a unos tubos para centrifugarlos a 1000 rpm a temperatura ambiente, una vez transcurrido este tiempo se colecta el sobrenadante.

- Purificación por columna de intercambio iónico

Se toma una alícuota de los sobrenadantes colectados y se diluye con agua desionizada para disminuir la concentración total del anión. Se recomienda la dilución de 1:25 para alimentos que contengan 1 % o más de ácido fítico, la dilución de 5:25 en caso de contener menos. Para obtener mejores recuperaciones, el pH de la alícuota diluida se ajusta a 6 con NaOH 1 N. Posteriormente, se toman 10 mL de la alícuota diluida y se transfiere cuantitativamente a la columna (previamente preparada). Lavar la columna con 15 mL de NaCl 0.1 N y desechar el agua de lavado. Eluir al fitato con 15 mL de NaCl 0.7 N y colectar el extracto purificado.

- Determinación espectrofotométrica

Se toman 3 mL de agua desionizada (usada como blanco), ó 3 mL de los estándares (soluciones de fitato de sodio conteniendo de 5 a 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en agua desionizada) o los extractos purificados a través de la columna, los cuales fueron previamente ajustados a $\text{pH} = 3$ y se les adicionan 1 mL de reactivo de Wade (0.03 % de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + 0.3 % ácido sulfosalicílico en agua desionizada) se somete a agitación en un vórtex por 5 segundos y se lee la absorbancia a 500 nm.

Se utiliza una celda con agua desionizada para calibrar el espectrofotómetro en cero, se lee la absorbancia del blanco, las muestras problema y los estándares, cada una de estas se le resta por separado al blanco para así obtener la absorbancia corregida respectiva.

Realizar la curva patrón, regresión lineal, interpolar los datos y obtener la concentración de ácido fítico presente en las muestras.

Cálculos

Se elabora una curva patrón con los datos de absorbancia contra concentración de los estándares (5-50 g ácido fítico / mL), calculando la regresión lineal y obteniendo la ecuación de la recta para que con estos datos se pueda interpolar el valor de absorbancia obtenido para cada problema y así conocer el valor correspondiente de concentración.

Para la muestra:

Absorbancia corregida = Absorbancia del blanco - Absorbancia experimental

Una vez obtenida la absorbancia corregida, se utiliza el valor para interpolarlo en la ecuación de la recta de la curva estándar, el cual se encuentra expresado en μg ácido fítico / mL; de esta forma el resultado se emplea para el último cálculo.

$$\frac{\text{gramos de muestra}}{\text{mL}} = \frac{A}{B} \times \frac{C}{D} \times \frac{E}{F}$$

Donde:

A = Peso de la muestra en gramos

B = Volumen de HCl para extracción = 20 mL

C, D = Dilución empleada = $\frac{5\text{mL}}{25\text{mL}}$

E, F = Factor de dilución, se refiere a la alícuota que se coloca en la columna de intercambio iónico y el volumen al que se lleva con la disolución de NaCl 0.7 N que lo eluye = $\frac{10\text{mL}}{15\text{mL}}$

Por último se hace la siguiente relación:

$$\frac{\text{Cantidad de muestra}}{\text{mL}} \longrightarrow 100\%$$

$$\text{Interpolación de curva estándar} \longrightarrow X$$

En donde X = Porcentaje de ácido fítico

El resultado puede ser expresado en porcentaje de ácido fítico o bien como gramos de ácido fítico por 100 gramos de muestra.

4.4.5. Taninos

Fundamento

Se basa en la extracción de taninos hidrolizables y condensados con dimetilformamida, seguida de una centrifugación. Al sobrenadante obtenido de la misma se le adiciona amonio y citrato férrico, de esta forma se da lugar a la formación de un complejo colorido del cual puede obtenerse la absorbancia con el uso del espectrofotómetro. Simultáneamente se corre una curva patrón con un estándar de ácido tánico, así puede conocerse el contenido de equivalentes de ácido tánico existentes en la alícuota del extracto [78].

Material y equipo

- Vasos de precipitados de 50 mL
- Tubos graduados de 50 mL para centrifuga
- Probeta de 25 mL
- Pipetas de 1 mL, 5 mL y 10 mL
- Tubos de ensaye 16 × 150 mm
- Agitador mecánico para tubos de ensaye (tipo vórtex)
- Parrilla múltiple con agitación marca THERMOLINE, Mod. SP-13025
- Espectrofotómetro marca SEQUOIA-TURNER, MOD. 340
- Centrifuga para tubos marca DINAC

Reactivos

- Solución estándar de ácido tánico (ver anexo no. 2)

- Solución de metilformamida (DMF) al 75 % (ver anexo no. 2)
- Solución de citrato férrico de amonio (ver anexo no. 2)
- Solución de Hidróxido de Amonio (ver anexo no.2)

Procedimiento

- Preparación del extracto

Se pesa 1 g de muestra finamente molida y desengrasada en un vaso de precipitado y se le adicionan 25 mL (exactos) de la solución de dimetilformamida. Agitar de forma

constante en un parrilla durante 60 minutos. Después se mantiene en reposo durante 15 minutos.

Transferir cuantitativamente el sobrenadante a un tubo de centrifuga a 3000 rpm durante 10 ± 1 min. Decantar cuidadosamente el sobrenadante, el cual se empleará para la determinación.

- Preparación de la curva estándar

En cinco matraces volumétricos de 25 mL se añaden alícuotas de 1, 2, 4, 6 y 7 mL de solución estándar de ácido tánico en cada uno. Se afora cada uno con la solución de DMF.

Rotular seis tubos de ensaye. Al tubo 1 se le adiciona 1 mL de la solución de DMF, 6 mL de agua desionizada y 1 mL de amoniaco; mientras que, a los tubos 2 - 6 se les adiciona 1 mL de cada matraz, además de 5 mL de agua desionizada, 1 mL de cada uno de los reactivos: citrato férrico amoniacal y amoniaco. En cada adición, agitar con vortex. Después de 10 ± 1 min., se procede a la lectura. Es importante tomar en cuenta que la curva estándar se debe realizar al mismo tiempo que las muestras.

- Cuantificación de taninos

Rotular tres tubos de ensaye por cada muestra, uno se considera blanco y los otros dos problemas de las muestra, colocar a cada tubo 1 mL de alícuota del extracto.

Al tubo «blanco» se le adicionan 6 mL de agua desionizada y 1 mL de amoniaco, mientras que, los tubos 1 y 2 se les añaden 5 mL de agua desionizada, 1 mL de cada uno de los reactivos citrato férrico amoniacal y amoniaco. En cada adición, agitar con vórtex. Después de 10 ± 1 min., se procede a la lectura.

- Lectura de absorbancias

Ajustar el espectrofotómetro a $\lambda = 525$ nm, contra un blanco de agua. Transferir la mezcla de reacción a celdas de medición. Primero se mide la absorbancia de la curva estándar y posteriormente, los blancos con sus respectivos problemas de cada muestra.

Trazar una gráfica de absorbancia contra concentración de ácido tánico (en μg). Interpolarse las lecturas de absorbancia para obtener los valores de concentración de cada muestra.

Se debe considerar que si los datos leídos se encuentran fuera del intervalo que comprende la curva estándar, realizar:

1. Pesar una menor cantidad de muestra.
2. Tomar una alícuota de menor volumen del extracto y diluir con la solución de DMF. Si la curva no pasa por el origen no se debe corregir al cero de la escala.

Cálculos

Para cada muestra, el valor del blanco es restado del valor de cada problema y se promedia el valor de los problemas. Se reporta como gramos de ácido tánico (A.T) por 100 gramos de muestra:

$$\% \text{ de A.T} = \frac{(\mu \text{ g de A.T})^a}{1 \text{ mL de ext.}} \times \frac{25 \text{ mL de ext.}}{\text{gramos de muestra}} \times \frac{1 \text{ g de A.T}}{10^6 \mu\text{g de A.T}} \times 100$$

Donde:

a corresponde a la interpolación del promedio de concentración de la muestra

4.5. Cuantificación de Hierro

Fundamento

La materia orgánica es incinerada hasta su completa degradación para obtener las cenizas (conjunto de minerales), después se aprovecha la solubilidad de las mismas en ácido clorhídrico y agua. Finalmente, se hace reaccionar con el hierro presente con los reactivos: clorhidrato de hidroxilamina y ortofenantrolina formando un complejo cuya absorbancia se lee a $\lambda = 530$ nm [71].

Material y equipo

- Crisoles de porcelana
- Desecador
- Parrilla de calentamiento
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL
- Matraces aforados de 50 mL
- Embudo de tallo corto
- Papel filtro
- Pinzas para crisol
- Mufla
- Balanza analítica digital marca SARTORIUS
- espectrofotómetro SEQUOIA-TURNER, mod. 430

Reactivos

- Solución de ortofenantrolina (ver anexo 2)
- Solución de clorhidrato de hidroxilamina (ver anexo 2)
- Buffer de acetatos (ver anexo 2)
- Estándar de hierro (ver anexo 2)

Procedimiento

- Preparación de la curva estándar

Tomar 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0 y 6.0 mL de la solución estándar de hierro, ajustar cada uno de los tubos a 10 mL con agua y añadir los reactivos en el siguiente orden: 1 mL de clorhidrato de hidroxilamina, agitar; 5 mL de buffer de acetatos, agitar y 1 mL de ortofenantrolina y agitar. Dejar en reposo entre 10 y 15 minutos. Leer a $\lambda = 530$ nm, usando el tubo de cero como blanco.

- Preparación de la muestra

Se pesan en un crisol y por duplicado 3.5 g de muestra, se obtienen las cenizas quemando primero con mechero y posteriormente, calcinando en la mufla a 550°C hasta alcanzar un peso constante (variación de 0.001 g). Al crisol frío se le añade con propipeta y en la campana 2 mL de HCl concentrado y 3.5 mL de agua destilada, con un agitador de vidrio tratar de disolver las cenizas en su totalidad. Pasar cuantitativamente el líquido a un matraz aforado de 50 mL. Volver a lavar el crisol con agua por dos o tres veces más, pasando los líquidos de lavado al matraz y después aforar. Filtrar y del filtrado tomar dos alícuotas de 10 mL. Desarrollar color en la misma forma que se hizo para la curva estándar. Si el color desarrollado es muy fuerte, usar alícuotas de 5 mL de agua cuantas veces sea necesario, y desarrollar color nuevamente. Es muy importante añadir los reactivos en el orden descrito.

Cálculos

Leer la absorbancia del problema en la curva estándar y considerar el aforo y la alícuota utilizados. Reportar el porcentaje de cenizas de la muestra usada y los miligramos de hierro por cada 100 g de muestra.

Capítulo 5

Resultados y discusión

5.1. Composición proximal

Después de la exposición de las plantas al sol, se determinó que las hojas de los vegetales contienen una gran cantidad de agua (80-97%), valores que corresponden a la humedad inicial; es de esta forma como están a nuestro alcance, sólo que para su estudio resulta necesario someterlas a secado (al sol) durante siete días y es en este tiempo cuando pierden la mayor cantidad de agua posible. Sin embargo el agua remanente es a la que se refieren los resultados de la tabla no. 1. El contenido de humedad de los alimentos es de gran importancia por varias razones pero su determinación exacta es difícil de llevarse a cabo; dado que los alimentos son mezclas heterogéneas de varios compuestos por lo que pueden contener cantidades variables de agua (combinación, absorbida o libre). Sólo que es indispensable conocer la humedad de las muestras para darle un valor real a la cantidad de otros componentes. Para realizar comparaciones con alimentos similares es necesario referirse a los datos obtenidos en base seca como se encuentran reportados en la tabla no. 2.

En cuanto a los datos reportados en la tabla no. 2, se nota que los vegetales en estudio poseen un alto contenido en fibra, cenizas y proteína, presentan un valor semejante al de algunas verduras como se muestra en la parte inferior de la misma tabla. Se observa que la cantidad de cenizas, proteína cruda y fibra cruda para en el caso de *Amaranthus hybridus L.* -comúnmente llamada *Quelite*- originaria del estado de Morelos y del Distrito Federal es muy parecida a la composición obtenida con la especie que proviene de Oaxaca. Las variaciones se deben principalmente a las condiciones de

Muestra	Humedad	Cenizas	Grasa cruda	Proteína cruda	Fibra cruda	Hidratos de carbono ^a
Chepil	8.11 ± 0.21	8.12 ± 0.38	1.26 ± 0.02	27.44 ± 0.28	12.01 ± 0.14	43.06
Hierba mora	5.56 ± 0.24	12.61 ± 0.11	1.81 ± 0.02	19.66 ± 0.48	10.84 ± 0.01	49.52
Malva	6.83 ± 0.11	14.06 ± 0.06	2.31 ± 0.09	26.42 ± 0.38	6.15 ± 0.04	44.23
Mostaza	5.23 ± 0.10	13.13 ± 0.17	2.59 ± 0.02	28.43 ± 0.76	9.68 ± 0.13	40.94
Puntas de guía	7.68 ± 0.09	13.39 ± 0.31	1.77 ± 0.01	20.51 ± 0.63	12.27 ± 0.09	44.38
Quintonil	5.39 ± 0.21	11.66 ± 0.48	3.66 ± 0.02	21.94 ± 0.30	8.17 ± 0.04	49.18

Cuadro 5.1: Análisis proximal de las muestras estudiadas (secadas al sol)^b

a) Se calcularon por diferencia.

b) Resultados expresados en g/100 g de muestra ± desviación estándar. Determinaciones realizadas mínimo por triplicado (n=3) y en todos los casos se obtuvo un coeficiente de variación menor a 5%.

Muestra	Cenizas	Grasa cruda	Proteína cruda	Fibra cruda	Hidratos de carbono ^a
Chepil	8.84 ± 0.36	1.38 ± 0.03	29.87 ± 0.29	13.07 ± 0.16	46.88
Hierba mora	13.35 ± 0.11	1.92 ± 0.02	20.82 ± 0.42	11.48 ± 0.02	52.43
Malva	15.09 ± 0.08	2.48 ± 0.10	28.36 ± 0.38	6.60 ± 0.04	59.73
Mostaza	13.90 ± 0.30	2.74 ± 0.03	30.09 ± 0.62	10.25 ± 0.13	43.02
Puntas de guía	14.50 ± 0.29	1.92 ± 0.01	22.22 ± 0.63	13.29 ± 0.08	48.07
Quintonil	12.32 ± 0.41	3.87 ± 0.02	23.18 ± 0.31	8.64 ± 0.06	51.99

Comparación de los resultados con otras hojas verdes comestibles [79]

Muestra	Nombre científico	% Cenizas	% Proteína cruda	% Fibra cruda
Acelga	Beta vulgaris L.v	20-27	29-30	10-11
Berro	Nasturtium aquaticum Br.	10-17	28-32	8-10
Espinaca	Spinacea oleracea	15-20	30-40	7-10
Quelite/Quintonil	Amaranthus hybridus L.	7-10	8-24	7-9

Cuadro 5.2: Análisis proximal de las muestras estudiadas (base seca)^b

a) Se calcularon por diferencia.

b) Resultados expresados en g/100 g de muestra ± desviación estándar. Determinaciones realizadas mínimo por triplicado (n=3) y en todos los casos se obtuvo un coeficiente de variación menor a 5%.

cultivo, fertilización, madurez de la planta, tipo y pH de suelo, entre otras [80].

En cuanto a la proteína cruda, también se encontró valores altos para todas las muestras, y se hace la comparación con algunas leguminosas como lo es el frijol (*Phaseolus vulgaris*) que tiene de 17-23 %, las lentejas (*Lens culinaris*) 20-28 % y chícharos (*Pisum sativum*) 20-06 % [81], es claro que falta aún conocer el valor de proteína verdadera, ya que en el análisis proximal sólo se hace una cuantificación de nitrógeno total asumiendo que él mismo forma parte de las proteínas presentes en las muestras. Sin embargo es necesario aclarar que la cantidad de nitrógeno determinado por el método micro *Kjeldahl* no siempre corresponde al nitrógeno proteínico, ya que éste puede estar formando parte tanto de proteínas como de otros compuestos presentes como alcaloides, glucósidos cianogénicos y ácidos nucleicos; por lo anterior es recomendable hacer una cuantificación de proteína verdadera.

En cuanto a la cantidad de extracto etéreo (grasa), se observa que en todos los casos se trata de valores bajos (ningún dato alcanza siquiera el 5 %), los vegetales con menor cantidad de grasa (extracto etéreo) fueron chepil, hierba mora y las puntas de guía de calabaza. Por último, se tienen los valores de Hidratos de Carbono, los que resultaron ser altos, especialmente en hierba mora, malva y quintonil, lo que indican que dichos vegetales pueden proporcionar una buena cantidad de energía.

Tabla 3. Análisis proximal en base seca hecho a dos especies de plantas silvestres comestibles originarias del estado de Chiapas, obtenido en trabajos previos [82].

Resultados expresados en g / 100 g de muestra		
Humedad	8.15	7.13
Base seca		
Muestra	Chepil	Hierba mora
Cenizas	9.44	17.51
Grasa cruda	1.35	1.12
Proteína cruda	36.2	34.96
Fibra cruda	11.71	13.57
Carbohidratos	41.3	32.84

Con respecto a estudios realizados previamente en la Facultad de Química [82], se puede observar en la tabla no. 3 que la mayoría de los resultados del análisis proximal son semejantes a los obtenidos en este trabajo. Sólo se encuentran variaciones considerables en la cantidad de proteína: el valor obtenido con Hierba mora de Oaxaca es de 20.82 mientras que para la misma

Muestra	Alcaldesa	Glucósidos cianogénicos ^a	Hemaglutininas ^b
Chepil	negativa	no detectados	2
Hierba mora	positiva	no detectados	negativa
Malva	negativa	no detectados	8
Mostaza	negativa	no detectados	negativa
Puntas de guía	negativa	no detectados	2
Quintonil	negativa	no detectados	2

Cuadro 5.3: Factores tóxicos

a) Prueba cualitativa.

b) Los resultados se encuentran expresados en título de aglutinación, es decir, máxima dilución en la que se presentó la aglutinación.

planta pero de diferente especie es de 34.96; esto puede atribuirse a que las especies son diferentes por crecer a diferentes altitudes.

5.2. Factores tóxicos y antinutricionales

A continuación se presentan los resultados de factores tóxicos, todas las muestras fueron trabajadas sin desengrasar ya que como se observó anteriormente, los niveles de grasa cruda encontrados en todas las vegetales fueron bajos. La prueba de alcaloides resultó positiva para una muestra que es la hierba mora pero resulta necesario que se lleve a cabo una prueba cuantitativa de alcaloides para determinar su grado de toxicidad; ya que en trabajos previos también había sido evaluada la hierba mora de forma cualitativa, obteniendo el mismo resultado.

También se encontró que los glucósidos cianogénicos no fueron detectados por este método, es decir, no hubo reacción de las muestras, durante la incubación por lo que no fue necesario realizar ninguna extracción (segunda parte de la técnica).

Mientras que los resultados de hemaglutininas o lectinas, indican que cuatro de las seis plantas estudiadas las poseen, sin embargo se considera que un título mayor a 10 representa un riesgo para la salud y no es el caso de estos vegetales. La muestra que posee el mayor título de aglutinación es la malva (8) así como el quintonil y las puntas de guía presentan el menor título (2) y por su parte, la hierba mora y mostaza no presentaron aglutinación. Es necesario tomar en cuenta que las lectinas son proteínas que se desnaturalizan con el calor, es decir la cocción; de esta forma si se considera que algunos

Muestra	Ácido Fítico (g/100 g de muestra)	Ácido tánico (g/100 g de muestra)
Chepil	0.09 ± 0.01	0.71 ± 0.04
Hierba mora	0.01 ± 0.00	0.90 ± 0.10
Malva	0.21 ± 0.01	0.11 ± 0.02
Mostaza	0.10 ± 0.00	0.64 ± 0.07
Puntas de guía	0.30 ± 0.03	no detectados
Quintonil	0.10 ± 0.01	no detectados

Cuadro 5.4: Contenido de Ácido fítico y taninos^a

a) Todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado (n=3).

de ellos tienen un tratamiento térmico para ser consumidos, no existe algún riesgo para la salud al ser ingeridos [83].

Se observa que las muestras presentan una cantidad baja de ácido fítico pero no despreciable, por lo que es necesario tomarlo en cuenta. Estudios recientes indican que la cantidad de ácido fítico presente en los alimentos se encuentra relacionada directamente con la cantidad de fibra dietaria de los mismos. El ácido fítico se encuentra ampliamente distribuido en el reino vegetal pero en cantidad considerable en semillas, tubérculos y raíces, no así en vegetales como es el caso de las muestras objeto de estudio [84].

Para este trabajo se creyó necesaria la cuantificación de ácido fítico debido a que se trataba de vegetales con un alto contenido de minerales, los cuales pueden verse afectados por la presencia del mismo. Se considera que no ocasiona interferencia con las proteínas hasta un 4% de ácido fítico presente en los alimentos.

En cuanto a los compuestos llamados taninos, sólo fueron detectados en cuatro de las seis plantas: chepil, hierba mora, malva y mostaza. Se ha considerado que la elevada concentración de taninos en los tallos herbáceos constituye un posible mecanismo de defensa contra los predadores, también podrían actuar como atrapadores de radicales libres y agentes antivirales, sin embargo debido a su estructura, pueden formar complejos con las proteínas del alimento, causando así su precipitación a la vez que pueden provocar la inhibición de enzimas digestivas, sin embargo para lograr tal efecto, se necesita que el alimento contenga al menos 1% de ellos. [85].

Muestra	Hierro (mg / 100 g de muestra) ^a
Chepil	44.16 ± 0.71
Hierba mora	28.94 ± 1.21
Malva	37.74 ± 0.97
Mostaza	40.28 ± 0.69
Puntas de guía	24.55 ± 0.31
Quintonil	56.44 ± 0.64
Comparación de los resultados con otras hojas verdes comestibles [79] (mg /100 g de muestra)	
Acelga	23 - 60
Berro	24 - 43
Espinaca	47 - 65
Quelite	26 - 54

Cuadro 5.5: Cuantificación de Hierro

a) Determinaciones realizadas por triplicado (n = 3).

5.3. Determinación de Hierro

La tabla de resultados no. 6, señala que la cantidad de Hierro encontrada en todas las muestras fue considerable, y que puede compararse con otros vegetales verdes; es preciso recordar que la cantidad de Hierro varía de acuerdo a la zona de donde provengan las muestras. Se determinó que el quintonil (*Amaranthus hybridus L.*) originario del estado de Oaxaca excede la cantidad de Hierro del quelite también *Amarathus hybridus* de otras regiones del país. En cuanto a las demás plantas analizadas se observa que poseen una cantidad considerable del mineral, lo que indica que son una buena fuente del mismo.

Capítulo 6

Conclusiones

- De acuerdo con los objetivos planteados y al trabajo experimental realizado se concluye que las plantas silvestres comestibles estudiadas tienen una composición semejante a otras hojas comestibles conocidas (acelgas, berros, espinacas) ya que son excelentes portadoras de fibra, proteína y la cantidad de hierro presente en ellas también indica que son una buena fuente del mismo.
- Los factores tóxicos y antinutricionales (ácido fítico y ácido tánico) fueron bajos por lo que se descarta que se origine algún problema en su consumo.

Capítulo 7

Recomendaciones

- Es recomendable continuar con el estudio de estas plantas silvestres para proporcionar una visión más amplia de su contenido nutricional: Es necesario hacer una cuantificación de proteína verdadera a la vez que también sería óptimo analizar la fracción proteínica con la finalidad de conocer el concentrado de aminoácidos indispensables así como cuál de ellos se encuentra en forma limitante para cada una de las plantas.
- Los vegetales poseen una cantidad considerable de cenizas por lo que se sugiere la evaluación de otros minerales como Fósforo y Calcio para emitir un juicio más amplio acerca de su aporte nutricional.

Apéndice A

Gráficos

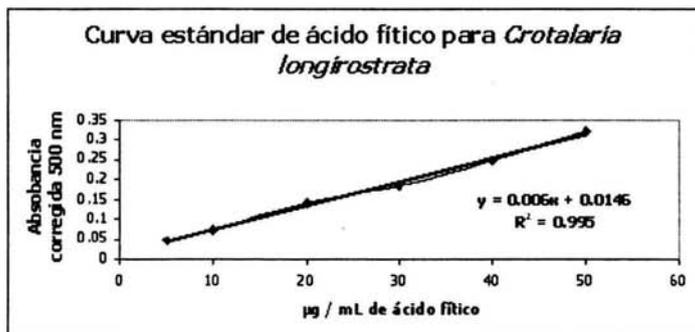
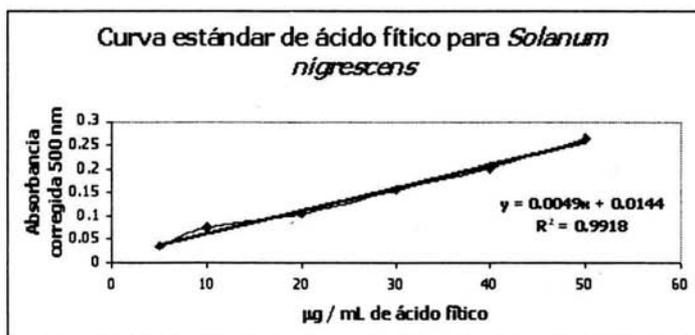
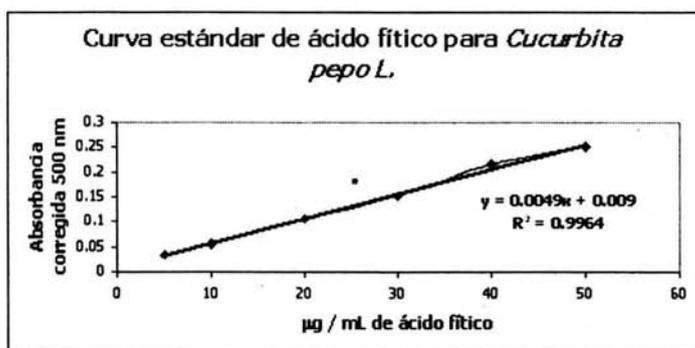
Determinación de factores antinutricionales

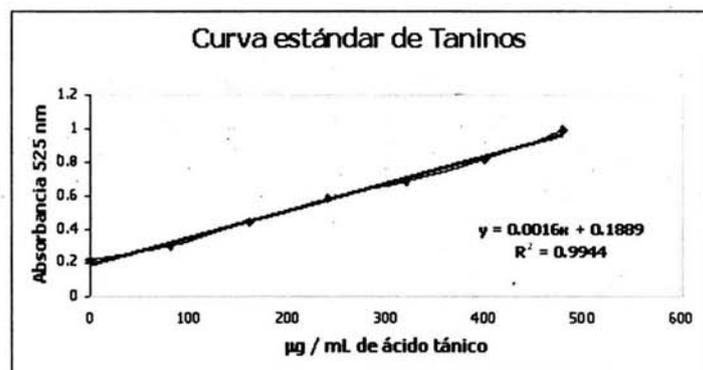
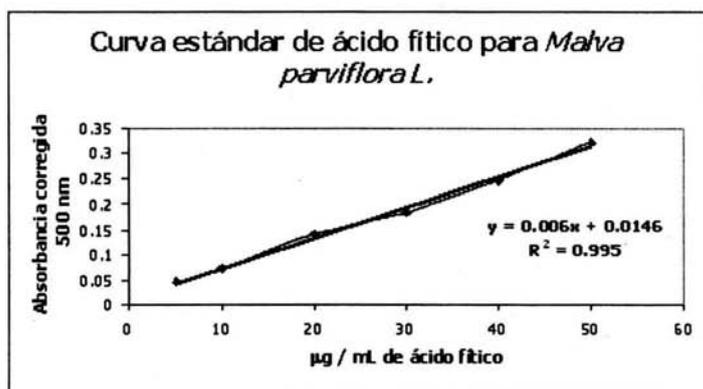
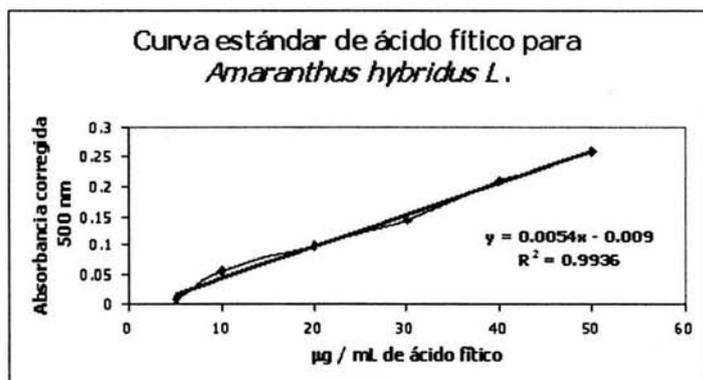
Las siguientes seis gráficas fueron realizadas para la determinación de ácido fítico. A cada muestra corresponde una curva patrón.

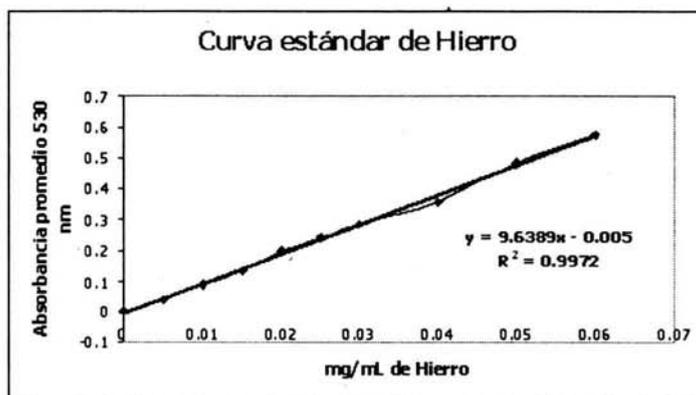
Ácido tánico

Cuantificación de Hierro









Apéndice B

Preparación de reactivos

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA CRUDA

Mezcla digestiva

Disolver 3 gramos de Sulfato de Cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en 20 mL de agua destilada, a continuación se agrega 50 mL de ácido ortofosfórico (H_3PO_4) y una vez que esté bien disuelta la sal, se adiciona con mucho cuidado y resbalando por la pared del recipiente 430 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Solución de ácido bórico con indicadores

Se pesan 5 gramos de ácido bórico y se coloca en un matraz aforado de 1 L, se adiciona agua hasta disolverlo y después de agregan 35 mL de indicador A (100 mg de fenoltaleína aforados a 100 mL con alcohol etílico absoluto) y 10 mL del indicador B (33 mg de verde de bromocresol más 66 mg de rojo de metilo aforados a 100 mL con alcohol etílico). Se ajusta el color a un tono café rojizo con ácido o álcali según se requiera y se afora a 1 litro con agua destilada.

DETERMINACIÓN DE HEMAGLUTININAS

Solución anticoagulante

Cuando la sangre se va a trabajar inmediatamente, se puede utilizar ya sea solución de heparina o citrato, las cuales se usan en la siguiente relación: 15-20 U.I de solución de heparina para 1 mL de sangre, ó 0.1 mL de solución de citrato para 1 mL de sangre. Sin embargo, si la sangre no se va a trabajar de inmediato y se desea conservar en refrigeración por unos días, lo más conveniente es utilizar como solución anticoagulante, la solución ELSEVER, en la siguiente proporción: 1 mL de solución ELSEVER por 1 mL de sangre fresca.

Solución de proteasa

En términos generales, se usa tripsina al 0.1 % en solución salina, para el proceso de sensibilización; sin embargo, cuando se trabaja con sangre de cualquier roedor (ratón, hámster, etc) es conveniente trabajar con pronasa al 0.2 % en solución salina.

DETERMINACIÓN DE ÁCIDO FÍTICO (MÉTODO DE FRUHBECK)

Preparación de columnas de intercambio iónico:

Pesar aproximadamente 0.5 g de resina de intercambio iónico Dowex AG1X8 (200-400 mesh, Bio Rad No. de catálogo 140-1451) e hidratarla con 0.6 mL de agua desionizada. Al mismo tiempo preparar las «columnas» utilizando jeringas de 3 mL (Plastipak) e introduciéndole en el fondo de la misma un tapón de fibra de vidrio (cuidando de no poner en exceso) y colocarla sobre un soporte como puede ser una gradilla metálica. Agregarle a la columna la resina hidratada cuidando su asentamiento uniforme. Una vez que la resina esté bien empacada en la columna, adicionarle 15 mL de NaCl 0.7 N y posteriormente lavar con 30 mL de agua desionizada cuidando de dejar líquido suficiente (aproximadamente 0.5 cm de altura arriba de la resina empacada) para que no secar la resina y de esta forma, esté lista para usarse.

Preparación de los estándares

Preparar una disolución concentrada de ácido fítico que contenga 1000 μg ácido fítico/mL: Pesando exactamente 0.080 g de la sal de fitato de sodio, la cual tiene una pureza del 94 % y una humedad del 8.3 % (Sigma Chemical Co., P-3168) y aforar con agua desionizada hasta un volumen de 50 mL.

A partir de la solución concentrada preparar las disoluciones de los estándares de concentración 5, 10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de la siguiente manera:

Volumen de solución concentrada (mL)	Aforar con agua desionizada hasta (mL)	Concentración final (μg Ácido fítico/mL)
0.125	25	5
0.250	25	10
0.500	25	20
0.750	25	30
1.000	25	40
1.250	25	50

Preparación del Reactivo de Wade

Pesar 0.03 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma Co. F-2877) y 0.3 g de ácido sulfosacilílico (Sigma Co. S-0640) y disolverlos en agua desionizada hasta un volumen de 100 mL. El reactivo debe ser preparado en el momento de hacer la determinación espectrofotométrica y una vez adicionado a las muestras debe leerse en menos de 30 minutos.

DETERMINACIÓN DE TANINOS

Solución de Dimetilformamida al 75 %

Se transfiere 75 mL de dimetilformamida a un matraz aforado de 100 mL limpio y seco. Diluir con agua desionizada, dejar enfriar y aforar a 100 mL.

Solución estándar de ácido tánico

Esta solución de referencia debe contener 0.2 g/100 mL. Se pesan 0.2 g de ácido tánico, aforar a 100 mL con agua desionizada.

Solución citrato férrico de amonio (17-20 % de hierro)

Se prepara una disolución de 0.35 g/100 mL, preparada 24 horas antes de su uso. Se pesan 0.35 g de citrato férrico de amonio y aforar a 100 mL con agua desionizada.

Solución de Hidróxido de Amonio o amoniaco (0.8 g de NH_3 /100 mL)

Se miden 3.1 mL de hidróxido de amonio concentrado (29 % de amoniaco) y aforar a 100 mL con agua desionizada.

DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES

Reactivo de MAYER

Se disuelve 1.36 g de HgCl_2 en 60 mL de agua y 5.0 g de KI en 10 mL de agua. Las dos disoluciones son mezcladas y se ajustan a 100 mL con agua destilada.

Reactivo de WAGNER

Se disuelve 1.27 g de yodo (resublimado) y 2 g de KI en 20 mL de agua destilada; la disolución se afora a 100 mL con agua destilada.

Reactivo de DRAGENDORFF

Se disuelve 8.0 g de nitrato de bismuto pentahidratado en 20 mL de ácido nítrico ($\delta = 1.18 \text{ g/mL}$ o sea, al 30 %) y 27.2 g de yoduro de potasio en 50 mL de agua. Se mezclan las dos disoluciones y se dejan reposar 24 horas. Se decanta la solución y se afora con agua destilada a 100 mL.

Reactivo de SONNENSCHNEIN

A 100 mL de una disolución caliente de molibdato de amonio (43 g/100 mL), adicionar 100 mL de una disolución caliente de fosfato de sodio dibásico anhidro (10 g /100 mL), a esta nueva disolución se le agrega 10 mL de ácido nítrico concentrado. El precipitado amarillo formado se le deja reposar durante una hora. Decantar el líquido sobrenadante y desecharlo, suspender el precipitado amarillo en 50 mL de agua destilada y calentar. A la suspensión caliente adicionar 100 mL de la disolución de carbonato de sodio anhidro

caliente (28 g / 100 mL). Una solución clara debe formarse, y esta solución es evaporada en cápsula a sequedad, flamear la superficie del polvo con un mechero bunsen hasta encenderse para evaporar las sales de amonio. Pesar el polvo, el cual debe ser de aproximadamente 30 g (si se realiza con las cantidades indicadas anteriormente). Disolver el polvo con 200 mL de agua destilada caliente, calentar y adicionar a esta solución 50 mL de ácido nítrico concentrado, después adicionar agua destilada hasta llevar a un aforo de 300 mL; resultando una solución clara amarilla de ácido fofomolíbdico.

Reactivo de HAGER

Preparar una solución acuosa saturada de ácido pícrico (2.0 g /100 mL).

Reactivo de SCHEIBLER

Se disuelven en 50 mL de agua, 10.0 g de tungstato de sodio y 7.0 g de fosfato disódico. La solución se acidula con ácido nítrico.

Reactivo de ÁCIDO SILICOTUNSTÉNICO

Se disuelven 5.0 g de ácido silicotungsténico en el ácido sulfúrico (6 N) necesario para formar 100 mL de solución.

DETERMINACIÓN DE GLUCÓSIDOS CIANOGENICOS

Solución de picrato de sodio alcalinizada

Disolver en agua destilada 2.5 g de ácido pícrico y a continuación 12.5 g de carbonato de sodio, aforar a un volumen de 500 mL con agua destilada.

Solución de β -glucosidasa con activador

Disolver 0.25 g de β -glucosidasa (250 mg) en solución buffer de fosfatos pH 7.0 teniendo la precaución de agitar suavemente (de lo contrario se formará una gran cantidad de espuma). Una vez disuelta la enzima, adicionar 1.7 g de NaNO_3 que actúa como activador de dicha enzima, todo lo anterior se lleva a un volumen de 250 mL con el mismo buffer y así tenemos una concentración de 1 mg de β -glucosidasa / mL y 0.08 M de NaNO_3 .

Papel indicador de HCN

El papel *Whatman* del no. 2 se empapa en una solución de picrato de sodio alcalinizada, se deja escurrir y se pone a secar en un estufa a temperatura de 55 – 60°C por 30 minutos. A continuación se cortan tiras de 2×10 cm.

DETERMINACIÓN DE HIERRO

Solución de ortofenantrolina

Disolver 0.1 g en 80 mL de agua destilada a 80°C, enfriar y aforar a 100 mL con agua.

Solución de clorhidrato de hidroxilamina

Disolver 10 g de la sal en agua destilada y llevar a un volumen de 100 mL.

Buffer de acetatos

Disolver 8.30 g de acetato de sodio anhidro, adicionar 12 mL de ácido acético y aforar a 100 mL con agua destilada.

Estándar de Hierro (0.01 mg /mL)

Disolver 3.512 g de $[\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_6\text{H}_2\text{O}]$, $\text{PM} = 392.14$ g) Sulfato de Hierro y Amonio hexahidratado en agua destilada, adicionando previamente unas gotas de HCl y aforar a 500 mL. Se toman 10 mL de dicha solución y se llevan a un volumen de 1 L con agua destilada.

Bibliografía

- [1] Villalobos, G; *Plantas comestibles en dos comunidades de la Sierra Norte de Puebla*. Tesis de licenciatura. FES-Zaragoza, UNAM. Pp. 3-6, 1998.
- [2] Cano, A.; *Estudio químico de tres especies vegetales mexicanas del género Esenbeckia (Rutaceae)*. Tesis de Maestría. UAEM. Pp. 2-7, 1998.
- [3] Feuchter, R; *Cultivos alternativos de diversificación y reconversión productiva para los distritos de riego y temporal en México*. Universidad Autónoma Chapingo. Parte I. Pp. 27-44, 2002.
- [4] García, P. J. *Intercambio y difusión de plantas de consumo entre el nuevo y el viejo mundo*. Ed. Alhambra, Madrid, España. Pp 7-25, 1991.
- [5] Toledo, V.M. *Tipología ecológica y económica de productores rurales*. La Jornada [la Jornada del Campo] México, D.F., noviembre de 1996.
- [6] Sarukán, J.; *Diversidad biológica y cultural*. La Jornada [Investigación y Desarrollo]. México, DF., julio de 1996.
- [7] Lorence, D.H. y A. García-Mendoza; Oaxaca, México. En: Campbell D.G. & H.D. Hammond (eds.) *Floristic Inventory of Tropical Countries New York Botanical Garden Publ.* Bronx, 1990.
- [8] Flores, M.A. *Caracterización de la vegetación y su relación con el medio abiótico en los municipios de Santiago Nunduchi y una porción del sur del municipio de San Juan Numi, distrito de Tlaxiaco, Oaxaca*. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales-Zaragoza. UNAM. Pp. 2-5, 1992.
- [9] Alvarado H., J. L. *Importancia etnobotánica de especies vegetales del estado de Jalisco*. Tesis Licenciatura. Facultad de Agronomía. Universidad de Guadalajara. Pp.6-10, 1990
- [10] Mickel, J. *Pteridophyte flora of Oaxaca*, México. Mem. New York Bot. Gard, 1988.
- [11] Balderas, R. R. y N. Castillo A. *Descripción del estrato herbáceo del predio Alta Siberia, Municipio de Texcoco*. Estado de México. Tesis Profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Pp. 4-13, 1992.

- [12] Barrera C., E. *Estudio etnobotánico de plantas medicinales en La Estacada, Municipio de Tixtla, Guerrero*. Tesis de Licenciatura. Escuela de Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero. Pp. 12-21, 1998.
- [13] Bye, R. y Linares, E. *Medicinal plant diversity of Mexico and its potential for animal health sciences*. En: T. P. Lyons and K. A. Jaques (eds.). *Biotechnology in the feed industry. Proceedings of Alltech's Fifteenth Annual Symposium*. Pp 265-294, 1999.
- [14] Cabrera T., J. J., A. Casas, F., M. C. Rojas, C. y J. L. Viveros, S. *Alimentos en la naturaleza. Algunas plantas comestibles, silvestres arvenses y ruderales*. SEMARNAP. México, D.F. 160 p. 1998.
- [15] Campos V., A. Reyes, S. G., Cortés, A. L., Toviz, A. G., Davila, A. P., Torres, C. L., García, M. A y Torres, C. R. *Plantas y Flores de Oaxaca*. Cuaderno No. 18. Inst. de Biol. UNAM. México, D.F. Pp. 31-51, 1992.
- [16] Critchfield, W. B. Y Little, E. L. *Geographic Distribution of the Pines in the World*. USDA/Forest Service. Miscellaneous Publication 991. Washington, D.C, 1996
- [17] Calderón-Rzedowski, G. *Familia Compositae. Tribu Lactudeae. Flora del Bajío y Regiones Adyacentes*. Instituto de Ecología A.C. Fascículo 54. Pp. 34-49, 1997.
- [18] Rzedowski, J. y G. Calderón-Rzedowski. (Eds). *Flora fanerogámica del Valle de México*. Vol. I CECSA. Pp. 8-42, 1983.
- [19] INI. *Flora medicinal indígena de México*. I. *Treinta y cinco monografías del Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. México, D.F. Pp. 184,206-226, 326-362, 1994.
- [20] Canto B., E. 1989. *150 Gramíneas del Norte de México*. SARH. Pp 46-51, 1989.
- [21] Rzedowski, J y G. Calderón-Rzedowski. *Familia Compositae. Tribu Anthemideae. Flora del Bajío y Regiones Adyacentes*. Instituto de Ecología A.C. Centro regional del Bajío- Michoacán. Fascículo 60. Pp. 12-19, 1998.
- [22] Rzedowski, J. y G. Rzedowski. *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Volmen III. ENCB-INE. Pp. 16-31, 1990.
- [23] Linares, E., R. Bye, y B. Flores. *Plantas medicinales de México. Usos y remedios tradicionales*, IBUG-UNAM, SIGSA. México, D. F. Pp. 84-91, 104, 119-121, 1999
- [24] Romahn, V. C. F. *Principales productos forestales no maderables de México*. Tesis Profesional. Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Bosques. Universidad Autónoma Chapingo. Pp. 58-63, 121-146, 1992.

- [25] Moreno, N.P. *Glosario botánico ilustrado*. INIREB-CECSA. México D.F. 300 p., 1984.
- [26] Instituto de Biología. *Índice de nombre genéricos de espermatofitas en el Herbario Nacional de México (INGE - MEXU)*. Sala bletia, 2001.
- [27] Martínez, M. *Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas*. Fondo de Cultura Económica, 1ª edición. México, D.F Pp. 135, 227, 278, 421, 428, 566, 769, 1987.
- [28] Acosta C., S. *Plantas útiles de San Pedro Cafetiltán y Pluma Hidalgo, Pochutla, Oax.* CIDIR-Oaxaca (En prensa), 1999.
- [29] Felguerez, J. L. *Especies con Usos No Maderables en Bosques de Encino, Pino y Pino-Encino en los Estados de Chihuahua, Durango, Jalisco, Michoacán, Guerrero y Oaxaca*. Parte I (5), PROCYMAF-SEMARNAP, 2002.
- [30] Instituto de Biología. *Índice de nombre genéricos de espermatofitas en el Herbario Nacional de México (INGE - MEXU)*. Sala opuntia, 2001.
- [31] Instituto de Biología. *Índice de nombre genéricos de espermatofitas en el Herbario Nacional de México (INGE - MEXU)*. Sala dalia, 2001.
- [32] Quattrocchi, U., *Plant names: Common names, Scientific names, Eponyms, Synonyms and Etymology*. Vol. I. CRC Press LLC, USA. Pp. 89-114, 196-201, 311, 2000.
- [33] García, C. R.; «La semilla de Cucurbita pepo L. en el tratamiento de la próstata. Nuevos enfoques: el tratamiento de la alopecia». Resúmenes. II Congreso de Fitoterapia - XXIII Reunión de la AEMN - II Reunión de la SEFIT. Cartel 09 Barcelona, 2002.
- [34] Instituto de Biología. *Índice de nombre genéricos de espermatofitas en el Herbario Nacional de México (INGE - MEXU)*, Sala acacia, 2001.
- [35] Valle P. y Lucas, B. *Toxicología de Alimentos*. Ed. Centro Nacional de Salud Ambiental. México D.F. Pp. 68,69, 2000.
- [36] Liener, I. E. *Toxic constituents of plant foodstuffs*. Academic Press. 2nd Edition. New York. Pp. 434-441, 1985.
- [37] García-Mateos R., Lucas B., Zendejas M., Soto-Hernández M., Sotelo A., «Variation of the total Nitrogen, Non-protein Nitrogen content and Types of Alkaloids in different stages of development in *Erythrina Americana* Seeds». *J. Agric. Food Chem.*, 44: 2987-2991, 1996.
- [38] Domínguez, X.A. *Métodos de investigación fitoquímica*. Ed. Limusa, México. Pp. 42-43, 211-228, 1990.

- [39] Pelletier, S. W. *Chemistry of the alkaloids*. Reinhold Book Corporation. New York. Pp. 1-9, 1980.
- [40] Ikan, R. *Natural Products. A Laboratory Guide*, Academic Press, San Diego California, 2a edición. Pp. 226-227, 1991.
- [41] Gil, L. *Valor nutritivo de algunas flores comestibles*. TESIS. Fac. de Química, UNAM. Pp. 13-17, 1992.
- [42] Cheke, P.R., L.R Shull. «Natural toxicants in feeds an poisonous plants». Avi Publish. Comp. Westport, Connecticut. P. 232, 1985.
- [43] Eyjolfson, R. «Recent Advances in chemistry of cyanogenic glucosides». *Fortsch. Chem Organ. Naturist.* 28, 74-108, 1970
- [44] Lucas, B. y Sotelo A. «Simplified test for the quantitations of cyanogenic glucosides in wild and cultivated sedes». *Nutr. Rep. Int.* 29(3) Pp. 711-719, 1984.
- [45] Yeoh, H y Tan, C. «Determination of linamarine in cassava using enzyme-sensitized microcentrifuge tubes» *J. Sci. Fooc Agric.* 66, Pp. 31-33, 1994.
- [46] Lidner E. *Toxicología de Alimentos*, Acribia, S.A. 2a edición, Zaragoza España. Pp. 14-19, 1995.
- [47] Jaffé, W.G. *Factores tóxicos en leguminosas*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 18, 205-218, 1968.
- [48] Jaffé, W.G. «Toxic proteins and peptides in toxicants occurring naturally in Foods». Comit on food protection. National Academy of Science. 2nd edition. Washington D.C. Pp108-123, 1973.
- [49] Etzler, M. «En: The lectins: Properties, functions, and applications in biology and medicine». Liener, I; Sharon, N and Goldstein, I. (eds) Academic Press Inc. New York. Pp. 371-435, 1984
- [50] Barre, A., Van Damme, E., Peumans W. y Rougé P. «Structure and molecular modeling of monocot mannose-binding lectins: Functional implications». In: COST 98-Effects of antinutrients on the nutritional value of legume diets. (ed) ECSC-ECEAEC. Luxembur. Pp. 98-108, 1996.
- [51] Wyatt CJ, y Triana- Tejas A. «Soluble and insoluble Fe, Zn. Ca and phytates in foods commonly consumed in Northern Mexico». *J Agric Food Chem*; 42: 2204-209,. 1994.
- [52] Zhou JR, Erdman JWJr. «Phytic acid in health and disease». *C.R.C. Crit Rev Food Sci Nutr*; 35, 495-508, 1995.
- [53] Petterson DF, Harris DJ, Rayner CJ, Blakeney AB, y Choct M. «Methods for the analysis of premium livestock grains». *Australian J Agric Res*; 50: 775-87, 1999.

- [54] Segueilha L, Moulin G. y Galkzy P. «Reduction of phytate content in wheat bran and glandless cotton flour by *Schwanniomyces castellii*». J Agric Food Chem; 41: 2451-454, 1993.
- [55] Szkudelski T. «Phytic acid-its influence on organism». J Anim Feed Sci; 6: 48, 1997.
- [56] Khan N; Zaman R; y Elahi M. «Efect of processing on the phytic acid content of bengal grams (*Cicer arietinum*) products». J Agric Food Chem: 36: 1274-276, 1988.
- [57] Centeno C, Viveros A, Brenes A, Canales R, Lozano A, y de la Cuadra C. «Effect of several germination condition on total P, phytate P, phytase, and acid phosphatase activities and inositol phosphate esters in rye and barley». J Agric Food Chem. 49: 3208-215, 2001.
- [58] Bhattu RS, y Slinkard AE. «Relationship between phytic acid and cooking quality in lentil». Can Inst Food Sci Technol. J; 22: 137-42, 1989.
- [59] Thompson LU. «Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods». Food Res Int; 26: 131-49, 1993.
- [60] Plaami S. «Myoinositol phosphates: analysis, content in foods and effects in nutrition». Lebensm Wiss u Technol; 30: 633-647, 1997.
- [61] Morris ER. *Phytate and dietary mineral availability*. En: *Phytic Acid: Chemistry and Applications*. E. Graf. (Ed). Pilatus Press: Minneapolis; pp. 57-76, 1986.
- [62] Hagerman, A.E. y Butler, L.G. «Protein precipitation methods for the quantitative determination of tannins». Journal of Agricultural and Food chemistry 26: 809-812, 1980.
- [63] Waterman, P.G. y Mole, S. «Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Blackwe». Scientific Publications, Cambridge, MA, USA: 67-133, 1994.
- [64] Campbell I C y Fuchshuber L Polyphenols, condensed tannins and processing rates of tropical and temperate leaves in Australian stream. J N Am Benthol Soc 14(1):174-182, 1995.
- [65] Andrews NC, Bridge KR. *Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia*. En: Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 423-61.1998.
- [66] Lanzkowski P. *Metabolismo del hierro y anemia ferripriva*. En: Hematología pediátrica. 3a ed. La Habana:121-93. (Edición Revolucionaria), 1985.
- [67] Wick M, Pinggera W, y Lehmann P. *Iron metabolism, diagnosis and therapy of anemias*. 3th ed. New York: Springer, 1996.

- [68] Fairbanks V, y Klee G. «Biochemical aspects of hematology». En: Textbook of clinical chemistry. Tietz. Philadelphia: WB Saunders, Pp. 411-416, 1986.
- [69] Maeyer E. Preventing and controlling iron deficiency anemia through primary health care. Geneva: World Health Organization, 1989.
- [70] Lönnerdal B, y Dewey KG. «Epidemiología de la deficiencia de hierro en lactantes y niños». An Nestlé;53:12-9, 1995.
- [71] *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15th edition, published by AOAC, Inc. Herlich, Arlington, 1995.
- [72] Abisch, E. and Reichstein, T. *Alkaloid-screening (micromethod)* Helv. Chim. Acta 43, 1844-1861, 1974.
- [73] Domínguez, X. A. *Métodos de investigación fitoquímica*. Ed. Limusa, México. Pp. 211-228, 1979.
- [74] Lucas, B. y Sotelo, A. «A simplified test for the quantification of cyanogenic glucosides in wild and cultivated seeds». Nutr. Rep. Int 29: 711-719, 1984.
- [75] Jaffé, W.G. y Leney, A. «Isolation and partial characterization of beans phytohemagglutinin». Phytochemistry 13, Pp. 2685-2693, 1974.
- [76] Lucas, B. y Sotelo, A. «A useful modification of the hemagglutination method for the screening of lectins in legume seeds». In: Recent advances in research in antinutritional factors in legume seeds. Van der Poel, a. Huisman, J. and Saini, H (eds). Wageningen Pers. EAAP publication No. 70. Pp 71-74, 1993.
- [77] Fruhbeck, G. «Determination of phytic acid in foods», (1995).
- [78] «Determinación del contenido de taninos en sorgo». ISO 9648, 1ª edición, 1988
- [79] Bourges, H. Et al. *Tablas de composición de alimentos. Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán*. México, DF. Pp. 31-37, 93-115, 1996.
- [80] Carrillo V.M. *Estudio químico y biológico de plantas silvestres y su uso en la alimentación*. TESIS de Licenciatura, Facultad de Química. UNAM. Pp. 53-54, 1991.
- [81] Bruneton, J. *Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia*. Ed. Acribia, España. Pp. 85-91, 1991.
- [82] Romero A. L. *Investigación química y biológica de plantas silvestres de posible uso en la alimentación*. TESIS de Licenciatura, Facultad de Química UNAM. Pp. 42-49, 1991.
- [83] López, S. *Estudio nutrimental de algunas flores comestibles mexicanas*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM. Pp. 55-56, 2003.

[84] Martínez, D. B; Ibáñez G. M. «ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas». *ALAN*, Vol. 52 (3) España. Pp. 3-8, 2002.

[85] Reed, J. D. «Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes». *Journal Animal Science*. 73:1516-1528, 1995.