



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

“EVALUACIÓN COMPARATIVA BROMATOLÓGICA Y DE FACTORES
TÓXICOS NATURALES DE LA CEBOLLITA MEXICANA
(*ALLIUM KUNTHII*) PROCEDENTE DEL
ESTADO DE MÉXICO Y CHIAPAS”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA :

ROBERTO RAMOS MÁRQUEZ



MÉXICO, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: M. en C. Bernardo Lucas Florentino
VOCAL: M. en C. Lucia Cornejo Barrera
SECRETARIO: Q.F.B. Juan Diego Ortiz Palma Pérez
1^{er} SUPLENTE: Dra. Iliana Elvira González Hernández
2^{do} SUPLENTE: M. en C. Gustavo Lozano Vásquez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

Anexos 1 de los laboratorios 4A y 4C del Departamento de Alimentos y Biotecnología,
Edificio A de la Facultad de Química, Ciudad Universitaria, México D.F.

ASESOR:


M. en C. Bernardo Lucas Florentino

SUPERVISOR TÉCNICO:


M. en C. María Edelmira Linares Mazarí

SUSTENTANTE:


Roberto Ramos Márquez

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo General	2
2.2 Objetivos particulares	2
3. ANTECEDENTES	3
3.1 Generalidades de la cebolla (<i>Allium cepa</i>)	3
3.2 Cebollita mexicana (<i>Allium kunthii</i>)	5
3.2.1 Comparación con otras especies del genero <i>Allium</i>	8
3.3 Composición química	9
3.3.1 Agua	10
3.3.2 Hidratos de carbono	10
3.3.3 Proteína	11
3.3.4 Lípidos	11
3.3.5 Fibra	12
3.3.6 Cenizas	12
3.4 Bromatología complementaria	13
3.4.1 Densidad calórica	13
3.4.2 Fibra dietética total	13
3.4.2.1 Acciones fisiológicas de la fibra dietética	14
3.4.3 Proteína verdadera	15
3.5 Factores tóxicos	15
3.5.1 Alcaloides	16
3.5.2 Saponinas	17
3.5.3 Taninos	19
4. MATERIALES Y MÉTODOS	21
4.1 Investigación y revisión bibliográfica	22
4.2 Obtención del material biológico	22
4.3 Acontecimiento de material biológico	23
4.3.1 Determinación de Humedad Original	23

4.3.2 Molienda	24
4.4 Análisis Bromatológico	24
4.4.1 Determinación de humedad analítica. AOAC	24
4.4.2 Determinación de cenizas. AOAC	26
4.4.3 Determinación de proteína cruda. AOAC	27
4.4.4 Determinación de grasa cruda. AOAC	29
4.4.5 Determinación de fibra cruda. AOAC	31
4.4.6 Determinación de hidratos de carbono	33
4.5 Bromatología complementaria	33
4.5.1 Determinación de densidad calórica	33
4.5.2 Determinación de fibra dietética total. AOAC	34
4.5.3 Determinación de proteína verdadera. AOAC	39
4.6 Determinación de factores tóxicos naturales	41
4.6.1 Determinación semi-cuantitativa de Alcaloides	41
4.6.2 Determinación de Saponinas.	46
4.6.3 Taninos. ISO 9648-1988	50
4.7 Análisis estadístico	52
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
5.1 Análisis bromatológico	53
5.2 Bromatología complementaria	56
5.3 Factores tóxicos naturales	61
6. CONCLUSIONES	64
7. BIBLIOGRAFÍA	65
ANEXOS	70



1. INTRODUCCIÓN

La cebolla es una de las hortalizas de mayor consumo en el mundo, en México se cultiva ampliamente, siendo los estados con mayor producción: Chihuahua, Guanajuato, Tamaulipas, Michoacán, Morelos y Zacatecas. La producción nacional de cebolla asciende a 1,270,059.51 toneladas con una superficie cultivada de 43,561.98 hectáreas por año en promedio. La cebolla posee un gran impacto en la dieta mexicana, debido a su alto consumo, fácil adquisición y su gran aceptabilidad sensorial, de hecho se consume tanto cruda como cocida, participando como ingrediente principal o como condimento para la preparación de muchos platillos alimenticios. Sin embargo, la especie utilizada con fines comerciales es introducida, no obstante en nuestro país existen alrededor de 35 especies, de las cuales casi la mitad son de uso regional.

En México hay una especie de cebolla que era utilizada por nuestro ancestros desde tiempos prehispánicos y corresponde a la cebollita mexicana o también conocida como cebollita de Atlautla (*Allium kunthii*). La cebollita mexicana tiene cualidades organolépticas particulares y actualmente es una especie vegetal distribuida en nuestro territorio nacional y en peligro de conservación por diversas causas, no importando que tenga un alto potencial alimenticio y que sean apreciadas y utilizadas de manera sustentable en ciertas comunidades. Entre las causas, una de ellas está el bajo apoyo agronómico a las comunidades donde se cultiva, ya que se encuentra en desventaja frente a especies más comerciales. Sin embargo al revisar la literatura, la información botánica de *Allium kunthii* es limitada, confusa y los reportes de la composición química y valor nutritivo son casi nulos. Al conocer estas limitantes, el presente trabajo tuvo la finalidad de realizar la caracterización bromatológica a dos colectas de cebollita mexicana (*Allium kunthii*) las cuales fueron recolectadas en: San Cristóbal de las Casas, Chiapas y Ozumba, Estado de México, con el fin de conocer su potencial nutricional, así como la presencia y concentración de los factores tóxicos naturales que con más frecuencia están relacionados con este género (*Allium*) perteneciente a la familia *Amaryllidaceae*, para verificar que su concentración no presente un riesgo a la salud por ingesta, desde el punto de vista toxicológico. Con los resultados obtenidos se realizó el análisis estadístico para conocer si hay diferencia estadísticamente significativa en los parámetros analizados, de acuerdo al lugar de su procedencia.





2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Determinar la composición química y factores tóxicos naturales de la cebollita mexicana (*Allium kunthii*) procedente del Estado de México y Chiapas, con la finalidad de evaluar su potencial alimenticio.

2.2 Objetivos particulares

- Evaluar la composición bromatológica de la cebollita mexicana (*Allium kunthii*).
- Realizar la determinación de proteína verdadera, fibra dietética total y contenido calórico para una mejor caracterización bromatológica.
- Determinar la presencia y el contenido de los siguientes factores tóxicos:
 - Alcaloides
 - Saponinas
 - Taninos
- Realizar el análisis estadístico de los diferentes parámetros, para conocer si hay diferencia estadísticamente significativa entre las dos colectas de cebollita mexicana de acuerdo al lugar de su procedencia.





3. ANTECEDENTES

3.1 Generalidades de la cebolla (*Allium cepa*)

En el género *Allium*, se encuentran las cebollas, ajos, puerros y cebolletas, existiendo alrededor de 1,250 especies y comprenden algunas de las plantas más antiguamente cultivadas por el hombre. En Egipto se han encontrado representaciones de bulbos de cebolla y figuras de bulbos de ajo que datan de hace más de 5,000 años. Estos cultivos evolucionaron a partir de plantas silvestres que crecían en las regiones montañosas. Muchas de las especies silvestres del género *Allium* son comestibles y algunas todavía se recolectan para alimentación. Sin embargo, sólo unas pocas especies se cultivan comercialmente (Brewster, 2001).

La familia *Amaryllidaceae* incluye al género *Allium*, de acuerdo a la clasificación de APG III (The Angiosperma Phylogeny Group, 2009). En el mundo se conocen alrededor de 600 especies del género botánico *Allium*, en América del Norte se conocen alrededor de 96 especies y en México 31 especies nativas y cuatro introducidas, entre las cebollas nativas de México, las más empleadas son: *Allium glandulosum* (cebollita, cebollina) y *Allium kunthii* (cebollita, cebollita de Atlautla o cebollín) y las especies introducidas a México están: *Allium cepa* (cebolla y cebollita de cambray); *Allium cepa* var. *Ascalonicum* (clalote, echalote); *Allium schoenoprasum* (cebollín o cebollina) y *Allium ampeloprasum* var. *Porrum* (poro) (Linares y Bye, 2013). Las especies cultivadas más conocidas en el mundo son: *Allium cepa* L. (cebolla) y *Allium sativum* L. (ajo). El cultivo del género *Allium* es de gran importancia en nuestro país. La producción nacional de cebolla asciende a 1,270,059.51 toneladas con una superficie cultivada de 43,561.98 hectáreas, mientras que la producción de ajo en México es de 59,014.84 toneladas; y la superficie cultivada es de 5,468.00 hectáreas (SAGARPA, 2014).

Las cebollas representan una contribución nutricional significativa a la dieta humana, además tienen propiedades medicinales y funcionales; también poseen efectos fisiológicos sistémicos tales como la disminución del nivel de glucemia en ayunas, así como la insulinemia, los triglicéridos y el colesterol, y mejoran la biodisponibilidad de Ca y Mg de la dieta (Brewster, 2001; Rodríguez *et al.*, 2009).





Al igual que con otras verduras, las cebollas contribuyen a la ingesta de ciertas vitaminas y minerales, pero los hidratos de carbono son la fracción de los principales nutrimentos, muchos de los cuales son componentes de la fibra dietética. Los hidratos de carbono no estructurales y solubles a partir de una parte sustancial de la materia seca de cebolla, son principalmente como fructooligosacáridos (FOS) y monosacáridos (glucosa, fructosa y sacarosa) (Lanzotti, 2012).

Las principales familias de plantas que incluyen a los FOS en su composición son la *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, *Gramineae*, *Poaceae*, *Solanaceae* y *Compositae*. Es además significativa la cantidad de FOS presentes en alimentos tales como: ajo (*Allium sativum* L.), cebolla (*Allium cepa* L.) y puerro (*Allium porrum* L.). En estos alimentos los FOS aportan valores energéticos entre 1 y 1.5 kcal/g. Sin embargo se recomienda al menos una ingesta de 8 g de FOS en la dieta, de modo que sus funcionalidades nutrimentales sean manifiestas en el organismo y no se presenten problemas de intolerancia (Chacón, 2006).

Aunque todavía no existen datos concluyentes sobre la recomendación de los distintos tipos de fibra dietética, sigue siendo adecuado indicar una dieta que aporte de 20 a 35 g/día de fibra dietética de diferentes fuentes. En voluntarios sanos, la suplementación con 15 g/día de fructooligosacáridos (FOS) de una dieta controlada durante dos semanas, produjo un incremento significativo de bifidobacterias en heces, mientras disminuyó la producción de Bacterioides, Clostridium y Fusobacterias (Escudero y González, 2006).

Existe una gran variabilidad genética que ha llevado a una gran diferenciación de cultivares de cebolla, en cuanto a forma, tamaño, color, grado de pungencia, requerimientos de horas de luz y vernalización, entre otros aspectos. La cebolla es una planta bianual como anual, que en el primer año desarrolla su parte vegetativa, hasta la formación del bulbo y la segunda temporada, produce las flores. En la cebolla los órganos de acumulación de reservas son las hojas, en su parte basal (catáfilos), el tallo de la planta está reducido a un disco basal, desde el cual salen las hojas para formar el bulbo, en el cual las hojas más antiguas rodean a las más nuevas y forman una cubierta protectora del color característico de la variedad. Las raíces son fibrosas y se desarrollan superficialmente. Su volumen más activo se ubica entre los 20 cm y 30 cm de profundidad. Las hojas en su parte aérea son cilíndricas, huecas y terminadas en punta (Chiang, 1994; Brewster, 2001).





La cebolla es una hortaliza de estación fría que crece bien en un amplio rango de temperaturas y es medianamente resistente a las heladas. A pesar de su arraigamiento superficial, se obtienen mejores resultados en suelos fértiles, profundos y bien drenados, de texturas medias y buen contenido de materia orgánica; con niveles altos de P y K, además de intervalos de fotoperiodos y un pH del suelo entre 6 a 7, aunque tolera ligeramente la acidez (Hume, 1971; Brewster, 2001; Rothman y Dondo, 2014).

3.2 Cebollita mexicana (*Allium kunthii*)

La cebollita mexicana (*Allium kunthii*) corresponde al género *Allium*, familia de las *Amaryllidaceae* y se clasifica taxonómicamente de acuerdo a la **tabla 1**.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Allium kunthii*^a

Trópicos		Angiosperm Phylogeny Group III	
Reino	Plantae	Reino	-----
División	Magnoliophyta	División	-----
Clase	Equisetopsida	Clado	Monocotiledóneas
Orden	Asparagales	Orden	Asparagales
Familia	Amaryllidaceae	Familia	Amaryllidaceae
Género	<i>Allium</i>	Género	<i>Allium</i>
Epíteto específico	<i>kunthii</i>	Epíteto específico	-----
Nombre científico	<i>Allium kunthii</i> G. Don	Nombre científico	<i>Allium kunthii</i> G. Don
Autor del nombre	G. Don	Autor del nombre	-----
Nombre común	<ul style="list-style-type: none"> ○ Cebollitas de Atlautla ○ Cebollitas patoneras 		

^a Fuente: APG III, 2009; Trópicos, 2013.





Orígenes

La cebollita mexicana (*Allium kunthii* G. Don) es una planta originaria de México. Se encuentra distribuida prácticamente en todo el país, en los estados de Aguascalientes, Chiapas, Chihuahua, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Morelos, Querétaro, Sonora, Veracruz y Zacatecas (Espejo-Serna y López-Ferrari, 2003) menos en el trópico húmedo y en el desierto. En la **figura 1** se ilustra la raíz, bulbo y tallo de la cebollita mexicana, procedente del Estado de México.



Foto: Eloy Arce

Figura 1. Cebollita mexicana (*Allium kunthii*) en el Tianguis de Ozumba, Edo. de México

Morfología

Se trata de hierbas perennes, con fuerte olor a cebolla o ajo, los bulbos generalmente agrupados, sin desarrollar rizoma, subglobosos de 2 a 2.5 cm de largo y 1.8 a 2.5 cm de diámetro; tépalos oblongos de 5 a 7 mm de largo y 1.5 a 2 mm de ancho, subagudos a acuminados, nervadura central prominente, apenas fusionados basalmente; estambres con los filamentos subulados de 5 a 6 mm de largo, anteras oblongas de 1 mm de largo; ovario globoso de 1 mm de largo, 1 mm de diámetro estilo de 4 mm de largo en la antesis, estigma capitado. Cápsula obovoide, trilobada de 3 a 4 mm de largo y 5 mm de diámetro (Espejo-Serna y López-Ferrari, 2003).





- * Tamaño: De 30 a 60 cm de alto.
- * Hojas: Filiformes o linear-subuladas, rollizas o subrollizas distalmente de 17 a 30 cm de largo y 4 a 5 mm de ancho, las vainas hialinas o papiráceas, generalmente blancas.
- * Inflorescencia: Una pseudumbela terminal, el escapo generalmente solitario de 30 a 60 cm de largo y 2 a 4 mm de diámetro, las brácteas del involucreo ovado-lanceoladas de 7 a 9 mm de largo, papiráceas, blancas.
- * Flores: 15 a 35 por inflorescencia de color blanco o ligeramente rosados, los pedicelos de 1.3 a 1.7 cm de largo, generalmente rectos.
- * Semillas: Semillas negras, lustrosas, de 1.5 a 2 mm de largo.

Hábitat y usos

Vegetación secundaria derivada de selvas tropicales, huertos familiares, terrenos de cultivo abandonados y es cultivada ocasionalmente; y en la **figura 2** se ilustra un cultivo de cebollita mexicana, procedente del Estado de México. El bulbo es comestible y las hojas también se preparan picadas y guisadas (Espejo-Serna y López-Ferrari, 2003).



Figura 2. Cultivo de cebollita mexicana (*Allium kunthii*) de Ozumba, Edo. de México





3.2.1 Comparación con otras especies del género *Allium*

El género *Allium* contiene las sustancias nutritivas que se asocian normalmente a las hortalizas y presentan también un cierto número de otros compuestos que junto a sus compuestos de aroma, sabor e hidratos de carbono característicos. El contenido en materia seca del género *Allium* se encuentra normalmente en el intervalo de 7 a 15%. Considerando el peso fresco, estas hortalizas contienen típicamente de 1 a 2% de proteína, alrededor de 0.2% de grasas y 5 a 12% de hidratos de carbono. Estos últimos dependen mucho del contenido de materia seca, que puede variar en gran medida con el cultivar. El porcentaje común de cenizas es del 0.6 a 1.0%, los valores más altos están asociados con mayores porcentajes de materia seca y normalmente, su valor calórico medio es de unas 35 calorías por cada 100 g de producto fresco (Brewster, 2001).

Con respecto a la composición química de la cebolla es variable y depende del cultivo, estado de madurez, medio ambiente y condiciones agronómicas (Hume, 1971; Rothman y Dondo, 2014). Se ha revisado de forma exhaustiva la composición de las cebollas y los resultados de su composición promedio y/o intervalo se basan en los siguientes trabajos en base seca **Tabla 2** y en el producto en fresco **Tabla 3**.

Tabla 2. Análisis bromatológico de cebolla (g componente/100 g producto) en base seca

Muestra	Humedad Original	Proteína	Grasa	Ceniza	Fibra Dietética Total	Hidratos de carbono
Cebolla blanca (<i>Allium cepa</i>) ^a	92.22 ± 0.12	12.36 ± 0.36	0.66 ± 0.02	4.66 ± 0.01	10.44 ± 0.01	71.88
Cebollina blanca (<i>Allium scaposum</i>) ^a	87.95 ± 0.03	10.53 ± 0.03	0.79 ± 0.02	6.42 ± 0.35	5.66 ± 4.7	76.6

^a Fuente: Vela y Villafuerte, 2009



**Tabla 3. Análisis bromatológico de cebolla (g componente /100 g producto fresco)**

Muestra	Humedad	Proteína	Grasa	Ceniza	Fibra dietética total	Hidratos de carbono	Valor energético (kcal/g)
Cebollita de cambray sin raíz^a	-----	1.3	0.1	-----	1.9	5.3	23
Cebolla Tenerife (<i>Allium cepa</i>)^b	92.5 ± 1.1	0.59 ± 0.11	-----	0.35 ± 0.03	1.68 ± 0.42	-----	-----
Cebolla morada (<i>Allium cepa</i>)^c	86	1.4	0.2	-----	-----	10	25 a 30
Cebolla blanca (<i>Allium cepa</i>)^d	89.11	1.1	0.1	-----	1.7	9.34	-----
Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.)^e	86 a 90	0.5 a 1.6	0.1 a 0.6	-----	-----	6 a 11	20 a 37

^a Fuente: Pérez-Lizaur *et al.*, 2008.

^b Fuente: Rodríguez *et al.*, 2009.

^c Fuente: Guerrero, 2011.

^d Fuente: Akash *et al.*, 2014.

^e Fuente: Rothman y Dondo, 2014.

3.3 Composición química

Los alimentos se integran de tres principales grupos de compuestos: los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos; así como los derivados de los mismos. Hay además un grupo de elementos inorgánicos y un grupo diversificado de sustancias orgánicas presentes en proporciones relativamente pequeñas; estas incluyen sustancias como las vitaminas, enzimas, ácidos orgánicos, oxidantes, antioxidantes y pigmentos. Hay también un componente siempre presente y muy importante: el agua. Todos estos compuestos están dispuestos de tal forma en los diferentes alimentos como para dar a estos estructura, textura, sabor, color y valor nutrimental (Norman y Potter, 1973).





3.3.1 Agua

Para el ser humano, la fuente más importante de agua está en todos los líquidos que ingiere, pero también la adquiere de diferentes alimentos. El agua es el principal componente de muchos alimentos, teniendo cada alimento su propio y característico contenido de este componente. Las cifras varían entre un 60% y 95% en los alimentos naturales. En los tejidos vegetales y animales, puede decirse que existen en dos formas generales: agua libre y agua ligada. El agua libre o adsorbida, que es la forma predominante, se libera con gran facilidad y es estimada en la mayor parte de los métodos usados para el cálculo del contenido de agua. El agua ligada se halla en los alimentos como agua de cristalización o ligada a proteínas y a las moléculas de sacáridos (Fennema, 2000).

El agua está implicada en muchas funciones como digestión, adsorción, metabolismo, transporte, secreción, excreción, reproducción, lubricación de articulaciones, regulación de temperatura y reacciones bioquímicas que ocurren en nuestro cuerpo. De allí la importancia de determinar la cantidad de agua que se consume (Mendoza y Calvo, 2010).

3.3.2 Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono constituyen más del 90% de la materia seca de los vegetales, se encuentran en todas las formas de vida y se presentan en forma de azúcares, almidones y fibra. Sirven como almacén de energía, son combustibles e intermediarios metabólicos.

Su valor energético es de considerar, ya que por cada gramo de hidrato de carbono se obtiene 4 kcal. Es una fuente de energía rápida para el organismo de tal forma que son necesarios para llevar a cabo funciones biológicas, los músculos e hígado pueden ocuparla para satisfacer demandas energéticas (Mendoza y Calvo, 2010).

Los hidratos de carbono no estructurales o de reserva de las cebollas constituyen gran parte de su materia seca. Las cebollas carecen casi totalmente de almidón, pero almacenan otros hidratos de carbono como los fructanos. El contenido de materia seca y de hidratos de carbono solubles en los bulbos de cebolla puede variar en función de un factor de alrededor de tres, siendo sólo de un 7% en las variedades dulces y de hasta un 21% en cultivares para deshidratación. La composición de hidratos de carbono difiere drásticamente entre estas





variedades, con un 7.5% de materia seca, contienen aproximadamente un 75% de hidratos de carbono solubles del bulbo en forma de glucosa más fructosa, alrededor del 18% como sacarosa y un 7% como fructanos. Cuanto mayor es el porcentaje de materia seca, mayor es el grado medio de polimerización de los fructanos en los bulbos (Brewster, 2001).

3.3.3 Proteína

Las proteínas juegan un papel importante en los sistemas biológicos. La diversidad funcional de las proteínas se debe especialmente a su composición química. Las proteínas son polímeros muy complejos, constituidos por 20 aminoácidos distintos, los aminoácidos se unen vía enlaces peptídicos (Mendoza y Calvo, 2010).

Las proteínas de la dieta humana proceden tanto de fuente animales como vegetales, cuando se consumen dichos alimentos, las proteínas son digeridas por enzimas hidrolíticas del tracto gastrointestinal y los aminoácidos liberados son absorbidos hacia el torrente sanguíneo. Estos aminoácidos se utilizan en la síntesis de nuevas proteínas requeridas para el crecimiento, mantenimiento y reparación del cuerpo. Algunos de los aminoácidos requeridos se forman en el cuerpo a medida que se necesitan, pero otros solo se pueden obtener de la dieta. A estos últimos se les conoce como aminoácidos indispensables y son la fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano y valina (Osborne y Voogt, 1986).

El contenido proteínico varía mucho en las distintas frutas y hortalizas, pero generalmente sólo representa un pequeño porcentaje sobre el peso fresco. Algunos cultivos, como cereales, legumbres, tubérculos y bulbos, pueden contener una gran cantidad de proteínas. Estos componentes tienen mucha importancia por su gran contribución al valor del producto y por sus interesantes propiedades funcionales (Fennema, 2000).

3.3.4 Lípidos

Los lípidos se encuentran en los alimentos y básicamente les confieren propiedades organolépticas y nutrimentales. La distinción entre grasa y aceite, se basa exclusivamente en el estado sólido o líquido de los lípidos a temperatura ambiente. De forma general, la principal fuente de lípidos son las semillas oleaginosas, ya que de las frutas y hortalizas





contienen muy bajas concentraciones de estos, a excepción del aguacate, nueces y aceitunas. Los lípidos representan menos del 1% del peso fresco en casi todas las frutas y hortalizas.

Los lípidos son una fuente importante de energía en la nutrición humana, de cada gramo de lípidos se genera 9 kcal. Esto se debe a su estructura química, que contiene una mayor proporción de átomos de carbono que las moléculas de hidratos de carbono y proteínas. Aportan ácidos grasos indispensables, influyen en gran medida sobre la sensación de saciedad tras la comida, transportan vitaminas liposolubles y hacen a los alimentos más apetitosos (Mendoza y Calvo, 2010).

3.3.5 Fibra

La fibra cruda constituye un índice de las sustancias presentes en los alimentos de origen vegetal resistentes a las enzimas del tracto intestinal del hombre. Es un residuo orgánico constituido fundamentalmente por celulosa, pectina, lignina, hemicelulosa, gomas y mucilagos, que constituyen junto con pequeñas cantidades de sustancias nitrogenadas, las estructuras celulares de los vegetales y constituye del 20% al 50% de la fibra dietética total. Se encuentra en verduras, cereales, leguminosas y frutas, es responsable de la motilidad gastrointestinal con la reducción del tiempo de tránsito de los alimentos (Hart y Johnstone, 1984).

3.3.6 Cenizas

Los seres vivos necesitan muchos minerales para sus procesos vitales y es importante reconocer que, al igual que las proteínas, hidratos de carbono y lípidos, no juegan papeles independientes en la nutrición humana, los minerales o nutrientes inorgánicos están interrelacionados y equilibrados unos con otros. Por ejemplo, el calcio y el fósforo participan en una relación definida en la formación de huesos y dientes.

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes (Pearson, 1993).





El cuerpo humano requiere de siete minerales en cantidades relativamente grandes, del orden de gramos: calcio, sodio, magnesio, cloro, potasio, fósforo y azufre y al menos siete en cantidades traza: hierro, cobre, yodo, manganeso, molibdeno, selenio y zinc (Osborne y Voogt, 1986).

3.4 Bromatología complementaria

El análisis bromatológico determina la calidad de los alimentos por sus componentes nutrimentales, así como por su contenido energético.

3.4.1 Densidad calórica

La densidad calórica es la cantidad de calor liberado cuando se quema en forma completa la masa de una sustancia a presión y temperatura constante, esta proporciona una medida de la energía química contenida en el alimento y puede ser determinado a través de una bomba calorimétrica adiabática.

La estimación del contenido calórico en los alimentos o en dietas es indispensable para estudios de metabolismo y balance de energía; así como en la propuesta de dietas en problemas de obesidad y mal nutrición. Los nutrimentos se requieren en primera instancia para aportar la energía necesaria en el mantenimiento normal de las funciones vitales y suministrar energía para la actividad física diaria. Así, los requerimientos energéticos deben cubrir las necesidades para mantener a un individuo sano y con esto pueda realizar su vida activa en forma normal (Bowman y Russell, 2003)

3.4.2 Fibra dietética total

La fibra es la parte del alimento que no es afectada por el proceso digestivo en el cuerpo, e incluye a la totalidad de todos los compuestos, fibrosos o no, que no son digeribles por las enzimas del intestino humano; y pasa a través del tracto gastrointestinal y forma parte de las heces. Hay dos tipos de fibra dietética:

Fibra dietética soluble: La fibra soluble retiene el agua y se vuelve gel durante la digestión y la retarda; además ayuda a la absorción de nutrimentos en el intestino. Este tipo de fibra se





encuentra en los alimentos tales como el salvado de avena, cebada, nueces, semillas, frijoles, lentejas, guisantes y algunas frutas y hortalizas.

Fibra dietética insoluble: La fibra insoluble parece acelerar el paso de los alimentos a través de los intestinos y le agrega volumen a las heces. Este tipo de fibra se encuentra en alimentos tales como el salvado de trigo, hortalizas y los granos enteros.

En las cebollas se ha reportado una cantidad significativa de fibra dietética total de 16.83% en base seca y 1.89% en producto fresco, con respecto a una humedad de 88.72% en cebolla morada (Guerrero, 2011). En otros datos reportados, se sabe que los fructooligosacáridos (FOS) forman parte de la fibra dietética total (FDT) y se ha determinado su presencia dando resultados positivos cualitativamente, con respecto al contenido de fibra dietética total reportado de 10.44% para cebolla blanca (*Allium cepa*) y 5.66% para cebollín blanco (*Allium scaposum*) en base seca, aunque se menciona que no existe relación entre la concentración de FOS y FDT, ya que un alto contenido de FDT no asegura la presencia de FOS (Vela y Villafuerte, 2009).

La ingesta diaria de fibra dietética recomendada para individuos está reportada en un intervalo de 20 a 30 gramos en base seca (Eastwood, 1992). La fibra dietética es muy importante en la nutrición humana, puesto que mantiene el normal funcionamiento del tracto gastrointestinal, incrementa el volumen del bolo alimenticio y del resto fecal, lo que disminuye el tiempo de tránsito intestinal y ayuda a prevenir el estreñimiento (Repetto, 1995).

3.4.2.1 Acciones fisiológicas de la fibra dietética

Retrasa la sensación de hambre, ya que retrasa el vaciado gástrico; la fibra no soluble no produce calorías, ocupando espacio en el estómago y saciando el hambre.

Produce control de diabetes, el fenómeno se relaciona con que la fibra dietética soluble recubre las vellosidades del intestino y retrasa la absorción de hidratos de carbono.

Reduce los niveles de colesterol en la sangre, la fibra dietética adsorbe los ácidos biliares, que salen con la fibra dietética, junto con la materia fecal, obligando al hígado a sintetizar más ácidos biliares a partir del colesterol, bajando así los niveles de este.





Restaura la flora intestinal, ya que el metabolismo de los fructosanos se hace a través de bifidobacterias, microorganismos que proliferan sólo en presencia de estos hidratos de carbono, y que producen ácidos grasos de bajo peso molecular, como ácido láctico, propionico y butírico, que disminuyen el pH y reducen el riesgo de proliferación de bacterias patógenas (Miranda, 2010).

3.4.3 Proteína verdadera

Los tejidos vegetales contienen cantidades apreciables de nitrógeno no proteínico, por lo tanto debe procederse con cautela, ya que no todo el nitrógeno proviene exclusivamente de proteínas. Las plantas, además de aminoácidos libres pueden contener cantidades apreciables de nitrógeno no proteínico en forma de aminas, purinas, pirimidinas, nucleótidos, betainas, alcaloides, porfirinas y aminoácidos no proteínicos (Fennema, 2000).

3.5 Factores tóxicos

Algunos alimentos, además de nutrimentos, contienen sustancias sin valor nutritivo de las cuales algunas pueden causar daños al organismo, en el caso de las plantas estas sustancias juegan un papel importante en el mecanismo de defensa contra sus depredadores naturales.

Es conveniente diferenciar estas sustancias que causan daño al organismo, las que producen un daño directo sobre un órgano o tejido, y las que interfieren con la biodisponibilidad de algún nutrimento; así podemos hacer la siguiente distinción.

Sustancia toxica: Sustancia presente en el alimento capaz de producir a corto plazo, efectos dañinos, como una anomalía fisiológica y/o anatómica, que no puede ser atenuada por una simple fortificación o suplementación de nutrimentos (Derache, 1990).

Sustancia antinutricional: Sustancia presente en el alimento, que tiene la capacidad de reaccionar o interferir con un nutrimento, disminuyendo su biodisponibilidad y a largo plazo es capaz de producir una anomalía 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 este, en la etapa inicial del efecto dañino, puede atenuar o eliminar el problema (Valle y Lucas, 2000).

El término sustancia antinutricional se utiliza para calificar aquellos compuestos que afectan el valor nutrimental de algunos alimentos, pues dificultan o inhiben la asimilación de nutrimentos que provienen de alimentos generalmente de origen vegetal (proteínas y minerales); desde el punto de vista bioquímico estos factores son de naturaleza variada y llegan a ser tóxicos o causar efectos fisiológicos poco deseables como la flatulencia; distensión estomacal, afectaciones pancreáticas, aglutinación de glóbulos rojos, disminución en la asimilación de nutrimentos, entre otros; los factores antinutricionales son sustancias naturales no fibrosas, generadas por el metabolismo secundario de las plantas como mecanismo de defensa a situaciones estresantes o contra el ataque de mohos, bacterias, insectos y aves (Elizalde *et al.*, 2009).

Se han desarrollado un buen número de estudios en los que se revela que estos compuestos en pequeñas cantidades, pueden ser muy beneficiosos en la prevención de enfermedades; razón por la cual ahora se les ha denominado “compuestos no nutrimentales”, o “factores nutrimentalmente bioactivos”, ya que si bien carecen de valor nutrimental, no resultarían perjudiciales en pequeñas cantidades. Esto ha llevado a considerar a todos aquellos alimentos que contengan compuestos no nutrimentales, como alimentos funcionales, debido a que estos compuestos son calificados como fitoquímicos que reportan beneficios para la salud humana (Elizalde *et al.*, 2009).

En el género *Allium* se ha reportado cantidades significativas de sustancias tóxicas y antinutricionales entre sus componentes, dentro de las cuales se mencionan la presencia de alcaloides, saponinas y taninos (Adeniyi y Anyiam, 2004; Lanzotti, 2006; Meriga *et al.*, 2012)

3.5.1 Alcaloides

Los alcaloides constituyen un grupo muy heterogéneo de bases nitrogenadas con acción fisiológica más o menos intensa sobre los animales. La mayoría de los alcaloides se hallan en los vegetales como sales de ácidos orgánicos, en otras plantas puede haber un ácido asociado a los alcaloides, aunque con frecuencia se agrupan los alcaloides de acuerdo con





su procedencia botánica, se les ha considerado como productos terminales del metabolismo del nitrógeno. Algunas funciones de los alcaloides en el reino vegetal son las siguientes:

Valor defensivo: Protección del vegetal ante los actos predatorios de insectos y animales herbívoros, aunque hay alcaloides que son tóxicos tanto para el hombre como para los animales superiores, pero no para los insectos.

Valor alelopático: Las plantas utilizan los alcaloides para influir positiva o negativamente sobre otras especies próximas, bien para comunicarse con especies similares o inhibir el crecimiento de otras que podrían resultarles competitivas.

Se han reportado datos que sugieren que algunos alcaloides intervienen en el crecimiento vegetal ya sea por su capacidad de formar quelatos o intervenir en fenómenos de óxido-reducción, en lo que concierne su distribución en la planta, en ocasiones, se hallan restringidos a cierto órgano o a ciertas partes de la planta, a veces se les encuentra en toda la planta, hay casos en los que solo aparece en una etapa de crecimiento o época del año o en determinadas condiciones ecológicas (Xorge, 1979).

En estudios recientes se ha reportado la presencia de alcaloides en el género *Allium*, en los extractos de bulbos de *Allium sativum* con metanol y en cloroformo, se tuvieron resultados positivos para las pruebas cualitativas de *Mayer y Wagner*, que son dos de los ensayos químicos más usados para la determinación de alcaloides y obteniendo resultados positivos estas dos pruebas consideraron la presencia de alcaloides (Meriga *et al.*, 2012). En otro estudio, en hojas de *Allium ascalonicum* Linn, una especie de planta anual herbácea menor que *Allium cepa* y perteneciente a la familia *Amaryllidaceae*. Los extractos en metanol se sometieron a un análisis fitoquímico cuantitativo y los resultados mostraron concentraciones significativas de alcaloides (Adeniyi y Anyiam, 2004).

3.5.2 Saponinas

Las saponinas son glucósidos formados por sapogenina, que es un esteroide o un triterpeno enlazado a diversos azúcares (pentosas, hexosas o ácidos urónicos). Se encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal principalmente en hojas, raíces, tallos y flores.





Las saponinas son sustancias en su mayor parte amorfas, de sabor amargo, en general inodoras, de difícil cristalización. Sus soluciones coloidales al producir espuma, reducen fuertemente la tensión superficial por lo que pueden estabilizar emulsiones de grasas y aceites. Tiene propiedades estornutatorias, irritan los ojos y la piel cuando se tiene contacto, son termoresistentes y forman complejos con el colesterol y otros hidroxiesteroles. Algunas saponinas inhiben el crecimiento de ciertos microorganismos y hongos, ya que actúan precipitando esteroides de la pared celular.

Las saponinas crean lesiones gastrointestinales y producen hemólisis en diferentes tipos de glóbulos rojos. La hemólisis se define como la destrucción de los glóbulos rojos, que produce liberación de hemoglobina, el punto de ataque en la hemólisis es el colesterol de la membrana de los eritrocitos, al unirse la saponina al colesterol se da lugar a la formación de canales en la membrana y/o posible desnaturalización. Normalmente solo una pequeña porción de estas sustancias se absorbe en el intestino. Esta absorción puede aumentar en casos de inflamación intestinal o por irritación con laxantes fuertes o purgantes (Linder, 1995).

La toxicidad de las saponinas está en discusión ya que en algunos países se tienen límites permitidos, mientras que en otros se utilizan como aditivos para alimentos. En la actualidad se ha realizado un incremento en el conocimiento de estas sustancias, ya que aparte de manifestar efectos tóxicos, también se les ha asignado cualidades tecnológicas y medicinales (Elizalde *et al.*, 2009).

Se ha reportado en extractos de bulbos de *Allium sativum*, una especie en la familia de la cebolla (*Amaryllidaceae*), la presencia de saponinas en extractos acuosos-metanol para la prueba de espuma (Meriga *et al.*, 2012). En otro estudio las hojas de *Allium roseum* L. var. *odoratissimum*, una especie endémica del norte de África, se utilizó la prueba de saponificación para detectar la presencia de saponinas y cuantificando por el cálculo del índice de saponificación, se obtuvo como resultado positivo la presencia de saponinas (Najjaa *et al.*, 2011). También se ha reportado la presencia de saponinas en diversas especies de *Allium*, especialmente en bulbos y hojas de cebolla. Observaron que la concentración de saponinas en diferentes especies de *Allium*, fue de 0,10% en el puerro, 0,02% en el ajo y 0,09% en la cebolla (Mazza y Oomah, 2000).



Por otro lado, *Allium* es el género representativo más grande y más importante de la familia *Amaryllidaceae* y comprende 450 especies, en las cuales se han elucidado las saponinas en las especies más representativas del género como lo son: *Allium cepa* (cebolla) y *Allium sativum* (ajo), la cuales se muestran en la **Figura 3** (Lanzotti, 2012).

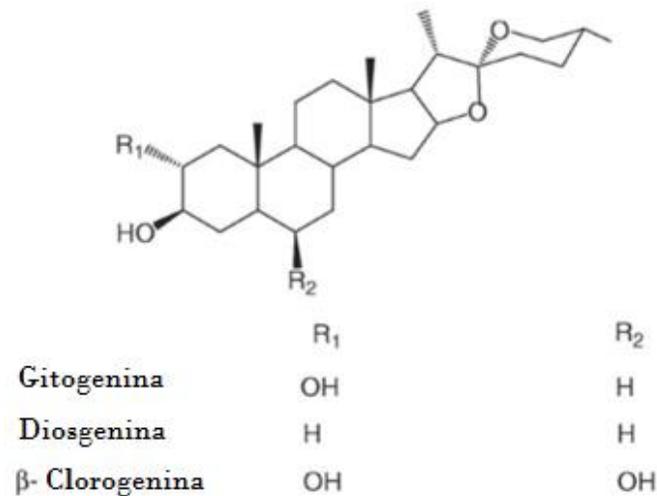


Figura 3. Saponinas principales encontradas en la cebolla y el ajo.

Igualmente se han descubierto un número más grande de saponinas en especies silvestres de cebolla como *Allium elburzense*, *Allium hirtifolium*, *Allium atrovioleaceum* y *Allium minutiflorum*; y más recientemente, de la cebolla blanca cultivada (*Allium cepa*), de esta última se ha obtenido una fracción de saponina en bruto de 18 mg/kg en producto fresco (Lanzotti *et al.*, 2012)

3.5.3 Taninos

Los taninos comprenden un grupo amplio de componentes fenólicos capaces de unirse a enzimas y a otras proteínas mediante puentes de hidrogeno, formando compuestos insolubles y termoestables. Esta reactividad particular, es decir, su facultad de combinarse con las proteínas, en la que se basa el curtido de pieles, que presentan los taninos hidrosolubles y los taninos condensados, define también su actividad biológica, que se manifiesta por su gusto astringente.

La presencia de estos polifenoles en los alimentos determina una disminución del valor biológico de estos, es decir, son responsables de la disminución de la digestibilidad



proteínica y de la utilización de aminoácidos azufrados en reacciones de metilación, inactivación de enzimas, así como de la inhibición de la absorción intestinal de azúcares (Derache, 1990).

Su dosis diaria admisible (DDA) es de 500 mg/día. La astringencia es el factor determinante de una reducida ingestión de los alimentos demasiado rica en taninos. Los taninos se localizan a nivel del tegumento de los vegetales, se acumulan en raíces, corteza, frutos, hojas y semillas, su actividad deriva de su capacidad de ligarse a las proteínas y a desnaturalizarlas, formando complejos estables. La actividad antinutricional de los taninos puede manifestarse también por la aptitud que tienen estos polifenoles a asociarse a los iones di y trivalentes, disminuyendo la disponibilidad de calcio, hierro y cobre. El ácido tánico, al combinarse con la vitamina B₁₂ y al factor intrínseco, disminuye la disponibilidad de esta vitamina (Derache, 1990).

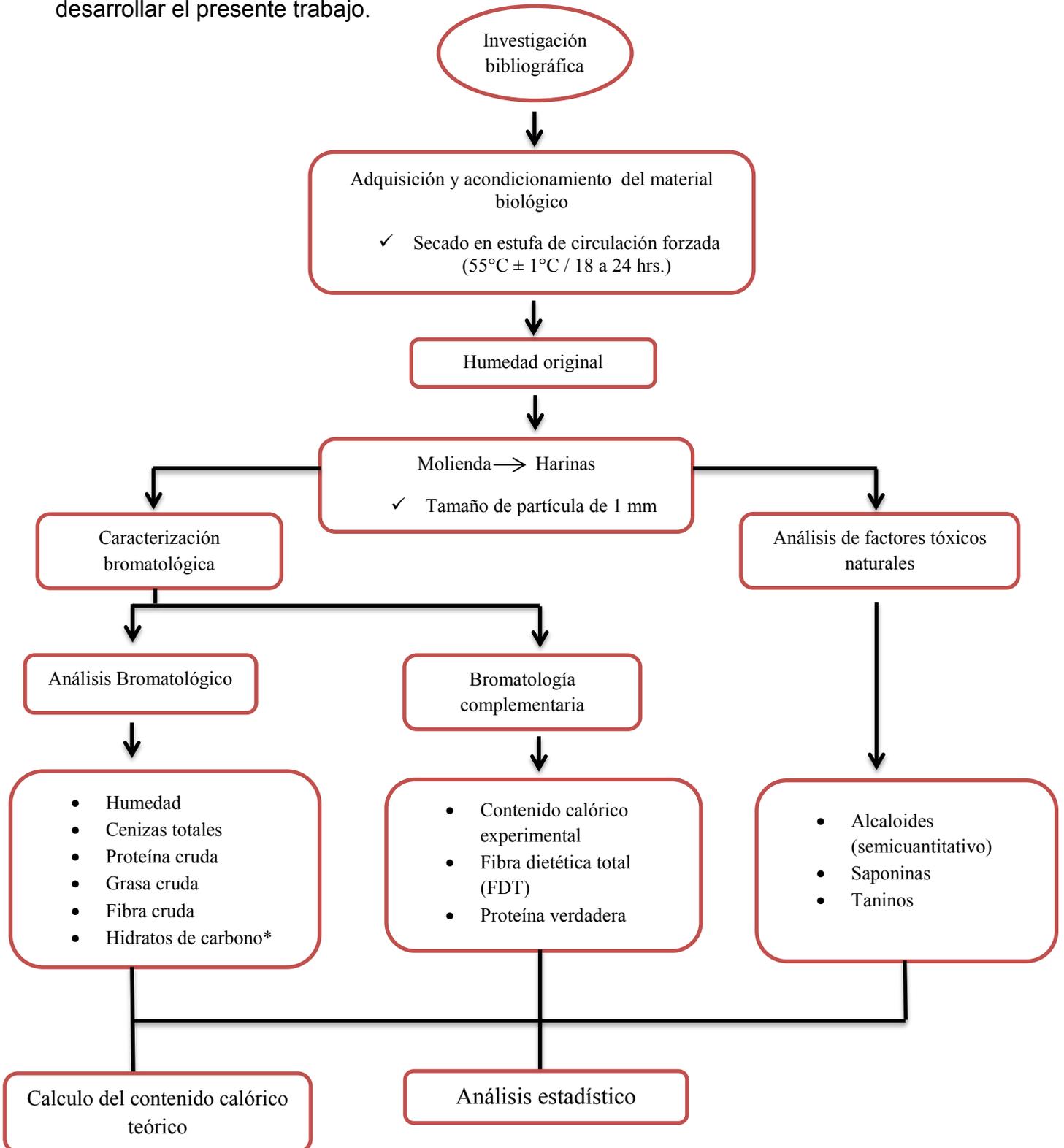
Pero los taninos ejercen así mismo un efecto beneficioso sobre la salud: tienen actividad antioxidante, previenen y mejoran enfermedades cardiovasculares, y por último, también presentan ejercer actividad anticancerígena (Camean y Repetto, 2006; Elizalde *et al.*, 2009)

Se ha reportado en extractos de bulbos de *Allium sativum* perteneciente al género *Allium*, la presencia de taninos, los resultados de las pruebas del extracto acuoso se expresan cualitativamente dando como positivo la prueba de FeCl₃ y la prueba de gelatina (Meriga *et al.*, 2012). En *Allium roseum* L. var. *odoratissimum* se reportó la presencia de taninos con precipitados muy abundantes y coloridos cualitativamente, en pruebas con cloruro férrico (1%), dando colores verdes negros o marrones azules indicaban la presencia de taninos catéquicos o gálicos, respectivamente (Najjaa *et al.*, 2011). En otros estudios, en cebollas blancas se reportó su presencia en extractos con acetona, los resultados se expresaron como equivalentes de catequina (CE) de 0.16 mg CE/g muestra (Im *et al.*, 2011), también se ha reportado la presencia de taninos en cebollas rojas, cebollas amarillas y cebollas blancas, en extractos de metanol/agua 50%. Los resultados se expresan en base seca y equivalente de catequina (mg CE/g muestra), para cebolla roja 3.67 ± 0.3, cebolla amarilla 3.19 ± 0.3 y cebolla blanca 1.78 ± 0.1 (Gorinstein *et al.*, 2009).



4. MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación se presenta el **esquema 1**, que nos muestra de forma ilustrativa la forma de desarrollar el presente trabajo.



Esquema 1. Diagrama general de trabajo.

*Calculados por diferencia

4.1 Investigación y revisión bibliográfica

Se realizó la búsqueda bibliográfica de la cebollita mexicana (*Allium kunthii*) y al revisar la literatura la información de composición química y factores tóxicos naturales de esta especie es limitada, confusa y los datos reportados son casi nulos. Por eso, se ha revisado de forma exhaustiva la composición química y los factores tóxicos naturales más representativos de su género (*Allium*) y en particular de la cebolla (*Allium cepa* L.). También se revisó en un orden superior taxonómico al de su género de *Allium kunthii*, en la familia *Amaryllidaceae* los factores tóxicos naturales más representativos, ya que hay pocos datos reportados en el género *Allium*.

Obteniendo la información del trabajo experimental (análisis bromatológico y toxicológico) de *Allium kunthii* se podrá comparar esta especie, con otros *Alliums* en particular a *Allium cepa* L. (cebolla) para ver sus ventajas o desventajas desde el punto de vista de composición bromatológica y factores tóxicos naturales presentes.

4.2 Obtención del material biológico

El material biológico fue proporcionado por la M. en C. María Edelmira Linares Mazarí, del Instituto de Biología de la UNAM, las cuales son procedentes de San Cristóbal de las Casas, Chiapas (**Figura 4**) y Ozumba, Estado de México (**Figura 5**).



Figura 4. Cebollita mexicana procedente de San Cristóbal de las Casas, Chiapas.



Figura 5. Cebollita mexicana procedente de Ozumba, Estado de México.



Posteriormente se hizo la limpieza y lavado de las muestras, separando las raíces de los bulbos, dejando únicamente la parte que representa a la cebolla (bulbo más 2.5 cm de hoja aproximadamente) además se separó impurezas y cuerpos extraños ajenos a las muestras (**Figura 6**).



Figura 6. Parte analizada de cebollita mexicana (bulbo y parte de hoja)

4.3 Acontecimiento de material biológico

Debido a que la cebolla es un producto vegetal con un contenido de humedad alto que va de 86 a 90% (Rothman y Dondo, 2014) se procedió a su acondicionamiento, obteniendo la humedad original de las muestras y un tamaño de partícula apropiado para los posteriores análisis.

4.3.1 Determinación de Humedad Original

Fundamento

La determinación de humedad se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles.

Material

- Estufa de circulación forzada Lab-line Imperial 3
- Balanza granataria





Procedimiento

El material biológico se pesó aproximadamente 800 g y se distribuyó en las charolas de la estufa de circulación forzada a un proceso de secado a 55 ± 1 °C de acuerdo al método propuesto por la AOAC. Se pesan periódicamente en la balanza granataria hasta que no presenta variación en su peso.

Cálculos

$$\% \text{ humedad} = \frac{P_i - P_f}{m} \times 100$$

Dónde:

P_i = peso de la charola con muestra antes de secada (en gramos)

P_f = peso de la charola con muestra después de secada (en gramos)

m = peso de la muestra (en gramos)

4.3.2 Molienda

Una vez secas las muestras se molieron en el molino de cuchillas de acero inoxidable Thomas Whiley Modelo 4, a un tamaño de partícula de 1 mm, para obtener las harinas correspondientes, las cuales se homogeneizaron y se guardaron en frascos secos y cerrados a temperatura ambiente.

4.4 Análisis bromatológico

De las harinas se realizó el análisis bromatológico de acuerdo a los métodos establecidos por la AOAC con ligeras modificaciones, y basándose en el esquema de Weende, que consta de las siguientes determinaciones: humedad, proteína cruda (N X 6.25), extracto etéreo (éter de petróleo), fibra cruda, cenizas e hidratos de carbono asimilables por diferencia, las cuales se realizaron mínimo por triplicado (Helrich, 1990).

4.4.1 Determinación de humedad analítica. AOAC ^{934.01}

Fundamento

Cuando se tienen muestras que a la temperatura de 100 a 110 °C se descompongan o contengan compuestos volátiles, es conveniente realizar esta determinación en una estufa a





presión reducida, esto con el fin de abatir la temperatura de ebullición del agua. Es un método de determinación directa por gravimetría, se basa en la eliminación de agua libre en el alimento, al pesar la muestra después de retirada el agua mediante evaporación.

Material

- Estufa de vacío (Lab-line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- Balanza analítica digital (Sartorius analytic)
- Desecador de vidrio
- Charolas de aluminio

Procedimiento

Se colocan las charolas de aluminio en una estufa de vacío hasta peso constante, posteriormente, se pesaron aproximadamente de 3 a 4 g de muestra en las charolas y se introdujeron nuevamente en la estufa de vacío la cual mantuvo las siguientes condiciones 84 ± 2 °C y 15 ± 2 in Hg.

Se realizaron pesadas periódicas de las charolas, sacándolas de la estufa y colocándolas inmediatamente en un desecador de vidrio, donde permanecían 15 minutos; después de este tiempo se pesaron en una balanza analítica, este procedimiento se realizó hasta que alcanzo peso constante (variación en la cuarta cifra decimal con respecto al valor anterior).

Cálculos

$$\% \text{ humedad} = \frac{P_i - P_f}{m} \times 100$$

Dónde:

P_i = peso de la charola con muestra antes de secada (en gramos)

P_f = peso de la charola con muestra después de secada (en gramos)

m = peso de la muestra (en gramos)





4.4.2 Determinación de cenizas. AOAC ^{942.05}

Fundamento

La determinación de cenizas se basa en la incineración de la materia orgánica contenida en la matriz alimentaria, considerándose a las cenizas como el residuo inorgánico en forma de óxidos y sales que queda después de incinerar la materia orgánica.

Material

- Mufla (Heraew Hanau)
- Balanza analítica (Sartorius analytic)
- Mechero Bunsen
- Crisoles de porcelana
- Desecador de vidrio
- Tripie, anillo de fierro y triangulo de porcelana
- Campana de extracción

Procedimiento

Los crisoles se colocan en la mufla a una temperatura de 550 °C hasta alcanzar peso constante. Se pesaron de 2 a 3 gramos de muestra en cada uno de ellos y se carbonizaron a fuego directo en la flama del mechero, dentro de la campana de extracción hasta que el desprendimiento de humo fue nulo o mínimo, y posteriormente se introdujeron los crisoles en la mufla por 3 horas a una temperatura constante de 550 °C para la calcinación del material biológico.

Transcurrido el tiempo se dejaron enfriar en un desecador por espacio de 30 minutos y se pesaron. Posteriormente, se volvieron a introducir en la mufla y se realizaron pesadas periódicas hasta alcanzar peso constante.

Cálculos

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_f - P_o}{m} \times 100$$





Dónde:

Pf = peso del crisol con la muestra después de incinerada (en gramos)

Po = peso del crisol a peso constante (en gramos)

m = peso de la muestra (en gramos)

4.4.3 Determinación de proteína cruda con ligeras modificaciones. AOAC ^{976.05}

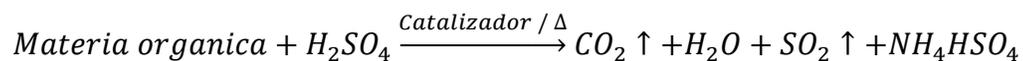
Fundamento

Considerando que el nitrógeno solo proviene de las proteínas, se puede tener un estimado de su concentración, ya que se encuentra en una concentración constante para cada una de ellas. La mayoría de las proteínas tiene un concentración del 16% de nitrógeno.

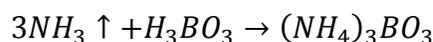
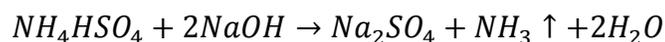
El método empleado para la determinación de nitrógeno en alimentos, es el método de Kjeldahl. Se basa en la digestión completa de la materia orgánica por calentamiento con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores metálicos y peróxido de hidrogeno, para reducir el nitrógeno orgánico hasta nitrógeno inorgánico en forma de amoniaco, el cual queda en solución en forma de sulfato ácido de amonio. El digerido, una vez alcalinizado con hidróxido de sodio, se destila directamente o por arrastre de vapor para desprender el amoniaco, el cual es atrapado en una solución de ácido bórico, formando borato de amonio el cual se titula con ácido clorhídrico. El contenido de proteína es 6.25 más veces que el contenido de nitrógeno.

Las reacciones antes descritas se muestran a continuación:

* *Digestión*

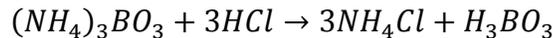


* *Destilación*





* Titulación



Material y reactivos

- Digestor TECATOR Mod. Ab-20/40
- Equipo de microdestilación, Kjeltex Auto Analyzer Tecator Mod. 1030
- Tubos de digestión Tecator de 100 mL
- Balanza analítica (Sartorius analytic)
- Mezcla digestiva (a)
- Peróxido de hidrógeno al 30%
- Sulfato de potasio R.A
- Solución de hidróxido de sodio al 40% p/v
- Solución de ácido bórico con indicadores (b)
 - Verde de bromocresol al 0.1% en metanol
 - Rojo de metilo al 0.1% en metanol
- Solución de ácido clorhídrico 0.01 N valorada
 - (a) Disolver 3 g de sulfato de cobre ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) en 20 mL de agua destilada y una vez que esté bien disuelto, agregar 50 mL de ácido ortofosfórico (H_3PO_4); a continuación se adiciona con precaución 430 mL de ácido sulfúrico concentrado resbalando por la pared del recipiente. Agitar por aproximadamente 30 minutos.
 - (b) Pesar 10 g de ácido bórico y colocarlo en un matraz aforado de 1 L; se adiciona agua y se agita hasta disolverlo, a continuación se adiciona 10 mL del indicador de verde de bromocresol al 0.1% en metanol (100 mg de verde de bromocresol en 100 mL de metanol) y 7 mL del indicador de rojo de metilo al 0.1% en metanol (100 mg de rojo de metilo en 100 mL de metanol). Se ajusta el color a un tono café rojizo con ácido o álcali según se requiera y se afora a 1 L con agua destilada.

Procedimiento

Se pesa aproximadamente 100 mg de muestra y se coloca en el tubo de digestión, se añade 0.5 g de sulfato de potasio y 3 mL de mezcla digestiva; se colocan los tubos en el digestor durante 15 minutos a una temperatura de 340 °C. Después de este tiempo, se retiran del digestor y se dejan enfriar a temperatura ambiente, se les añade 1.5 mL de peróxido de hidrógeno al 30%. Nuevamente se colocan en el digestor a 370 °C por intervalo de una hora.





Se considera que la digestión está realizada, cuando el tubo no muestra manchas ni puntos negros y además la mezcla de digestión es translúcida con un ligero tono verde-azuloso.

Una vez realizada la digestión, se dejan enfriar los tubos y se procede a realizar la destilación en el equipo KJELTEC AUTO 1030 ANALYZER, utilizando para la titulación HCL 0.01 N y NaOH al 40% y como indicador ácido bórico con indicadores verde de bromocresol y rojo de metilo.

Cálculos

Para realizar los cálculos correr un blanco, donde se sustituye la muestra por el equivalente en peso de glucosa o sacarosa; trabajándolo de la misma forma que las muestras.

$$\% N_2 = \frac{(P - B) \times N \times \text{meq} \times 100}{m}$$

$$\% \text{ Proteína cruda} = \% N_2 \times F$$

Dónde:

P = mL de la titulación de la muestra

B = mL de la titulación del blanco

N = normalidad de la solución de HCl

meq = miliequivalente de nitrógeno (0.014)

m = peso de la muestra (en gramos)

F = factor de conversión (6.25)*

* Con respecto al factor de conversión se debe aclarar que este depende de cada tipo de muestra, el cual está relacionado al contenido de nitrógeno de la proteína en estudio.

4.4.4 Determinación de grasa cruda. AOAC ^{920.39}

Fundamento

El contenido de grasa es aquel que es extraído por disolventes no polares como lo son el éter de petróleo y éter etílico. La determinación se basa en la extracción, con una fracción de éter de petróleo o con éter etílico, del material seco y molido en un aparato de extracción continua, donde la muestra se le hace pasar vapor del disolvente y la grasa se cuantifica por pérdida de peso en la muestra o por grasa extraída.





Material y reactivos

- Aparato de extracción Goldfish (LABCONCO Mod 35001-00CV)
- Porta dedales de vidrio
- Vasos de borde esmerilado (LABCONCO 35051)
- Cartuchos de celulosa de 22 x 80 mm
- Tubos recuperadores de disolvente
- Balanza analítica (Sartorius analytic)
- Estufa de vacío (Lab-line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- Bomba de recirculación (Little Grant pump Mod. 1)
- Éter de petróleo R.A.

Procedimiento

Los vasos esmerilados se colocaron en la estufa de vacío hasta que alcanzaron peso constante. En los cartuchos de celulosa se utilizó la muestra seca resultante de la determinación de humedad, colocando la muestra envuelta en papel dentro del cartucho de celulosa, posteriormente los cartuchos se introdujeron en los portadedales de vidrio y se colocaron en el compartimiento de extracción de Goldfish. En los vasos esmerilados se colocaron aproximadamente 50 mL de éter de petróleo y se colocaron en el aparato de extracción, el cual estaba conectado a una bomba de recirculación de agua helada. El período de extracción es aproximadamente 2 horas y para verificar la extracción de toda la grasa, se deja caer una gota de la descarga sobre un trozo de papel filtro, al evaporarse el disolvente no debe dejar residuo de grasa. Al finalizar la extracción se recupera el disolvente y cuando los vasos se encuentran casi libres de disolvente, se retiraron del equipo y fueron colocados por unos minutos en una campana de extracción, para asegurar la completa evaporación del disolvente. Posteriormente, los vasos fueron colocados en la estufa de vacío hasta alcanzar peso constante.

Cálculos

$$\% \text{ Grasa} = \frac{P_f - P_o}{m} \times 100$$

Dónde:

Pf = peso del recipiente después de la extracción (en gramos)





Po = peso del recipiente antes de la extracción (en gramos)

m = peso de la muestra original (en gramos)

4.4.5 Determinación de fibra cruda. AOAC ^{962.09}

Fundamento

La fibra cruda es el residuo orgánico insoluble y no digerible que queda después de tratar la muestra desengrasada de una digestión con ácido sulfúrico al 1.25% e hidróxido de sodio al 1.25%, posterior lavado con alcohol e incineración del material insoluble bajo condiciones bien específicas. Este tratamiento empírico proporciona la fibra cruda, que consiste principalmente de celulosa y cierta proporción de lignina y hemicelulosa contenidas en la muestra original.

Material y reactivos

- Aparato de digestión (LABCONCO)
- Embudo Buchner con malla metálica tipo California
- Vasos de Berzelius de 600 mL (Kimax)
- Estufa de vacío (Lab-line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- Mufla THERMOLYNE, Mod. 1500
- Balanza analítica (Sartorius analytic)
- Crisol de porcelana a peso constante
- Matraces de vidrio Kitasato (Kimax)
- Mechero Bunsen
- Tripie, anillo de hierro y triángulo de porcelana
- Solución de H₂SO₄ al 1.25% m/v
- Solución de NaOH al 1.25% m/v
- Antiespumante (emulsión SIGMA-B)
- Alcohol etílico
- Silicato de aluminio (limpio y calcinado)





Procedimiento

Se utiliza la muestra seca y desengrasada resultante de las determinaciones de humedad y grasa cruda, se pasó cuantitativamente a los vasos de Berzelius a los que se les añadió 0.5 g de silicato de aluminio y perlas de ebullición, después se adicionaron 200 mL de H₂SO₄ al 1.25% (m/v) hirviendo y unas 3 gotas de antiespumante, se colocó inmediatamente en el aparato de digestión, el cual debe estar previamente caliente; digerir la mezcla por espacio de 30 minutos exactamente. Transcurrido dicho período se vació el contenido sobre un embudo tipo California y se filtró con ayuda de vacío, lavando el residuo con agua destilada caliente hasta eliminar el ácido (aproximadamente 500 mL). Una vez lavado el residuo se transfirió nuevamente al vaso de Berzelius de forma cuantitativa y se adicionaron 200 mL de NaOH al 1.25% (m/v) hirviendo y unas 3 gotas de antiespumante, se vuelve a colocar inmediatamente en el aparato LABCONCO para una segunda digestión por 30 minutos exactamente, se repite el tipo de filtrado y lavado. Se retiran las perlas de ebullición lavándolas con agua, para recuperar el material aldehído. Por último adicionar al residuo 25 mL de etanol etílico.

El residuo se transfiere de forma cuantitativa a un crisol de porcelana (a peso constante) y se colocó en la estufa de vacío para su secado hasta que alcanzó peso constante. Posteriormente, se carbonizó el residuo seco en la flama del mechero y se introdujo en la mufla para su incineración. Los crisoles fueron pesados periódicamente hasta que alcanzaron peso constante.

Cálculos

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{P_s - P_c}{m} \times 100$$

Dónde:

P_s = peso del crisol con residuo después de secado (en gramos)

P_c = peso del crisol con residuo después de calcinado (en gramos)

m = peso de la muestra original (en gramos)





4.4.6 Determinación de hidratos de carbono

El porcentaje de hidratos de carbono se calculó por diferencia, restando al 100% la suma de los porcentajes de humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda y fibra cruda.

Cálculos

$$\% \text{ hidratos de carbono} = 100 - (\% \text{ Humedad} + \% \text{ Ceniza} + \% \text{ Proteína} + \% \text{ Grasa} + \% \text{ Fibra})$$

4.5 Bromatología complementaria

4.5.1 Determinación de densidad calórica

Fundamento

Para obtener el contenido calórico que es la cantidad de energía en términos de kJ que proporciona un gramo de alimento, se sometió una fracción de la muestra a una combustión total, dentro de un recipiente cerrado y en presencia de un exceso de oxígeno que asegure una completa combustión. En el caso específico de la bomba calorimétrica, el aumento de la temperatura por efecto de la combustión, es detectado por un termopar, el cual a su vez está acoplado a un galvanómetro de alta sensibilidad, produciéndose una diflexión que se traduce en una lectura, la cual se compara con el cambio de temperatura que se produce con un estándar de referencia. Al interpolar en una curva de calibración previamente establecida de un material de contenido calórico certificado, proporciona su valor calórico (Hajiev *et al.*, 1980; Bowman y Russell, 2003)

Material y reactivos

- Ácido benzoico (valor calórico certificado)
- Balanza analítica (Sartorius Extend)
- Desecador de vidrio
- Estufa de secado a presión reducida (BLUE M)
- Mecha de algodón de 75 mm de longitud
- Crisol de acero inoxidable de 25.4 mm de diámetro (1 pulgada)
- Mango metálico compactador
- Bomba calorimétrica balística GALLENKAMP, mod. CBB-330-010L





- Cilindro de Oxígeno

Procedimiento

Pesar aproximadamente 0.5 g de muestra bien homogénea y en forma de harina seca. La compactación de las muestras se realizó con el mango especial, con un extremo de la mecha dentro de éstas, por lo cual se realizó una segunda pesada para así obtener el peso final.

Después de esto se efectuó la combustión de cada muestra con ayuda de la bomba calorimétrica, colocando de uno en uno cada crisol en la base superior del pilar central de la bomba, se introdujo la punta libre de la mecha en el alambre de ignición, se cerró el cartucho con el capuchón de tal forma que el cierre fuese hermético, colocando el sensor del termopar en el orificio del capuchón. La presión en la bomba debe ser de 25 bars de 20 a 30 segundos, por lo cual se utilizó un cilindro de oxígeno; alcanzada esta presión se cerró la válvula de paso y se ajustó el indicador del galvanómetro a cero, se deben de mantener las condiciones por 10 segundos para poder oprimir el botón de ignición y comenzar la combustión que da la lectura máxima alrededor de 3 minutos, registrada en el galvanómetro.

Se desconectó el sensor, se liberaron los gases y se quitó el capuchón para atemperar con baño de agua-hielo para seguir con la siguiente determinación.

Cálculos

Se utiliza una curva de calibración de ácido benzoico (Anexo III), con las lecturas obtenidas para la combustión del ácido benzoico, en donde se convirtieron los gramos de ácido benzoico a kJ y kcal, para que con los datos se trazará la curva de calibración del contenido calórico en kJ (abscisas) vs lectura (ordenadas) se interpola la densidad calórica de cada muestra.

4.5.2 Determinación de fibra dietética total. AOAC ^{985.29}

Fundamento

En este ensayo se mide el contenido de fibra dietética de los alimentos usando una combinación de métodos enzimáticos y gravimétricos. Las muestras de alimentos secas y libres de grasa son gelatinizadas con α -amilasa (termoestable), para hidrolizar el almidón e





hidratos de carbono amiláceos, posteriormente digeridas enzimáticamente con proteasa y amiloglucosidasa para eliminar la proteína y almidón presente en la muestra. Para precipitar la fibra dietética soluble se adiciona etanol. Los residuos obtenidos son filtrados y lavados con etanol y acetona. Después de secarlos, los residuos se pesan, en la mitad de las muestras se mide la proteína y las otras son calcinadas a cenizas. La fibra dietética se obtiene restando al peso del residuo, el peso de la proteína y el de la ceniza (AOAC, 1995)

Material y reactivos

- Crisol Gooch de Porosidad # 2 (grueso 40 a 60 micrones)
- Estufa de vacío (Lab-line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- Desecador
- Mufla THERMOLYNE, Mod. 1500
- Baño de aceite a 95 °C
- Baño de agua constante a 60 °C con agitación constante
- Balanza analítica (Sartorius analytic)
- Vasos de precipitados de 100 mL de forma alta.
- Potenciómetro Thermo Scientific Orion 3 Star; Estandarizado a pH 4.0 y pH 7.0
- Matraces Kitasato de 1000 mL
- Alargadera de hule para crisol Gooch
- Barras magnéticas 22 x 8 mm
- Pipeta automática de 50 a 200 μ L
- Termómetro (-10 a 100 °C)
- Alcohol etílico R.A.
- Acetona Q.P.
- Etanol al 96%
- Etanol al 78% (a)
- Amortiguador de fosfatos 0.08 M, pH 6.0 (b)
 - Fosfato de sodio dibásico anhidro, reactivo analítico.
 - Fosfato de sodio monobásico anhidro reactivo analítico.
- Hidróxido de sodio 0.275 N (c)
- Ácido clorhídrico 0.325 N (d)





- Kit Total Dietary Fiber Assay (SIGMA TDF-100A). Este equipo contiene reactivos:
 - α - Amilasa, estable al calor (10 mL); (Sigma A 3306)
 - Proteasa de *Bacillus licheniformis* (500 mg); (Sigma P 3910)
 - Amiloglucosidasa de *Aspergillus niger* (10 mL); (Sigma A 9913)
 - Celita TM, lavada con ácido (50 g); (Sigma C 8656)

- a) Etanol al 78%. Medir 207 mL de agua en un matraz volumétrico de un litro. Agregar etanol al 95%. Mezclar y llevar al volumen con etanol al 95%.
- b) Amortiguador de fosfatos, 0.08 M, pH 6.0. Disolver 1.4 g de Na₂HPO₄, anhidro y 8.4 g de NaH₂PO₄ anhidro en aproximadamente 700 mL de agua. Diluir sin llevar a aforo con agua. Ajustar a pH 6.0 si es necesario con NaOH o H₃PO₄ aforar a un litro y mezclar.
- c) Solución de hidróxido de sodio, 0.275 N. Diluir 275 mL de solución de NaOH 1.0 N en un 1 litro con agua destilada.
- d) Solución de Ácido clorhídrico, 0.325 N. Diluir 325 mL de solución de HCl 1.0 N en un 1 litro de agua destilada.

Procedimiento

a) Preparación de los crisoles

Lavar los crisoles, secarlos, calentarlos una hora a 450 °C y enfriarlos, remojar y enjuagar los crisoles con agua y secarlos. Agregar 0.5 g de Celita a cada crisol y secar a 130 °C hasta peso constante. Enfriar en desecador y pesar hasta tener 0.1 mg de diferencia. Registrar este peso como “Celita + Peso del crisol” o **P₁**.

b) Hidrólisis enzimática

Pesar cuatro muestras de 0.5 g de cada material por analizar y poner en vasos de precipitado de 100 mL de forma alta. Los pesos de las muestras no deben tener una diferencia mayor de 20 mg.

Agregar, a cada vaso, 25 mL de amortiguador de fosfatos pH 6.0, 0.05 mL de α -Amilasa a cada vaso y mezclar muy bien. Cubrir cada vaso con papel aluminio y poner en un baño de aceite a 95 °C. Agitar suavemente los vasos a intervalos de 5 minutos. Incubar por 15





minutos después de que la temperatura dentro de los vasos alcance aproximadamente 95 °C. Dejar enfriar las soluciones a temperatura ambiente. Ajustar el pH de las soluciones a 7.5 ± 0.2 agregando 5 mL de solución de hidróxido de sodio 0.275 N a cada vaso. Verificar el pH y ajustar si es necesario, ya sea con NaOH o HCl.

Se prepara una solución de proteasa de 25 mg/mL en amortiguador de fosfatos pH 6.0, inmediatamente antes de utilizarse. Pipetear 0.1 mL (2.5 mg de proteasa) dentro de cada vaso. Cubrir cada vaso con papel aluminio y poner en un baño de agua con agitación continua a 60 °C, incubar por 30 minutos después de que la temperatura en las soluciones alcance 60 °C.

Dejar enfriar las soluciones a temperatura ambiente. Ajustar el pH de las soluciones a un pH de 4.0 a 4.6 agregando 5 mL de HCl 0.325 N a cada vaso. Verificar el pH y ajustar si es necesario ya sea con NaOH o HCl.

Agregar 0.05 mL de amilogucosidasa a cada vaso. Cubrir cada vaso con papel aluminio y poner en un baño de agua con agitación continua a 60 °C, incubar por 30 minutos después de que la temperatura en las soluciones alcance los 60 °C. Agregar 125 mL de etanol al 95% a cada vaso. Dejar la solución durante toda la noche a temperatura ambiente para permitir la precipitación completa de la fibra dietética soluble.

c) Filtración

Se monta un sistema de filtración al vacío para cada crisol Gooch. Se humedece y se redistribuye la cama de Celita en cada crisol usando etanol al 78%. Aplicar succión suave para atraer la Celita al filtro y formar una superficie lisa. Mantener la succión suave y pasar cuantitativamente el precipitado y suspensión de cada uno de los vasos a sus respectivos crisoles.

Lavar el residuo con tres porciones de 10 mL de etanol al 78%, dos porciones de 5 mL de etanol al 95% y dos porciones de 5 mL de acetona. Secar los crisoles que contienen los residuos durante la noche en una estufa con vacío a 70 °C.

Enfriar todos los crisoles en un desecador, pesar hasta la cuarta cifra decimal (0.1 mg), y registrar estos pesos como “Residuo + Celita + Peso del crisol” o **P₂**.





d) Determinación de cenizas

Dos crisoles de la muestra y dos crisoles del blanco se calcinan 5 horas a 550 °C hasta peso constante. Enfriar en desecador, y pesar hasta la cuarta decimal (0.1 mg) y registrar este peso como “Cenizas + Celita + Peso del crisol” o **P₃**.

e) Determinación de Proteína

Con ayuda de una espátula sacar el residuo + Celita de cada crisol y pesarlo, registrar este peso como “Residuo + Celita” o **P₄**, moler en un mortero y pesar de este polvo por duplicado 100 mg para hacer la determinación de proteína.

Cálculos

Contenido de cenizas en el residuo de cada crisol

$$C = P_3 - P_1$$

Dónde:

C = g de cenizas en el crisol

P₁ = Celita + peso del crisol

P₃ = Cenizas + Celita + peso del crisol

Contenido de proteína en el residuo de cada crisol

$$N = \frac{(V_m - V_b) \times \text{meq} \times N_{\text{HCL}} \times M}{m}$$

$$P = N \times F$$

Dónde:

N = g de nitrógeno en el residuo + celita o (**P₄**)

P = g de proteína en el residuo + celita o (**P₄**)

V_m = Volumen de HCL gastado en la titulación de la muestra

V_b = Volumen de HCL gastado en la titulación del blanco

Meq = Miliequivalente del N (Peso molecular/1000 = 0.014)

N_{HCL} = Normalidad de la solución valorada de HCL

m = g de muestra (residuo + celita) utilizada en la determinación

F = Factor de conversión a proteína 6.25

M = g de residuo + Celita (**P₄**)





$$\% \text{ FDT} = \frac{(R - P - C - B) \times 100}{P_m}$$

Dónde:

FDT = fibra dietética total

B = R (blanco) – P (blanco) – C (blanco)

R = peso del residuo que corresponde a la definición de $P_2 - P_1$ (mg)

P = peso promedio de proteína en el crisol (mg)

C = peso promedio de cenizas en el crisol (mg) o ($P_3 - P_1$)

P_m = peso de la muestra (mg)

4.5.3 Determinación de proteína verdadera. AOAC 1995

Fundamento

La técnica se basa en la solubilización del nitrógeno no proteínico así como de la proteína soluble y la posterior precipitación de dicha proteína con tungstato de sodio, con el fin de eliminar el nitrógeno no proteínico que puede interferir en la determinación del nitrógeno por medio de un micro-Kjeldahl.

Con este método la proteína insoluble también es tomada en cuenta, ya que en la etapa de filtración esta queda incluida junto con la proteína soluble precipitada (AOAC, 1995).

Material y reactivos

- Digestor TECATOR Mod. Ab-20/40
- Equipo de microdestilación, Kjeltex Auto Analyzer Tecator Mod. 1030
- Tubos de digestión Tecator de 100 mL
- Balanza analítica (Sartorius analytic)
- Agitador magnético marca CORNING
- Barras magnéticas de 12 x 5 mm
- Papel Whatman # 50 de 5 cm diámetro (poro cerrado) o equivalente
- Mezcla digestiva (a)
- Solución precipitante (b)
- Peróxido de hidrógeno al 30%
- Sulfato de potasio R.A.





- Solución de hidróxido de sodio al 40% p/v
- Solución de ácido bórico con indicadores (c)
 - Verde de bromocresol al 0.1% en metanol
 - Rojo de metilo al 0.1% en metanol
- Solución de ácido clorhídrico 0.01 N valorada
 - (a) Disolver 3 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en 20 mL de agua destilada y una vez que esté bien disuelto, agregar 50 mL de ácido ortofosfórico (H_3PO_4); a continuación adicionar con precaución 430 mL de ácido sulfúrico concentrado resbalando por la pared del recipiente. se agita por aproximadamente 30 minutos.
 - (b) Disolver 5 g de tungstato de sodio y 1.51 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ en 20 mL de agua, añadir 22 mL de HCl 2 N y mezclar; aforar a 50 mL con agua destilada.
 - (c) Pesar 10 g de ácido bórico y colocarlo en un matraz aforado de 1 L; se adiciona agua y agitar hasta disolverlo, a continuación se adicionan 10 mL del indicador de verde de bromocresol al 0.1% en metanol (100 mg de verde de bromocresol en 100 mL de metanol) y 7 mL del indicador de rojo de metilo al 0.1% en metanol (100 mg de rojo de metilo en 100 mL de metanol). Se ajusta el color a un tono café rojizo con ácido o álcali según se requiera y se afora a 1 L con agua destilada.

Procedimiento

a) Proceso de precipitación:

Se pesó aproximadamente 100 mg de muestra finamente molida y se colocó en un vaso de precipitado de 50 mL. Después se agregaron 5 mL de agua caliente; agitando mecánicamente por 15 minutos. Posteriormente se adicionaron 2 mL de solución precipitante y se dejó reposar 10 min, transcurrido el tiempo, se transfirió cuantitativamente para su filtración en papel (Whatman #50 ó 542) utilizando 25 mL de agua destilada caliente y ligera succión con vacío.

b) Proceso de digestión:

Se colocó el papel filtro con el precipitado en un tubo de digestión, al cual se le agregaron 0.5 g de sulfato de potasio y 5 mL de mezcla digestiva, se colocó el tubo en el digestor y se calienta aproximadamente 15 minutos, se retira del digestor y se espera a que se enfríe para





añadirle 3 mL de peróxido de hidrogeno al 30%; se introduce nuevamente al digestor y se calienta hasta que la digestión sea completa (temperatura de digestión de 370 °C)

c) Destilación y titulación:

Una vez efectuada la digestión se deja enfriar el tubo digestor y se procede a la destilación, en el destilador Kjeltel, utilizando para la titulación HCL 0.01 N y NaOH al 40% y como indicador el ácido bórico con indicadores verde de bromocresol y rojo de metilo.

Cálculos

Para realizar los cálculos correr un blanco, donde se sustituye la muestra por el equivalente en peso de glucosa o sacarosa; trabajándolo de la misma forma que las muestras.

$$\% N_2 = \frac{(P - B) \times N \times \text{meq} \times 100}{m}$$

$$\% \text{ Proteína verdadera} = \% N_2 \times F$$

Dónde:

P = mL de la titulación de la muestra

B = mL de la titulación del blanco

N = Normalidad de la solución de HCl

meq = miliequivalente de nitrógeno (0.014)

m = Peso de la muestra (en gramos)

F = Factor de conversión (6.25)*

* Con respeto al factor de conversión se debe aclarar que este depende de cada tipo de muestra, el cual está relacionado al contenido de nitrógeno de la proteína en estudio.

4.6 Determinación de factores tóxicos naturales

4.6.1 Determinación semi-cuantitativa de Alcaloides

Fundamento

El material biológico seco y desengrasado de la planta se extrae con metanol. Se acidifica la solución con ácido, con el fin de precipitar proteínas y componentes que puedan intervenir en la determinación. Posterior se lleva a pH básico con amoniaco y se le extrae de manera





diferencial, dos porciones de extractos; cloroformo y cloroformo-etanol. A los 2 extractos obtenidos se les hace reaccionar con 7 diferentes reactivos para alcaloides:

- 1) Reactivo de MAYER (Cloruro de mercurio y 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 fosfomolibdénico)
- 5) Reactivo de HAGER (Ácido pícrico)
- 6) Reactivo de SCHEIBLER (Ácido fosfotúngstico)
- 7) Reactivo de ACIDO SILICOTUNGSTENICO.

El precipitado formado con los reactivos para alcaloides varía 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 es 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 (Abisch y Reichstein, 1960; Harborne, 1998).

Material y reactivos.

- Baño de agua constante a 50 °C con agitación constante
- Embudos de separación de 125 mL
- Embudo de tallo corto
- Papel filtro Whatman #52
- Rotavapor marca BUCHI Mod. R.
- Probetas graduadas de 10 mL y 25 mL
- Matraces bola de fondo plano de 125 mL
- Matraz KITASATO de 60 mL
- Pipeta volumétrica de 2 mL y 10 mL
- Soporte universal
- Pinzas de 3 dedos
- Potenciómetro Thermo Scientific (Orion 3 Star)
- Ácido sulfúrico al 1%
- Ácido nítrico (30% ó $d = 1.180$)
- Ácido clorhídrico al 1%





- Ácido silicotúngstico ($4\text{H}_2\text{O}-\text{SO}_2-12\text{WO}_2-22\text{H}_2\text{O}$)
- Metanol R.A.
- Etanol R.A.
- Agua destilada
- Hexano
- Agua desionizada
- Amoníaco concentrado al 25%
- Cloroformo R.A.
- Sulfato de sodio anhidro R.A.
- Solución media-saturada de Sulfato de sodio
- Mezcla etanol-cloroformo (3:2)
- Solución de Ácido sulfúrico 0.01 N
- Reactivo de MAYER (Cloruro de mercurio y yoduro de potasio) (1)
- Reactivo de WAGNER (Triyoduro de potasio) (2)
- Reactivo de DRAGENDORFF (Nitrato de bismuto y yoduro de potasio) (3)
- Reactivo de SONNENSCHNEIN (Ácido fosfomolibdénico) (4)
- Reactivo de HAGER (Ácido pícrico) (5)
- Reactivo de SCHEIBLER (Ácido fosfotúngstico) (6)
- Reactivo de ACIDO SILICOTUNGSTENICO (7)

(1) Se disuelven 1.36 g de HgCl_2 en 60 mL de agua y 5 g de KI en 10 mL de agua se juntan las 2 soluciones y se aforan a 100 mL con agua destilada.

(2) Se disuelven 1.27 g de yodo (resublimado) y 2 g de yoduro de potasio en 20 mL de agua; la solución se afora a 100 mL con agua destilada.

(3) Se disuelven 8.0 g de nitrato de bismuto pentahidratado en 20 mL de ácido nítrico (densidad 1.18 igual a 30%) y 27.2 g de KI en 50 mL de agua. Se mezclaron las 2 soluciones y se dejaron reposar 24 horas. Se decanta la solución y se afora con agua a 100 mL.

(4) A 100 mL de una solución caliente de molibdato de amonio (43 g/100 mL) adicionar 100 mL de una solución caliente de fosfato de sodio dibásico anhidro (10 g/100 mL); a esta solución clara adicionarle 10 mL de ácido nítrico concentrado, al precipitado amarillo que se





formó dejar 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 solución de carbonato de sodio anhidro caliente (28 g/100 mL). Una solución clara debe formarse, y esta solución se evapora a sequedad en una cápsula; flamear la superficie del polvo con un mechero bunsen hasta encenderse para evaporar las sales de amonio. Pesar el polvo, y debe ser aproximadamente 30 g (si se realizó 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, a esta solución adicionar agua destilada hasta llevar a un aforo de 300 mL; resultando una solución clara amarilla de ácido fosfomolibdico.

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

(6) Se disuelven en 50 mL de agua 10 g de tungstato de sodio y 7 g de fosfato disódico. La solución se acidula con ácido nítrico.

(7) Se disuelven 5.0 g de ácido silicotúngstico en ácido sulfúrico (6N) necesario para preparar 100 mL de solución.

Procedimiento

De la muestra seca y molida se pesa 5 g y se adiciona 40 mL de metanol dejando reposar por 16 horas; después del tiempo cumplido se calienta durante 4 horas a 50 °C (baño de agua con agitación constante). La mezcla se filtra en papel (Whatman #52) a vacío y el residuo se lava con 20 mL de metanol, los extractos se combinan y se evapora el metanol en un rotavapor. El residuo se resuspende con 2 mL de metanol y 12 mL de HCl al 1%; la mezcla se agita y se filtra con papel (Whatman #52) a vacío ; lavando el residuo con 8 mL de HCL al 1%, se combinan los extractos filtrados y se alcaliniza la solución con amoniaco concentrado (aproximadamente 25%) a un pH 9.5 ± 0.2 . Se extrae con tres porciones de 20 mL de cloroformo cada una, dando la FRACCIÓN "A".

La solución acuosa residual de la anterior extracción, se extrae 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 A y B se lavan con 5 mL de solución medio saturada de sulfato de sodio y se seca en una cama de sulfato de sodio anhidro.

Las dos fracciones A y B, se evaporan en un rotavapor por separado; y el residuo se resuspende con 1.5 mL de HCl al 1% y se agita vigorosamente con 1.5 mL de cloroformo. La fase acuosa de cada fracción es pipeteada y filtrada a través de algodón y dividida en 7 porciones que se hacen reaccionar con cada uno de los 7 reactivos de alcaloides.

Resultados

Debido a la frecuencia de falsos positivos con los reactivos comunes de alcaloides, solo se consideran como positiva la presencia de alcaloides cuando cualquiera de las dos fracciones (A ó B) dan reacción positiva con los siete reactivos enumerados:

- (1) Reactivo de MAYER: La mayoría de las soluciones aciduladas de alcaloides forman precipitados blancos.
- (2) Reactivo de WAGNER: La mayoría de las soluciones aciduladas de alcaloides forman precipitados floculentos color marrón.
- (3) Reactivo de DRAGENDORFF: Se usa sobre soluciones aciduladas. Forma un precipitado anaranjado-marrón.
- (4) Reactivo de SONNENCHEIN: Los alcaloides y sales de amonio dan precipitados amarillos.
- (5) Reactivo de HAGER: La mayoría de soluciones aciduladas de alcaloides forman precipitados color amarillo.
- (6) Reactivo de SCHEIBLER: La solución acidulada forma un precipitado blanco-grisáceo.
- (7) Reactivo de ACIDO SILICOTUGSTENICO: La solución acidulada forma un precipitado blanco-grisáceo.

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





4.6.2 Determinación de Saponinas.

Fundamento

La detección de saponinas en extracto de plantas se lleva a cabo con una técnica de disoluciones seriadas en la cual se determina el punto final por una estimación visual de la hemólisis de los glóbulos rojos de sangre humana.

La determinación está basada en el aprovechamiento de la capacidad hemolítica de las saponinas sobre eritrocitos. Se emplea un método de microtitulación en el cual se pone en contacto un extracto metanólico de la muestra resuspendido en solución salina, con los eritrocitos sensibilizados de sangre humana (Sotheeswaran, 1988; Girón, 1992).

Material y reactivos

- Solución anticoagulante
- Solución salina al 0.9% preparada con agua desionizada
- Solución de metanol R.A. y agua destilada al 85% (v/v)
- Sangre humana tipo O, Rh +
- Alcohol etílico desnaturalizado
- Tripsina de páncreas de bovino (Sigma T-8128 Tipo II) al 0.1% en solución salina al 0.9%
- Solución estándar de saponinas a 0.5% (1:1) Digitonina y quijalla en solución salina a 0.9%
- Microtiter kit (Cook Eng-Alexander Virginia USA)
- Extractor de grasa Glodfish, LABCONCO
- Cartuchos de celulosa Whatman 22 x 88 mm
- Rotavapor Buchi, 461, modelo RE-111
- Centrifuga Dynac
- Incubadora bacteriología Blue M
- Espectrofotómetro COLEMAN, Junior II-A
- Tubos de centrifuga de 15 mL con graduación
- Jeringa de 5 o 10 mL calibre 22
- Parrilla de agitación y calentamiento





- Matraz Erlenmeyer de 125 y 250 mL
- Probeta de 100 mL
- Embudo de filtración de talle cortó
- Filtros de vidrio de poro grueso
- Tubo Vacutainer de 6 mL con EDTA o citrato de sodio 0.1M
- Gasa
- Curita

Procedimiento

- Preparación de extracto

Pesar exactamente 3.75 g de la muestra finamente molida y desengrasada (menor a 5%) y colocarla en un cartucho de celulosa, colocarlo en el portadedales del extractor de Goldfish, la extracción se realizará por 2 horas a una temperatura donde se observe un goteo constante, empleando 50 mL de metanol:agua (85:15) como solución extractora de las saponinas. Una vez transcurrido el tiempo de extracción se concentra a sequedad en el rotavapor, a una temperatura no mayor a 65 °C, la muestra se predisuelve en solución salina 0.9% y se filtra con ayuda de vacío, empleando filtros de vidrio de poro grueso, se afora a 50 mL con la misma solución al 0.9%.

- Preparación de la sangre

Extracción de sangre humana empleando una Jeringa de 5 o 10 mL calibre 22 y tubo vacutainer, al terminar la extracción colocar algodón impregnado con alcohol y posteriormente la tela adhesiva. Al tubo con sangre se mezcla suavemente para que haya una correcta incorporación de la sangre con EDTA. Transferir la sangre a tubos de centrifuga para lavarla (3 veces) con solución salina al 0.9% a 1500 rpm por 15 minutos, decantar el líquido sobrenadante. Al terminar el tercer lavado se diluirá el paquete de eritrocitos al 4% es decir por cada mL de eritrocitos (paquete) se adiciona 24 mL de solución salina 0.9% en caso de la presencia de coágulos filtrar a través de una gasa.





- Sensibilización de los glóbulos rojos

A cada 10 mL de suspensión de glóbulos rojos al 4% se agregará 1 mL de tripsina al 0.1% y se colocará en incubadora por espacio de 1 hora a 37 °C. (Agitar suavemente cada 15 minutos) Transcurrido el tiempo se centrifuga para eliminar la enzima sobrenadante y se efectúa tres lavados con solución salina 0.9% a 1500 rpm por 15 minutos, decantar el líquido sobrenadante. Después del último lavado se mide el paquete de eritrocitos y se resuspende al 5% por lo que por cada mL de paquete se añade 19 mL de solución salina 0.9%, colocar la suspensión en un matraz Erlenmeyer de 125 mL previamente efectuando una filtración con gasa.

- Ajuste de la suspensión glóbulos rojos

Se ajusta el espectrofotómetro COLEMAN al 100% de T con solución salina al 0.9% a una longitud de onda de 620 nm. El ajuste de la suspensión de eritrocitos, se toman 0.5 mL con pipeta volumétrica (procurando que este lo más homogénea posible), colocándolo en una celda y se adiciona 2 mL de solución salina 0.9% con pipeta volumétrica, se homogeneiza antes de introducir al espectrofotómetro COLEMAN se diluye lo necesario hasta obtener una lectura de $25 \pm 1 \%T$.

- Microtitulación.

La microtitulación se realiza en placa de tipo "U" y en cada pozo se coloca 50 μ L de solución salina 0.9%. Se llena el microdilutor con 50 μ L del extracto problema o del estándar de saponinas y se realizan las diluciones sucesivas desde el primer pozo (siguiendo la hilera horizontal hasta donde se desee) y se elimina los 50 μ L de la última dilución.

Ya realizadas las diluciones pertinentes se colocan con el pipeteador de gota 50 μ L de la suspensión de eritrocitos ya sensibilizados y ajustados se recomienda que en cada placa se tenga una hilera de control negativo (solución salina sangre ajustada) y otra positiva de solución salina 0.9% con estándar de saponinas al 0.5%.

Terminada la placa se rota en forma circular para homogeneizar y se coloca en la incubadora por 1 hora a 37 ± 1 °C.





- Lectura

Para obtener el título de hemólisis se observa empleando un espejo adaptado al dispositivo y se localiza en la hilera horizontal de la placa el número que corresponde al último pozo donde se aprecia la hemólisis y que resulta ser la mínima cantidad de muestra que produce lectura positiva de hemólisis.

Cálculos

1. Cálculo para conocer la cantidad (g) de saponinas necesaria para preparar una solución estándar al 0.5%:

$$\frac{0.5 \text{ g Estándar}}{100 \text{ mL}} \times \frac{10^3 \text{ mg}}{1 \text{ g}} \times \frac{1 \text{ mL}}{10^3 \mu\text{L}} \times \frac{10^3 \mu\text{g}}{1 \text{ mg}} = \frac{5 \mu\text{g saponinas}}{1 \mu\text{L}}$$

2. Cálculo para conocer la concentración inicial del estándar en el pozo 1:

$$50 \mu\text{L} \times \frac{5 \mu\text{g sap}}{1 \mu\text{L}} = 250 \mu\text{g sap} = E$$

3. Cálculo para conocer la concentración del título mínimo para que se realice la hemólisis de los eritrocitos en la muestra estándar: Título de 7

Fórmula: $\text{Concentración de extracto} / 2^t$

Dónde: t = título de la hemólisis

$$\left(\frac{E}{2^t}\right) = \left(\frac{250 \mu\text{g sap}}{2^6}\right) = 1.9531 \mu\text{g de saponinas}$$

* Para la muestra los cálculos son los siguientes:

1. Concentración inicial de saponinas en el extracto:

3.75 g de muestra / 50 mL de metanol =

$$\frac{0.0750 \text{ g}}{\text{mL}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{\text{g Muestra}} = \frac{75 \text{ mg de muestra}}{1000 \mu\text{L}}$$

2. Concentración de saponinas en el primer pozo de la placa:

$$50 \mu\text{L} \times \frac{75 \text{ mg de muestra}}{1000 \mu\text{L}} = 3.75 \text{ mg de muestra} = E$$





3. Cálculo para conocer la concentración de saponinas en el Título de 1

$$\left(\frac{E}{2^t}\right) = \left(\frac{3.75 \text{ mg de muestra}}{2^1}\right) = 1.875 \text{ mg de sap}$$

Se calcula en términos de % saponina.

$$\left(\frac{1.9531 \mu\text{g sap}}{1.88 \text{ mg de muestra}} \times \frac{1 \text{ mg sap}}{1000 \mu\text{g sap}} \times \frac{1 \text{ g sap}}{1000 \text{ mg sap}} \times \frac{1000 \text{ mg de M}}{1 \text{ g de M}}\right) \times 100$$
$$= 0.10\% \text{ saponina}$$

4.6.3 Taninos. ISO 9648-1988 con ligeras modificaciones

Fundamento

Dicha técnica se basa en la extracción de taninos por agitación con dimetilformamida, seguida de una centrifugación y adición de citrato férrico amoniacal a una alícuota obtenida a partir del sobrenadante obtenido de la centrifugación; reduciendo el ion férrico debido a los polifenoles con la posterior formación de un complejo colorido en condiciones alcalinas, el cual es cuantificado espectrofotométricamente a una longitud de onda a 525 nm. Se determina el contenido de taninos usando una curva de calibración preparada utilizando ácido tánico (ISO-9648, 1988).

Material y reactivos

- Balanza analítica digital (Sartorius analytic)
- Parrilla múltiple con agitación THERMOLINE, Mod. 340.
- Centrifuga IEC Clinical centrifuge
- Baño de agua a 30 °C
- Vortex labline modelo super-mixer 1290
- Espectrofotómetro Thermo-Scientific Genesys 10-S
- Vaso de precipitado 50 mL
- Pipeta graduada de 10 mL
- Pipeta volumétricas de 1 mL y 5 mL
- Tubos de ensaye
- Dimetil-formamida (DMF) al 75%





- Ácido Tánico al 0.2%
- Citrato férrico amoniacal 3.5 g/L
- Hidróxido de amonio 0.8 g NH₃ en 100 mL

Procedimiento

Se pesa de 0.5 a 1.0 g de muestra y se pone en un vaso de precipitados de 50 mL. Se agrega 20 mL de dimetilformamida al 75% y se pone en el agitador magnético múltiple durante 1 hora con agitación constante. Transcurrido el tiempo establecido se centrifuga a 3000 RCF por 10 minutos. Se toma 1 mL del extracto anterior y se deposita en un tubo de ensaye, se adiciona 5 mL de agua destilada, 1 mL de citrato férrico amoniacal y 1 mL de solución de amoniaco; se agita y se deja reposar durante 10 minutos en un baño de agua a 30 °C. Transcurrido el tiempo establecido leer la absorbancia a 525 nm, elaborando un blanco de la misma manera, sustituyendo el mililitro de la solución de citrato férrico amoniacal por agua destilada.

- Curva patrón

Se prepara 8 disoluciones de ácido tánico, agregando 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 mL de la solución de ácido tánico y aforando a 25 mL con dimetilformamida al 75%. Se toma 1 mL del extracto anterior y se deposita en un tubo de ensaye, se adiciona 5 mL de agua destilada, 1 mL de citrato férrico amoniacal y 1 mL de solución de amoniaco; se agita y se deja reposar durante 10 minutos en un baño de agua a 30 °C. Transcurrido el tiempo establecido leer la absorbancia a 525 nm y utilizar como blanco el tubo que tiene con 0 mL de ácido tánico.

Cálculos

Se realiza la curva de calibración de ácido tánico (Anexo IV) de mg ácido tánico (abscisas) vs absorbancias (ordenadas) e interpolar el contenido de taninos de cada muestra.

$$\frac{\text{mg \acute{a}c. t\acute{a}nico}}{\text{mL}} = \frac{2 \text{ mg \acute{a}c. t\acute{a}nico} \times 1 \text{ mL}}{25 \text{ mL}}$$

$$\frac{\text{mg \acute{a}c. t\acute{a}nico}}{\text{mL}} = \frac{\text{Absorbancia} - \text{ordenada al origen}}{\text{pendiente}}$$





$$\% \text{ Taninos} = \left(\frac{\text{mg } \acute{a}\text{c. tanico}}{1 \text{ mL}} \right) \left(\frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \right) \left(\frac{25 \text{ mL}}{\text{g Muestra}} \right) \times 100$$

4.7 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en las metodologías se realizaron mínimo por triplicado y se expresaron como valor promedio \pm desviación estándar, con un coeficiente de variación $<$ 5%. Para el análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS (versión 15.0). Los datos se analizaron mediante una prueba F (Fischer) con un nivel de significancia de 0.05 ($\alpha=0.05$), para conocer si había homogeneidad de varianza entre grupos o no había homogeneidad. La comparación se realizó, utilizando la prueba de *t de Student* con un nivel de significancia de 0.05 ($\alpha=0.05$) a dos colas, la cual sirve cuando el tamaño de la muestra es pequeño ($<$ 30 datos), estimando la media de una población y determinando si hay diferencias entre las medias de dos poblaciones. Las diferencias significativas fueron consideradas cuando los valores de $P \leq 0.05$.

Se utilizó la prueba *t de Student* (prueba de hipótesis para la diferencia entre las medias de dos poblaciones) para las determinaciones del análisis bromatológico, bromatología complementaria y taninos, para saber si había diferencia significativa del lugar de procedencia de las muestras analizadas.

Los resultados de saponinas, al tratarse de datos no paramétricos, fueron tratados con una prueba de *Mann-Whitney* (prueba de hipótesis para la diferencia entre las medianas de dos poblaciones) con un nivel de significancia de 0.05 ($\alpha=0.05$).





5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presenta los resultados de la humedad original (**Tabla 4**) que al realizar su determinación, permitió el acondicionamiento del material biológico, la cual nos indica un alto contenido de humedad original de las dos muestras de cebollita mexicana, pero está por debajo de los valores de humedad reportados en la literatura de 86 a 93% (Rodríguez *et al.*, 2009; Rothman y Dondo, 2014). Este contenido de humedad representa la cantidad de agua que tiene cada muestra en fresco o como se consume habitualmente. Por lo que presentan un contenido mayor de materia seca con respecto al intervalo reportado de 7 a 15% en el género *Allium* (Brewster, 2001). Las dos muestras analizadas se compararon mediante un análisis estadístico (*t de Student*) y presentan diferencia estadística significativa, conteniendo mayor porcentaje de humedad la del Estado de México, esta diferencia depende de muchos factores, uno tan simple como el tiempo de la adquisición con referencia a su cosecha (Hume, 1971).

Tabla 4. Determinación de humedad original de ambas muestras de cebollita mexicana (*Allium kunthii*)^a

Procedencia	(g/100 g Muestra)
<i>Edo. de México</i>	82.92 ± 0.49 ^A
<i>Chiapas</i>	81.61 ± 0.81 ^B

^a Se muestran valores promedio ± desviación estándar (n=3)
Letra mayúscula diferente como superíndice dentro de la columna indica diferencia significativa (P < 0.05)

5.1 Análisis bromatológico

En la **tabla 5** se muestran los resultados del análisis bromatológico de las respectivas harinas que corresponden a base húmeda y haciendo cálculos (Anexo I) es factible expresarlas en la muestra original (fresca), con la finalidad de comparar con los datos reportados en la literatura. El contenido de proteína de las dos muestras, respecto al material en fresco, se encuentra en el intervalo reportado para esta hortaliza de 1 a 2% (Brewster, 2001) e igual con otros datos reportados en cebolla (*Allium cepa*) entre los valores de 1.1 a 1.4% (Guerrero, 2011; Akash *et al.*, 2014). Con respecto al contenido de grasa cruda se





encuentra por debajo del genero *Allium* en fresco y a lo reportado en cebolla (fresco) de 0.1 a 0.2% (Brewster, 2001; Rothman y Dondo, 2014) para las dos muestras de cebollitas. En tanto el contenido de fibra cruda no hay datos reportados en la literatura del género *Allium* y en particular en la cebolla (*Allium cepa*) para producto fresco, y no se puede hacer comparación alguna. El contenido de cenizas en producto fresco para las dos cebollitas mexicanas es menor al porcentaje reportando frecuentemente en el género *Allium* de 0.6 a 1.0% (Brewster, 2001) aunque en otro estudio en cebolla de Tenerife se encuentra por arriba 0.35% (Rodríguez *et al.*, 2009.). En cuanto al porcentaje de hidratos de carbono es mayor al reportado en la literatura del genero *Allium* y otras cebollas de 5 a 12% (Brewster, 2001; Pérez-Lizaur *et al*, 2008; Rothman y Dondo, 2014).

Tabla 5. Análisis bromatológico de ambas muestras de cebollita mexicana (*Allium kunthii*)^a

Determinaciones (g/100 g Muestra)	Procedencia			
	Edo. de México		Chiapas	
	Base Húmeda	Base Original	Base Húmeda	Base Original
Humedad	5.99 ± 0.10	82.92 ± 0.49	12.59 ± 0.34	81.61 ± 0.81
Cenizas	2.69 ± 0.04	0.49 ± 0.01	2.64 ± 0.003	0.56 ± 0.01
Proteína cruda^b	6.23 ± 0.29	1.13 ± 0.05	5.75 ± 0.11	1.21 ± 0.02
Grasa cruda	0.48 ± 0.03	0.09 ± 0.01	0.17 ± 0.07	0.04 ± 0.01
Fibra cruda	5.22 ± 0.07	0.95 ± 0.01	5.66 ± 0.24	1.19 ± 0.05
Hidratos de carbono^c	79.39	14.42	73.19	15.39

^a Se muestran valores promedio ± desviación estándar (n=3)

^b Proteína cruda = N X 6.25

^c Hidratos de carbono calculados por diferencia (método Weede)

Con respeto al análisis bromatológico de las harinas (Base húmeda) se puede observar en la **tabla 5** que existe una diferencia en el porcentaje de humedad de las dos muestras de cebollitas mexicanas analizadas, siendo mayor la proveniente de Chiapas. Para contrastar de forma más adecuada los resultados obtenidos del análisis bromatológico, es necesario expresarlos en base seca, con el fin que la diferencia de humedad no influya el contenido de nutrimentos. La **tabla 6** presenta los resultados del análisis bromatológico en base seca, los cuales se compararon mediante un análisis estadístico (*t de Student*) y con lo reportado en la literatura; para poder evaluar la composición química de la cebollita mexicana.



**Tabla 6. Análisis bromatológico de ambas muestras de cebollita mexicana (*Allium kunthii*)^a**

Procedencia	Base Seca (g/100 g Muestra)				
	Cenizas	Proteína cruda ^b	Grasa cruda	Fibra cruda	Hidratos de carbono ^c
<i>Edo. de México</i>	2.86 ± 0.04 ^A	6.63 ± 0.31 ^A	0.51 ± 0.03 ^A	5.55 ± 0.08 ^A	84.45
<i>Chiapas</i>	3.02 ± 0.01 ^B	6.58 ± 0.13 ^A	0.19 ± 0.08 ^B	6.47 ± 0.28 ^B	83.73

^a Se muestran valores promedio ± desviación estándar (n=3)

^b Proteína cruda = N X 6.25

^c Hidratos de carbono calculados por diferencia (método Weende)

Letra mayúscula diferente como superíndice dentro de la misma columna indica diferencia significativa (P < 0.05)

Con base en los resultados del análisis estadístico, el contenido de proteína en las dos muestras de cebollita mexicana no presentan diferencia estadística significativa y comparado con lo reportado en la literatura con dos diferentes especies de cebollas (*Allium cepa* y *Allium scaposum*) es menor su contenido, ya que reportan una concentración significativa de proteína de 10 a 12% (Vella y Villafuerte, 2009) por lo que la cebollita mexicana en la forma que se consume no se puede mencionar como fuente de proteína.

El extracto etéreo (grasa cruda) se resalta que para el caso de cebollita mexicana procedente de Chiapas, este componente tuvo un CV >> 5% ya que fue de 41.18%, 40.0% y 25% en base húmeda, base seca y muestra original respectivamente, porque la cantidad de grasa fue muy reducida y con base a lo reportado en la literatura el porcentaje de extracto etéreo es muy bajo, por lo que se obtienen cantidades muy pequeñas, que con un poco de variación los resultados se exageran mucho, por lo que se aceptó un coeficiente de variación alto. Contrastando con la cebollita mexicana procedente del Edo. de México que también tiene un C.V. > 5% que fue de 6.25%, 5.88% y 11.11% en base húmeda, base seca y muestra original respectivamente, por lo que no obstante esta variación en los resultados de este parámetro, indica que hay diferencia estadística significativa entre las dos muestras analizadas, y comparando con base a los datos reportados, están en inferiores concentraciones a otras cebollas que poseen de 0.66 a 0.79% de extracto etéreo, y es debido a que este





macronutrimiento es utilizado casi en su totalidad al inicio de su ciclo de vida y dependerá de cada especie (Vella y Villafuerte, 2009).

En cuanto al porcentaje de cenizas hay diferencia estadística significativa de las cebollitas mexicanas, esto implica que su procedencia hay variación de las condiciones agronómicas (pH, clima, riquezas minerales del suelo, etc.) y discrepa a que mayores porcentajes de materia seca el valor de cenizas es más alto (Brewster, 2001) ya que de datos reportados en cebolla, el porcentaje de cenizas es de 4.66 a 6.42% con menor porcentaje de materia seca (Vella y Villafuerte, 2009) por lo que el porcentaje de ceniza de la cebollita mexicana es menor a lo reportado en el trabajo mencionado.

El contenido de fibra cruda, se puede apreciar que hay diferencia estadísticamente significativa entre las dos muestras de cebollita mexicana, esto debido a la procedencia de cada una de las muestras analizadas, así como al estado agronómico, geográfico y tipos de suelo, donde se encuentran (Hume, 1971). No hay reportes de composición de fibra cruda de cebollas en la literatura por lo tanto no hay referencia de comparación.

Se puede observar en la **tabla 6** que el macronutrimiento mayoritario son los hidratos de carbono debido a la estructura física de los bulbos de las cebollas, que poseen gran cantidad de hidratos de carbono (sacáridos, almidón, fructanos, etc.) que son empleados como reserva y energía de desarrollo, el cual influye en la proporción de los macronutrientes (Brewster, 2001). No se comparó el contenido de hidratos de carbono, debido a que el análisis bromatológico se basó en el esquema de Weende, donde se obtuvo este valor por diferencia y por lo tanto no se puede hacer un análisis estadístico, pero se observan valores similares en las dos muestras de cebollitas mexicanas. En cuanto a lo reportado en la literatura se encuentran en mayor porcentaje de hidratos de carbono a otras cebollas que poseen del 72 a 77%, debido a que depende mucho del contenido de materia seca, que puede variar en gran medida de la plantación (Brewster, 2001; Vella y Villafuerte, 2009).

5.2 Bromatología complementaria

Debido a que se cuenta con poca información química sobre esta especie de cebolla se realizó la bromatología complementaria, determinando algunos parámetros alimenticios de





interés nutrimental como son el contenido de fibra dietaría total, la proteína verdadera y la cuantificación de su contenido energético.

En la **tabla 7** se muestran los resultados obtenidos de la bromatología complementaria de las respectivas harinas (base húmeda) realizada a las cebollitas, y es factible expresarlas en la muestra original (Anexo I) con la finalidad de comparar con los datos reportados en la literatura.

Tabla 7. Bromatología complementaria de ambas muestras de cebollita mexicana (*Allium kunthii*)

Determinaciones	Procedencia			
	Edo. de México		Chiapas	
	Base Húmeda	Base Original	Base Húmeda	Base Original
Fibra Dietética Total (FDT) ^a	16.61 ± 0.05	3.02 ± 0.01	17.33 ± 0.26	3.64 ± 0.06
Proteína Verdadera ^{ab}	3.97 ± 0.19	0.72 ± 0.04	2.55 ± 0.03	0.54 ± 0.01
Energía gruesa (EG) ^{acd}	17.46 ± 0.76	3.17 ± 0.13	17.08 ± 0.79	3.59 ± 0.01
Contenido calórico (Experimental) ^{de}	14.83	2.70	14.54	3.06
Contenido calórico (Teórico) ^{de}	13.94	2.53	12.75	2.68

^a Se muestran valores promedio ± desviación estándar (n=3); Resultados expresados en g/100 g muestra.

^b Proteína cruda = N X 6.25

^c Bomba calorimétrica

^d Resultados expresados en kJ/g

^e Calculadas con las formulas correspondientes (1, 2) de Anexo III

El contenido de fibra dietética total (FDT) es más alto en las dos muestras analizadas de cebollita mexicana que a otros datos reportados en la literatura que están entre los valores de 1.68 a 1.9% en producto fresco para cebollas (Pérez-Lizaur *et al*, 2008; Rodríguez *et al.*, 2009). Se observa que el contenido de FDT es aproximadamente el triple del contenido de fibra cruda en las mismas muestras, ya que la cuantificación de fibra dietética total incluye la suma de la fibra soluble y la fibra insoluble. La fibra insoluble es equivalente a la fracción obtenida en el análisis bromatológico que corresponde a la fibra cruda y constituye del 20 a 50% de la fibra dietética total (Miranda, 2010).

El contenido de proteína verdadera no hay datos reportados en la literatura de la cebolla (*Allium cepa*) para producto fresco y no se puede hacer comparación alguna pero entre





ambas muestras el contenido de proteína verdadera es mayor la de procedencia del Estado de México, y esto depende del tipo de suelo, contenido de nitrógeno y condiciones ambientales de su lugar de procedencia; así como de factores endógenos.

Con respecto a la determinación de contenido calórico, se muestra en la **tabla 7**, la energía gruesa (EG) o bruta, se asume que es la energía determinada en la bomba calorimétrica y da el máximo potencial energético de un alimento (calor de combustión). También se muestran los valores de contenido calórico experimental (CCE) y contenido calórico teórico (CCT) que son términos energéticos biológicos calculados de acuerdo a fórmulas (Anexo III) que nos indican el valor energético potencial del alimento como fuente de energía basándose en su composición nutrimental (Bowman y Russell, 2003).

Para contrastar de forma más adecuada los resultados obtenidos de la bromatología complementaria, es necesario expresarlos en base seca, con el fin que la diferencia de humedad no influya el contenido de nutrimentos; y así en la **tabla 8** se presenta los resultados de la bromatología complementaria en base seca, los cuales se compararon mediante un análisis estadístico (*t de Student*) y con lo reportado en la literatura.

Tabla 8. Bromatología complementaria de ambas muestras de cebollita mexicana (*Allium kunthii*) en base seca.

Procedencia	Determinaciones				
	Fibra Dietética Total (FDT) ^a	Proteína verdadera ^{ab}	Energía gruesa (EG) ^{acd}	Contenido calórico (Experimental) ^{de}	Contenido calórico (Teórico) ^{de}
Edo. de México	17.67 ± 0.05 ^A	4.22 ± 0.20 ^A	18.57 ± 0.80 ^A	15.78	14.83
Chiapas	19.83 ± 0.30 ^B	2.92 ± 0.04 ^B	19.54 ± 0.91 ^A	16.63	14.59

^a Se muestran valores promedio ± desviación estándar (n=3); Resultados expresados en g/100 g muestra.

^b Proteína cruda = N X 6.25

^c Bomba calorimétrica

^d Resultados expresados en kJ/g

^e Calculadas con las formulas correspondientes (1, 2) de Anexo III

Letra mayúscula diferente como superíndice dentro de la misma columna indica diferencia significativa (P < 0.05)

Con base en los resultados del análisis estadístico, el contenido de fibra dietética total (FDT) en las dos muestras de cebollita mexicana presentan diferencia estadística significativa, con un valor mayor la proveniente de Chiapas, por lo que el contenido de FDT depende mucho





del contenido de materia seca, que varía en gran medida del cultivo (Brewster, 2001) el cual la cebollita mexicana proveniente de Chiapas contiene más materia seca y por lo tanto mayor FDT. Comparado con lo reportado en la literatura es mayor el contenido de FDT de *Allium kunthii*, con respecto a una tesis con dos diferentes especies de cebollas (*Allium cepa* y *Allium scaposum*) ya que reportan una concentración de FDT de 10.44% y 5.66% respectivamente (Vella y Villafuerte, 2009) y en otra tesis reportan una concentración de 16.83% en cebolla morada (Guerrero, 2011). Por lo que la cebollita mexicana se puede mencionar como una buena fuente de fibra dietética total, ya que la ingesta diaria recomendada para individuos está reportada de 20 a 30 gramos en base seca (Eastwood, 1992).

El contenido de proteína verdadera presenta diferencia estadística significativa para las dos muestras de cebollita mexicana, teniendo un mayor valor la proveniente del Estado de México y de acuerdo a la comparación de valores de proteína verdadera y proteína cruda o total, se observa que el contenido de proteína verdadera es muy bajo.

Para poder ilustrar la comparación de este macronutriente y poder evaluar la cantidad proteínica de la cebollita mexicana, se expresa el nitrógeno proteínico y el nitrógeno no proteínico en forma de grafica de pastel (**figuras 7 y 8**) donde se observa mejor esta comparación. Se observa el caso de la cebollita mexicana del Estado de México, es ligeramente la mayoría nitrógeno proteínico (aproximadamente dos tercios del nitrógeno total) en comparación con la cebollita mexicana de Chiapas, que el nitrógeno proteínico es inferior que la mitad del nitrógeno total.

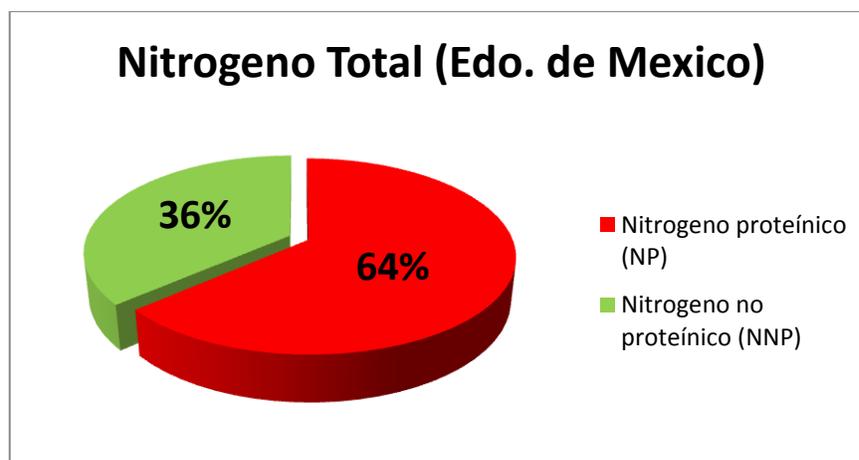


Figura 7. Presentación que muestra el desglose del Nitrógeno total; obteniéndose el NNP por diferencia y de acuerdo al análisis en base seca.

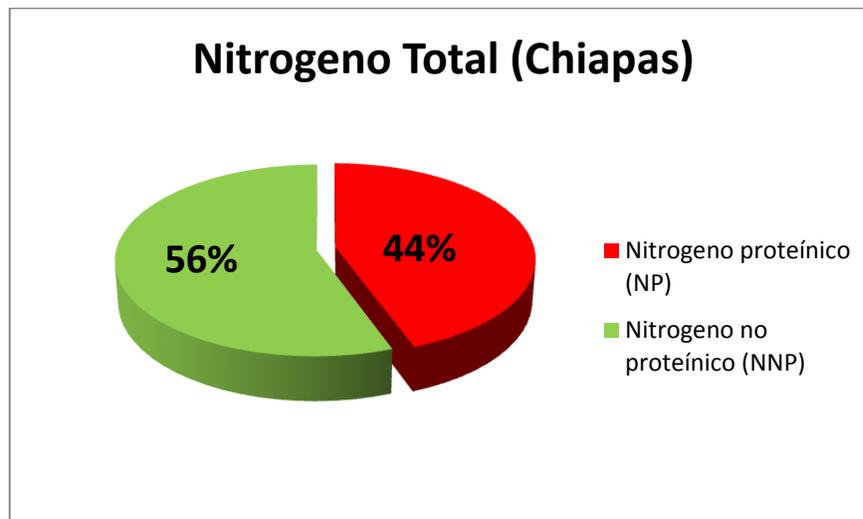


Figura 8. Presentación que muestra el desglose del Nitrógeno total; obteniéndose el NNP por diferencia y de acuerdo al análisis en base seca.

Esta diferencia se debe a sus lugares de procedencia en particular a las condiciones agronómicas: tipo de suelo, contenido de nitrógeno y condiciones ambientales (Hume, 1971). Los anteriores resultados expresan que la cantidad de proteína con relevancia nutritiva es muy pequeña como para evaluar su calidad; por lo tanto es relevante el contenido de nitrógeno no proteínico ya que indica la presencia de otros compuestos nitrogenados que pueden pertenecer a precursores del aroma y sabor o factores tóxicos como alcaloides.

En cuanto a la determinación de densidad energética, la energía gruesa de las dos muestras de cebollita mexicana no presenta diferencia estadística significativa. El contenido calórico experimental (CCE) y contenido calórico teórico (CCT) no se compararon entre las muestras de cebollita mexicana, debido a que se obtuvieron estos valores calculados y por lo tanto no se puede hacer un análisis estadístico, y en la **tabla 8** se muestra que la energía gruesa (EG) es mayor que el contenido calórico experimental (CCE) y contenido calórico teórico (CCT) se justifica porque el contenido calórico teórico y experimental se usa la disponibilidad biológica de los nutrimentos que aporten energía (hidratos de carbono, proteína y lípidos) con base al análisis bromatológico y la energía gruesa no, por lo que la cantidad de energía que obtiene el cuerpo del alimento es menor que la energía gruesa que determina el potencial energético de un alimento (calor de combustión). Por lo anterior se calculó el contenido calórico experimental (Anexo III) que es una medida más real del contenido energético del alimento,



ya que contempla la energía bruta menos la energía que aporta la Fibra (fibra dietética total) ya que el aparato digestivo del humano no utiliza la fibra como energía. Al igual se calculó el contenido calórico teórico (Anexo III) que nos indica el valor potencial del alimento como fuente de energía basándose en su composición nutrimental (análisis bromatológico).

La cebollita mexicana tiene un valor alto de EG, CCE y CCT en producto fresco (**tabla 7**) en comparación con otros datos reportados de cebollas en fresco, que están entre los valores de 0.84 a 1.55 kJ/g (Guerrero, 2011; Rothman y Dondo, 2014) porque tiene una porción considerable de hidratos de carbono digeribles, principal componente que aporta la energía bruta, ya que el aporte por la proteína y grasa es reducido debido a los bajos niveles de estos componentes. En tanto el contenido de EG, CCE y CCT en base seca de la cebollita mexicana (**tabla 8**), no se puede hacer comparación alguna con otras especies de cebolla, ya que no hay datos reportados en la literatura de cebolla (*Allium cepa*) en base seca de EG, CCE y CCT.

5.3 Factores tóxicos naturales

Con respecto a la determinación de los factores tóxicos naturales que potencialmente pueden estar presentes en la cebollita mexicana, se muestran en la **tabla 9** los resultados obtenidos de las respectivas harinas (base húmeda) y en el producto en fresco (base original).

Tabla 9. Análisis toxicológico de ambas muestras de cebollita mexicana (*Allium kunthii*)^a

Determinaciones (g/100 g Muestra)	Procedencia			
	<i>Edo. de México</i>		<i>Chiapas</i>	
	Base Húmeda	Base Original	Base Húmeda	Base Original
Alcaloides	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Saponinas	0.21 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.42 ± 0.00	0.09 ± 0.00
Taninos	0.26 ± 0.01	0.05 ± 0.002	0.22 ± 0.005	0.05 ± 0.001

^a Se muestran valores promedio ± desviación estándar (n ≥ 3)

Para realizar una comparación más adecuada de los resultados obtenidos del análisis toxicológico, al igual que en el análisis bromatológico y bromatología complementaria, es necesario expresarlos en base seca, con el fin que la diferencia de humedad no influya la





concentración de estos factores tóxicos. La **tabla 10** presenta los resultados del análisis toxicológico en base seca, los cuales se compararon mediante un análisis estadístico (*t de Student*) para el caso de taninos y una prueba de *Mann-Whitney* para el caso de las saponinas debido a su naturaleza no paramétrica de sus valores, y con lo reportado en la literatura.

Tabla 10. Análisis toxicológico de ambas muestras de cebollita mexicana (*Allium kunthii*) en base seca^a

Procedencia	Determinaciones (g/100 g Muestra)		
	Alcaloides	Saponinas	Taninos
<i>Edo. de México</i>	Negativo	0.22 ± 0.00 ^A	0.27 ± 0.01 ^B
<i>Chiapas</i>	Negativo	0.48 ± 0.00 ^B	0.26 ± 0.01 ^B

^a Se muestran valores promedio ± desviación estándar (n ≥ 3)

Letra mayúscula diferente dentro de la misma columna indica diferencia significativa (P <0.05)

Para el caso de alcaloides se realizó la determinación semi-cuantitativa como prueba presuntiva de la presencia de alcaloides, los resultados para esta prueba se muestran en el Anexo II, los cuales estuvieron abajo del límite de detección del método aplicado, ya que en los datos reportados en la literatura en el género *Allium* se encontraron concentraciones significativas de alcaloides, dando resultados positivos las pruebas cualitativas de *Mayer* y *Wagner* que son dos de los ensayos químicos más usados para detectar estos compuestos (Adeniyi y Anyiam, 2004; Meriga *et al.*, 2012); Sin embargo, el método utilizado en este trabajo es una prueba más robusta y estricta para esta determinación de alcaloides, probando con 7 reactivos para la presencia de alcaloides en vez de dos que pueden dar falsos-positivos. Por lo tanto se rechaza la presencia de alcaloides en la cebollita mexicana e igualmente con los resultados reportados en la literatura al género *Allium*, en particular en la cebolla y no se puede hacer comparación alguna por estar debajo del límite de detección del método.

Con respecto al contenido de saponinas, con base en los resultados del análisis estadístico, presentan diferencia estadística significativa las dos muestras de cebollita mexicana, y con





respeto a su concentración se encuentran entre los valores reportados en la literatura de 0.09% en cebolla fresca (Mazza y Oomah, 2000) y en otro dato reportado de 0.0018% en cebolla blanca fresca, por lo que no hay reportes que estas concentraciones causen un daño a la salud y todavía está en discusión las cantidades máximas para poder categorizarlo entre los factores tóxicos (Lanzotti *et al.*, 2012).

En la determinación de taninos, con base en los resultados obtenidos del análisis estadístico, las dos muestras de cebollita mexicana no presentan diferencia estadística significativa y poseen concentraciones muy bajas, que no causan daño a la salud, porque la toxicidad de taninos se ha observado que presentan problemas de salud cuando se encuentran en concentraciones arriba del 5%. Además se confirma su concentración con lo reportado en la literatura con diferentes muestras de cebollas (blanca, amarilla y roja) en base seca, reportan concentraciones entre 0.18% a 0.37% en equivalentes de catequina (estándar de taninos) por lo que la concentración de taninos de las muestras de cebollitas mexicanas están en el intervalo citado (Gorinstein *et al.*, 2009).

En general la cebollita mexicana (*Allium kunthii*) no contiene concentraciones significativas de los factores tóxicos naturales más representativos en el género *Allium* y en particular en la cebolla (*Allium cepa*) por lo que con las determinaciones analizadas se puede considerar como un recurso vegetal que puede ser ingerido con cierto grado de seguridad.





6. CONCLUSIONES

- * Se aportó información de la composición química de la cebollita mexicana (*Allium kunthii*) ya que hasta el momento no existe datos al respecto, de dos colectas analizadas que se cultivan en el país.
- * En el análisis bromatológico se presentó diferencia significativa entre todos los valores a excepción de proteína, para la cebollita mexicana del Estado de México y Chiapas; y su componente mayoritario en ambas fueron los hidratos de carbono.
- * Respecto al contenido de proteína se observa que no todo el nitrógeno corresponde a este nutrimento ya que hay un valor significativo de nitrógeno no proteínico (NNP). Por lo que no se considera a la cebollita mexicana como fuente de proteína y debe consumirse con otros alimentos en la dieta que suplemente este nutrimento.
- * Se obtuvo un contenido mayor de fibra dietaría total (FDT) de 18.57 a 19.54% en la cebollita mexicana (base seca) con respecto al reportado en la cebolla común (*Allium cepa* L.) de 10.44 a 16.83%, por lo que se puede considerar a la cebollita mexicana como una buena fuente de este nutraceutico.
- * Respecto a los factores tóxicos naturales en las cebollitas analizadas, poseen una concentración relativamente muy baja, por lo que su consumo no representa ningún riesgo a la salud por ingesta, para la alimentación humana.
- * De acuerdo al presente estudio se puede considerar a la cebollita mexicana un adecuado alimento en la complementación de la dieta; sin embargo, se demostró que definitivamente hay variación en la composición química y toxicológica, de acuerdo al lugar de su procedencia, ya que hay factores intrínsecos y externos que afectan su composición.





7. BIBLIOGRAFÍA

- ♣ Abisch, E., Reichstein, T. 1960. Alkaloid-screening (Micromethod). *Helvetica Chimica Acta*, 43, 1844-1861.
- ♣ Adeniyi, B.A., Anyiam, F.M. 2004. In vitro Anti-Helicobacter pylori Potential of Methanol Extract of *Allium ascalonicum* Linn. (*Liliaceae*) Leaf: Susceptibility and Effect on Urease Activity. *Phytotherapy Research*, 18, 358-361.
- ♣ Akash, M.S.H., Rehman, K., Chen, S. 2014. Spice plant *Allium cepa*: Dietary supplement for treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition*, 30, 1128-1137.
- ♣ AOAC, Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition, Arlington, Volume II, Pág. 12, 70-71.
- ♣ APG III. The Angiosperm Phylogenetic Group. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161, 105-121.
- ♣ Bowman, B. A., Russell, R.M. 2003. *Conocimientos actuales sobre nutrición*. 8^a Edición. Washington: Organización Panamericana de la Salud e Instituto Internacional de Ciencias de la Vida. Pág. 297-311, 340-343.
- ♣ Brewster J.L. 2001. *Las cebollas y otros Alliums*. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza, Pág. 1-3, 60-63, 69-89, 101-103, 160-170, 223-227.
- ♣ Cameán, A., Repetto, M. 2006. *Toxicología alimentaria*. Madrid: Díaz de Santos. Pág. 193, 238-240, 245.
- ♣ Chacón, V. A. 2006. Perspectivas agroindustriales actuales de los oligofructosacaridos (FOS). *Agronomía Americana*, 17(2), 265-286.
- ♣ Chiang, F. 1994. *Liliaceae* En: Vichery, A. R. y Chater, A. O. eds. *Flora Mesoamericana: Alismataceae a Cyperaceae*. México, D.F. Pág. 25-34.
- ♣ Derache, R. 1990. *Toxicología y seguridad de los alimentos*. Barcelona: Omega. Pág. 24, 109-132, 233-247, 255-258.
- ♣ Eastwood, M.A. 1992. The physiological effect of dietary fiber: an update. *Annual Review of Nutrition*, 12, 19-35





- ♣ Elizalde, A. de D., Porrilla, P. Y., Chaparro, C. D. C. 2009. Antinutritional factors in eatable seeds. *Facultad de ciencias agropecuaria*, 7 (1), 45-54.
- ♣ Escudero, A. E., González, S. P. 2006. La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21 (2), 61-72.
- ♣ Espejo-Serna, A., López-Ferrari, A.R. 2003. *Alliaceae in: Flora de Veracruz*. Fascículo 132. Instituto de Ecología, A.C. and the University of California. Pág. 6- 8.
- ♣ Fennema, O. R. 2000. *Química de los Alimentos*. 2^a edición. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza, Pág. 21-22, 188, 270-277, 358-359, 384-385, 968, 1121-1136.
- ♣ Girón, M. 1992. Determinación semicuantitativa de saponinas en muestras vegetales aprovechando su capacidad hemolítica. Tesis. Facultad de Química, UNAM. México, D.F. Pág. 30-50.
- ♣ Gorinstein, S., Park, Y.S., Heo, B.G., Namiesnik, J., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Ham, K.S., Cho, J.Y., Kang, S.G. 2009. A comparative study of phenolic compounds and antioxidant and antiproliferative activities in frequently consumed raw vegetables. *European Food Research and Technology*, 228, 903-911.
- ♣ Guerrero, J. 2011. Determinación de inulina en cebolla morada (*Allium cepa*) y su propuesta como fuente natural de este prebiótico. Tesis. Facultad de Química, UNAM. México, D.F. Pág. 23, 52-55.
- ♣ Hajiev, k., Kerimov, K., Hajieva, F., Ignat'yev, V. 1980. Advances in experimental thermochemistry: A morden bomb calorimeter. *Journal Chemistry Thermodynamikcs*, 12, 509-519.
- ♣ Harborne, J.B. 1998. *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. London: Chapman and Hall. Pág. 182-193.
- ♣ Hart, F., Johnstone, H. 1984. *Análisis moderno de los alimentos*. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza, Pág. 1-21, 343-357.
- ♣ Helrich, k. 1990. AOAC, Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International. 15th Edition. Published by AOAC, Inc. Vol. I and II, Arlington, Pág. 17-18, 40-62, 69-83, 1012.





- ♣ Hume, W.G. 1971. *Producción comercial de cebollas y guisantes*. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza, Pág. 7-9.
- ♣ Im, M.H., Park, Y.S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Hamd, K.S., Kang, S.G., Najman, K., Gorinstein, S. 2011. The thermostability, bioactive compounds and antioxidant activity of some vegetables subjected to different durations of boiling: Investigation in vitro. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 92-99.
- ♣ ISO-9648. 1988. Determination of tannin content: Sorghum. *International Organization for Standardization*.
- ♣ Lanzotti, V. 2006. The analysis of onion and garlic. *Journal of Chromatography A*, 1112, 3–22.
- ♣ Lanzotti, V. 2012. Bioactive polar natural compounds from garlic and onions. *Phytochemistry Reviews*, 11, 179-196.
- ♣ Lanzotti, V., Romano, A., Bonanomi, G., Lanzuise, S., Scala, F. 2012. Antifungal saponins from bulbs of white onion, *Allium cepa* L. *Phytochemistry*, 74, 133-139.
- ♣ Linares, E., Bye, R. 2013. Jitomate, cebollas y cebollejas, ¿Son plantas del viejo mundo?. En: G. Castillo (ed.). *El jitomate y la cebolla, secreto de nuestra sazón*. Fundación Herdez. México, D. F. Pág. 29-41.
- ♣ Lindner, E. 1995. *Toxicología de los alimentos*. 2ª Edición. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza, Pág. 5-13.
- ♣ Mazza, G., Oomah, B.D. 2000. Chemistry and pharmacology of ferngreek, in herbs, botanicals and teas. *Technomic publishing Company Inc*, 450.
- ♣ Mendoza, M. E., Calvo, C. M. 2010. *Bromatología, composición y propiedades de los alimentos*. México, D.F.: Mc Graw Hill. Pág. 23-24, 33-34, 55-57, 67-72.
- ♣ Meriga, B., Mopuri, R., MuraliKrishna, T. 2012. Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of bulb extracts of *Allium sativum*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicin*, 5, 391-395.
- ♣ Miranda, R.A. 2010. Determinación del contenido de fibra soluble e insoluble en 60 alimentos. Proyecto de investigación, 235/88. U.A.E.M. Toluca, Pág. 4-14.





- ♣ Najjaa, H., Zouari, S., Zouari, E., Neffati, M. 2011 .Phytochemical screening and antibacterial properties of *Allium roseum* L., a wild edible species in north africa. *Journal of Food Biochemistry*, 35, 699-714.
- ♣ Norman, N., Potter, Ph. 1973. *La ciencia de los alimentos*. México, D.F.: Edutex, S.A. Pág. 41.
- ♣ Osborne, D.R., Voogt, P. 1986. *Análisis de los nutrientes de los alimentos*. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza, Pág. 5-25.
- ♣ Pearson, D. 1993. *Valor nutritivo de los alimentos*. México, D.F.: Limusa Norega Editores. Pág. 58-65.
- ♣ Pérez-Lizaur, A.B., Palacios-González, B., Castro-Becerra, A.L. 2008. *Sistema Mexicano de Alimentos equivalentes*. 3ª edición. México, D.F.: Fomento de Nutrición y Salud A.C. Pág. 14.
- ♣ Repetto, M. 1995. *Toxicología avanzada*. Madrid: Díaz de Santos S.A. Pág. 205-206.
- ♣ Rodríguez Galdón B., Tascon Rodríguez, C., Rodríguez, E.M., Díaz Romero, C. 2009. Fructans and major compounds in onion cultivars (*Allium cepa*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 25-32.
- ♣ Rothman, S., Dondo, G. Departamento producción vegetal, Facultad de ciencias agropecuarias. 2014. Cebolla (*Allium cepa* L.). [En línea] Disponible en: <http://www.fca.uner.edu.ar/academicas/deptos/catedras/horticultura/cebolla.pdf> [Último acceso el 20 de marzo de 2014]
- ♣ SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2014. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. [En línea] Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/> [Último acceso el 6 de marzo de 2015]
- ♣ Sotheeswaran, S. 1988. Screening for saponins using the blood hemolysis test. *Journal of Chemical Education*, 65, 161-162.
- ♣ Tropicos, Missouri Botanical Garden. 2013. *Allium kunthii* G. Don. [En línea] Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/18401686> [Último acceso el 14 de enero de 2014]





Bibliografía

- ♣ Valle, P., Lucas, B. 2000. *Toxicología de Alimentos*. México, D.F.: Instituto Nacional de Salud Pública Centro Nacional de Salud Ambiental. Pág. 60.
- ♣ Vela, I., Villafuerte, T., 2009. Obtención y cuantificación de inulina, composición proximal y contenido de fibra dietética en muestras de origen vegetal. Tesis. Facultad de Química, UNAM. México, D.F. Pág. 22-25, 60-65.
- ♣ Xorge, A. D. 1979. *Métodos de Investigación Fitoquímica*. México, D.F.: Limusa. Pág. 211-215





ANEXOS

Anexo I

Todas las determinaciones analíticas (bromatológicas y toxicológicas) se realizaron en el material biológico en forma de harinas (base húmeda) a excepción de la humedad original, y se pueden presentar los valores en producto fresco (base original) y en 100% de sólidos totales (base seca).

$$\% \text{ Sólidos totales (ST)} = 100\% - \% \text{ Humedad de la muestra}$$

Se expresa el contenido de proteína en base seca a partir de las harinas (base húmeda). Se presenta un ejemplo de cálculo:

Cebollita mexicana (Edo. de México)

- % Humedad = 5.99
- % Proteína base húmeda = 6.23

$$\text{Sólidos totales (ST)} = 100 - 5.99 = 94.01\% \text{ ST}$$

$$\text{Proteína}_{\text{base seca}} = \left(\frac{\text{Proteína}_{\text{base húmeda}}}{\% \text{ ST}} \right) \times 100\% \text{ ST}$$

$$\text{Proteína}_{\text{base seca}} = \left(\frac{6.23\% \text{ proteína}}{94.01\% \text{ ST}} \right) \times 100\% \text{ ST} = 6.63\% \text{ proteína}$$

Si se quiere expresar el contenido de proteína en producto fresco (base original) a partir de 100% ST (base seca) se presenta un ejemplo de cálculo:

Cebollita mexicana (Edo. de México)

- % Humedad = 82.92
- % Proteína base seca = 6.63

$$\text{Sólidos totales (ST)} = 100 - 82.92 = 17.08\% \text{ ST}$$

$$\text{Proteína}_{\text{base original}} = (\% \text{ Proteína}_{\text{base seca}} \times \% \text{ ST}) / 100\% \text{ ST}$$

$$\text{Proteína}_{\text{base original}} = (6.63\% \text{ proteína} \times 17.08\% \text{ ST}) / 100\% \text{ ST} = 1.13\% \text{ proteína}$$



**Anexo II****Determinación semi-cuantitativa de Alcaloides****Tabla 11.** Determinación de alcaloides cualitativa

Reactivo	Precipitado	Resultado			
		Edo. de México		Chiapas	
		Fracción A	Fracción B	Fracción A	Fracción B
Mayer	Blanco	-	-	-	-
Wagner	Marrón	-	-	-	-
Dragendorff:	Anaranjado-marrón.	-	-	-	-
Sonnenchein	Amarillos	-	-	-	-
Hager	Amarillo	-	-	-	-
Scheibler	Blanco grisáceo	-	-	-	-
Ácido Silico Tungsténico	Blanco grisáceo	-	-	-	-

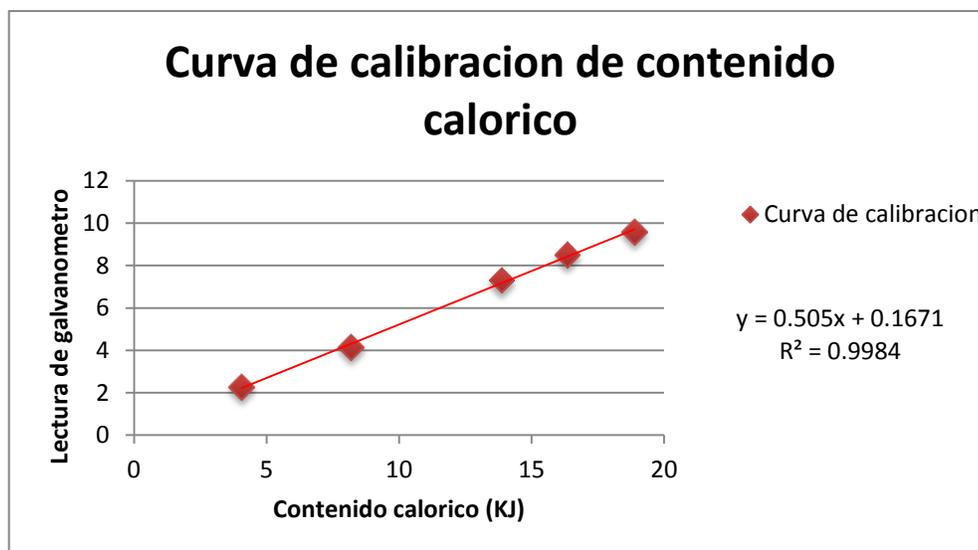
+ Reacción positiva; presencia de precipitado

- Reacción negativa; ausencia de precipitado



Anexo III

Determinación de densidad calórica



$$1g \text{ ácido benzóico} = 26454.3 \text{ Joules} = 26.45 \text{ kJ}$$

$$4.1868 \text{ kJ} = 1 \text{ kcal}$$

$$kJ = \text{gramos de ácido benzóico} * 26.45$$

$$kJ \text{ en muestra} = \frac{\text{Lectura del galvanómetro} - b}{\text{peso de muestra (g)}}$$

$$\frac{kJ}{g \text{ muestra}} = \frac{kJ \text{ en muestra}}{\text{Muestra (g)}}$$

1) Contenido calórico (Experimental) (CCE)

$$\%CCE = EG - (16.8F \times \% \text{ Fibra dietética total})$$

- $\%CCE = kJ/g \text{ muestra}$
- $\text{Energía gruesa (EG)} = kJ/g \text{ muestra}$
- $\text{Factor de conversión (F)} = kJ/g \text{ macronutriente}$
- $\text{Porcentaje (\%)} = g \text{ de macronutriente} / g \text{ de muestra}$

2) Contenido calórico (Teórico) (CCT)

$$\%CCT = (17F \times \% \text{ proteína}) + (16F \times \% \text{ CHO}) + (37F \times \% \text{ grasa})$$

- $\%CCT = kJ/g \text{ muestra}$
- $\text{Factor de conversión (F)} = kJ/g \text{ macronutriente}$
- $\text{Porcentaje (\%)} = g \text{ de macronutriente} / g \text{ de muestra}$





Anexo IV

Determinación de taninos. ISO 9648-1988

