



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**ANÁLISIS BROMATOLÓGICO Y DETERMINACIÓN DE FACTORES TÓXICOS  
NATURALES EN CINCO ESPECIES DE QUELITES OBTENIDAS DEL ESTADO DE  
OAXACA Y CHIHUAHUA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**SELENE SÁNCHEZ JIMÉNEZ**



**MÉXICO, Cd. Mx.**

**2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**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  
**1er. SUPLENTE:** Dra. Iliana Elvira González Hernández  
**2° SUPLENTE:** M. en C. Tania Gómez Sierra

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**Se desarrolló en el anexo de los laboratorios 4B y 4C del edificio A.  
Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM.**

**Asesor del tema:** \_\_\_\_\_  
**M. en C. Bernardo Lucas Florentino**

**Supervisor técnico:** \_\_\_\_\_  
**Dr. Robert Arthur Bye Boettler**

**SUSTENTANTE:** \_\_\_\_\_  
**Selene Sánchez Jiménez**

ESTA TESIS FUE ELABORADA CON EL APOYO BRINDADO POR LA SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN (SAGARPA), SERVICIO NACIONAL DE INSPECCIÓN Y CERTIFICACIÓN DE SEMILLAS (SNICS), RED QUELITES.

A TRAVÉS DEL PROYECTO:

“EVALUACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y APROVECHAMIENTO SUSTENTABLE DE ESPECIES UTILIZADAS COMO QUELITES”

---

ESTA TESIS FUE ELABORADA CON EL APOYO BRINDADO POR LA  
ALIANZA DE AMÉRICA DEL NORTE PARA LA ACCIÓN COMUNITARIA  
AMBIENTAL (NAPECA-NORTH AMERICAN PARTNERSHIP FOR  
ENVIRONMENTAL COMMUNITY ACTION).

A TRAVÉS DEL PROYECTO:

“INTEGRACIÓN DE QUELITES A LA CADENA PRODUCTIVA PARA  
LOGRAR LA SEGURIDAD ALIMENTARIA DE LA SIERRA TARAHUMARA”

---

AGRADEZCO PROFUNDAMENTE A LAS PERSONAS ASOCIADAS CON EL  
TRABAJO DE COLECTA DE MATERIAL BIOLÓGICO:

M. EN C. DELIA CASTRO LARA

BIÓL. MYRNA MENDOZA CRUZ

M. EN C. JOEL RODRÍGUEZ SERVÍN

POR SU COLABORACION Y SOBRETUDO SU APOYO, SUS  
APORTACIONES FUERON DE SUMA UTILIDAD PARA LLEVAR A CABO  
ESTA ESTUDIO

---

# ÍNDICE

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. OBJETIVOS	4
3.1 Objetivo general	4
3.2 Objetivos particulares	4
4. GENERALIDADES	5
4.1 Quelites	5
4.1.1 Aporte alimentario	6
4.1.2 Aspecto medicinal	7
4.2 <i>Arracacia edulis</i> S. Watson	8
4.2.1 Nombres	8
4.2.2 Origen y distribución geográfica	9
4.2.3 Identificación y descripción	9
4.2.4 Hábitat	9
4.3 <i>Bidens odorata</i> Cav.	10
4.3.1 Nombres	10
4.3.2 Origen y distribución geográfica	10
4.3.3 Identificación y descripción	11
4.3.4 Hábitat	13
4.3.5 Biología y ecología	13
4.4 <i>Lepidium virginicum</i> L.	14
4.4.1 Nombres	14
4.4.2 Origen y distribución geográfica	14
4.4.3 Identificación y descripción	14
4.4.4 Hábitat	16
4.4.5 Biología y ecología	16
4.5 <i>Tridax coronopifolia</i> (Kunth) Hemsl	16
4.5.1 Nombres	16

4.5.2	Origen y distribución geográfica	17
4.5.3	Identificación y descripción	17
4.5.4	Hábitat	18
4.5.5	Biología y ecología	18
4.6	<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.	18
4.6.1	Nombres	18
4.6.2	Origen y distribución geográfica	19
4.6.3	Identificación y descripción	20
4.6.4	Hábitat	22
4.6.5	Biología y ecología	22
4.7	Composición bromatológica	22
4.7.1	Análisis bromatológico	22
4.7.2	Agua	23
4.7.3	Proteína	24
4.7.4	Grasa	25
4.7.5	Fibra	26
4.7.6	Cenizas	26
4.7.7	Hidratos de carbono	27
4.8	Complementación bromatológica	28
4.8.1	Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i>	28
4.8.2	Densidad energética	29
4.8.3	Calcio	30
4.8.4	Hierro	30
4.9	Factores tóxicos	31
4.9.1	Agentes antinutricionales	32
4.9.1.1	Inhibidores de tripsina	32
4.9.1.2	Oxalatos	33
4.9.2	Agentes tóxicos	35
4.9.2.1	Nitratos	35
4.9.2.2	Fitohemaglutininas (lectinas)	36
4.9.2.3	Saponinas	37



<b>5. MATERIALES Y METODOS</b>	<b>39</b>
<b>5.1 Obtención y acondicionamiento del material biológico</b>	<b>40</b>
<b>5.1.1 Determinación de humedad original</b>	<b>41</b>
<b>5.2 Análisis Proximal</b>	<b>41</b>
<b>5.2.1 Determinación de humedad analítica.</b>	<b>41</b>
<b>5.2.2 Determinación de proteína cruda con ligeras modificaciones.</b>	<b>42</b>
<b>5.2.3 Determinación de grasa cruda.</b>	<b>45</b>
<b>5.2.4 Determinación de fibra cruda.</b>	<b>46</b>
<b>5.2.5 Determinación de cenizas.</b>	<b>48</b>
<b>5.2.6 Determinación de hidratos de carbono</b>	<b>49</b>
<b>5.3 Complementación bromatológica</b>	<b>49</b>
<b>5.3.1 Determinación de digestibilidad proteínica <i>in vitro</i></b>	<b>49</b>
<b>5.3.2 Densidad calórica</b>	<b>52</b>
<b>5.3.3 Determinación de calcio e hierro</b>	<b>56</b>
<b>5.4 Factores tóxicos</b>	<b>57</b>
<b>5.4.1 Agentes antinutricionales</b>	<b>57</b>
<b>5.4.1.1 Inhibidores de tripsina</b>	<b>57</b>
<b>5.4.1.2 Ácido oxálico</b>	<b>60</b>
<b>5.4.2 Agentes tóxicos</b>	<b>64</b>
<b>5.4.2.1 Nitratos</b>	<b>64</b>
<b>5.4.2.2 Determinación de fitohemaglutininas (Lectinas)</b>	<b>67</b>
<b>5.4.2.3 Determinación de Saponinas</b>	<b>72</b>
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>77</b>
<b>6.1 Humedad original</b>	<b>77</b>
<b>6.2 Análisis químico bromatológico</b>	<b>77</b>
<b>6.2.1 Humedad analítica</b>	<b>78</b>
<b>6.2.2 Proteína</b>	<b>78</b>
<b>6.2.3 Grasa cruda</b>	<b>79</b>
<b>6.2.4 Cenizas</b>	<b>79</b>

6.2.5 Fibra cruda	80
6.2.6 Hidratos de carbono	80
6.2.7 Análisis químico bromatológico en muestras frescas	81
6.3 Complementación bromatológica	82
6.3.1 Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i>	82
6.3.2 Calcio e Hierro	82
6.3.3 Densidad calórica	83
6.4 Factores tóxicos	84
6.4.1 Agentes antinutricionales	85
6.4.1.1 Inhibidores de tripsina	85
6.4.1.2 Oxalatos	86
6.4.2 Agentes tóxicos	86
6.4.2.1 Nitratos	86
6.4.2.2 Fitohemaglutininas (lectinas)	87
6.4.2.3 Saponinas	88
6.4.2.4 Factores tóxicos en muestras frescas	89
7. CONCLUSIONES	90
8 BIBLIOGRAFÍA	92

## 1. RESUMEN

En la realización de este estudio, se evaluó la composición bromatológica y complementación de ésta, así como la determinación de algunos factores tóxicos naturales en cinco especies de quelites, provenientes del estado de Oaxaca (*Arracacia edulis* y *Lepidium virginicum*) y de la Sierra Tarahumara, Chihuahua (*Bidens odorata*, *Tridax coronopifolia* y *Galisonga parviflora*). La desaparición de los quelites en los últimos siglos en México ha sido drástica. Con la colaboración del Dr. Robert Bye Boettler, investigador del Instituto de Biología, se consiguieron estas cinco especies de quelites con las cuales se trabajó. Del análisis bromatológico, hay que mencionar que se obtuvieron valores que destacan por su elevado contenido de proteína cruda >20%; un contenido de ceniza de hasta 20%; un contenido de fibra cruda de hasta 19%, lo cual habla de un buen perfil nutrimental al compararlo con otras hojas de consumo humano. También se realizó como complementación bromatológica la determinación de digestibilidad *in vitro* para establecer la disponibilidad de proteína cruda en la cual se obtuvieron valores >60%, lo que indica que se trata de una buena fuente aun siendo una especie de origen vegetal. Se determinaron calcio e hierro ya que son minerales de suma importancia nutrimental, siendo calcio hasta 2.16% e hierro de hasta 139 mg de hierro por 100 g de muestra. En el caso de los factores tóxicos, los inhibidores de tripsina, oxalatos, lectinas y saponinas se encontraron por debajo del límite que represente un riesgo para la salud. En nitratos tuvieron valores de hasta 2 % por lo que su consumo de dos de estas especies deben ser consumidas con cierta moderación ya que de lo contrario rebasan la IDA que es de 3.65 mg/kg p.c/día. Por lo anterior, en este estudio se cumplió el objetivo de poder proponer las ventajas y desventajas del consumo de estas cinco especies de quelites, de las cuales no se tenía un conocimiento sobre su aporte nutrimental y su seguridad alimentaria.

## 2. INTRODUCCIÓN

El hambre y la desnutrición que se viven en México están relacionadas directamente con la pobreza y no con la inexistencia de suficientes alimentos para la población. Su origen está en la falta de recursos económicos que permitan que las personas tengan una alimentación razonablemente adecuada y sana.

En la dieta urbana actual existe un bajo consumo de vegetales consumidos por comunidades rurales y que podrían estar relacionados con un beneficio a la salud.

En los listados de plantas útiles en el país destacan, por el número de especies que comprenden, tres categorías antropocéntricas: medicinales, comestibles y ornamentales. Entre las plantas comestibles, los quelites ocupan un lugar destacado.

México es un país lleno de tradiciones y con alta diversidad vegetal, es uno de los centros de origen de la agricultura y de domesticación de numerosas plantas, debido a sus características geográficas y culturales que lo hacen sumamente favorable para efectuar estudios etnobotánicos sobre arvenses y poblaciones silvestres que parecen estar bajo un dinámico proceso de domesticación. Un claro ejemplo son los quelites, que por sus concentraciones significativas en vitaminas y minerales, así como sus elevados contenidos de fibra, constituyen un valioso complemento en la alimentación de la población rural. Generalmente, son plantas recolectadas dentro de los campos de cultivo con tecnología tradicional.

Los quelites presentan valores en nutrimentos similares o en ocasiones superiores a los de las hortalizas comerciales, mismas que están desplazando su uso. Distribuidos en amplias zonas del país, el término deriva del náhuatl *quilitl* que se refiere a una planta tierna comestible. Las formas de preparación y consumo varían de un lugar a otro. Se pueden comer crudos, cocidos, asados, fritos, guisados o al vapor, también son usados como condimento. En una dieta basada en el consumo de maíz, frijol y chile, los quelites brindan diversidad tanto en sabores como en nutrimentos.

La mayoría son plantas autóctonas y representan un recurso conocido y utilizado desde tiempos prehispánicos. Sin embargo, actualmente se registra una fuerte reducción en su uso, ya que muchos pobladores prefieren consumir las hortalizas introducidas y comerciales. Aunado a ello, existe un gran desconocimiento entre los jóvenes sobre la importancia de estas plantas en su dieta.

En el presente trabajo se evalúan algunas especies de quelites cultivadas en diferentes localidades provenientes del estado de Oaxaca y la Sierra Tarahumara, Chihuahua. A estas se le realizó el análisis proximal, así como la complementación bromatológica (se incluyó la determinación de calcio y hierro, así como digestibilidad proteínica *in vitro*); además se determinaron algunos factores tóxicos naturales como los inhibidores de tripsina, oxalatos, lectinas, saponinas y nitratos.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo general

- Determinar la composición bromatológica y complementación de ésta; así como algunos factores tóxicos naturales presentes en cinco especies de quelites procedentes de diferentes regiones del país, para dar a conocer su potencial nutritivo.

#### 3.2 Objetivos particulares

- Realizar la determinación del análisis bromatológico de las cinco especies de quelites.
- Determinar la digestibilidad proteínica *in vitro* en las cinco especies de quelites.
- Cuantificar el contenido de calcio, hierro, así como la densidad calórica en las cinco especies de quelites.
- Determinar algunos factores tóxicos naturales como: oxalatos, inhibidores de tripsina, lectinas, saponinas y nitratos a las cinco especies de quelites.

## 4. GENERALIDADES

### 4.1 Quelites

Los quelites constituyen un grupo de plantas tanto herbáceas como leñosas de las cuales sus partes tiernas vegetativas (hojas, tallos y ramas modificadas) son consumidas de varias formas. La mayoría de los grupos étnicos de México nombra a este tipo de plantas con categorías antropocéntricas. Los quelites han formado parte del agroecosistema prehispánico milpa (basado en maíz, frijol y calabaza). A la llegada de los españoles, su domesticación fue truncada debido la imposición de diferentes valores culturales con respecto a dichas plantas. Sin embargo, en términos de continuidad los quelites persisten en la cultura mexicana, pero cabe mencionar que han sufrido una tremenda erosión con respecto a su diversidad biológica y a su importancia social [13].

De 25,000 especies de plantas superiores que existen en México, alrededor de 500 se consideran como quelites en el sentido amplio del concepto, pero con una definición más estricta, sólo como hojas tiernas comestibles, se utilizan 358 especies pertenecientes a 176 géneros y 60 órdenes de la rama de las angiospermas (plantas con flores). La mayoría de los quelites usados en la alimentación pertenecen a 6 familias: *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Fabaceae*, *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae* y *Brassicaceae* [14].

Los quelites son característicos de zonas templadas, donde crecen de manera espontánea en los campos de cultivo y también a orillas de caminos durante la época de lluvias. Su existencia está íntimamente ligada a la milpa, sistema de producción que incluye a varias especies (maíz, frijol, calabaza, chile y otras) y que cobra gran importancia en diferentes épocas del año. En México el consumo de quelites se remonta a la época prehispánica, en la que se conocían y aprovechaban cerca de 500 especies y de las que los españoles recogieron información sobre unas 50. Hoy en día sólo podemos encontrar unas 25 especies en los mercados y tianguis rurales en época de lluvia, aunque en las comunidades indígenas se incorpora en la cocina un número considerablemente mayor [13].

Los quelites que formaron parte de la dieta de los pueblos mesoamericanos continúan siendo consumidos en las zonas rurales, particularmente donde se cultiva la milpa, por crecer ahí de manera arvense. Sin embargo, su consumo ha disminuido y, salvo algunas pocas especies, es difícil encontrarlas en los mercados convencionales. El uso de los quelites es polifacético, ya que éstos se utilizan como alimentos, medicamentos, forraje, plantas de ornato y en la recuperación de suelos, pues los enriquecen y sus raíces profundas no compiten con otras plantas para su desarrollo [13].

#### **4.1.1 Aporte alimentario**

Por su propia naturaleza, la contribución de los alimentos en la alimentación y a la nutrición son procesos biopsicosociales. Por ello su valor nutritivo tiene tres componentes igualmente importantes que son:

- a) su valor sensorial y emocional,
- b) su valor social y cultural,
- c) su valor nutrimental.

Los valores sensoriales: emocional, social y cultural son cualitativos y subjetivos; representan un punto de vista de determinada persona o colectividad sobre el grado de satisfacción de sus necesidades en estos aspectos. Son también importantes los aspectos rituales, el lugar que ocupa el alimento en las tradiciones y en la historia de una determinada cultura, su congruencia con esa cultura y con los recursos naturales del lugar, su valor para la ecología y hasta su eficiencia económica (lo que aportan por un determinado costo). Además, suelen ser comparativamente económicos y muy convenientes desde el punto de vista ecológico y es interesante que su cosecha se lleve a cabo sin destruir la planta.

La información sobre el consumo de quelites es inadecuada y sobre su composición química existen datos de sólo unas 80 especies. Éstos pertenecen al grupo alimentario de verduras y frutas, compuesto por órganos y tejidos de plantas, hongos o algas (exceptuando las semillas maduras que pertenecen a otros grupos), mismo que es en la actualidad el más amplio, colorido y diverso.



Debido a que la composición nutrimental de los quelites en términos generales es, similar a la de otras verduras de hoja. Contienen cantidades considerables de agua (más del 75%), y entre los sólidos (25%) se encuentran proteínas, hidratos de carbono, fibras y pequeñas cantidades de lípidos que dan una densidad energética comparativamente baja. A continuación se destacan algunos componentes y contenidos (por 100 g de porción comestible en fresco). Varios de los quelites autóctonos (chepil, quelites cenizo y rojo, chaya, huauzontle y romeritos) contienen hasta 6 g de proteína que es superior al de otras verduras (2 g). Con respecto a los nutrimentos inorgánicos que se encuentran en mayor concentración en los quelites son el calcio, el potasio, el magnesio, el fósforo y, en menores cantidades, el hierro, el sodio y el zinc. En el chepil, el iztaquililtl, la malva, el quintonil rojo, el quelite blanco y la punta calabacera se llegan a encontrar valores de hierro de hasta 16.8 mg que son comparativamente altos. **[11]**

#### **4.1.2 Aspecto medicinal**

El estudio de los quelites ofrece resultados prometedores en cuanto a su contenido de nutrimentos y, en algunos casos, de sustancias bioactivas con propiedades interesantes en el campo de la salud. Como ocurre en el caso de otras verduras, cada día hay mayor interés por las sustancias a las que se atribuyen efectos “benéficos”. Si bien este terreno es complejo y poco conocido, entre las sustancias bioactivas que se han identificado en los quelites figuran:

a) Ácidos grasos poliinsaturados de las series n-3 y n-6, que pueden tener efectos antitrombóticos reduciendo la adherencia de las plaquetas en las arterias así como las concentraciones de colesterol y triglicéridos en el plasma. **[11]**

A continuación, en la tabla 1, se muestra el contenido de ácidos grasos  $\Omega 3$  y  $\Omega 6$  de algunas especies de quelites; en la cual se observa que los valores del ácido alfa-linolénico son mayores en el otoño. Por el contrario, del ácido linoléico cuya presencia fue superior en primavera. **[60]**

**Tabla 1. Contenido de ácidos grasos omega 3 y omega 6 en quelites fresco**

Especie	OMEGA 3 (ácido alfa-linoleico) <sup>a</sup>		OMEGA 6 (ácido linoléico) <sup>a</sup>	
	Primavera	Otoño	Primavera	Otoño
Quelite cenizo ( <i>Amarantus hybridus</i> )	26.55	93.6	99.97	21.34
Acelga ( <i>Beta vulgaris</i> )	21.06	174.25	98.14	49.34
Espinaca ( <i>Spinacia oleracea</i> )	24.85	238.6	117.59	27.21
Quintonil ( <i>Chenopodium album</i> )	36.49	77.61	96.34	18.06
Verdolaga ( <i>Portulaca oleracea</i> )	22.6	115.31	86.56	22.88
Huauzontle ( <i>Chenopodium nuttalliae</i> )	35.17	295.34	35.51	127.85
Flor de calabaza ( <i>Cucurbita pepo</i> )	6.26	92.69	11.25	36.45

<sup>a</sup> Expresados miligramos por 100 gramos de porción comestible

Fuente: [60]

b) Polifenoles, antioxidantes que se asocian con la prevención de enfermedades cardiovasculares y otras degenerativas ligadas con el estrés oxidativo, que se encuentran en quelites como el cilantro, la hoja de nabo, la malva y el quelite blanco, con valores desde 0.52 mg hasta 12.04 mg/g de porción comestible, que son superiores a los informados en crucíferas (0.2 mg/g de porción comestible hasta 1.3 mg/g de porción comestible) [11].

c) Los flavonoides como la ametoflavona, kaempferol y quercetina, particularmente en la hoja de chaya (*Cnidoscuculos chayamansa*), presentan actividad antioxidante. Se ha demostrado también que la infusión de hojas Chaya disminuye las concentraciones de glucosa en ratas diabéticas [11].

## 4.2 *Arracacia edulis* S. Watson

### 4.2.1 Nombres

**Nombres comunes en idiomas indígenas de México:** Basiawi (Chihuahua) [20].

## **Categorías taxonómicas superiores**

Reino: Plantae; Subreino: Traqueobionta (plantas vasculares); Superdivisión: Spermatophyta (plantas con semillas); División: Magnoliophyta (plantas con flor); Clase: Magnoliopsida (dicotiledóneas); Subclase: Apiaceae; Orden: Apiales [20].

### **4.2.2 Origen y distribución geográfica**

**Localidad:** Chihuahua, suroeste de Chihuahua, México y Norteamérica [20].

**Distribución en México:** Sonora y Chihuahua [45].

### **4.2.3 Identificación y descripción**

Hierba bastante gruesa, caulescente, ramificada (3-6 dm de alto); el follaje y la inflorescencia puberulenta, obtusas en el ápice, cuneiformes en la base. Hojas oblongas a ovals en contorno general, excluyendo los pecíolos (4 a 12 cm), sésiles (2 a 6 cm de largo y de 1 a 4 cm de ancho), crenulados, dentados gruesos o pinnados lobulados, callosos marginados, puberulosos en el raquis y foliolos; Pecíolos delgados (5 a 20cm). Larga vaina en la base; hojas de caulina como la basal, sésil, 1a 2 pinnatifida con vainas estrechas; inflorescencia, escasamente ramificada, los pedúnculos gruesos (8 a 28 cm). Larga pubertura debajo del paraguas; involucra de varias brazaletes lanceoladas a ovadas, dentadas o incisas (5 a 20 mm de largo), superando las flores y frutos; ráfagas fértiles robustas (3 a 9), extendiéndose ascendentemente (1 a 6 milímetros); puberulosos largos. Flores de color amarillo dorado, los pétalos obovados; estilopodio indistinto y decaído, los estilos delgados, esparcidos; carpóforo 2-hendido a la base, rígido, muescas a la mitad de los ápices. Fruta ovoide (4 a 7 mm), ancha, glabra, estrechándose en un pico corto en el ápice, las costillas prominentes, bajas y obtusas, aplanadas, solitarias en los intervalos 2 en la comisura; semilla no canalizada, la cara profundamente surcada [45].

### **4.2.4 Hábitat**

**Hábitat:** Prados, bordes de campos viejos, áreas de césped cerca de arroyos [44].

### 4.3 *Bidens odorata* Cav. [62]

#### 4.3.1. Nombres

**Sinónimos:** *Bidens pilosa* L. sensu Sherff, en parte.

**Nombre comunes en idiomas indígenas de México:** Mozoquelite, acahual, acahual blanco, rosetilla, rocilla grande, té de milpa blanco, rosa blanca, ricilla, saetilla. En el Bajío también se conoce con los nombres de aceitilla, aceitilla blanca, aceitilla chica, shoto blanco y té de milpa; fuera de ésta zona se usa mozoquelite chino, mozoquelite lacio, mozote y sépeke (Chihuahua).

Cisiquelite, chichiquelite (náhuatl). Kutsum 'tsitsiki, kutsumu urapitj (lengua purépecha).

**Notas sobre la taxonomía:** *Bidens odorata* es la especie diploide de un complejo de especies cercanamente emparentadas. Incluye *Bidens alba* (tetraploide; en México principalmente en la vertiente del Atlántico; al parecer también en Florida y en Oceanía) y *Bidens pilosa* (hexaploide; maleza pantropical de origen mexicano). En regiones con suelos calcáreos existe una forma con flores más pequeñas y un hábito más delicado, que fue nombrado *Bidens odorata* var. *calcícola* (Greenm.). Existe mucha confusión alrededor de todo el grupo.

#### **Categorías taxonómicas superiores**

Reino: Plantae; Subreino: Traqueobionta (plantas vasculares); Superdivisión: Spermatophyta (plantas con semillas); División: Magnoliophyta (plantas con flor); Clase: Magnoliopsida (dicotiledóneas); Subclase: Asteridae; Orden: Asterales.

#### 4.3.2 Origen y distribución geográfica

**Área de origen:** México y Guatemala.

**Distribución secundaria:** Partes de E.U.A (Nuevo México) y de Sudamérica.

**Distribución en México:** Se registra en prácticamente todo el país, excepto en la península de Yucatán.

**Estatus migratorio en México:** Nativa.

**Forma de migración:** Es una planta con semillas que se adhieren a animales y sobre todo a la ropa en el caso de los humanos.

### 4.3.3 Identificación y descripción

Es una especie muy variable, pero se puede identificar con la combinación de las siguientes características: hierba anual con cabezuelas, con 5 flores liguladas blancas a rosadas, y flores tubulares amarillas; brácteas exteriores 7 a 9, casi siempre ensanchadas en el ápice; tallo cuadrangular; hojas con 3 a 5 folíolos en la mayoría de los individuos de una población; frutos largos (los interiores por lo menos 10 mm) y angostos, con dos aristas, a veces ninguna; raíz delgada.

En regiones con suelos calcáreos y clima semiárido y tropical existe una forma de *Bidens odorata* con flores más pequeñas y un hábito más delicado.

Existen varias especies de *Bidens* con las cuales se pueden confundir ya que son flores liguladas blancas y tubulares amarillas. Entre los que se portan como malezas, *Bidens pilosa* tiene más pelos, y por lo menos algunos frutos con 3 o más aristas (*B. odorata* siempre tiene 2 o menos). *Bidens alba* tiene flores liguladas más angostas; son por lo menos 2 veces más largas que anchas. *Bidens bigelovii* tiene frutos de dos formas: los interiores se parecen a los de *B. odorata*, pero los exteriores (que puede ser nada más uno, o muchos que forman un anillo) son aplanados y con forma de triángulo.

### Descripción técnica

**Hábito y forma de vida:** Hierba anual, generalmente erecta o ascendente.

**Tamaño:** Hasta 1.5 m de alto, pero generalmente alrededor de 70 cm.

**Tallo:** Cuadrangular, escaso o profusamente ramificado, casi glabro o algo piloso, estriado a acanalado, a veces teñido de púrpura.

**Hojas:** Opuestas, sobre pecíolos de hasta 10 cm de largo, limbo de hasta 15 cm de largo y 11 cm de ancho, partido de 3 ó 5 folíolos simples de forma muy variable,

ovados o lanceolados y aserrados, o bien éstos a su vez profundamente partidos, casi glabros a pilosos.

**Inflorescencia:** Las cabezuelas solitarias o agrupadas en corimbos laxos sobre pedúnculos pilosos, estrigosos o rara vez glabros, de 1 a 8 cm de longitud.

**Cabezuela/flores:** **Involucro** anchamente campanulado a subhemisférico, de 4 a 9 mm de alto, brácteas exteriores de 6 a 10, lineares a linear-espátuladas, de 3 a 5 mm de largo, verdes, ciliadas, las interiores de 6 a 8, lanceoladas a oblongas, de 3 a 6 mm de largo, café pero con los márgenes hialinos, sobre un receptáculo plano, páleas lineares. **Flores liguladas** 5, sus corolas blancas, blanquecino amarillentas, moradas o rosáceas con rayas púrpura–oscuro, obovadas o elípticas, de 8 a 20 mm de largo y 5 a 12 mm de ancho; **flores del disco** de 25 a 50, hermafroditas, sus corolas amarillentas, de 3 a 6 mm de largo, glabras o algo pubescentes en el tubo, anteras oscuras.

La variedad *calcicola* tiene lígulas de 4 a 8 mm de largo y 3 a 6 de ancho, y brácteas exteriores de 1.2 a 3 mm x 0.2 a 0.5 mm.

**Frutos y semillas:** Aquenios de 5 a 15 mm de largo, los interiores lineares y más largos, los exteriores más o menos obcomprimidos y más cortos, negruzcos o café, vilano por lo común de dos aristas retrorsamente barbadas (con barbilla dirigida hacia abajo), de 1 a 3 mm de largo o a veces ausente, nunca con 3 o más aristas.

**Plántulas:** Cotiledones oblanceolados de 11 a 30 mm de largo y 1.5 a 3.5 mm de ancho. Hojas pinnatisectas con 5 a 7 lóbulos; de 7 a 16 mm de largo y 5 a 11 mm de ancho, sin pelos; pecíolos de 2 a 10 mm de largo.

**Raíz:** Con eje principal, pero extendida.

**Características especiales:** Color verde a veces teñido o con rayos color morado.

La planta se emplea como forrajera y también como medicinal.

#### 4.3.4 Hábitat

**Hábitat:** Campos de cultivo, orillas de caminos, lugares perturbados. En forma natural se encuentra en taludes y alrededor de ríos.

**Distribución por tipo de zonas bioclimáticas:** Bosque de pino-encino, bosque mesófilo, selva baja caducifolia y pastizales.

**Distribución altitudinal:** En el occidente de México principalmente entre 1000 y 2200 m; en el Valle de México de los 2250 a 2900 m.

#### 4.3.5 Biología y ecología

**Propagación, dispersión y germinación:** Por semilla. Se dispersa como contaminante de semillas, pegada al pelaje de los animales y a la ropa del hombre. La mayoría de las semillas germinan en el primer centímetro del suelo donde hay buena humedad, luz y oxígeno. Las semillas persisten latentes en el banco de semillas del suelo.

**Ciclo de vida:** Anual de verano; es una planta C3, de día corto, requiere de 10 a 14 horas luz para inducir la floración.

**Fenología:** En Valles Altos se le encuentra en estado vegetativo de marzo a septiembre, en floración de mayo a octubre y en fructificación de julio a diciembre. En terrenos con riego se le encuentra todo el año en diferentes estados fenológicos. De Coahuila se reporta floración de junio a noviembre y del occidente de México de agosto a enero. En el Bajío florece de (mayo) agosto a noviembre (enero).

**Forma de polinización:** Por insectos.

**Frecuencia y tamaño de las poblaciones:** Es una de las especies más comunes en las áreas rurales y terrenos baldíos de los valles altos.

#### **4.4 *Lepidium virginicum* L. [64]**

##### **4.4.1 Nombres**

**Sinónimos:** *Lepidium intermedium* A. Gray, *Lepidium medium* Greene.

**Otros nombres comunes usados en español:** El nombre lentejilla es ampliamente usado para esta especie común en los valles centrales de México. Pero, hay otras especies parecidas del género *Lepidium* con el mismo nombre común; también especies de *Lemna* se denominan lentejilla. Así que se propone el nombre "lentejilla de campo" para esta especie. Otro nombre común en español que se reporta es "comida de parajito" (Jalisco).

**Nombres comunes en idiomas indígenas de México:** Isohuanquil (nahuatl; Rzedowski, 2002), Mixixi (Matamoros, Puebla); Put-kam, Putsiu, Put-kan (Maya, Yucatán), Xixinda (México), Mexix-quilitl (náhuatl).

**Nombres comunes en inglés;** Virginia pepperweed, poorman's pepper, pepperweed, peppergrass.

##### **4.4.2 Origen y distribución geográfica**

**Área de origen:** Probablemente en Mesoamérica.

**Distribución secundaria:** Ampliamente distribuido en las Américas; hoy también en las Antillas, el Pacífico y Eurasia.

**Distribución en México:** Se ha reportado en prácticamente todo el país, excepto en Guerrero, Puebla, Sinaloa, Tabasco y Zacatecas.

**Estatus migratorio en México:** Es especie nativa.

##### **4.4.3 Identificación y descripción**

Es una planta relativamente pequeña (por lo común de 20 a 30 cm), anual, con flores muy pequeñas y blancas, con numerosos frutos como discos pequeños o lentejas, de 3 a 4 mm en diámetro y orbiculares, no elípticas o alargadas. Es la especie más común del género en México.



Se puede confundir principalmente con otras especies de *Lepidium*, especialmente *Lepidium schaffneri* y *Lepidium oblongum*. *Lepidium schaffneri* es una planta de altitudes superiores; se reconoce mejor cuando es joven: el ápice de la inflorescencia de *Lepidium schaffneri* es densamente agrupado; además, sus pétalos frecuentemente son más largos (como 2 mm) y los frutos más pequeños y alargados, con una ala más ancha. *Lepidium oblongum* generalmente tiene hojas más divididas.

### **Descripción técnica**

**Hábito y forma de vida:** Hierba anual o bianual, generalmente erecta y ramificada, pero a veces puede tener un porte rastrero; algo pubescente a muy pubescente, ocasionalmente glabra.

**Tamaño:** De 10 a 70 cm de altura, generalmente alrededor de 30 cm.

**Tallo:** Con un solo tallo saliendo desde la base y ramificándose arriba, o el tallo es ramificado desde abajo.

**Hojas:** Alternas, las **basales** formando inicialmente una roseta (comúnmente ausentes en ejemplares en fruto) de 5 a 15 cm de largo por 1 a 5 cm de ancho, pinnatífidas o bipinnatífidas; las **hojas superiores** más pequeñas, generalmente aserradas, a veces pinnatífidas, ocasionalmente enteras.

**Inflorescencia:** Un racimo.

**Flores:** Sobre pedicelos de 1 a 3 veces más largos que el fruto, sépalos y pétalos de 1 mm de largo, aunque los pétalos pueden ser más grandes, rara vez ausentes o más cortos que los sépalos, de color blanco o blanquecino-purpúreos, presenta dos estambres (raramente 4 o 6), ovario súpero, estigma sésil.

**Frutos y semillas:** Silículas de 3 a 4 mm de largo, ovales, casi orbiculares, glabras, marginadas, con una escotadura apical pequeña y en cuya base se encuentra el estigma sésil. Semillas dos por fruto, de más o menos 2 mm de longitud, de color naranja, las cuales se desprenden al abrirse las valvas del fruto.

**Plántulas:** El hipocótilo puede ser nulo o cilíndrico, de hasta 8 mm; cotiledones de lámina elíptica a espatulada, de 3 a 6 mm de largo y 1.5 a 2.5 mm de ancho; el epicótilo puede ser nulo o alargado de hasta 1 mm; hojas opuestas y después del segundo par alternas.

**Raíz:** Napiforme.

#### 4.4.4 Hábitat

**Hábitat:** Principalmente en campos de cultivo, pero a veces como ruderal en orillas de caminos, alrededores de casas.

**Distribución altitudinal:** En el Valle de México se encuentra hasta los 3000 m.

**Distribución por tipo de suelos:** De Estados Unidos se reporta para suelos secos.

#### 4.4.5 Biología y ecología

**Propagación, dispersión y germinación:** Se propaga por semillas.

**Fenología:** En Coahuila se reporta que florece de abril a noviembre y para el Valle de México de marzo a diciembre, en cultivos fructifica de septiembre hasta fin del año; en otros sitios se pueden encontrar plantas en todos los estadios de desarrollo todo el año en los lugares apropiados.

### 4.5 *Tridax coronopifolia* (Kunth) Hemsl [65]

#### 4.5.1 Nombres

**Sinónimos:** Como sinónimos a *Tridax macropoda* Gandoger; *T. trifida* (H.B.K.) A. Gray.

**Otros nombres comunes usados en español:** Coronilla y Hierba del Conejo.

### **Categorías taxonómicas superiores**

Reino: Plantae; Subreino: Traqueobionta (plantas vasculares); Superdivisión: Spermatophyta (plantas con semillas); División: Magnoliophyta (plantas con flor); Clase: Magnoliopsida (dicotiledóneas); Subclase: Asteridae; Orden: Asterales.

### **4.5.2 Origen y distribución geográfica**

**Área de origen:** México.

**Distribución en México:** Se ha reportado en prácticamente todo el país, excepto en Baja California, Baja California Sur, Campeche, Chihuahua, Coahuila, Colima, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Yucatán.

**Estatus migratorio en México:** Nativo.

### **4.5.3 Identificación y descripción**

#### **Descripción técnica**

**Hábito y forma de vida:** Planta herbácea anual o perenne.

**Tamaño:** Hasta de 40 o 60 cm de largo.

**Tallo:** Erecto o rastrero, generalmente muy ramificado, estriado, con pelos más o menos erectos.

**Hojas:** Todas o casi todas opuestas, extremadamente variables, angostas, generalmente divididas en 3 a 9 o a veces más segmentos muy angostos, aunque a veces enteras, con pelillos.

**Inflorescencia:** Cabezuelas solitarias sobre pedúnculos muy largos (de hasta 22 cm), a veces cubiertos de pelillos, ubicados en las axilas de las hojas.

**Cabezuela/Flores:** Cabezuela, aunque tiene el aspecto de una flor, es una inflorescencia formada por pequeñas flores sésiles dispuestas sobre un receptáculo cónico, provisto en su superficie de brácteas (páleas) que abrazan las flores del disco; el conjunto de flores está rodeado por fuera por 15 a 25 brácteas

dispuestas en 2 a 3 series y que constituyen el involucre, éste es anchamente campanulado a casi hemisférico, las brácteas son lanceoladas a oblongas, con el margen seco y membranáceo, a veces con pelillos, las interiores algo más largas que las exteriores. Flores liguladas 5 a 13, hermafroditas (con ambos sexos), ubicadas en la periferia de la cabezuela, la corola es un tubo que hacia el ápice se ensancha (“garganta”) y se divide en 5 lóbulos, los 3 exteriores más grandes que los 2 interiores, blanca o amarilla; flores del disco 10 a 30, hermafroditas, ubicadas en la parte central, la corola se divide en 5 lóbulos iguales, de color amarillo y con algunos pelillos; estambres alternos con los lóbulos de la corola, filamentos libres, anteras soldadas entre sí formando un tubo alrededor del estilo; ovario ínfero.

**Frutos y semillas:** El fruto es un aquenio, con una sola semilla, en forma de cono invertido (más ancho en el ápice), cubierto de pelos largos y suaves, negruzco, vilano de 12 a 16 escamas delgadas, con el margen dividido en segmentos delgadísimos como pelos.

#### **4.5.4 Hábitat**

**Hábitat:** Frecuente en parcelas de maíz y avena, a orillas de caminos y zanjas, en pastizales y matorrales.

**Distribución altitudinal:** En el Valle de México hasta los 2850 m.

**Distribución por tipo de suelos:** En terrenos de suelo salobre.

#### **4.5.5 Biología y ecología**

**Ciclo de vida:** Planta anual o perenne.

**Fenología:** Florece de junio a septiembre.

### **4.6 *Galinsoga parviflora* Cav. [63]**

#### **4.6.1 Nombres**

**Sinónimos:** *Sabazia microglossa* DC., *Galinsoga laciniata* Retz.

**Otros nombres comunes usados en español:** Estrellita (Valle de México), mercurial. En el Bajío se conoce como andán chico, chía real, estrellita, jarilla, manzanilla, manzanilla silvestre, mercurial y quelitillo. En Argentina se le conoce como albahaca silvestre o saetilla.

**Nombres comunes en inglés:** Gallant soldier, smallflower galinsoga, littleflower quickweed.

**Notas sobre la taxonomía:** Es parte de un género con el centro de diversidad en México, que ha producido varias malezas. Dos son ampliamente distribuidas en el mundo (*Galinsoga parviflora* y *Galinsoga quadriradiata = ciliaris*); otros son arvenses regionales. En la Flora de Norteamérica se reconocen dos variedades.

#### **Categorías taxonómicas superiores**

Reino: Plantae; Subreino: Traqueobionta (plantas vasculares); Superdivisión: Spermatophyta (plantas con semillas); División: Magnoliophyta (plantas con flor); Clase: Magnoliopsida (dicotiledóneas); Subclase: Asteridae; Orden: Asterales.

#### **4.6.2 Origen y distribución geográfica**

**Área de origen:** Mesoamérica. En la literatura frecuentemente se lee que la especie es originaria de Sudamérica. Esto se basa en el primer ejemplar recolectado, que efectivamente proviene del subcontinente. Pero, se encuentra la variabilidad más grande, tanto dentro del género *Galinsoga*, como en la especie, en el sur de México y Centroamérica. Es probable que proviene de Mesoamérica, y que migró a Sudamérica antes de Colón.

**Distribución secundaria:** Especie naturalizada en todo el mundo, tanto en regiones templadas como tropicales.

**Distribución en México:** Se reporta de casi todos los estados, menos de la península de Yucatán.

**Estatus migratorio en México:** Nativo.

### 4.6.3 Identificación y descripción

Hierba mediana, generalmente de alrededor de 30 a 50 cm, con pequeñas cabezuelas de 5 a 6 mm en diámetro, con flores centrales (tubulares) amarillas y las de la periferia (liguladas) blancas, y casi siempre 5 (si son más o menos, se trata de ejemplares anormales). Se puede confundir con otras especies de *Galinsoga*, sobre todo con *Galinsoga quadriradiata* (muchas personas todavía la conocen como *Galinsoga ciliaris*; también hay taxónomos que no las consideran especies distintas). Los ejemplares típicos se reconocen bien, pero hay ejemplares que son difíciles de distinguir, incluso para expertos. Las dos frecuentemente crecen juntas. En la tabla 2 se resumen las diferencias; todas son relativamente técnicas, difíciles de ver y coinciden relativamente.

**Tabla 2. Diferencias entre *Galinsoga parviflora* y *Galinsoga quadriradiata***

<i>Galinsoga parviflora</i>	<i>Galinsoga quadriradiata</i>
Las flores liguladas son de 1 mm o un poco más de largo	Las flores liguladas de 1-3 mm de largo.
Páleas (pequeñas brácteas que se encuentran entre los florecitas de la cabezuela) persisten después de caer los frutos	Las páleas se caen antes de o con los frutos.
Pedúnculos con pelos adpresos (pegados), pocos o ningunos pelos glandulares	Pedúnculos con pelos glandulares y otros pelos largos y extendidos.
Páleas (unas pequeñas brácteas entre las flores en la cabezuela) frecuentemente con dos o tres dientes profundos en el ápice.	Páleas lanceoladas, no divididas o someramente dentadas en el ápice.
Las plantas son glabras a medianamente hispídas (con pelos)	Las plantas son moderada- a densamente hispídas
Hojas, sobre todo las superiores, más bien lanceoladas	Hojas más anchas, más bien ovadas.
Crece en lugares medianamente húmedos, principalmente como arvense	Crece en lugares más húmedos y sombreados, principalmente como ruderal

Fuente: [63]

### Descripción técnica

**Hábito y forma de vida:** Planta anual, erecta o algo extendida, con frecuencia ramificado.

**Tamaño:** De 10 a 100 cm de alto. A veces hay ejemplares minúsculos de 2 a 3 cm, con una sola cabezuela.

**Tallo:** Cilíndrico, un poco aplanado o anguloso, estriado, esporádicamente pubescente con pelos más o menos aplicados a casi glabros, a veces hispídos, generalmente verde.

**Hojas:** Opuestas, pecioladas a subsésiles, pecíolos de 0 a 30 mm de largo, lámina trinervada, linear-lanceolado a ovada, de 2 a 5 cm de largo, de 1 a 7 cm de ancho, agudo a acuminado en el ápice, subentero a crenado o aserrado en el margen, con un callo en el ápice de cada crenación o diente, cuneado a redondeado en la base, presenta pelos estrigosos en el haz y envés.

**Inflorescencia:** Cabezuelas arregladas en cimas terminales o solitarias y axilares, sobre pedúnculos de hasta 0.6 a 3.5 cm de largo, provistos en general de pubescencia aplicada y además con frecuencia pelos glandulosos, los tricomas multicelulares frecuentemente con las uniones entre células rojizas (se ve con una buena lupa).

**Cabezuelas/Flores:** **Involucro** campanulado, de 3 a 3.5 mm de alto, sus brácteas de 8 a 13, de largo casi igual o a veces 1 o 2 exteriores más cortas, ovadas, obtusas o redondeadas en el ápice, por lo común glabras; receptáculo cónico, paleas frecuentemente tridentadas, al menos las exteriores, glabras; **flores liguladas** 5, blancas, sus láminas cuadradas a ovadas, inconspícuas o hasta 3 mm de largo, fértiles, trifidas en el ápice; **flores del disco** 15 a 50, sus corolas amarillas, de 1 a 1.5 mm de largo, pubescentes, anteras de bases obtusas, estilo con ramas estrechamente oblongas con ápice agudo.

**Frutos y semillas:** Aquenios turbinados (estrechándose hacia abajo), dimórficos (de dos formas), de  $\pm$  1.5 mm de largo, pubescentes o glabrosos, vilano generalmente ausente en las flores liguladas, en las del disco por lo común formado por 4 a 16 escamas fimbriadas, o sea, partidas, igualando en largo a la corola, otras veces ausente.

**Plántulas:** Hipocótilo de hasta 27 mm, rojizo, con pelos; cotiledones de 2 a 4 mm de largo y 1.5 a 3 mm de ancho, sin pelos. Epicótilo de hasta 5 mm. Hojas opuestas, lámina aovada con ápice agudo, de 3 a 6 mm de largo y 2 a 3.5 mm de ancho, sin pelos en el haz y con pelos en el envés.

#### **4.6.4 Hábitat**

**Hábitat:** Es arvense común y además crece como ruderal en caminos, vías de comunicación, ríos y baldíos.

**Distribución altitudinal:** Del occidente de México se conoce de 1100 a 2500 m; en el Valle de México se registró hasta aproximadamente 3000 m. En el Bajío se registra entre los 1750 a 3150 m.

**Distribución por tipo de suelos:** En Argentina crece en suelos fértiles, ácidos y húmedos; en E.U.A. crece en suelos húmedos y fértiles.

#### **4.6.5 Biología y ecología**

**Propagación, dispersión y germinación:** Por semilla, y enraizando en los nudos.

**Ciclo de vida:** Anual de verano.

**Fenología:** En el Valle de México se le encuentra en forma vegetativa de marzo a septiembre, en floración de mayo a noviembre, fructifica de julio a diciembre. En lugares con riego sin riesgo de heladas se le encuentra en diferentes etapas fenológicas durante todo el año. En el Bajío florece de junio a noviembre.

### **4.7 Composición bromatológica**

#### **4.7.1 Análisis bromatológico**

Las determinaciones que se realizan más frecuentemente para conocer la composición de los alimentos incluyen la determinación de humedad, cenizas, extracto etéreo (grasa cruda), proteína total, fibra y hidratos de carbono asimilables. Este tipo de análisis se emplea en todo el mundo para hacer



descripciones de los alimentos; y la mayoría de los requisitos legales para productos alimentos se basan en el sistema de Weende **[30]**.

#### **4.7.2 Agua**

El agua (humedad) es el componente mayoritario de muchos alimentos. Constituye el medio en el que ocurren las reacciones químicas y participa como reactivo en la hidrólisis. La eliminación del agua o su inmovilización por incremento de la concentración de sal o de azúcar, por lo tanto, se ralentizan muchas reacciones e inhibe el crecimiento de microorganismos, consiguiéndose con ello un aumento de la vida útil de muchos alimentos. A través de interacciones físicas con proteínas, polisacáridos, lípidos y sales, el agua contribuye también de forma importante a la textura de los alimentos **[7]**.

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 **[21]**.

En los vegetales y frutas, la textura está estrechamente relacionada con la turgencia, que es función de la presión osmótica dentro de la célula vegetal. El contenido acuoso puede ser un índice del grado de maduración del producto vegetal y un criterio de calidad para juzgar acerca de su textura. El contenido de agua en los alimentos frescos se encuentra entre 60 y 70%. Por otro lado, el dato de la humedad está relacionado con la edad y el estado de conservación del mismo. Un contenido de humedad mayor al 15% en alimentos secos no es admisible, ya que se supone una disminución del valor nutritivo y la predisposición de los mismos para el desarrollo de microorganismos **[8]**.

### 4.7.3 Proteína

Los aminoácidos han sido identificados como sustancias nitrogenadas capaces de combinarse entre sí para formar una variedad casi ilimitada de proteína. Las proteínas son uno de los macronutrientes que encontramos en los alimentos junto a los hidratos de carbono y lípidos. Son los elementos básicos del cuerpo, esenciales en todo el metabolismo. Su principal función no es energética sino estructural, es decir, contribuye a la formación, desarrollo y renovación de todos los órganos y sistemas del organismo y desempeñan también un gran número de funciones en las células de los seres vivos [24, 51].

Las proteínas son sustancias complejas, compuestas de unidades estructurales llamadas aminoácidos. Contienen básicamente en su estructura los siguientes elementos: Carbono (C), hidrogeno (H), oxígeno (O) y nitrógeno (N). La estructura molecular y el tamaño de las proteínas varían mucho, pero todas tienen en su estructura un grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) y un grupo carboxilo ( $\text{COOH}$ ) unidos a un mismo carbono terminal en su molécula, lo que las hace ser similares y tener varias propiedades en común. Hasta ahora se conocen veintidós aminoácidos naturales que componen las proteínas, unidos en cadena de formas muy diferentes y de tamaños muy variados. [24].

Tanto el reino vegetal como en el animal, cada especie forma sus propias proteínas: Así por ejemplo, las proteínas del maíz, no son iguales a las del frijol, ni estas a las de la carne. Además, dentro de una misma especie también hay muchas proteínas diferentes. Los animales y el hombre consumen proteínas ya formadas por las plantas y, utilizan los aminoácidos de éstas, para sintetizar sus propias proteínas [24].

Las funciones que cumplen las proteínas se han denominado plásticas y protectoras, y son las siguientes:

- a) Función en el crecimiento y en el mantenimiento de todos los tejidos.
- b) Función en la regulación de los procesos corporales, y
- c) Función energética

Desde el punto de vista de la composición de una dieta, no solo puede tener interés el contenido proteínico ofrecido por un alimento determinado, sino también su aporte en aminoácidos, puesto que una dieta se puede considerar completa en lo que se refiere al aporte proteínico solamente cuando es capaz de asegurar los requerimientos aminoacídicos necesarios para el crecimiento normal y el mantenimiento del organismo vivo. Las fuentes proteínicas de origen vegetal suelen carecer de algún aminoácido indispensable [55].

#### 4.7.4 Grasa

Las grasas son conocidas químicamente con el nombre de LIPIDOS que incluyen las grasas propiamente dichas, los aceites y las sustancias grasas. Todas ellas son compuestos heterogéneos, relacionados entre sí, por ser insolubles en agua, pero solubles en ciertos disolventes orgánicos como el éter, el alcohol, el benceno, el cloroformo, etc. Estas son compuestos orgánicos de carbono (C), hidrogeno (H) y oxígeno (O), pero con la diferencia, de que las grasas tienen una proporción mucho más pequeña de oxígeno que los hidratos de carbono, por lo que difieren en su estructura y en sus propiedades. Algunas grasas contienen, además, otros elementos como fósforo (P) y nitrógeno (N). Para los fines de nuestros estudios nutricionales, el término lípidos o grasas se refiere únicamente a compuestos que se hallan en materiales biológicos [24].

Cumplen las siguientes funciones en el organismo:

- a) Son fuente de energía, producen 9 calorías por gramo.
- b) Constituyen una reserva potencial de energía.
- c) Desempeñan un papel fundamentalmente importante en el funcionamiento normal de la célula.

Participan directa o indirectamente en muchas actividades metabólicas, como componentes de las estructuras celulares, especialmente, en las membranas biológicas.

- d) cumplen una función de palatabilidad, o sea, que dan buen sabor a las comidas.

Además, los lípidos funcionan como:

- Aislante térmico
- Aislante mecánico
- Protectores y acomodadores de órganos
- Vehículo de vitaminas liposolubles (A, D, E y K)
- Depósito de agua, porque la grasa al metabolizarse produce agua; a esta se le conoce con el nombre de agua metabólica.

#### **4.7.5 Fibra**

Con el nombre de fibra cruda se agrupa a una mezcla heterogénea de componentes de origen vegetal resistentes a las enzimas del tracto gastrointestinal del hombre, es un residuo orgánico insoluble constituido principalmente por celulosa, pectina, lignina, hemicelulosa, gomas y mucilagos. La celulosa es el hidrato de carbono más abundante en la naturaleza y es uno de los componentes estructurales de las células vegetales, representando un 20 a 40% de la materia seca de plantas verdes. La unión de las moléculas de glucosa, mediante un enlace  $\beta$ -glucósido hace a la celulosa especialmente insoluble y resistente a la degradación por enzimas digestivas [40].

#### **4.7.6 Cenizas**

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar a 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 química entre los constituyentes. El valor principal de la determinación de cenizas (y también de las cenizas solubles en agua, la alcalinidad de las cenizas y las cenizas insolubles en ácido) es que supone un método sencillo para determinar la calidad de ciertos alimentos. Las cenizas de los alimentos deberán estar comprendidas entre ciertos valores, lo cual facilitara en parte su identificación [52].

En los vegetales predominan los derivados de potasio y en las cenizas animales los del sodio. El carbonato potásico se volatiliza apreciablemente a 700 °C y se

pierde casi por completo a 900 °C. El carbonato sódico permanece inalterado a 700 °C, pero sufre pérdidas considerables a 900 °C. Los fosfatos y carbonatos reaccionan además entre sí [29].

#### 4.7.7 Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono son compuestos orgánicos que contienen en su estructura una función aldehído o cetona y el resto de los carbonos generalmente hidroxilados (OH) son, por lo tanto, polihidroxialdehídos o polihidroxicetonas. Estos compuestos son los constituyentes mayoritarios, después del agua, de la materia viva de nuestro planeta y representan del 50 al 70% de las calorías totales ingeridas con la dieta. Los hidratos naturales de la dieta incluye almidón, azúcares simples, polímeros complejos conocidos como “fibras nutricionales” y otros componentes menores, a los que se añaden almidón de maíz hidrolizado, jarabes de fructuosa fabricados a partir del almidón de maíz, almidones modificados, gomas, mucilagos, alcoholes de azúcar y otros productos industriales, que se añaden a los alimentos para cambiar de textura, la sensación en la boca, el color, la viscosidad y el sabor, así como para prolongar la conservación [57].

Los hidratos de carbono son de origen vegetal, excepto el glicógeno y la lactosa que son hidratos de carbono de origen animal. Estos son sintetizados por la clorofila (materia verde colorante de las hojas de las plantas). Para ello utilizan la energía solar, el dióxido de carbono del aire y del agua del suelo; mediante un proceso conocido como fotosíntesis. La función principal de los hidratos de carbono de la dieta, es la de proveer energía al organismo. Cada gramo de hidrato de carbono al oxidarse, produce 4 calorías [24].

Además de cumplir esa función tan importante para el mantenimiento de la buena salud, entre las cuales se destacan:

- a) Producen energía de almacenamiento
- b) Constituyen la única fuente de energía para ciertos aparatos y sistemas del cuerpo

- c) Estimulan los movimientos normales de tracto gastrointestinal y dan consistencia a las heces (celulosa)
- d) Ahorran las proteínas de la dieta

#### **4.8 Complementación bromatológica**

Esta se realiza con el propósito de determinar la calidad y aprovechamiento de los alimentos por sus componentes nutrimentales, así como por su contenido energético.

##### **4.8.1 Digestibilidad proteínica *in vitro***

Los aminoácidos presentes en las proteínas no están siempre disponibles en su totalidad, debido a que la digestión y/o absorción de los aminoácidos puede ser incompleta. Generalmente las proteínas de origen animal son asimilables ya que no hay factores que condicionen su adecuada absorción, mientras, que las de origen vegetal lo son en menor proporción, debido a la presencia de algunos factores antinutricionales, además de que la digestibilidad de las proteínas de los alimentos está asociado con su contenido de fibra, lo que aumenta la excreción de nitrógeno en el excremento y reduce por consiguiente su digestibilidad [22].

La digestibilidad es una forma de medir el aprovechamiento de un alimento, es decir, la facilidad con que es convertido en el aparato digestivo en sustancias útiles para la nutrición. Comprende dos procesos, la digestión que corresponde a la hidrólisis de las moléculas complejas de los alimentos, y la absorción de pequeñas moléculas (aminoácidos, ácidos grasos) en el intestino. Debido a que no basta que la proteína u otro elemento se encuentre en altos porcentajes en el alimento (o en sus insumos), sino que debe ser digerible para que pueda ser asimilado y por consecuencia, aprovechado por el organismo que lo ingiere [3].

Existen diferentes métodos para determinar la digestibilidad de un alimento, entre ellos se encuentran la digestibilidad *in vivo*, *in vitro* e *in situ*. Los estudios *in vitro* en condiciones de laboratorio se han desarrollado como alternativa a las técnicas de digestibilidad *in vivo*, Los métodos *in vitro* para probar la

digestibilidad de una proteína se basan en el uso de enzimas proteolíticas para correlacionarse con la digestión de la proteína *in vivo*. El análisis de la digestibilidad de un alimento es muy importante ya que existen diferentes nutrientes en éste, unas de fácil absorción y otras que son resistentes a la degradación enzimática en el caso de los animales monogástricos y por ende excretadas en las heces; es precisamente este tipo de análisis los que marcan la diferencia entre la alimentación cuantitativa de un alimento. Para imitar la digestión humana, se usan enzimas gástricas y/o pancreáticas además de enzimas intestinales en el ensayo. La principal ventaja de éste método es la rapidez de éste y la poca cantidad de muestra que se requiere para el ensayo [41].

#### 4.8.2 Densidad energética

La densidad energética de los alimentos se define como la cantidad de energía que aporta un alimento por unidad de peso, generalmente especificada como kcal/g o kJ/g [54].

La estimación del contenido calórico en los alimentos es indispensable para estudios de metabolismo y balance de energía. Los nutrimentos se requieren en primera instancia para aportar la energía necesaria y mantener las funciones vitales. Los organismos vivos necesitan energía para desempeñar sus actividades diarias aun estando en reposo absoluto como dormir. Así, los requerimientos energéticos deben cubrir las necesidades para mantener a un individuo sano y con esto pueda realizar su vida en forma normal. Una forma práctica de obtener el contenido energético o densidad calórica de un alimento es utilizando el método directo con la bomba calorimétrica; sin embargo; hay que tomar en cuenta que este dispositivo determina la energía liberada por la oxidación completa del alimento, mientras que el cuerpo humano realiza la oxidación incompleta. Por lo tanto, se puede asumir que la energía determinada en la bomba calorimétrica, da el máximo potencial energético de un alimento (calor de combustión), que por convención se conoce como “Energía Gruesa (EG) o bruta” [12].

### 4.8.3 Calcio

El calcio es un macromineral indispensable para la formación de huesos y dientes, la contracción muscular y el funcionamiento del sistema nervioso; también interviene en la coagulación de la sangre y en la actividad de algunas enzimas. Sin embargo, la mayoría del calcio en el organismo se encuentra en los huesos y en los dientes. Una manera de prevenir la deficiencia de calcio en el organismo es por medio de una dieta rica en alimentos que lo contengan, por ejemplo, productos lácteos (quesos, yogurt), espinacas, mostaza, rábano, brócoli, frijoles y ajonjolí [46].

### 4.8.4 Hierro

El hierro es un micromineral con gran importancia para el buen desarrollo del ser humano y el mantenimiento de su organismo [48].

El hierro de la dieta se presenta en dos formas:

- El hierro hemo, asociado con la hemoglobina y la mioglobina, sólo se encuentra en alimentos de origen animal como la carne, el pollo y el pescado.
- El hierro no hemo, se encuentra tanto en alimentos animales como vegetales.

Aproximadamente el 20 a 70% del hierro contenido de los alimentos animales y el 100% de los alimentos vegetales se encuentran en forma no hemo. El hierro hemo presenta una mayor biodisponibilidad, con una absorción a través de los intestinos de entre 10 y 35% frente al 2 a 10% del hierro no hemo. El porcentaje absorbido depende de las necesidades de hierro del individuo. Las fuentes ricas en hierro no hemo son los frutos desecados como los albaricoques, las ciruelas y las pasas, las legumbres y los productos integrales [66].

El hierro cumple funciones esenciales en el organismo, se encuentra en dos compartimientos: uno funcional que incluye los diversos compuestos celulares que contienen hierro y otro componente de depósito, que constituye la reserva de este



metal. Este puede transportarse de un compartimiento a otro o unido a la transferrina plasmática y también sirve como transportador de oxígeno de los pulmones a los tejidos a través de la hemoglobina de los glóbulos rojos, como transportador de electrones en la membrana intracelular, como parte integrante del sistema enzimático en diversos tejidos [5].

Por otra parte, sustancias que se encuentran de forma natural en algunos alimentos, como los taninos, fosfatos, fitatos, oxalatos y un exceso de fibra pueden reducir la biodisponibilidad del hierro no hemo y formar sales insolubles o potenciar el rápido transporte a través de los intestinos [66].

#### **4.9 Factores tóxicos**

Algunos alimentos de la dieta humana, además de nutrimentos, contienen sustancias sin valor nutritivo y que causan daños al organismo, en el caso de las plantas estas sustancias juegan un papel importante en el mecanismo de defensa contra sus depredadores naturales [41].

Estas sustancias se pueden clasificar como:

- **Agentes antinutricionales:** Son sustancias naturales no fibrosas generadas por el metabolismo secundario de las plantas, como un mecanismo de defensa ante el ataque de mohos, bacterias, insectos y pájaros, o en algunos casos, productos del metabolismo de las plantas sometidas a condiciones de estrés, que al estar contenidos en ingredientes utilizados en la alimentación de animales o humana ejercen efectos contrarios a su óptima nutrición, reduciendo el consumo e impidiendo la digestión, la absorción y la utilización de nutrientes por el animal. Su naturaleza, mecanismos de acción y potencia de sus efectos son muy variados y tienen una amplia distribución en el reino vegetal [35].
- **Agentes tóxicos:** Son sustancias presentes en los alimentos capaces de producir a corto plazo, efectos dañinos, una anomalía fisiológica, que no puede ser atenuada por una suplementación de nutrimentos; generalmente

son xenobióticos de alto grado de toxicidad y afectan un órgano blanco. Su modo de acción puede explicarse, sea por su particular reactividad, por la existencia de alteración genética que favorezca la aparición de una determinada patología [19].

#### **4.9.1 Agentes antinutricionales**

##### **4.9.1.1 Inhibidores de tripsina**

Los inhibidores de las proteasas están muy difundidos en el reino vegetal, son sustancias que se encuentran en la fracción proteínica de las leguminosas aunque también se encuentran en otros alimentos, se caracterizan por su capacidad de inhibir a acción de enzimas digestivas como la tripsina y quimiotripsina. La tripsina es una enzima proteolítica de suma importancia en la digestión de los monogástricos como el ser humano. Como consecuencia, las proteínas no son digeridas adecuadamente, lo que afecta a la disponibilidad de los aminoácidos [15].

Los inhibidores de proteasas son proteínas termolábiles que se encuentran en granos y semillas cuyo consumo reduce la digestibilidad y el aprovechamiento de proteínas que participan en el proceso digestivo. Los inhibidores más conocidos son los de tipo Kunitz y Bowman-Birk de la soya. El primero es una proteína celular, no helicoidal, con 197 aminoácidos de un peso molecular de 21 500 Daltons con dos enlaces disulfuro, de los cuales uno de ellos es fundamental para su actividad, el segundo consta de 72 aminoácidos, con un peso molecular de 7 975 Daltons, este contiene 8 enlaces disulfuro, se asocia reversiblemente y forma una mezcla monómero-dímero siendo más estable al calor, a los ácidos y a la pepsina que el primero. Ambos inhiben el crecimiento, reducen la adsorción de lípidos, la digestibilidad de proteínas, causan hipertrofia pancreática, aumento de la secreción de la bilis y jugo pancreático [38].

El grado de inhibición de los componentes depende de la temperatura, tiempo de tratamiento, el volumen del alimento y el contenido de agua del mismo. Sin

embargo, un tratamiento térmico severo puede disminuir la calidad proteínica, por lo que es importante controlar el tiempo y la temperatura de cocción [1].

Los inhibidores de la tripsina son globulinas capaces de inhibir la tripsina y la quimiotripsina pancreática, impidiendo la proteólisis digestiva y aumentando las pérdidas de nitrógeno por heces. Se encuentran en la secreción pancreática, es una proteína pequeña de 6KDa, que se une fuertemente al centro activo de la tripsina, dada su analogía con el sustrato, formándose un complejo muy estable [38, 59].

Los principales efectos adversos de los inhibidores de tripsina son: inhibición del crecimiento, reducción de la digestibilidad de la proteína, incremento de los requerimientos de aminoácidos azufrados, estimula la secreción de enzimas pancreáticas, estimula la actividad de la vesícula biliar, hipertrofia de páncreas y reduce la energía metabolizable [6].

La mayoría de los inhibidores de tripsina, pueden ser destruidos mediante un tratamiento térmico adecuado, con lo que se logra mejorar el valor nutritivo de las proteínas [39].

#### **4.9.1.2 Oxalatos**

Los oxalatos son sales o ésteres formados a partir del ácido oxálico, el ácido oxálico está presente en numerosas plantas en forma libre o en forma de sales de sodio, potasio y calcio, estas últimas insolubles en agua. Los efectos negativos del ácido oxálico en la absorción de calcio se pueden predecir mediante una relación meq oxalato/meq calcio. Los alimentos con una relación mayor a 1 pueden disminuir la disponibilidad del calcio. Por lo tanto si el valor es mayor de 1 puede ser descalcificante, ya que además de secuestrar todo el calcio presente en el alimento que lo contiene, este tiene la capacidad de secuestrar este mineral proveniente de otras fuentes y dejarlo sin disponibilidad para el organismo [47, 61].

El oxalato soluble es altamente oxidante, corrosivo y posee una gran actividad quelante, por lo cual puede ser muy tóxico. En humanos el oxalato es ingerido con muchos alimentos comunes (por ejemplo el nopal, el chocolate, la espinaca, el frijol, etc) como ácido oxálico u oxalato de calcio, adicionalmente es producido internamente como producto de desecho del metabolismo. La homeostasis del oxalato es mantenida por la degradación del oxalato por la acción de enzimas endógenas como la oxalato oxidasa y principalmente por la acción bacteriana. Las bacterias responsables de la degradación residen en el tracto gastrointestinal y pertenecen principalmente al género *Oxalobacter formigenes* [58].

Cuando se excede la capacidad de degradación del oxalato de las bacterias o enzimas endógenas, ya sea por un exceso en el consumo de alimentos ricos en oxalato o por desórdenes metabólicos, es excretado en la orina. La consecuencia más adversa de un alto contenido de oxalato en la orina es la formación de cálculos renales (Nefrolitiasis) [25].

La mayoría de las plantas producen cristales de oxalato de calcio, los cuales pueden presentar más del 85% del peso seco de algunas de ellas (cactáceas) [23].

La formación de oxalato de calcio es un proceso esencial en la mayoría de las especies de plantas conocidas y en algunos casos cerca del 90 % del calcio total en la planta puede encontrarse secuestrado en forma de cristales de oxalato de calcio; sin embargo, este porcentaje varía entre las diferentes especies de plantas que presentan este tipo de cristales [33].

La ingestión de oxalatos a través de la dieta rica en vegetales produce síntomas de envenenamiento, efectos dañinos en el tracto gastrointestinal e hipocalcemia. Se ha establecido que las plantas que contienen más de 10% de oxalatos en base seca pueden ser dañinas para la salud. El precipitado insoluble bloquea los túbulos renales causando uremia, nefritis y cálculos renales [17, 49].

## 4.9.2 Agentes tóxicos

### 4.9.2.1 Nitratos

Una gran variedad de plantas almacenan nitrato en sus tallos y hojas; especialmente cuando han sido abundantemente abonadas con estas sales. Los nitratos se encuentran presentes en los alimentos de origen vegetal como componentes inherentes a las plantas, en el aire que se respira y como contaminante en el agua potable debido al uso de fertilizantes nitrogenados. Los nitratos contenidos en la planta por lo general no son muy tóxicos; su toxicidad radica en la reducción de nitratos ( $\text{NO}_3$ ) a nitritos ( $\text{NO}_2$ ). En Estados Unidos el promedio de ingesta de nitratos es aproximadamente de 75 a 100 mg por día cerca del 80 a 90% de esta cantidad proviene de los vegetales [31, 39].

El único síntoma característico es su carácter diurético, esta cualidad terapéutica ha sido empleada desde el siglo XVII. Solo en dos condiciones se puede tener una toxicidad por nitratos: en primer lugar si tiene una ingestión realmente masiva de estos compuestos y en segundo lugar si los nitratos se transforman en nitritos por la microbiota digestiva. El ión nitrito en contraste con el ión nitrato, es inestable, por lo tanto es muy reactivo y ésta dotado de numerosos efectos tóxicos. El paso del ión  $\text{NO}_3^-$  al ión  $\text{NO}_2^-$  no es posible de forma espontánea ya que se trata de una reducción que necesita energía; en los medios biológicos esta reducción sólo puede efectuarse bajo la acción de una enzima, la nitrato reductasa, presente en las plantas y en las bacterias, pero esta enzima está totalmente ausente en los tejidos animales [19, 39].

En cualquier caso el metabolismo de los nitratos ingeridos es conocido, se absorben muy rápidamente a nivel de intestino delgado, una cierta fracción, difícil de estimar, se recicla a nivel enterohepático y sobre todo por las glándulas salivares, los nitratos se eliminan rápidamente por vía urinaria [19].

Durante muchos años se ha sabido que los nitratos tienen la capacidad de formar compuestos cancerígenos. Los nitratos por si no son cancerígenos, pero actúan como procancerígenos, lo cual quieren decir que reaccionan con otras

sustancias para formar compuestos que sí lo son, a través de un proceso de numerosas etapas. Primero el nitrato es reducido a nitrito después de la ingestión. En segundo lugar el nitrito reacciona con compuestos orgánicos conocidos como aminas secundarias o amidas, presentes en los alimentos, para formar nuevas entidades químicas conocidas como N-nitroso compuesto ya sean nitrosaminas o bien nitrosamidas, muchas de las cuales son cancerígenas. Dentro del organismo esta síntesis se lleva a cabo en el estómago ya que se reúnen las condiciones necesarias como pH ácido, nitrito libre, aminas secundarias básicas provenientes de los alimentos o medicamentos [32].

En 1974 la OMS (Organización Mundial de la Salud) en cooperación con la FAO, establecieron la Dosis Diaria Admisible (DDA) de nitrato de 3.65 mg/kg de peso corporal/día que comparada con la de los taninos, nos indica que los  $NO_3^-$  presenten mayor riesgo su presencia [19].

#### 4.9.2.2 Fitohemaglutininas (lectinas)

Las lectinas son un grupo importante de proteínas y glucoproteínas que tienen la propiedad de ligar ciertos hidratos de carbono. Cuando estos hidratos de carbono forman parte de las paredes celulares de los glóbulos rojos, las lectinas causan la aglutinación de estas células. Cuando las lectinas se unen a los hidratos de carbono de las células epiteliales intestinales determinan una disminución de la absorción de nutrientes del tracto digestivo [56].

Las lectinas están muy difundidas por la naturaleza. Los extractos de unas 800 especies vegetales y de numerosas especies animales presentan actividad aglutinante. Se han encontrado lectinas en muchas legumbres utilizadas como alimentos, como judías negras, semillas de soja, judías de Lima, judía común, guisantes y lentejas. Si bien las lectinas son un grupo de sustancias que se han conocido por su capacidad de aglutinar los glóbulos rojos sanguíneos, algunas de ellas son muy tóxicas para los animales. El papel exacto desempeñado por las lectinas en las acciones antinutritivas o tóxicas de diferentes judías y legumbres ha sido objeto de controversias y depende de cada especie de legumbre en

particular. Las judías sin cocer, utilizadas como componente principal de la ración, no permiten el crecimiento animal. Las tratadas convenientemente por el calor soportan, por supuesto, el crecimiento. Está perfectamente demostrado que lectinas de diferentes orígenes presentes en el epitelio intestinal ligan nutrientes disminuyendo de esta forma su absorción intestinal. El ineficiente empleo resultante de los nutrientes explica por sí mismo el pobre crecimiento promovido por las raciones ricas en legumbres crudas. Este efecto también aumenta las pérdidas de proteína inducidas por la hipersecreción pancreática debida a los inhibidores de tripsina que también forman parte de las legumbres. No obstante, la flora del intestino, desempeña igualmente cierto papel en la toxicidad inducida por las legumbres (y las lectinas) [56].

#### **4.9.2.3 Saponinas**

Son un grupo diverso de componentes conteniendo un residuo aglicona ligado a uno o más azúcares o residuos oligosacáridos. Poco se sabe acerca de su preciso modo de acción en la depresión del crecimiento de los animales y se ha propuesto que es la baja palatabilidad el factor primario. Específicamente, los bajos consumos de alfalfas por cerdos son atribuidos a la presencia de saponinas en dicho ingrediente [18].

Se diferencian de acuerdo a la naturaleza del residuo aglicona (sapogenina), en saponinas conteniendo aglicona esteriodal y saponinas conteniendo aglicona triterpénica. Estas últimas son las que se encuentran mayormente en las plantas. En general se ha reportado su existencia en aproximadamente 100 familias vegetales, de las cuales relativamente pocas son utilizadas como alimento o ingrediente alimenticio [53].

Generalmente se caracterizan por su gusto amargo, la formación de espuma en soluciones acuosas, su habilidad para hemolizar glóbulos rojos y su capacidad para ligarse al colesterol, no todas estas características son compartidas por todos los tipos de saponinas [9].

Se reporta que afectan el comportamiento y metabolismo del animal a través de: hemólisis de eritrocitos, reducción de colesterol sanguíneo y hepático, depresión de la tasa de crecimiento, inhibición de la actividad del músculo liso, inhibición enzimática y reducción en la absorción de nutrientes. El abundante lavado en agua es un procedimiento que permite disminuir su efecto, aunque con éste se pierden elementos nutritivos **[37]**.

En un principio se consideraron nocivas para la salud ya que pueden dañar los glóbulos rojos de la sangre, pero en la actualidad se destaca su efecto positivo. Debido a que las saponinas sólo son absorbidas en cantidades ínfimas por el intestino, actúan especialmente en la luz del tracto gastrointestinal. Se les atribuye un efecto protector del cáncer de estómago e intestinos. Ejercen además un efecto inhibitor sobre ciertos microorganismos, reducen la colesterolemia y son antiinflamatorias. Las saponinas presentes en las legumbres ejercen, así mismo, una influencia sobre diversos factores inmunitarios, actúan sobre determinados tipos de células haciendo que se produzcan más anticuerpos. Se ha podido observar, en estudios con animales de experimentación cómo se han resuelto con éxito infecciones víricas del tipo de la rabia, cuando se añadían saponinas en su comida. Otros estudios han probado que animales con consumo de saponinas presentaban en la sangre niveles hasta 100 veces superiores en anticuerpos que sus compañeros alimentados con una dieta normal. Las saponinas son capaces de captar y combinarse con el colesterol alimentario en el intestino e impedir así que pueda llegar a la sangre. Además, pueden captar también ácidos biliares primarios y facilitar su eliminación del cuerpo. Los ácidos biliares, una vez que han cumplido su función en la digestión de las grasas, son absorbidos en el intestino y utilizados de nuevo. Sin embargo, si se combinan en el intestino con las saponinas presentes se forman moléculas tan grandes que son incapaces de atravesar los canales de las células intestinales y terminan por ser eliminados con las heces. En consecuencia, las células del hígado deben producir una nueva cantidad de ácidos biliares a partir del colesterol que toman de la sangre, lo que va a determinar que disminuyan los niveles de colesterol en ella. Por todo lo anterior, las saponinas junto con las fibras vegetales disminuyen los niveles de colesterol en sangre **[50]**.



## 5. MATERIALES Y METODOS

A continuación en la figura 1, se muestra un diagrama de flujo que ilustra de manera general el desarrollo experimental del presente trabajo.

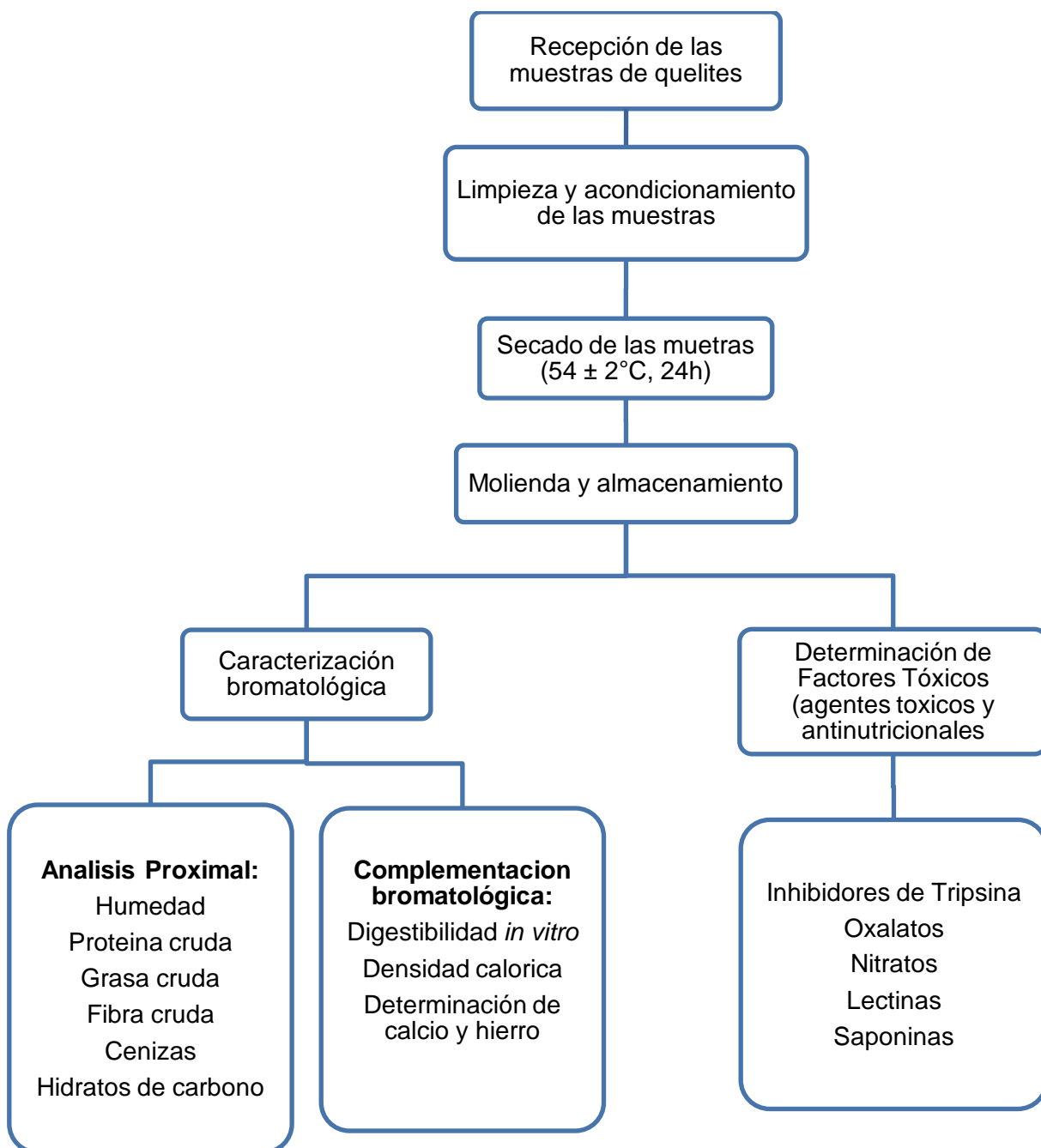


Figura 1. Diagrama general de trabajo.

## 5.1 Obtención y acondicionamiento del material biológico

Gracias a la colaboración del Dr. Robert Arthur Bye Boettler del Instituto de Biología de la UNAM, quien tiene una amplia experiencia trabajando con recursos vegetales, nos proporcionó cinco especies de quelites cultivadas en el estado de Chihuahua y Oaxaca. Una vez obtenidas las plantas se procedió a secarlas y fraccionarlas en un molino de laboratorio (Tomas Wiley Laboratory Hill Mod 4), pasándolas a través de una malla de 1 mm de diámetro, y así obtener las harinas respectivas del material biológico para realizar el análisis bromatológico. Posteriormente se fraccionaron de nuevo en un molino marca “Tecator” con una malla de 0.5 mm, para su conservación y las determinaciones de algunos factores tóxicos.

En la tabla 3 se muestra la procedencia de las cinco especies de quelites estudiadas:

**Tabla 3. Datos de las cinco especies de quelites**

ESPECIE	NOMBRE COMUN	COMUNIDAD DE COLECTA	MUNICIPIO	ESTADO	No. DE COLECTA
<i>Lepidium virginicum</i>	Rochiware	Cusarare	Guachochi	Chihuahua	JR-507
<i>Arracacia edulis</i>	Basiawi	Choguita	Bocoyna	Chihuahua	JR-501
<i>Bidens odorata</i>	Sepéke	Choguita	Bocoyna	Chihuahua	JR-520
<i>Galinsoga parviflora</i>	Hierba del piojito	Santiago Apóstol	Santiago Apóstol	Oaxaca	DC-1525
<i>Tridax coronopifolia</i>	Hierba del conejo	Santiago Apóstol	Santiago Apóstol	Oaxaca	DC-1524

### 5.1.1 Determinación de humedad original

Con el material fresco ajustar previamente los hornos de secado con circulación forzada bajo las siguientes condiciones:  $54 \pm 2^\circ\text{C}$ ; introducir los quelites en los hornos de secado llevándose un control de peso de éstas, por espacio de 48 horas aproximadamente, hasta peso constante en balanza granataria ( $\pm 0.1$  g), con el objetivo de calcular la humedad original del material fresco [4].

## 5.2 Análisis Proximal

### 5.2.1 Determinación de humedad analítica. AOAC <sup>934.01</sup>

Cuando se tienen muestras que a temperatura de 100 a  $110^\circ\text{C}$  se descomponga o contengan compuestos volátiles, es conveniente realizar esta determinación en un 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 y Equipo

- Estufa de vacío (Lab-line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- Balanza analítica (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 charoles y se introdujeron nuevamente en la estufa de vacío la cual mantuvo las siguientes condiciones  $84 \pm 2^\circ\text{C}$  y  $15 \pm 2$  in Hg de presión.

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, éste

procedimiento se realizó hasta que alcanzó 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<sub>i</sub>= peso de la charola con muestra antes del secado (en gramos)

P<sub>f</sub>= peso de la charola después del secado (en gramos)

m= peso de la muestra (en gramos)

### **5.2.2 Determinación de proteína cruda con ligeras modificaciones.**

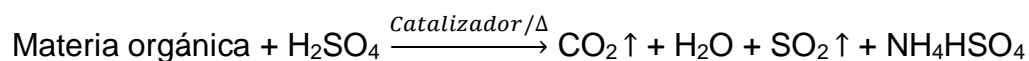
#### **AOAC <sup>976.05</sup>**

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 una concentración del 16% de nitrógeno.

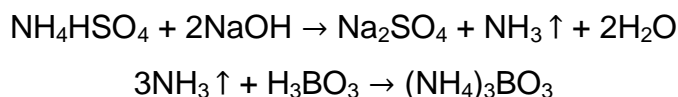
El método empleado para la determinación de nitrógeno en alimentos, es el método de Kjeldahl. Se basa en la digestión completa de la materia orgánica por calentamiento con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores metálicos y peróxido de hidrogeno, para reducir el nitrógeno orgánico hasta nitrógeno inorgánico en forma de amoniaco, el cual queda en solución en forma de sulfato acido 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.

Las reacciones antes descritas se muestran a continuación:

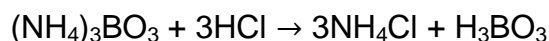
- Digestión



- Destilación



- Titulación



## Material y equipos

- Digestor TECATOR Mod. Ab-20/40
- Dispositivo de destilación TECATOR, Kjeltex Auto 1030 Analyzer
- Tubos de digestión Tecator de 100 mL
- Balanza analítica (Sartorius analytical)

## Reactivos

- Mezcal digestiva (a)
- Peróxido de hidrogeno 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 ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) en 20 mL de agua destilada y una vez que esté bien disuelto agregar 50 mL de ácido ortofosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ); 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 finamente molida 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 250 °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 traslucida 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, utilizado 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**

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

$$\%Proteina\ cruda = \%N \times F$$

Dónde:

P = mL de la titulación de la muestra

B = mL de la titulación del blanco

N = normalidad de la solución de HCl

meq = miliequivalentes de nitrógeno (0.014)

m = peso de muestra (en gramos)

F = factor de conversión (6.25)

Nota: 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.

### **5.2.3 Determinación de grasa cruda. AOAC <sup>920.39</sup>**

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 equipo**

- Aparato de extracción Goldfish (LABCONCO Mod 35001-00C)
- Porta dedales de vidrio
- Vaso de borde esmerilado (LABCONCO 35051)
- Cartuchos de celulosa de 22 × 80 mm
- Tubos recuperadores de disolvente
- Balanza analítica (sartorius analityc)
- Estufa de vacío (Lab-line Duo Vac Ovan Mod. 3620)
- Bomba de recirculación (Little Grant pump Mod. 1)

#### **Reactivos**

- 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 periodo 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:

P<sub>f</sub> = peso del recipiente después de la extracción (en gramos)

P<sub>o</sub> = peso del recipiente antes de la extracción (en gramos)

m = peso de la muestra original (en gramos)

### **5.2.4 Determinación de fibra cruda. AOAC <sup>962.09</sup>**

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 a un 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 equipo

- Aparato de digestión (LABCONCO)
- Embudo Buchner tipo California con malla metálica
- Vasos de Berzelius de 600 mL (Kimax)
- Estufa de vacío (Lab-line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- Mufla THERMOLYNE, Mod. 1500
- Balanza analítica (Sartorius analytical)
- Crisol de porcelana a peso constante
- Matraces de vidrio Kitasato (Kimax)
- Mechero Bunsen
- Tripie, anillo de hierro y triángulo de porcelana

## Reactivos

- Solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 1.25% m/v
- Solución de NaOH al 1.25% m/v
- Antiespumante
- 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 añade 200 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 1.25% (m/v) hirviendo y unas 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 periodo 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 adicionó 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 ultimo adicionar al residuo 25 mL de etanol.

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 introdujo en la mufla para su incineración. Los crisoles fueron pesados periódicamente hasta que alcanzaron peso constante.

### **Cálculos**

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

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)

### **5.2.5 Determinación de cenizas. AOAC <sup>942.05</sup>**

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 y equipo:**

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

#### **Procedimiento**

Los crisoles se colocaron en la mufla a una temperatura de 550 °C hasta alcanzar peso constante. Se pesaron de 2 a 3 g 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**

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Pf} - \text{Po}}{m} \times 100$$

Dónde:

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

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

m = peso de muestra (en gramos)

### **5.2.6 Determinación de hidratos de carbono**

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

### **Cálculos**

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

## **5.3 Complementación bromatológica**

### **5.3.1 Determinación de digestibilidad proteínica *in vitro***

Este método enzimático se basa en crear un medio similar al del organismo digiriéndose las proteínas con un sistema multienzimático, y asumiendo que por cada enlace peptídico se produce un protón [H<sup>+</sup>], el cambio de pH está relacionado a la hidrólisis de la proteína. Los métodos *in vitro* tienen la ventaja de determinar la disponibilidad de la proteína en alimentos que han sido sometidos a algún proceso siendo métodos relativamente rápidos y de mayor precisión [34].

## Material y equipo

- Vasos especiales para el cambio de baños
- Matraz aforado de 10 mL
- Agitadores magnéticos de ½ in
- Espátulas
- Naves de vidrio para pesar
- Pipeta volumétrica de 10 mL
- Pipeta volumétrica de 1 mL
- Cronometro digital de triple tiempo Cole-Parmer
- Balanza analítica Sartorius modelo A-210-P
- Baño de agua Grant mod. 5E-10 a 37°C
- Baño de agua Polystat a 55°C
- Potenciometro Thermo Scientific Orion 3 Star
- Parrilla de agitación Daithan Scientific Wisestir

## Reactivos

- Solución enzimática A (aforar a 10 mL con agua destilada)
- Tripsina pancreática porcina tipo (IX)
- Sigma (T-0303) **227,040 unidades BAEE de tripsina**
- Peptodasa intestinal porcina (Grado I)
- Sigma (P-7000) **2,321 unidades BAEE de tripsina**
- α-quimotripsina pancreática bovina (Tipo II) sigma (C-4129)
- 1,860 unidades BAEE de tripsina**
- Solución enzimática B (aforar a 10 mL con agua destilada)
- Proteasa de *Streptomyces griseus* Sigma (P-5147) **65 unidades BAEE de tripsina**
- Estándar de caseína liofilizada
- NaOH 2N, 1N, 0.1N y 0.05N (preparar 10 mL de cada una)
- HCl 0.1N y 0.05N (preparar 10 mL de cada una)

Donde BAEE es el sustrato N-α-benzoil-L-arginina etil éster

Solución enzimática A (Aforar a 10 mL con agua destilada)

- Tripsina pancreática porcina (tipo IX) Sigma (T-0303) 227040 unidades BAEE de tripsina.

$$\frac{(1 \text{ mg tripsina} * 227040 \text{ unidades BAEE})}{17953 \text{ unidades BAEE}} = 12.65 \text{ mg de tripsina}$$

- Peptidasa intestinal porcina (Grado I) Sigma (P-7000) 2321 unidades de peptidasa.

$$\frac{(1 \text{ mg peptidasa} * 2321 \text{ unidades BAEE})}{424 \text{ unidades BAEE}} = 5.47 \text{ mg peptidasa}$$

- $\alpha$ -quimotripsina pancreática bovina (tipo II) Sigma (C-4129) 1860 unidades BAEE de  $\alpha$ -quimotripsina.

$$\frac{(1 \text{ mg } \alpha - \text{ quimiotripsina} * 186 \text{ unidades BAEE})}{65.622 \text{ unidades BAEE}} = 28.34 \text{ mg } \alpha - \text{ quimiotripsina}$$

Solución enzimática B (aforar a 10 mL con agua destilada)

- Proteasa bacterial Sigma (P-5147) (65 unidades de caseína de proteasa)

$$\frac{(1 \text{ mg proteasa} * 65 \text{ unidades BAEE})}{5 \text{ unidades BAEE}} = 13 \text{ mg proteasa}$$

### **Procedimiento**

Calcular un contenido de 10 mg de N<sub>2</sub> en la muestra, pesar en una balanza analítica en un vaso especial para cambio de baños junto con una barra magnética de ½ in, a la cual se le añaden 10 mL de agua destilada con pipeta volumétrica, dejar en agitación durante 1 h a 37°C. Después introducir el electrodo del potenciómetro con el propósito de ajustar el pH a 8.00 ± 0.03 con ayuda de HCl (0.01 N y 0.05 N) y NaOH (2 N, 1 N, 0.01 N y 0.05 N). Una vez ajustado el pH a 8.00, se adiciona 1 mL de la solución enzimática A, a la cual debe permanecer en agitación continua por 10 minutos exactos, transcurrido el tiempo adicionar 1 mL de la solución enzimática B (proteasa bacterial), siendo al mismo tiempo el cambio de temperatura de 37°C a 55°C, durante 9 minutos exactos, al finalizar este tiempo realizar el cambio de temperatura de 55°C a 37°C en continua agitación por 1 minuto, y exactamente a los 20 minutos con cronómetro, medir el pH de la muestra digerida. Efectuar la lectura (con centésimas de precisión). Es importante enfatizar que las soluciones enzimáticas deben de estar a pH de 8.00 ± 0.03.

Realizar la determinación por triplicado y calcular la desviación estándar con los datos obtenidos.

El pH de la referencia de caseína deberá ser  $6.42 \pm 0.05$  y sólo hasta que se obtenga éste pH es la serie de referencia se podrá realizar la determinación en las muestras problema.

### **Cálculos:**

El porcentaje de digestibilidad se obtiene al sustituir el pH en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Digestividad} = 234.84 - 22.56(\text{lectura pH})$$

### **5.3.2 Densidad calórica**

La densidad calórica, también denominada densidad energética de un alimento o dieta, es la cantidad de energía en términos de kilocalorías que proporciona un gramo de alimento o dieta. Para obtener el contenido calórico, se somete una fracción de la muestra a 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, la evaluación 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 al interpolar en una curva de calibración previamente establecida de un material de densidad energética conocida, proporcionara su valor calórico. El anterior dispositivo pertenece al grupo de calorímetros, denominado calorímetro de medición de un incremento de temperatura temporal [27].

### **Material, equipo**

- Desecador de vidrio
- Balanza analítica (con precisión de 0.1 mg)
- Estufa de secado a presión reducida
- 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

## Reactivos

- Acido benzoico (Valor calórico de preferencia de la British Chemical Standars)

### ***Procedimiento:***

#### *a) Tratamiento de la muestra:*

Se recomienda tener una muestra bien homogénea, para lo cual se debe moler finamente y obtener una harina. Si se trata de una muestra con baja humedad (<10%) como harinas o muestra similares, se puede determinar el contenido calórico directamente. Cuando se cuenta con un material de alta humedad como son muestras liquidas o semisólidas, será necesario someterla a secado de preferencia en estufa de vacío, y determinar el contenido de humedad para poder expresar el resultado en la muestra original.

La cantidad de muestra depende del contenido calórico esperado, recomendándose pesar una cantidad que libere aproximadamente 16 kJ (4.0 kcal), para que entre en el intervalo de detección del instrumento. Así, tenemos que materiales con alta densidad calórica como grasas y aceites con 0.4 g de muestra será suficiente; mientras que para muestras con bajo valor energético como la urea se requerirá pesar hasta 1.0 g de material.

#### *b) Preparación de los crisoles con la muestra:*

La muestra en forma de harina se coloca en un crisol metálico especial previamente tarado junto con la mecha de algodón, de tal manera que un extremo del hilo quede introducido dentro de la muestra, y se procede a pesar en una balanza analítica lo que corresponde al peso preliminar (Pp), recomendándose pesar un exceso aproximado de 10% del peso deseado. Se compacta la muestra con el mango metálico de tal forma que quede lo más uniforme posible y un extremo de la mecha introducida dentro de la muestra, el extremo libre servirá para insertarla en el alambre de ignición de la bomba y el crisol con la muestra compactada se pesa nuevamente para tener el peso final (Pf).

*c) Combustión de la muestra:*

Una vez que se tiene el crisol con la muestra, éste se coloca en la base superior del pilar central de la bomba y con mucho cuidado se introduce la punta suelta de la mecha de algodón en el alambre de ignición.

A continuación se procede a cerrar herméticamente el capuchón a la base de la bomba de combustión con ayuda del anillo metálico, revisar que el o-ring de neopreno se encuentre en posición adecuada. Se debe obtener un cierre hermético, este se realiza colocando el capuchón de la bomba sobre el anillo metálico y se gira el capuchón en la rosca del anillo, el sellado se debe hacer con la fuerza de la mano sin utilizar herramienta alguna y evitando no mover el o-ring de su posición. Una vez cerrado se coloca el sensor del termopar en el orificio del capuchón.

Se debe contar con un cilindro de oxígeno a presión, el cual se abre para dejar pasar el gas hacia el manómetro principal y debe de indicar mínimo una presión de 50 bars. Abrir la válvula de paso girando de 1/4 a 1/2 la perilla y se debe alcanzar una presión dentro de la bomba balística de 25 bars (1 bar= 0.987 atmosferas) en aproximadamente 20 a 30 segundos. Una vez alcanzada la presión, se cierra la válvula de paso y se ajusta el indicador del galvanómetro a cero con ayuda primero del ajuste grueso y posteriormente con el dispositivo de ajuste fino. Si las condiciones anteriores se mantienen por aproximadamente 10 segundos, se oprime el botón de ignición y de 10 a 15 segundos se lleva a cabo la combustión, notándose por un aumento en la presión del manómetro de la bomba, que a su vez se traduce en una señal en la escala del galvanómetro. Se debe observar con atención el movimiento de indicador en el galvanómetro, ya que una vez alcanzado el valor máximo, este empieza a decaer rápidamente. La lectura máxima obtenida en el galvanómetro, es directamente proporcional al calor liberado en la combustión.

Tomada la lectura del galvanómetro, se abre la válvula de salida de los gases de combustión, la cual se localiza en la base de la bomba del lado opuesto a la entrada del oxígeno; se desconecta el sensor del termopar y una vez liberados por



completo los gases de combustión, se quita el capuchón de la bomba girando el anillo metálico en sentido inverso al cierre. Por último, se cierra la válvula de liberación de gases y se atempera el capuchón de la bomba en un baño de agua fría hasta temperatura ambiente para realizar una nueva determinación.

Para el caso de la determinación del contenido calórico de una muestra, es necesario realizar la determinación mínimo por triplicado.

### **Cálculos**

Para calcular la densidad calórica de la muestra, es necesario contar con una curva de calibración, para lo cual se debe realizar la combustión de diferentes pesos de ácido benzoico y anotar la respectiva lectura obtenida de la escala del galvanómetro. Pesar entre 0.1 a 0.8 g de ácido benzoico además, será necesario llevar a cabo la combustión exclusiva de la mecha de algodón, ya que el valor obtenido se deberá restar, o la escala del galvanómetro se ajusta a cero.

Una vez obtenidas las lecturas, se debe convertir los gramos de ácido benzoico en kJ y kcal, para lo cual se utilizan las siguientes conversiones:

$$1 \text{ g de ácido benzoico} = 26,454.3 \text{ Joules} = 26.45 \text{ kJ}$$

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

Con los datos anteriores se traza la curva de calibración de contenido calórico en kJ (abscisas) vs. Lectura del galvanómetro (ordenadas), y se podrá obtener por interpolación la densidad calórica de la muestra en el crisol. Como ya se describió, la determinación energética en la bomba calorimétrica, da la máxima energía potencial de la muestra (energía de combustión).

La densidad calórica de la muestra se calcula con la ecuación siguiente:

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Dónde:

x = contenido calórico de la muestra problema en kJ

y = lectura de la combustión de la muestra problema

m = pendiente de la ecuación de la curva de la calibración

b = ordenada al origen de la ecuación de la curva de calibración

Con el contenido calórico de la muestra problema expresado en kJ, se puede conocer el contenido calórico (kJ) en 100 g de muestra con la siguiente formula:

$$C = \frac{x(100)}{W}$$

Dónde:

C = contenido calórico en 100 g de muestra problema

x = contenido calórico de la muestra problema en kJ

W = peso de la muestra en g

### 5.3.3 Determinación de calcio e hierro

Para esta determinación se aplicó la técnica de espectroscopia de emisión atómica con plasma por acoplamiento inductivo (ICP-OES). Se tuvo la oportunidad de realizar este análisis en el laboratorio 209 del Conjunto D de la Facultad de Química, cuyo responsable es el Dr. Ciro Márquez, por lo cual se le extiende un agradecimiento [28].

#### Materiales y equipo

- Balanza analítica, BADWAG (XAGO/220/X)
- Equipo de digestión con microondas, Perkin Elmer modelo Titan MPS
- Tubos de digestión con tapón
- Espectrómetro de Emisión Óptica de Plasma Acoplado Inductivamente (OES/ICP), marca Perkin Elmer modelo 4300 DV
- Vortex

#### Reactivos

- Ácido nítrico J.T. Baker
- Peróxido de hidrógeno J.T. Baker
- Ácido fluorhídrico (HF)
- Gas argón de alta pureza (99.99%)
- Agua desionizada

## **Procedimiento**

Teniendo la muestra previamente liofilizada (-50 °C/0.010 mm Hg de presión) y molidas en mortero de ágata, se pesaron entre 0.16 a 0.20 g en un tubo de digestión, para posteriormente en la campana adicionar 6 mL de HNO<sub>3</sub> + 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 3 gotas de HF, éste último con el fin de destruir silicatos formados durante la reacción y obtener una solución traslucida completamente, agitar en Vortex, dejar en campana el tubo hasta que se consuman todos los gases, tapar el tubo y meterlo a uno cartucho e introducirlo en el equipo de digestión con microondas durante 3 horas aproximadamente, dejar enfriar el cartucho, abrir con cuidado vaciar el contenido del tubo de digestión en un matraz aforado de 50 mL, completar el volumen con agua desionizada enjugando las paredes el tubo para recuperar cualquier residuo que pudiera haber quedado en él. Vaciar en recipientes bien lavados, para posteriormente llevar a cabo la determinación de Calcio y hierro en el equipo de Emisión Óptica de Plasma Acoplado Inductivamente en el cual se emplea gas argón de alta pureza para su operación; así como estándares en solución acuosa de los diferentes elementos a determinar de la marca Perkin Elmer.

### **5.4 Factores tóxicos**

#### **5.4.1 Agentes antinutricionales**

##### **5.4.1.1 Inhibidores de tripsina**

La técnica de Kakade se basa en observar la inhibición producida por un extracto acuoso de la muestra sobre una solución estándar de Tripsina, en donde el extracto directo o diluido se pone en contacto con una solución estandarizada de tripsina (40 µg/mL), y después de cierto tiempo se determina la actividad proteolítica remanente, por medio de un sustrato sintético (BAPNA), el cual produce una coloración que se lee en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 410 nm. Di ha coloración es inversamente proporcional al contenido de inhibidores en la muestra [36].

## Material y equipo

- Vaso de precipitados de 1 L
- Vasos de precipitados de 100 mL
- Matraz aforado de 1 L
- Matraz aforado de 250 mL
- Naves de vidrio
- Matraz aforado de 100 mL
- Potenciómetro THERMO
- Parrilla con agitación magnética
- Baño María GRANT
- Pipeta graduada de 5 mL
- Espectrofotómetro Thermo Scientific Genesis 10 UV
- Buretas de 50 mL y 25 mL
- 10 tubos de ensayo 140 x 14 mm
- Pipeta Pasteur
- Barra magnética de 1 in
- Cronometro
- Papel filtro
- Vortex

## Reactivos

- NaOH 0.1 N
- Solución amortiguadora de TRIS, pH 8.2 y 0.05 M
- Solución BAPNA
- Ácido acético al 30%
- Solución estándar de tripsina
- HCl 0.001 N
- Tripsina bovina (SIGMA # T-8253)

Solución amortiguadora de TRIS: pesar 6.05 g de tris (hidroximetil-amino-metano) y 2.94 g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  se disuelven en 900 mL de agua destilada. Se ajusta el pH a 8.2 y se afora a un volumen de 1 L.

Solución BAPNA: 100 mg de benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida-HCl (BAPNA) se disuelven en 2.5 mL de dimetil-sulfoxido y se diluye a 250 mL con amortiguador TRIS previamente calentado a 37°C.

ESTA SOLUCION DEBE SER PREPARADA EL MISMO DIA Y CUANDO ESTE EN USO DEBE MANTENERSE A 37°C

Solución estándar de tripsina: se pesa con mucha exactitud 4 mg de tripsina bovina (SIGMA # T-8253) y se disuelven en 200 mL de HCl 0.001 N.

Esta solución contiene 20  $\mu\text{g}$  de tripsina/mL y debe ser almacenada en refrigeración donde puede durar de 2 a 3 semanas sin pérdida apreciable de actividad.

### ***Procedimiento***

#### *a) Preparación del extracto:*

Se pesa aproximadamente 1 g de la muestra molida y desengrasada (<5% grasa) en un vaso de precipitado y se adicionan 45 mL de NaOH 0.01N, posteriormente se ajusta el pH a  $9,6\pm 0,2$  y se afora con NaOH 0.01N a 50 mL. Se trasvasa a un vaso que contenga un magneto para agitar la suspensión por espacio de 2:30 hrs. a 300 r.p.m. Después del dicho tiempo se detiene la agitación, se deja reposar por 30 minutos. Por decantación se obtiene el sobrenadante desechando el residuo insoluble. El sobrenadante debe ser diluido hasta el punto que 1.0 mL de extracto produzca una inhibición de 40 a 60%; este requisito es indispensable para reducir la desviación estándar relativa.

#### *b) Determinación de la actividad*

Porciones de 0.0, 0.6 1.0, 1.4 y 1.8 mL de extracto directo o diluido son pipeteados a tubos de ensayo por duplicado (2 series de 5 tubos) ajustando el volumen a 2.0 mL con agua destilada. Se introducen a un baño de agua a 37°C. A una serie de 5 tubos se les adiciona 2.0 mL de solución estándar de tripsina (previamente atemperada a 37°C), a cada tubo de la misma serie, se agita y se mantiene dicha mezcla de reacción por 10 minutos exactos (con cronometro) en el baño de 37°C. La reacción enzimática se detiene por la adición de 1.0 mL de ácido acético al 30% agitándose inmediatamente.

La segunda serie de tubos llevan el mismo tratamiento, solo que, en este caso los reactivos (estándar de tripsina, BAPNA, y ácido acético al 30%) se adicionan sucesivamente, sin espacio de tiempo entre las adiciones y agitando inmediatamente terminada la adición del BAPNA; cada tubo de esta serie es el blanco respectivo de la primera serie.

En caso de que se observe precipitación en los tubos de ambas series, es necesario filtrar en papel Whatman #1.

La lectura en el espectrofotómetro se realiza a 410 nm y cada tubo de la serie 2 es el blanco de la serie 1 en el orden respectivo.

### **Cálculos**

Una unidad de tripsina (U.T.) es arbitrariamente definida como un incremento de 0.01 unidades de absorbancia (A) a 410 nm por 10 mL de mezcla de reacción. Así la lectura de absorbancia (A) se puede pasar directamente a U.T. (U.T. = A\*100).

Debido a que se tiene una serie de alícuotas del extracto, se tendrían entonces una serie de valores de U.T., estos valores deben ser restados al valor de unidades de tripsina inhibida (U.T.I.). Después calcular el valor de U.T.I./mL a partir del volumen de extracto utilizado para la serie (0.6, 1.0, 1.4 y 1.8 mL) calcular el promedio U.T.I./mL. Finalmente la actividad de inhibidores de tripsina se expresa en términos de U.T.I./g de muestra, tomando en cuenta el volumen inicial del extracto, las diluciones realizada y el peso de la muestra.

$$B \cdot F \cdot \left( \frac{50 \text{ mL}}{1000 \text{ mg}} \right) = \text{U. T. I./mg muestra}$$

Dónde:

B: valor promedio en U.T.I./mL

F: factor de dilución, cuando se trabaja con el extracto directo F=1

50 mL: del primer aforo realizado con NaOH 0.01 N

1000 mg: 1 g de muestra que se pesó para preparar el extracto

#### **5.4.1.2 Acido oxálico**

La determinación se basa en la extracción del ácido oxálico del material biológico en medio ácido por medio de calentamiento y agitación mecánica, posteriormente se precipita el oxalato como oxalato de calcio y se cuantifica por medio de una determinación permanganométrica en donde se realiza una

titulación del ácido oxálico con una solución valorada de  $\text{KMnO}_4$  0.01 N; donde el ácido oxálico se oxida hasta  $\text{CO}_2$  [31].

### Material y equipos:

- Vaso Bercellius digestor de 600 mL
- Digestor Labconoco NO. 30001
- Tubos cónicos para centrifuga de 50 mL
- Centrifuga Eppendorf 5702
- Papel Whatman #30

### Reactivos

- HCl 6 N
- Reactivo de ácido tungstofosfórico (1)
- Buffer de acetatos (2)
- Líquido de lavado (3)
- $\text{KMnO}_4$  0.01 N (4)
- $\text{NH}_4\text{OH}$
- $\text{H}_3\text{SO}_4$  (1 mL+9 mL de agua)
- Antiespumante

- 1) Reactivo de ácido tungstofosfórico: disolver 2.5 g de  $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  en la mezcla de 4 mL de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  y 50 mL de agua, aforar a 100 mL con agua destilada.
- 2) Buffer de acetatos pH=4.5: a) Disolver 2.5 g de  $\text{CaCl}_2$  (anhidro) en 50 mL de  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . b) Disolver 33 g de  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , diluir y aforar a 50 mL con agua destilada. El buffer de acetato se prepara mezclando ambas soluciones a y b. Se ajusta el pH.
- 3) Líquido de lavado: diluir 12.5 mL de ácido acético concentrado en 250 mL de agua destilada, añadir polvo de oxalato de calcio (se satura con una pequeña cantidad), mezclar y dejar reposar; repetir adición y mezclar hasta saturación. Conservar el líquido de lavado frío (refrigeración) y filtrar la cantidad necesaria antes de su uso.
- 4) Solución de  $\text{KMnO}_4$  0.1 N: Pesar 3.2 g aproximadamente de  $\text{KMnO}_4$  y disolver en 1 L de agua destilada. Calentar la solución hasta que hierva durante 1 hora, evitando que la ebullición sea tumultuosa, enfriar y completar al volumen. Dejar reposar toda la noche y filtrar por fibra de vidrio. Recibir en un frasco ámbar limpio.

Estandarización de la solución de  $\text{KMnO}_4$  0.1 N: se titula pesando con exactitud 0.2 a 0.3 g de  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  previamente secado 100 a 110 °C/2 horas y colocar en un matraz Erlenmeyer de 500 mL. Disolver en agua (50 a 70 mL) y agregar 15 a 20 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  diluido 1:8. La solución se calienta a 70 °C y se titula con agitación dejando caer la solución de permanganato de potasio lentamente hasta una coloración rosa permanente. Como blanco medir el mismo volumen de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  diluido (5+95) previamente hervido por 10 a 15 minutos y después enfriado a  $27 \pm 3$  °C. Restar el volumen del blanco al de la titulación, este valor se utiliza en los cálculos. Para obtener la normalidad.

$$N = \frac{\text{g Na}_2\text{C}_2\text{O}_4 \times 1000}{\text{mL KMnO}_4 \times 67}$$

Solución de  $\text{KMnO}_4$  0.01 N: diluir 100 mL de la solución de  $\text{KMnO}_4$  0.1 N a 1 L de agua destilada.

Nota: que esta solución debe prepararse al momento, para evitar su descomposición.

### ***Procedimiento***

Se pesan de 5 a 10 g de harina de la muestra, se coloca dentro de un vaso Bercellius graduado de 600 mL, se agregan 200 mL (en marca del vaso o con probeta) de agua destilada y se agita mecánicamente de 15 a 20 minutos. Se lleva a 300 mL con agua destilada (en la marca de graduación del vaso) enjuagando las paredes, añadir 55 mL de HCl 6N, 2 a 3 gotas de antiespumante y se lleva a ebullición durante 15 minutos en el digestor para fibra cruda y transcurrido el tiempo se deja enfriar. Se lleva a un aforo de 500 mL con agua destilada enjuagando las paredes del vaso, agitar y reposar toda la noche. Se filtra a través de papel Whatman #4 y se desechan los primeros 100 mL (con la finalidad de acondicionar el sistema).

Se toma una alícuota de 25 mL del filtrado en un matraz Erlenmeyer de 50 mL, y se añaden 5 mL del reactivo del ácido tungstofosforico, dejando reposar por un tiempo mínimo de 5 horas. Se filtra a través de papel Whatman #40. Se toma una



alícuota de 20 mL del filtrado y se depositan en un tubo cónico para centrifuga de 50 mL. Se añade NH<sub>4</sub>OH gota a gota con cuidado hasta alcanzar un pH de 4 a 4.5 utilizando un potenciómetro. Una vez logrado el pH, añadir 5 mL de la solución precipitante y amortiguadora de acetatos (buffer) y mezclar con una varilla de vidrio, enjuagarla con un pequeño chorro de agua destilada y dejar reposar toda la noche (dentro del tubo de centrifuga). Se centrifuga a 1700 r.p.m. por 15 minutos para compactar el precipitado. Se decanta el sobrenadante con una inversión suave del tubo de centrifuga. Una vez obtenido el precipitado de oxalato de calcio sin sobrenadante, se lava con 20 mL de líquido de lavado frio, aplicándose en forma de un chorro fino rompiendo completamente todo el precipitado. Se repite la centrifugación y el drenado del líquido de lavado por completo. Se añaden 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 mL ácido sulfúrico concentrado + 9 mL de agua) al precipitado y se disuelve. Homogeneizar en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, enjuagar el tubo con 20 mL de agua destilada y dos veces más con 5 mL de agua destilada a la vez.

Se calienta la muestra y el blanco [5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 mL de ácido sulfúrico+9 mL de agua)] en una parrilla de calentamiento, con temperatura baja y agitación magnética. Se titulan las soluciones calientes (por lo menos 60°C) con KMnO<sub>4</sub> 0.01N hasta que persista una coloración rosa por 30 segundos.

### **Cálculos**

Para conocer el contenido de ácido oxálico (%) en la muestra problema, se utiliza la siguiente formula:

$$\% \text{ Acido oxálico} = B \times \frac{\text{meqKMnO}_4}{\text{mL}} \times \frac{\text{g ác. oxálico}}{\text{meq}} \times F \times \frac{100 \text{ g}}{\text{g muestra}}$$

Dónde:

B = mL KMnO<sub>4</sub> gastados- mL KMnO<sub>4</sub> blanco

F = Factor de dilución  $\frac{500}{25} \times \frac{25}{20}$

## 5.4.2 Agentes tóxicos

### 5.4.2.1 Nitratos

Método basado en la formación de un complejo como resultado de la nitración del ácido salicílico bajo condiciones acidas extremas, este complejo tiene su máximo de absorción a 410 nm en soluciones alcalinas ( $\text{pH} > 12$ ). La absorbancia del cromóforo es directamente proporcional a la cantidad de nitratos presente; en resumen, el procedimiento consiste en la extracción acuosa de nitratos en tejidos vegetales. Posteriormente centrifugar y llevar a cabo en el sobrenadante la nitración del ácido salicílico, desarrollar color mediante la adición del álcali y leer absorbancia de la solución así obtenida en espectrofotómetro a 410 nm. Se determina el contenido de nitratos usando una curva estándar preparada con sal de nitrato químicamente pura (sodio, potasio, etc.). En caso de trabajar con muestras cuyo extracto este muy pigmentado, se recomienda emplear carbón activado tanto en la curva estándar como en la obtención del extracto [19].

#### **Material y equipo**

- Vasos de precipitados de 50 mL
- Probeta de 50 mL
- Matraces volumétricos de 50 mL
- Tubos de ensayo 140 x 14 mm
- Espectrofotómetro Thermo Scientific Genesis 10 UV
- Centrifuga Eppendorf
- Bureta de 50 mL
- Baño de agua Polystat a 37°C
- Embudos Buchher
- Matraces Kitasato
- Micropipetas de 50, 200 y 1000  $\mu\text{L}$
- Vortex lab-Line super-mixer 1290
- Agitador magnético múltiple Corning Stirrer modelo 440825
- Tubos de centrifuga

## **Reactivos**

- Sal de nitrato:
- solución estándar de nitrato de 0.6 mg/mL
- solución estándar de nitrato de 10 mg/mL (empleada en el caso de que se trabaje con carbón activado)

Nota: las concentraciones indicadas corresponden al ion  $\text{NO}_3^-$

- \*Las concentraciones indicadas corresponden al ion  $\text{NO}_3^-$  que es nuestro objeto de estudio.
- Ácido salicílico
  - Solución al 5% (m/v) en ácido sulfúrico concentrado)
- Hidróxido de sodio
  - Solución 2 M
- Carbón activado

## **Procedimiento**

### *Preparación de la curva estándar*

En un vaso de precipitados de 50 mL adicionar 3 mL de la solución estándar de nitratos, 550 mg de carbón activado y 30 mL de agua; se mezclan hasta homogeneizar. Se filtra con ayuda de vacío sobre papel Whatman #41. El filtrado se transfiere cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 mL, se afora con agua y posteriormente se traspa a un tubo de centrifuga. Se centrifuga a 3000 r.p.m. por 1 h. Se filtra el sobrenadante con ayuda de vacío sobre papel Whatman #542 y se homogeiniza; la concentración del sobrenadante es de 0.6 mg de  $\text{NO}_3^-$  /mL.

En 6 tubos de ensaye, correspondiente el numero 1 al blanco de la curva, se adicionan 0, 10, 20, 50, 70 y 100  $\mu\text{g}$  de nitratos a partir de la solución patrón 0.6 mg de  $\text{NO}_3^-$ /mL (se hacen los cálculos correspondientes para obtener el volumen que contenga los  $\mu\text{g}$  de nitratos correspondientes). Se añade agua a cada tubo a fin de llevar a un volumen 0.1 mL y se agita. Posteriormente se adicionan 0.4 mL

de la solución de ácido salicílico a cada tubo, se agita y se introduce en un baño de agua a 30°C durante 20 minutos. Transcurrido el tiempo se adicionan lentamente con bureta 9.5 mL de solución de NaOH 2M, se agita y se introduce en al baño nuevamente durante 15 minutos. Finalmente se transfiere a celdas de medición y se lee en el espectrofotómetro a 410 nm. Con los resultados obtenidos se construye una gráfica de absorbancia vs concentración de nitrato, expresada en µg de nitrato

#### *Preparación del extracto*

En un vaso de precipitados de 50 mL pesar de 0.25 a 0.9 g de muestra, 550 mg de carbón activado, agitador magnético y 30 mL aprox. de agua. Agitar en parilla Eppendor de 500 a 700 rpm/ 15 min ± 1 min. Filtrar con vacío en papel Whatman del #41, enjuagando con pequeñas porciones de agua. Llevar el filtrado a 50 mL mediante un matraz aforado con agua, homogeneizar y transferir a un tubo de centrifuga. Centrifugar 1h/2700-3000 rpm. Filtrar el sobrenadante en papel Whatman del #542 y homogeneizar para efectuar la determinación.

#### *Determinación*

Rotular 4 tubos de ensayo de 13x100, siendo el no. 1 el blanco de la muestra. Adicionar 100 µL del sobrenadante a cada tubo. Posteriormente añadir 0.4 mL de ácido salicílico, excepto el blanco al cual se debe adicionar 0.4 mL de ácido Sulfúrico concentrado. Mezclar 15 s c/tubo en Vortex e introducir a un baño de agua Polystat 20 min/30°C. Transcurrido el tiempo estipulado, adicionar con una bureta 9.5 mL de solución de NaOH, mezclar por 15 s en Vortex y volver a introducir al baño 15 min/30°C. Transferir a celdas de medición y leer en espectrofotómetro GENESIS 10 UV a 410 nm. Mediante la ecuación de la línea recta obtenida de la curva patrón de nitrato de 6 a 60 µg (mismo procedimiento que en la muestra) determinar el contenido de nitratos. Realizar el procedimiento por triplicado.

## **Cálculos**

Se elabora la curva patrón de nitratos, graficando la absorbancia ABS (y) vs concentración de nitratos (en  $\mu\text{g}$ ) (x). A partir de la ecuación de la recta de la curva patrón y la lectura de absorbancia de la muestra problema, es posible conocer la concentración de nitratos (en  $\mu\text{g}$ ) de la muestra problema con la siguiente ecuación:

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Dónde:

x: concentración de nitratos en  $\mu\text{g}$

y: ADB de la muestra problema

m: pendiente de la ecuación de la curva patrón

b: ordenada al origen de la ecuación de la curva patrón

Con la concentración de nitratos expresada en  $\mu\text{g}$  de la muestra problema, se puede conocer el % de nitratos con la siguiente formula:

$$C = \frac{(x)(A)(1\text{ g})(100)}{(a)(p)(10^6\ \mu\text{g})}$$

Dónde:

x: concentración de nitratos en  $\mu\text{g}$

C: g de nitratos/100 g muestra (%)

A: volumen inicial del extracto (50 mL)

a: alícuota tomada del extracto (0.1 mL)

p: peso de la muestra en g

### **5.4.2.2 Determinación de fitohemaglutininas (Lectinas)**

La técnica se basa en la capacidad de aglutinar los eritrocitos por efecto de la cantidad de hemaglutininas presentes. Consiste en hacer diluciones seriadas de las cuales se determina los puntos finales de la aglutinación de los glóbulos rojos de hámster lavados y sensibilizados con solución de proteasa para mejorar la sensibilidad; además se realiza mediante el método de microtitulación que es rápido y requiere una mínima cantidad de muestra. Se determina la cantidad mínima del extracto acuoso de una muestra vegetal, que produce prueba positiva

de aglutinación con eritrocitos de hámster y este valor se relaciona con la cantidad mínima de faseolotoxina que produce prueba positiva de aglutinación definiéndose como una unidad hemaglutinante (U.H.G.) el equivalente a 1 mg de dicha lectina [43].

### Material y equipo

- Tubos de centrifuga de 15 mL con graduación
- Jeringa de 5 o 10 mL calibre 22
- Microtiter kit (Cook Eng-Alexander Virginia USA)
- Matraz Erlenmeyer de 25, 125 y 250 mL
- Gasa
- Agitadores magnéticos de ½ in
- Filtros de vidrio de poro grueso
- Probeta de 100 mL PIREX
- Embudo de filtración de talle corto
- Balanza analítica Sartorius modelo A-210-P
- Agitador magnético multiple Corning Stirrer modelo 440825
- Centrífuga Eppendorf 5702
- Incubadora Bacteriológica, Blue M
- Espectrofotómetro COLEMAN, Junior II-A modelo 6/20 A

### Reactivos

- Solución anticoagulante
- Solución salina al 1% preparada con agua desionizada
- Solución salina al 0.9% preparada con agua desionizada
- Sangre de Hámster Sirio desfibrinada y lavada
- Solución de lectina de frijol red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) (PHT)-Phytohemaglutinin PFA-P, lyophilized powder (SIGMA L-8754)
- Proteasa 0.2% en solución salina al 0.9% (SIGMA P-5147)
- Extracto de frijol peruano (prepararlo como extracto de muestra)
- Heparina (a)
- Faseolotoxina (b)

### *Preparación de reactivos:*

- a) Heparina: Solución de heparina. Sangre= 15 a 20 UI: 1 mL de sangre.
- b) Pesar con la mayor exactitud posible 1 mg de faseolotoxina y pasarla a un matraz aforado de 1 mL; a continuación aforar con solución isotónica (0.9%). De esta solución (0.1 mg/mL) se realiza una dilución 1:100 para ocuparla en la placa de microdilución tipo "V", con la finalidad de definir la cantidad mínima de faseolotoxina que produce prueba positiva de aglutinación.

### ***Procedimiento***

A partir de una muestra finamente molida (con un contenido <5% de grasa), pesar 0.1 g de ésta en una balanza analítica Santorius Extend y suspenderla en 10 mL de solución salina al 1%, efectuando una agitación mecánica durante 2 h/300 rpm a temperatura ambiente. Después de tiempo indicado centrifugar el extracto a 300 rpm/10 min. en centrifugadora Eppendorf para eliminar el residuo insoluble, filtrar mediante un filtro de vidrio de poro grueso y llevar a un volumen de 10 mL con un matraz aforado.

Extraer de 30 a 50 gotas de sangre de Hámster Sirio previamente anestesiado, por medio de una punción ocular y depositar en un matraz Erlenmeyer de 25 mL con heparina (0.1 mL de heparina de 5000 UI/5 mL de sangre) y homogeneizar. Realizar 3 lavados a la sangre con solución salina al 0.9% a 1500 rpm/15 min. Al terminar el tercer lavado diluir el paquete de eritrocitos al 4% (por cada mL de paquete de eritrocitos adicionar 24 mL solución salina 0.9%. y cada 10 mL de esta suspensión se le agrego 1 mL de solución de proteasa (SIGMA P-5147) al 2% colocar en incubadora 1 h/37 °C. Centrifugar (3 lavados) para eliminar la enzima sobrenadante. En el último lavado, medir el paquete de eritrocitos y resuspender al 4%, realizar un filtrado con gasa en un matraz Erlenmeyer de 125 mL. Realizar ajuste de la suspensión en espectrofotómetro COLEMAN (en términos de %Transmitancia realizando la dilución de la suspensión) con solución salina al

0.9% a una longitud de onda de 620 nm hasta obtener una lectura de  $25 \pm 1\%$  de T.

La microtutilación se realiza en placa tipo "V" y colocar en cada pozo 100  $\mu\text{L}$  de solución salina al 0.9%. Llenar un microdilutor con 50  $\mu\text{L}$  del extracto problema o del estándar de faseolotoxina 0.2% y realizar las diluciones sucesivas desde el primer pozo (siguiendo la hilera horizontal hasta donde se desee) y eliminar el residuo de la última dilución. Realizadas las diluciones seriadas correspondiente, con un pipeteador de gota de 50  $\mu\text{L}$  adicionar la suspensión de eritrocitos, se recomienda que cada placa tenga una hilera de control (solución salina + suspensión de sangre) y otro de faseolotoxina + suspensión. Terminada la placa rotar en forma circular, para homogeneizar y colocar en incubadora 1h/  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Para observar el título de hemaglutinación emplear un espejo adaptado al dispositivo y localizar la hilera horizontal en la placa donde se aprecie la hemaglutinacion y que resulta ser la mínima cantidad de muestra que produce prueba positiva. Se realizan varias lecturas de la muestra a analizar y se obtiene la mediana del conjunto de resultados obtenidos.

### **Cálculos**

La máxima dilución que presenta aglutinación se denomina como título (t) de la muestra. La prueba debe efectuarse varias veces para mayor representación y confiabilidad de la determinación (mínimo por triplicado). Se saca el promedio de los títulos de las diferentes lecturas y se redondea al número entero más cercano.

- a) Se calcula el límite de detección del método usando como referencia la faseolotoxina (SIGMA L-8754); para lo cual, primero es necesario conocer la cantidad de lectina que se utiliza realmente en la determinación y se calcula de la siguiente forma:

Límite de detección

$$E = M \cdot D$$

$$E = 0.001 \mu\text{g}/\mu\text{L} \cdot 0.05 \mu\text{L} = 0.05 \mu\text{g de lectina}$$



Dónde:

E: cantidad de lectina para el primer pozo de la hilera perspectiva (expresada en  $\mu\text{g}$ )

M: concentración de lectina en la solución diluida (expresada en  $\mu\text{g/mL}$ )

D: cantidad de muestra tomada por el microdilutor ( $\mu\text{L}$ )

Conociendo este dato se puede efectuar el cálculo para obtener el límite de detección del método:

$$L = 2(E/3^t)$$

Dónde:

L: límite de detección, cantidad mínima de lectina que produce prueba positiva de aglutinación.

T: título o el promedio de los títulos redondeado al entero inmediato.

- b) Con el resultado del límite de detección, se calculan las unidades hemoaglutinantes (UHG) de la muestra problema, para lo cual es necesario calcular la cantidad utilizada realmente de la muestra problema en el primer pozo de la hilera respectiva como se hizo anteriormente, pero expresada en mg; a su vez, se calcula la cantidad mínima de muestra que produce prueba positiva de aglutinación (título de la muestra problema).

$$MA = 2(e/3^t)$$

Dónde:

MA: cantidad mínima de muestra que produce aglutinación (expresada en mg)

e: cantidad de muestra en el primer pozo (expresado en mg)

Título o promedio de los títulos redondeado al entero inmediato.

Con los datos anteriores se puede determinar la concentración equivalente de lectina que tiene la muestra problema de acuerdo a la siguiente expresión:

$$LE = L/MA$$

Dónde:

LE: cantidad de lectina de referencia expresada en  $\mu\text{g/mg}$  de muestra que también equivale a lectina 1 mg/ g de muestra

Si por definición establecemos que 1 unidad de hemoaglutinación (UHG) es equivalente a 1 mg de faseolotoxina bajo las condiciones establecidas, podemos expresar nuestros resultados en UHG/g muestra.

#### 5.4.2.3 Determinación de saponinas

La detección de saponinas en extractos de plantas se lleva a cabo con una técnica de diluciones seriadas a la cual se determina el punto final por una estimación visual de la hemólisis de los glóbulos rojos de la sangre de humano. El método de microtitulación es rápido y requiere de una mínima cantidad de muestra. Se necesita sensibilizar los glóbulos rojos lavados con una solución de tripsina, ya que la sensibilidad de los eritrocitos se mejora considerablemente con este tratamiento [42].

#### Material y equipos

- Extractor de grasa Glodfish, Labconco
- Cartuchos de celulosa Whatman 22 x 88 mm
- Rotavapor Büchi 461, modelo RE-111
- Centrífuga EPPENDORF 5702
- Incubadora bacteriológica, Blue M
- Espectrofotómetro, COLEMAN Junior II-A modelo 6/20 A
- Tubos de centrifuga de 15 mL con graduación
- Jeringa de 5 o 10 mL #22
- Microtiter kit (Cook Eng-Alexander Virginia USA)
- Parrilla de agitación y calentamiento
- Gasa
- Filtros de vidrio de poro grueso
- Aguja tipo mariposa para el set de colección de sangre 21G<sup>3</sup>/<sub>4</sub>

## Reactivos

- Tubo Vacutainer de 6 mL con EDTA o citrato de sodio 0.1 M
- Solución de metanol (RA) y agua destilada al 85%
- Sangre humana tipo "O" (de género masculino, defibrinada y lavada)
- Solución anticoagulante (1)
- Solución salina al 0.9% preparada con agua desionizada
- Tripsina de páncreas de porcina al 0.1% (Sigma T-8128 Tipo II) (2)
- Solución estándar de saponinas al 0.5% en solución salina (3)
- Solución Alsever (4)

### *Preparación de reactivos:*

- 1) Solución anticoagulante: Cuando la sangre se va a trabajar inmediatamente se puede utilizar ya sea solución de heparina o citrato, las cuales se usan en la siguiente relación:  
Solución heparina: 15 a 20 UI: 1 mL de sangre  
Solución de citrato: 0.1 mL: 1 mL de sangre  
Sin embargo cuando la sangre no se va a utilizar de inmediato, se puede guardar en refrigeración por unos días en la solución Alsever, en la siguiente proporción; 1:1.
- 2) Tripsina de páncreas de porcino (Sigma T-8128 Tipo II) al 0.1% en solución salina al 0.9%, para el proceso de sensibilización.
- 3) Solución estándar de saponinas al 0.5% en solución salina: es una mezcla 1:1 de digitonina (saponina tipo esteroidal) y un extracto de quijalla (saponina tipo triterpenoide), es decir, 0.25 g de digitonina y 0.25 g de quijalla se disuelven en solución salina al 0.9% y se afora a 100 mL.
- 4) Solución Alsever: Consiste en glucosa 2.05%, cloruro de sodio 0.42%, citrato sódico 0.8% y ácido cítrico 0.055%, en agua destilada.

## ***Procedimiento***

### *a) Preparación del extracto*

Una vez que se tiene la muestra molida y desengrasada (<5% de grasa), se pesan 3.75 g en un cartucho de celulosa y colocan en el extractor Goldfish, la extracción se realiza a una temperatura donde se observe un goteo constante durante 2 horas, empleando 50 mL de metanol al 85% como solución extractora de las saponinas. Una vez transcurrido el tiempo de extracción, el extracto se concentra a sequedad en un rotavapor a una temperatura no mayor de 65°C, la muestra seca se disuelve con solución salina al 0.9% y se filtra con ayuda de vacío, empleado filtros de vidrio de poro grueso, para aforar a 50 mL con la misma solución al 0.9%. Si no se realiza la determinación de inmediato, el extracto se debe refrigerar o congelar para su conservación.

### *b) Lavado de eritrocitos*

Una vez obtenida la sangre, se coloca en un matraz pequeño que contenga solución anticoagulante y se agita suavemente para la completa homogeneización (no interrumpir hasta el momento de diluirla). La sangre con anticoagulante se trasvasa a tubos de centrifuga para lavarla 3 veces con solución salina al 0.9%. Se centrifuga a 1500 rpm durante 15 minutos, entre cada lavado. Después del último lavado se mide en el tubo de centrifuga, la cantidad del paquete de eritrocitos y se diluyen al 4%, para lo cual se agregan por cada mL de eritrocitos se adiciona 24 mL de solución salina al 0.9%, en caso de la presencia de cuagulos filtrar a través de una gasa.

### *c) Sensibilización de eritrocitos*

A la suspensión al 4% de eritrocitos, se agregan por cada 10 mL de suspensión, 1 mL de la solución de tripsina al 0.1% en solución salina, se agita suavemente y se coloca en una incubadora durante 1 hora a 37°C. Al término de éste tiempo, la suspensión de eritrocitos se distribuyó nuevamente en tubos graduados para centrifuga y se centrifuga a 1500 rpm durante 10 minutos con el fin de eliminar la tripsina. Finalmente se someten

los eritrocitos a 3 lavados con solución salina, de la misma manera mencionada en el lavado de la sangre. Después del último lavado, el paquete de eritrocitos fue llevado a una suspensión al 5% por lo que por cada mL de paquete se añaden 19 mL de solución salina 0.9%, colocar la suspensión en un matraz Erlenmeyer de 125 mL previamente efectuar una filtración con gasa.

d) *Ajuste de la suspensión de eritrocitos:*

Se toma 1 mL de la suspensión de eritrocitos y se agregan 4 mL de solución salina al 0.9% en una celda de vidrio, se mide inmediatamente el valor de la transmitancia en el espectrofotómetro a 620 nm utilizando un adaptador de celdas que permita el paso de 1 cm<sup>2</sup> de luz (se ajusta a 100% de transmitancia con la solución salina al 0.9%). El valor de % de transmitancia debe de estar en el rango de 24 a 29% para poder realizar la determinación.

e) *Microtitulación*

En las placas tipo “U” se colocan, en cada pozo de cada hilera 50 µL de solución salina al 0.9% con una micropipeta multicanales (12 canales) (es necesario evitar tocar las paredes de los pozos). Posteriormente se llena el microdilutor con 50 µL del extracto y se procede a realizar 24 diluciones sucesivas en forma de culebra (ocupando 2 hileras), después se llena el microdilutor con 50 µL del extracto de referencia (estándar de saponinas) y se realizan 12 diluciones sucesivas (ocupando 1 hilera), se maneja una hilera como control negativo, donde se colocan 50 µL de solución salina al 0.9%. Finalmente en cada pozo se colocan 50 µL de la suspensión de eritrocitos sensibilizada y ajustada, las placas se agitan de forma circular suavemente y se introducen a la incubadora a 37°C por 1 hora.

f) *Lectura de placas*

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se coloca la placa en el dispositivo de lectura o a la luz, y se reporta la máxima dilución que

presenta hemólisis, tomando como referencia a la hilera del control negativo y positivo.

### **Cálculos**

Las unidades asignadas en el método se definen como unidades hemolíticas por mg de muestra (U.H./mg de muestra), lo cual se explica a continuación.

La mezcla de saponinas tripertenoide y esteroideal (1:1) tiene una concentración de 0.5% en la solución estándar, si en la microtitulación se toman 0.05 mL, se tiene entonces una concentración de 0.25 mg de saponina en dicho volumen. En una dilución seriada se tiene la siguiente fórmula:

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

Dónde:

t: título de la hemólisis

Si la solución estándar de saponinas tuviera un valor promedio de 8 para el título de la hemólisis, entonces en este pozo se tendría la siguiente concentración:

$$0.25 \text{ mg}/2^8 = 0.001 \text{ mg} = 1 \mu\text{g}$$

Por definición 1  $\mu\text{g}$  del estándar de saponinas es equivalente a 10 unidades hemolíticas (U.H.).

El cálculo para la muestra es:

La concentración del extracto de la muestra para todos los casos es de 75 mg/mL, entonces, en 0.05 mL tenemos 3.7 mg; para cada título de hemólisis con valor de 1 se tiene la siguiente concentración.

$$3.75/2^1 = 1.875 \text{ mg de muestra}$$

Por definición se obtiene las unidades hemolíticas por mg de muestra:

$$10 \text{ U.H.}/1.87 \text{ mg de muestra} = 5.3 \text{ U.H./mg de muestra}$$

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Humedad original

En la tabla 4 se observa que la humedad en todas las especies se encuentran en un rango de 84 a 88%, lo cual en cierta forma indica que la manera y tiempo de recolección fue el mismo, hasta su entrega al laboratorio para su análisis.

**Tabla 4. Humedad original (%)<sup>a</sup>**

Especie	Basiawi	Sepéke	Rochiwari	Hierba del conejo	Hierba de piojito
Humedad	88.31 ± 1.99	88.08 ± 0.33	84.83 ± 0.70	86.43 ± 0.36	85.41 ± 0.38

<sup>a</sup> Se presenta el valor promedio ± desviación estándar (n=3)

### 6.2 Análisis químico bromatológico

A continuación se presentan los resultados del análisis químico proximal de las diferentes especies de quelites.

En la tabla 5 cabe destacar que las especies de quelites Basiawi, Hierba del Piojito y Rochiware tienen un valor alto en proteína mayor al 20%; Hierba del conejo presenta el valor más alto en ceniza y Rochiware en fibra. Al realizarse el análisis proximal en las muestras en forma de harina, se encontró que el mayor macronutriente apreciable en esta tabla, son los hidratos de carbono digeribles, seguido por proteína y cenizas, después fibra y finalmente la grasa que es el componente minoritario presente.

**Tabla 5. Análisis proximal de los quelites en harina (g/100 g muestra)<sup>a</sup>**

Especie	Humedad (%)	Proteína cruda (%)	Grasa cruda (%)	Ceniza (%)	Fibra cruda (%)	HC <sup>b</sup> (%)
Basiawi	8.95 ± 0.27	22.72 ± 0.15	1.26 ± 0.03	10.31 ± 0.19	13.47 ± 0.38	43.29
Sepéke	8.03 ± 0.10	17.10 ± 1.13	0.99 ± 0.07	13.26 ± 0.06	17.14 ± 0.04	43.48
Rochiwari	6.62 ± 0.17	21.06 ± 0.25	0.92 ± 0.07	16.66 ± 0.20	19.76 ± 0.43	34.98
Hierba del conejo	8.22 ± 0.02	12.75 ± 0.12	0.83 ± 0.08	20.72 ± 0.35	15.68 ± 0.16	41.80
Hierba del Piojito	7.41 ± 0.26	21.76 ± 0.30	1.59 ± 0.24	16.14 ± 0.33	14.10 ± 0.32	39.00

<sup>a</sup> Se presenta el valor promedio ± su desviación estándar (n=3)

<sup>b</sup> Hidratos de carbono calculados por diferencia, según el esquema Weende.

### 6.2.1 Humedad analítica

En la tabla 6 los valores de humedad analítica van de 6.62 hasta un 8.95, lo cual es muy importante en la industria de los alimentos, ya que la humedad de un alimento es parte crucial en su conservación. Un contenido mayor al 15% de agua no es favorable, ya que puede permitir el crecimiento de levaduras, hongos y bacterias y, por tanto, ser alterados por estos microorganismos, razón por la cual es importante que su contenido sea bajo. Todas las muestras se encontraron por debajo de este valor, sin embargo debido a que llegaron frescas se sometieron inmediatamente a un proceso de secado, con el propósito de realizarles las determinaciones analíticas y facilitar su manipulación.

**Tabla 6. Contenido de humedad analítica en harina<sup>a</sup>**

Especie	Humedad (%)
Basiawi	8.95 ± 0.27
Sepéke	8.03 ± 0.10
Rochiware	6.62 ± 0.17
Hierba del conejo	8.22 ± 0.02
Hierba del piojito	7.41 ± 0.26

<sup>a</sup> Se presenta el valor promedio ± su desviación estándar (n=3)

### 6.2.2 Proteína

Después de hidratos de carbono, las proteínas son el componente mayoritario en estas especies de quelites. Como se observa en la tabla 7, si consideramos que en los granos de cereales su rango va de 7 a 12% de contenido de proteína, éstas especies analizadas son mayor a ese rango, siendo el componente más importante desde el punto de vista nutrimental debido a la desnutrición presente en nuestro país, principalmente en zonas marginadas; que es causada principalmente por una deficiencia energética proteínica; así los quelites forman una fuente importante de proteína para estas zonas. Sin embargo, debido a la inferior calidad de la proteína vegetal, debido a la escasez de uno o más aminoácidos esenciales, es necesario que se le realice una caracterización, en la cual se pueda conocer los aminoácidos presentes.



**Tabla 7. Contenido de proteína cruda en harina<sup>a</sup>**

Espece	Proteína (%)
Basiawi	22.72 ± 0.15
Sepéke	17.10 ± 1.13
Rochiware	21.06 ± 0.25
Hierba del conejo	12.75 ± 0.12
Hierba del pjojito	21..76 ±0.30

<sup>a</sup> Se presenta el valor promedio ± su desviación estándar (n=3)

### 6.2.3 Grasa cruda

En la tabla 8 se muestran los resultados en harina sobre contenido de grasa en el cual es el más bajo dentro del análisis proximal. Sin embargo es importante conocer más acerca de la composición de la grasa en las especies de quelites analizadas por lo cual sería necesario realizar un perfil de ácidos grasos, para conocer otros valores nutrimentales. Esto debido a que en la bibliografía consultada hace mención sobre la presencia de compuestos bioactivos entre los que se encuentran ácidos grasos poliinsaturados (omega 3 y omega 6) en otras especies de quelites (tabla 1).

**Tabla 8. Contenido de grasa cruda en harina<sup>a</sup>**

Espece	Grasa cruda (%)
Basiawi	1.26 ± 0.03
Sepéke	0.99 ± 0.07
Rochiware	0.92 ± 0.07
Hierba del conejo	0.83 ± 0.08
Hierba del pjojito	1.59 ± 0.24

<sup>a</sup> Se presenta el valor promedio ± su desviación estándar (n=3)

### 6.2.4 Cenizas

Las cenizas son el tercer componente mayoritario presentes en las muestras y son un elemento por demás relevante ya que puede indicar la presencia de algunos elementos inorgánicos importantes, en la tabla 9 se puede apreciar por los valores que se tienen, que estas cinco especies son una importante fuente de minerales. La especie con menos contenido de cenizas es Basiawi, y el de mayor valor lo tiene Hierba del conejo, en este caso la cantidad de cenizas se encuentra en un rango amplio, ya que son especies vegetales diferentes; además del lugar

donde se cultivaron, temperatura, condiciones ambientales, el que las cultivo, etc., son un factor para que hubiera variabilidad en los datos obtenidos.

**Tabla 9. Contenido de ceniza en harina<sup>a</sup>**

Espece	Ceniza (%)
Basiawi	10.31 ± 0.19
Sepéke	13.26 ± 0.06
Rochiware	16.66 ± 0.20
Hierba del conejo	20.72 ± 0.35
Hierba del pjojito	16.14 ± 0.33

<sup>a</sup> Se presenta el valor promedio ± su desviación estándar (n=3)

### 6.2.5 Fibra cruda

La fibra es un elemento importante ya que su consumo beneficia en el tratamiento de enfermedades como obesidad, previene y ayuda a eliminar el estreñimiento, da sensación de saciedad, pero su consumo excesivo puede interferir en la digestión de proteínas y absorción de algunos nutrimentos inorgánicos. En la tabla 10 se pueden observar que los valores de este componente varían, debido a que son distintas especies vegetales.

**Tabla 10. Contenido de fibra cruda en harina<sup>a</sup>**

Espece	Fibra cruda (%)
Basiawi	13.47 ± 0.38
Sepéke	17.14 ± 0.04
Rochiware	19.76 ± 0.43
Hierba del conejo	15.68 ± 0.16
Hierba del pjojito	14.10 ± 0.32

<sup>a</sup> Se presenta el valor promedio ± su desviación estándar (n=3)

### 6.2.6 Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono se obtuvieron por diferencia y son el componente mayoritario pero se debe de tomar en cuenta que es un valor sobreestimado ya que engloba parte de la fibra dietética total.

**Tabla 11. Contenido de hidratos de carbono en harina<sup>a</sup>**

Especie	Hidratos de carbono (%)
Basiawi	43.29
Rochiware	43.48
Hierba del piojito	34.98
Hierba del conejo	41.80
Sepéke	39.00

<sup>a</sup> Se presenta el valor promedio  $\pm$  su desviación estándar (n=3)

### 6.2.7 Análisis químico bromatológico en muestras frescas

En la tabla 12 se muestran los resultados en muestras fresca para realizar una comparación equitativa con algunos quelites encontrados en la bibliografía, que se presentan en la tabla 13.

**Tabla 12. Análisis proximal en muestra fresca (g/100 g muestra)**

Especie	Humedad (%)	Proteína <sup>c</sup> (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)	Fibra (%)	HC's (%)
Basiawi	88.31	2.92	0.16	1.32	1.73	5.56
Sepéke	88.08	2.22	0.13	1.73	2.22	5.63
Rochiwari	84.83	3.42	0.15	2.71	3.21	5.68
Hierba del conejo	86.43	1.88	0.12	3.06	2.31	6.17
Hierba del Piojito	85.41	3.43	0.25	2.54	2.22	6.14

**Tabla 13. Composición nutrimental de algunos quelites (g/100 g muestra)**

Quelite	Humedad (%)	Proteína cruda (%)	Grasa cruda (%)	Cenizas (%)	Fibra cruda (%)	HC (%)
Berro	90.60	2.81	0.50	1.20	1.45	3.44
Chivitos	92.80	2.12	0.28	1.80	0.87	2.13
Epazote	89.80	2.57	0.20	1.90	0.81	4.72
Flor de chocho	91.58	2.70	0.21	1.33	1.15	3.01
Gasparito	91.58	2.46	0.17	0.89	1.68	3.19
Guías chayote	89.70	3.59	0.12	1.58	1.95	3.03
Lengua de vaca	92.20	1.87	0.29	1.20	0.93	3.51
Pápalo quelite	93.20	1.75	0.33	0.90	0.93	2.89
Tomalquillitl	86.90	3.77	0.20	1.91	2.50	4.70

Fuente: [10]

Al comparar los valores de las tablas 12 y 13 se observa, que la humedad de las especies de quelites analizadas se encuentran ligeramente abajo del rango en general a los demás quelites (alrededor de un 90%), además de ser especies que

muestran un bajo contenido de grasa, (entre los valores presentes en Lengua de vaca y Guías de chayote). Cabe destacar que las especies Rochiware, Hierba del conejo y Hierba del piojito tienen una mayor cantidad de cenizas rebasando el 2%, con respecto a los demás quelites (tabla 12), así como la cantidad de fibra presente en Rochiware ya que esta rebasa el valor que contiene generalmente los quelites revisados.

### 6.3 Complementación bromatológica

#### 6.3.1 Digestibilidad proteínica *in vitro*

Debido al significativo contenido de proteína en estas especies de quelites y al considerarse un macronutriente de mucha relevancia desde el punto de vista nutritivo, se realizó la determinación de digestibilidad proteínica *in vitro*, cuyos resultados se muestran en la tabla 14 y se observa que para todas las muestras: la digestibilidad *in vitro* se encuentra en un rango de 63 a 74%.

**Tabla 14. Digestibilidad *in vitro* de la proteína<sup>a</sup>**

Espece	Digestibilidad <i>in vitro</i> (%)
Basiawi	74.83 ± 1.01
Rochiware	69.1 ± 0.93
Hierba del piojito	67.44 ± 0.39
Hierba del conejo	63.51 ± 0.67
Sepéke	70.00 ± 1.16

<sup>a</sup> Se presenta el valor promedio ± su desviación estándar (n=3)

Una alta digestibilidad en un alimento debe ser mayor al 80% como es el caso de las proteínas de origen animal, sin embargo para las proteínas de origen vegetal se considera que deben estar en un rango de 60 a 70%, esta característica se cumple en todas las muestras e inclusive la especie Basiawi rebasa este rango, proporcionando una disponibilidad de proteína aceptable.

#### 6.3.2 Calcio e Hierro

En la tabla 15 se muestran los resultados de calcio y hierro; con valores de 0.92 a 3.14 g de calcio/100 g de muestra, indica que es una buena fuente de calcio de acuerdo a la Ingesta Diaria Recomendada que varía entre 0.8 g/día a 1.3 g/día, sin

embargo la presencia de este mineral en muestra fresca, la cantidad disminuye notoriamente debido a la alta humedad presente en estas especies de quelites. El calcio es importante para las funciones en el organismo ya que es el mineral más abundante en nuestro organismo éste se encuentra en los huesos y dientes; básicamente desempeña un papel esencial en numerosos fenómenos bioquímicos y fisiológicos.

**Tabla 15. Determinación de calcio y hierro**

Especie	Harina		Muestra fresca	
	Calcio <sup>a</sup>	Hierro <sup>b</sup>	Calcio <sup>c</sup>	Hierro <sup>d</sup>
Basiawi	0.92	29	0.12	3.72
Sepéke	1.27	50	0.16	6.48
Rochiware	1.34	123	0.22	19.98
Hierba del conejo	3.14	139	0.46	20.51
Hierba del piojito	2.16	110	0.34	17.33

<sup>a</sup> Expresados en g de elemento/100 g de harina (%)

<sup>b</sup> Expresados en mg de elemento/100 g de harina

<sup>c</sup> Expresados en g de elemento/100 g muestra fresca (%)

<sup>d</sup> Expresados en mg de elemento/100 g de muestra fresca

El hierro se encuentra en general; de 29 a 139 mg de hierro/100 g de harina. La Ingesta Diaria Recomendada de este elemento varía entre 8 y 18 mg/día, rebasando este valor todas las especies analizadas en harina, sin embargo en muestra fresca las cantidades expresadas disminuyen considerablemente. No obstante las especies de Rochiware y Hierba del conejo rebasan la IDR de este elemento, aunque su biodisponibilidad es muy baja, por lo que es limitado en la dieta. Además, en el país hay datos sobre una alta incidencia de anemia ferropénica en niños, adolescentes y mujeres en edad reproductiva (particularmente las embarazadas). Por lo que su forma de consumo no representa un riesgo para la salud.

### 6.3.3 Densidad calórica

En la tabla 16 como se puede apreciar la densidad calórica que tiene cada una de las especies analizadas, siendo Basiawi y Hierba del Piojito las que presentan un mayor aporte calórico y Hierba del conejo la que menor contenido tiene. Las verduras, hortalizas y frutas no son una considerable fuente de energía (<70

kcal/100 g); todas las especies estudiadas se encontraron por debajo de este valor, debido a la baja presencia de los macronutrientes calóricos.

**Tabla 16. Resultados de densidad calórica (kcal/100 g muestra)<sup>a</sup>**

Especie	Densidad calórica (kcal/100 g harina)	Densidad calórica (kcal/100 g muestra fresca)
Basiawi	336.52	43.21
Sepéke	314.74	40.79
Rochiware	279.22	45.36
Hierba del conejo	255.17	37.64
Hierba del píoito	304.07	47.91

<sup>a</sup> Se presenta el valor promedio  $\pm$  su desviación estándar (n=3)

#### 6.4 Factores tóxicos

Los alimentos pueden presentar dos tipos de sustancias dañinas: agentes tóxicos y agentes antinutricionales. Los primeros tienen la capacidad de producir anomalía fisiológica o anatómica a corto plazo en el organismo. Los agentes antinutricionales, sustancias presentes en los alimentos, que tienen la capacidad de reaccionar o interferir con las propiedades nutricionales de los alimentos; pueden ser antienzimas, antivitaminas o secuestrantes de minerales. A continuación se presentan los resultados de los siguientes factores tóxicos: inhibidores de tripsina, oxalatos, nitratos, lectinas y saponinas; de las diferentes especies de quelites (**tabla 17**).

**Tabla 17. Toxicología analítica en las especies de quelites en harina<sup>a</sup>**

Especie	Inhibidores de tripsina (UTI/ mg muestra) <sup>b</sup>	Oxalatos (%) <sup>c</sup>	Nitratos (%) <sup>c</sup>	Lectinas (UHG/g muestra) <sup>d</sup>	Saponinas (U.H./mg muestra) <sup>e</sup>
Basiawi	0.62	1.03 $\pm$ 0.02	0.29 $\pm$ 0.01	0.032 $\pm$ 0.00	<5.2 <sup>f</sup>
Sepéke	0.06	0.28 $\pm$ 0.01	2.00 $\pm$ 0.09	0.869 $\pm$ 0.00	<5.2 <sup>f</sup>
Rochiware	0.10	<0.01 <sup>f</sup>	0.80 $\pm$ 0.03	<0.004 <sup>f</sup>	<5.2 <sup>f</sup>
Hierba de conejo	0.09	0.30 $\pm$ 0.01	0.50 $\pm$ 0.01	0.010 $\pm$ 0.00	<5.2 <sup>f</sup>
Hierba de píoito	0.10	0.27 $\pm$ 0.01	1.53 $\pm$ 0.01	0.011 $\pm$ 0.00	<5.2 <sup>f</sup>

<sup>a</sup> Se presenta el valor promedio  $\pm$  su desviación estándar (n=3)

<sup>b</sup> Unidades de tripsina inhibida por mg de muestra (UTI/mg de muestra)

<sup>c</sup> Gramos de tóxico/100 gramos de muestra (%)

<sup>d</sup> Unidades Hemaglutinantes por gramo de muestra (UHG/g muestra).

<sup>e</sup> Unidades de hemólisis por miligramo de muestra (U.H./mg muestra).

<sup>f</sup> Abajo del límite de detección

## 6.4.1 Agentes antinutricionales

### 6.4.1.1 Inhibidores de tripsina

De acuerdo al alto contenido de proteína y digestibilidad adecuada, se presume que estas especies de quelites son buena fuente de proteína, por lo cual es importante saber si existe algún factor que impida el aprovechamiento de este nutrimento, es por ello que se realizó la cuantificación de inhibidores de tripsina.

Los inhibidores de tripsina son encontrados en una gran parte de los alimentos de origen vegetal, a continuación se presentan los siguientes datos presentados en la siguiente tabla:

**Tabla 18. Contenido de Inhibidores de tripsina en harina<sup>a</sup>**

Especie	Inhibidores (UTI/ mg muestra)
Basiawi	0.62
Sepéke	0.06
Rochiware	0.10
Hierba del conejo	0.09
Hierba del piojito	0.10

<sup>a</sup>Se presenta el valor promedio

De acuerdo a la metodología aplicada se indica que a partir de 10 UTI/mg de muestra representa un riesgo importante en la salud ya que no permite la disponibilidad de la proteína dietética, debido a que tiene la capacidad de interferir en el proceso de digestión y dificultar el aprovechamiento de las proteínas.

Como se observa en la tabla 18, el contenido de inhibidores de tripsina reportado en las cinco especies de quelites es menor a 10 UTI/mg muestra, lo que indica que no representa ningún riesgo en su consumo referente a este agente antinutricional, siendo Basiawi el que presenta un mayor valor. En cuanto al efecto que tienen al someterse a un tratamiento térmico pueden inactivarse estos mismos, haciendo referencia a que los quelites se pueden consumir crudos o cocidos. Además cabe mencionar que los valores presentados en la tabla están expresados en harina por lo que al tomar en cuenta la humedad que tienen, éstos tienden a disminuir considerablemente el contenido de este agente.

### 6.4.1.2 Oxalatos

Los oxalatos al estar presentes en numerosas plantas y al poseer una gran actividad quelante, ya que tiene la capacidad de secuestrar algunos minerales (entre los cuales se encuentra el calcio) y dejarlo sin disponibilidad para el organismo, esto conlleva a efectos dañinos: en el tracto gastrointestinal, cálculos renales e hipocalcemia en el peor de los casos.

A continuación se observa en la tabla 19 los valores obtenidos de oxalatos y de calcio de las especies en harina; en la cual se calculó el contenido de calcio secuestrado, con el propósito de conocer el calcio disponible.

De acuerdo a la relación de ácido oxálico-calcio (2.25 g de ácido oxálico secuestre 1 g de calcio), puede observarse que el contenido de calcio es mayor que el contenido de ácido oxálico (mayor al 1%), en cuatro especies de quelites, excepto por Basiawi en la cual su relación es igual y en el caso de Rochiware este agente no se detectó; sin embargo, se necesitaría consumir una gran cantidad de esta especie (Basiawi), para que presentara un efecto antinutricional.

**Tabla 19. Contenido de oxalatos en harina<sup>a</sup>**

Especie	Calcio (%)	Oxalatos (%)	Calcio secuestrado (%)	Calcio disponible (%)
Basiawi	0.92	1.03	0.46	0.46
Sepéke	1.27	0.27	0.12	1.15
Rochiware	1.34	<0.01 <sup>b</sup>	No calculable	1.34 <sup>c</sup>
Hierba del conejo	3.14	0.30	0.13	3.01
Hierba del piojito	2.16	0.28	0.12	2.04

<sup>a</sup> Valor promedio de la determinación realizada por su triplicado.

<sup>b</sup> Abajo del límite de detección

<sup>c</sup> Valor estimado

### 6.4.2 Agentes tóxicos

#### 6.4.2.1 Nitratos

Se han reportado que los nitratos se encuentran de manera natural en los vegetales, especialmente en las hortalizas de hoja verde, es por ello que se realizó la siguiente determinación en la cual se muestran los valores obtenidos mostrados a continuación en la tabla 20:



**Tabla 20. Resultados del contenido de Nitratos**

<b>Especie</b>	<b>Nitratos (%)<sup>a</sup></b>
<b>Basiawi</b>	0.29 ± 0.01
<b>Sepéke</b>	2.00 ± 0.09
<b>Rochiware</b>	0.80 ± 0.03
<b>Hierba del conejo</b>	0.50 ± 0.01
<b>Hierba del piojito</b>	1.53 ± 0.01

<sup>a</sup> Valor promedio de la determinación realizada por triplicado ± desviación estándar.

Los nitratos al ser considerados precursores de formar compuestos cancerígenos, no por sí mismo, pero si en presencia de otras sustancias, se debe tener cuidado de su presencia en los alimentos. La OMS indica que la ingesta diaria admisible (IDA) de nitratos es de 3.65 mg/kg de peso corporal/día, por lo que una persona de 60 kg puede consumir máximo 219 mg de nitratos al día. De acuerdo a la tabla anterior las hojas que registraron un mayor contenido de nitratos son Sepéke (2 %) y Hierba del piojito (1.53%), relacionándola con la IDA se establece que una persona de 60 kg puede consumir 10.95 g de la harina de Sepéke y 14.31 g de la harina de Hierba del Piojito de estos quelites sin que rebasen la IDA, cabe mencionar que las especies analizadas estaban previamente secadas por lo que al considerar su humedad original, el contenido de este agente es reducido significativamente. Las variaciones de porcentaje de nitratos en las cinco especies de quelites pueden atribuirse a su cultivo, a una fertilización alta en nitrógeno y/o la aplicación de abonos en algunas de estas especies.

#### **6.4.2.2 Fitoheماغلوتينinas (lectinas)**

Ya que se ha reportado la presencia de lectinas en varios de los alimentos de origen vegetal de manera natural, se realizó la siguiente determinación para saber la cantidad presente en cada una de las especies de quelites analizadas, en la cual se obtuvieron los siguientes valores:

**Tabla 21. Resultados de fitohemaglutininas**

Especie	Unidades hemaglutinantes (UHG/g muestra) <sup>a</sup>
Basiawi	0.032
Sepéke	0.869
Rochiware	<0.004 <sup>b</sup>
Hierba del conejo	0.010
Hierba del piojito	0.011

<sup>a</sup> Unidades Hemaglutinantes por gramo de muestra (UHG/g muestra).

<sup>b</sup> Abajo del Límite de detección del método.

Se observa en la tabla 21, que los resultados obtenidos en las 5 especies de quelites están debajo de 1 UHG/g de muestra; como referencia en un trabajo previamente realizado por Perla G. en el año 2001 en el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) determinó, que al presentarse un valor menor a 1 UHG/g de muestra este no representa daños clínicos ni subclínicos. Lo que indica que no hay un riesgo en el consumo de estas especies de quelites. Las lectinas son tóxicas por vía enteral, y pueden inducir daños al tracto gastrointestinal, esto dependiendo de la cantidad que sea ingerida; sin embargo, este agente es termolábil y con un tratamiento con calor se puede disminuir o eliminar su efecto dañino [26].

#### 6.4.2.3 Saponinas

A continuación, en la Tabla 22, se muestran los resultados obtenidos en la determinación de saponinas, ya que se ha reportado la presencia de éstas, en varios alimentos de origen vegetal.

**Tabla 22. Resultados del contenido de Saponinas**

Especie	(U.H./mg muestra) <sup>a</sup>
Basiawi	<5.2 <sup>b</sup>
Sepéke	<5.2 <sup>b</sup>
Rochiware	<5.2 <sup>b</sup>
Hierba del conejo	<5.2 <sup>b</sup>
Hierba del piojito	<5.2 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Unidades de hemólisis por miligramo de muestra (U.H./mg muestra).

<sup>b</sup> Abajo del límite de detección

De acuerdo a los resultados que se observan en la tabla 22, se presentaron menos de 5.2 UH/mg de muestra, que expresado en porcentaje es menor a 0.05% de saponinas por muestra, por lo que no existe riesgo para consumo humano en

este factor tóxico, ya que los niveles reportados son por debajo del límite de detección (ver tabla 17).

#### 6.4.2.4 Factores tóxicos en muestras frescas

Comparando la tabla 17 con la tabla 23, todos los valores se reducen considerablemente, ya que el contenido de agua es muy alto; y esto hace que los sólidos presentes en el alimento disminuyan y por consiguiente el contenido de factores tóxicos analizados.

**Tabla 23. Toxicología analítica en las muestras frescas**

Especie	Inhibidores de tripsina (UTI/mg muestra) <sup>a</sup>	Oxalatos (%)	Nitratos (%)	Lectinas (UHG/g muestra) <sup>b</sup>	Saponinas (U.H./mg muestra) <sup>c</sup>
Basiawi	0.08	0.13	0.04	0.004	-- <sup>d</sup>
Sepéke	0.01	0.05	0.26	0.113	-- <sup>d</sup>
Rochiware	0.02	-- <sup>d</sup>	0.13	0.001	-- <sup>d</sup>
Hierba del conejo	0.01	0.04	0.07	0.001	-- <sup>d</sup>
Hierba del piojito	0.01	0.04	0.24	0.002	-- <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Unidades de tripsina inhibida por mg de muestra (UTI/mg de muestra)

<sup>b</sup> Unidades Hemaglutinantes por gramo de muestra (UHG/g muestra).

<sup>c</sup> Unidades de hemólisis por miligramo de muestra (U.H./mg muestra).

<sup>d</sup> -- Abajo del límite de detección

Cabe destacar que, a pesar de disminuir drásticamente los valores mostrados al calcular el contenido en material fresco, la especie de Sepéke y Hierba del piojito todavía contienen una concentración significativa de nitratos, para que no rebase la IDA que la OMS indica, se recomienda consumir 91.25 g de ésta primer especie mencionada y 95.22 g de la segunda; sin embargo, por el acondicionamiento y la manera de prepararlos, puede disminuir la concentración de este compuesto (ya que es soluble en agua). Por lo que su consumo no representaría un riesgo para la salud.

## 7. CONCLUSIONES

- Se aportó información de la composición química en cinco especies de quelites (*Arracacia edulis*, *Lepidium virginicum*, *Bidens odorata*, *Tridax coronopifolia* y *Galisongia parviflora*), ya que hasta el momento no existía información al respecto de éstas.
- El componente mayoritario de las especies determinadas en el análisis proximal fueron hidratos de carbono, seguido de proteína cruda, cenizas, y grasa cruda; las variaciones se deben a que son especies vegetales diferentes.
- Todas las especies de quelites estudiadas se encuentran dentro del rango de digestibilidad proteínica adecuada; considerando que la cantidad inhibidores de tripsina reportada esta debajo del límite máximo permitido por lo tanto, no representan un riesgo para la salud, con esto se puede confirmar que estas especies son una adecuada fuente de proteína disponible.
- Respecto a los minerales determinados, se presenta un alto contenido hierro. Por el contrario, en el caso del calcio se reportan cantidades inferiores a la Ingesta Diaria Recomendada, no siendo estos quelites una buena fuente de este micronutriente.
- De acuerdo a los valores reportados de ácido oxálico, lectinas y saponinas presentes en las muestras, éstas no representan ningún riesgo para la salud del individuo que las consuma, ya que se encontraron en bajas cantidades.
- El contenido de nitratos solo se presenta en altas concentraciones en las especies Hierba del piojito y Sepéke, lo cual puede atribuirse a su cultivo, a una fertilización alta en nitrógeno y/o aplicación de abonos. Además, el contenido de este compuesto puede disminuir por el acondicionamiento y manera de preparación de estas especies.
- Los valores obtenidos de los macronutrientes y factores tóxicos en las cinco especies de quelites, fueron realizadas en forma de harina; sin embargo sí se considera su humedad original (entre 84 a 88% aprox.), se observa una

notable disminución en la cantidad de cada una de los analitos determinados.

- Es importante continuar estudiando estas muestras, debido que no existe información sobre que micronutrientes específicos puedan aportar estas especies y si existe otros factores tóxicos, a parte de los determinados, que afecten el aprovechamiento de éstos.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Anderson, R. L. and Wolf, W. 1995. Compositional Changes in Trypsin Inhibitors, Phytic Acid, Saponins and Isoflavones Related to Soybean Processing. *The Journal of Nutrition*. 125, 581-588.
2. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1995. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16<sup>th</sup> Edition. Arlington. Volume II, pp. 12, 70-71.
3. Au, N. & Bidart, J. 1992. *Manual de harina de pescado*. Compañía pesquera San Pedro S.A.C.I., Coronel. Chile, pág. 56.
4. Bateman, J., 1970. *Nutrición animal. Manual de métodos analíticos*. Centro Regional de Ayuda Técnica. Turrialba (Costa Rica), pág. 176-178
5. Baiocchi, N. 2006. Anemia por deficiencia de hierro. *Revista Peruana de Pediatría*. 59 (3), 20-27.
6. Barros R. y Briceño P. 2012. Sistemas Silvopastoriles con *Leucaena leucocephala* como alternativa en la producción ovina. *Universidad Autónoma de Yucatán*. 5 (2), 22-23.
7. Belitz, H. D., Grosch, W. y Schieberle, P. 2012. *Química de alimentos*. 3ra. Edición. Editorial Acribia. Zaragoza, pág. 1.
8. Bello, J. 2000. *Ciencia bromatológica: Principios generales de los alimentos*. Ediciones Díaz de Santos. Madrid, pág. 41-123.
9. Birk, Y. and Peri, I. 1980. Saponins. In: *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*. 2<sup>th</sup> edition. Academic Press. New York, pp.161-182.
10. Bourges, H., Morales, J. y Vázquez, N. 2013. Quelites: ¿un alimento de segunda? Composición nutrimental de los quelites. *Cuadernos de Nutrición*. 36 (1), 17-30.
11. Bourges, H. y Vargas L. A. La cocina tradicional y la salud. *Revista digital universitaria*. Vol. 16. No. 5. Página WEB: <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num5/art36/art36.pdf>. Consultada el 7 febrero 2017.

12. Bowman B.A. y Russell R. M. 2003. Conocimientos actuales sobre nutrición. OPS e Instituto Internacional de Ciencias de la vida (Publicación científica y técnica No. 592) 8ª edición. Washington D. C., pág. 7-11
13. Bye, R. A. and Linares, E. 2011. Continuidad y aculturación de plantas alimenticias: los quelites especies subutilizadas de México, en Mera, L. M., Castro, D. and Bye, R. A. (compiladores). Especies vegetales poco valoradas: una alternativa para la seguridad alimentaria. UNAM-SNICS-SINAREFI. México, D. F., pág. 11-20
14. Bye, R. A. and Linares, E. 2000. Los quelites, plantas comestibles de México: una reflexión sobre intercambio cultural. Biodiversitas. 31, 11-14.
15. Carneán A., y Repetto M., 2006. Toxicología Alimentaria. Editorial Díaz de Santos, Madrid, pág. 193, 238-240, 245.
16. Cheeke P.R. 1971. Nutritional and physiological implication of saponins. A review. Canadian Journal of Animal Science. 51, 621-623.
17. De Vries, J. 1997. Food safety and toxicity. CRC Press, Boca Raton. pp. 43, 44.
18. D'Mello, J.P.F., 1995. Anti-nutricional substances in legumes seeds. In: Tropical Legumes in Animal Nutrition. D'Mello, J.P.F. and Devendra C. (Eds.). CAB International. Wallingford, pp. 135-165.
19. Derache, R. 1990. Toxicología y seguridad de los Alimentos. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, pág. 109, 112, 120-121, 130, 234-239.
20. Encyclopedia of Life. *Arracacia edulis*. Página WEB: <http://eol.org/pages/5045991/names>. Consultada el 8 de mayo de 2017.
21. Fenema, O. R. 2000. Química de los alimentos. 2ª edición. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, pág. 21-22.
22. Fox, B. and Cameron, A. 1997. Ciencia de los alimentos, Nutrición y Salud. Limusa Noriega Editores, 5ª Edición. México, D.F., pág. 198.
23. Gallaher R. N. 1975. The occurrence of calcium in plant tissue as crystals of calcium oxalate. Communications in Soil Science and Plant Analysis 6, 315-321.

24. García, P. A. 1983. Fundamentos de nutrición. 1ra edición. Editorial Universidad a Distancia. San José, pág. 32, 35-36, 41-43, 48.
25. Goldfarb S. 1994. Diet and Nephrolithiasis. Annual Review of Medicine 45, 235-243.
26. González, P. 2001. Efecto del procesamiento con calor sobre la cuantificación de lectinas de frijol y su toxicidad remanente. Tesis de la Facultad de Química, UNAM. México D. F., pág. 3-4, 116
27. Hajiev, K., Kerimov, K., Hajieva, F. and Ignat'yev, V. 1980. Advances in experimental thermochemistry. A modern bomb calorimeter. The Journal of Chemical Thermodynamics. 12, 509-519.
28. Hansen, T., De Bang, T., Laursen, K., Pedas, P., Husted, S., Schjoerrin, J. 2013. Multielement plant tissue analysis using ICP spectry. In: plant mineral nutrients. (methods and protocols). Maathius, F. (Ed.) Human Press. London, pp. 121-141.
29. Hart, F. 1991. Análisis moderno de los alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, pág. 13-15.
30. Helrich, K. 1990. Official methods of analysis of the Association Official Analytical Chemists. Published by AOAC. 16 th edition. Vol. II. Arlinton, pp. 17-18, 40-62, 69-83, 69-83, 1012.
31. Herrera, B. 1998. Desarrollo de métodos para determinar fitatos y oxalatos y su aplicación en semillas silvestres de interés. Tesis de la Facultad de Química. UNAM. México, D.F., pág. 33-41.
32. Hidalgo, G. 1999. Adaptación y validación de métodos cuantitativos para determinar nitratos y taninos en muestras vegetales. Tesis de la Facultad de Química, UNAM. México, D. F., pág. 19-24, 45-48.
33. Horner H. T. y Wagner B. L. 1995. Calcium oxalate in biological systems. CRC Press. Boca Raton, Florida, pp. 53-72.
34. Horwitz, W. and Latimer, E. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18 edición. Publised by AOAC Internacional. Gaithersburg, pp. 1-8, 33-36, 42-47.



35. Huisman, J. 1989. Antinutritional factors (ANFs) in the nutrition of monogastric farm animals. In: Nutrition and Digestive Physiology in Monogastric Farm Animals. Reviews Presented at the Symposium on the Occasion of the Retirement of Dr Ir E.J. van Weerden, Wageningen, Netherlands, 26 May 1989. Weerden, E.J. van and J. Huisman (Eds). Pudoc Wageningen. Netherlands, pp. 17-36.
36. Kakade et al. 1974. Kakade, M., Rackis, J., Maghee, J., Puski, G., 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products. Cereal Chemistry 51, 376-382.
37. Kumar, R. y D'Mello, J.P.F. 1995. Anti-nutritional factors in forage legumes. In: Tropical Legumes in Animal Nutrition. D'Mello, J.P.F. and C. Devendra (Eds.). CAB International. Wallingford, pp 95-133.
38. Liener, I. 1980. Toxic constituents of plants foodstuffs. 2<sup>a</sup> edition. Academic press. New York, pp. 523-550.
39. Lindner E. 1995. Toxicología de los alimentos. 2da Edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, pág. 1-5, 30, 82-84, 88
40. López, G. 2003. Estudio de la composición y valor nutritivo de los residuos de uva (*Vitis vinifera*) y su posible uso en la alimentación animal. Tesis de la Facultad de Química, UNAM. México, D. F., pág. 7, 15.
41. López M. 2000. Determinación de factores tóxicos en varias almendras no tradicionales con potencial aporte de proteína y grasa dietética. Tesis de la Facultad de Química, UNAM. México, D. F., pp. 15, 23-25.
42. Lomeli, L. 2009. Evaluación nutritiva y toxicológica de la flor de moringa (*Moringa oleífera*) consumida en el municipio de Santa María Colotepec. Oaxaca." Tesis de la Facultad de Química UNAM. México, D. F., pág. 76-82.
43. Lucas, B. and Sotelo, A. 1993. A useful modification of the hemagglutination method for screening of lectins in legume seeds. 2th International Workshop on ANFs. In legume seeds. EAAP Publication No. 70. Wageningen, pp. 71-74.

44. Martin, S. P., Yetman, D., Fishbein, M., Jenkins P., Van Devender R. T. and Wilson K. R. 1998. Gentry's Rio Mayo Plants: the tropical deciduous forest and environs of northwest México. The University of Arizona Press. Tucson, pp. 209.
45. Mathias, M. E., and Constance, L. 1994. Umbelliferae. North American Flora. 28 B. 101-102.
46. Ministerio de Salud. 1997. Guías alimentarias para la educación nutricional en Costa Rica. San José, pág. 66-71.
47. Moreau, A., Savage, G. 2009. Oxalate content of purslane leave and the effect of combining them with yoghurt or coconut products. Journal of Food Composition and Analysis 22, 303-306
48. Nadadur S.S., Srirama K. and Mudipalli A. 2008, Iron transport and homeostasis mechanisms: their role in health and disease. The Indian Journal of Medical Research. 128 (4), 533-534.
49. Palaniswamy, U., Bible, B. and McAvoy, R. 2004. Oxalic acid concentrations in purslane (*Portulaca oleracea L.*) is altered by storage of harvest and the nitrate to ammonium ratios in hydroponics. Scientia Horticulturae. 102, 267-275.
50. Palencia, Y. Sustancias bioactivas en los alimentos. Página WEB: [http://www.unizar.es/med\\_naturista/bioactivos%20en%20alimentos.pdf](http://www.unizar.es/med_naturista/bioactivos%20en%20alimentos.pdf). Consultada el 6 de septiembre de 2017.
51. Patrocinado por el Instituto Tomás Pascual Cruz. Las proteínas. Vive Sano. Suplemento III. No. 3866. Página WEB: [http://www.institutotomaspascualsanz.com/descargas/publicaciones/vivesano/vivesano\\_13mayo10.pdf?pdf=vivesano-130510](http://www.institutotomaspascualsanz.com/descargas/publicaciones/vivesano/vivesano_13mayo10.pdf?pdf=vivesano-130510). Consultada el 8 de febrero de 2017.
52. Pearson, D. 1993. Valor nutritivo de los alimentos. Limusa Norega Editores. México, D.F., pág. 58-65
53. Price, K.R. and Fewick, G.R. 1987. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedingstuffs. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 26, 27-135

54. Rolls B.J. 2010. Plenary Lecture 1: Dietary strategies for the prevention and treatment of obesity. The Proceedings of the Nutrition Society. 69, 70.
55. Sánchez, M. 1989. Vida y nutrición. Siglo XXI Editores. México, D. F., pág. 46-50.
56. Shibamoto T. y Bjeldanes L. 1996. Introducción a la toxicología de los alimentos. Aditorial Acribia, S.A. Zaragoza, pág. 73, 74, 76, 77.
57. Soriano J.M. 2006. Nutrición básica humana. Universitat de Valencia Servei de Publicacions. pág.119.
58. Stewart C.S., Duncan S.H. and Cave D.R. 2004. Oxalobacter formigenes and its role in oxalate metabolism in the human gut. Federation of European Microbiological Societies. 230, 1-7.
59. Teijon, J. M. y Garrido A. 2006. Fundamentos de bioquímica metabólica. 2a edición. Editorial, Tébar. S.L. Madrid, pág. 163
60. Torres I. et al. Comparación del contenido de ácidos grasos omega 3 y 6 durante primavera y otoño en quelites comestibles de la Ciudad de México. Lrección de Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zúbiran. Página WEB: <http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2006/ee-14-2006/documentos/Art32.pdf>. Consultada el 7 febrero 2017.
61. Vanhanen, L., Savage, G. 2015. Comparison of oxalate contents and recovery from two Green juices prepared using a masticating juicer or a high speed blender. Society of Nutrition and Food Science Journal. 1, 20-23.
62. Vibrans, H. Malezas de México. *Bidens odorata*. Página WEB: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/bidens-odorata/fichas/ficha.htm>. Consultada el 5 de febrero de 2017.
63. Vibrans, H. Malezas de México. *Galinsoga parviflora*. Página WEB: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/galinsoga-parviflora/fichas/ficha.htm>. Consultada el 5 de febrero de 2017.

64. Vibrans, H. Malezas de México. *Lepidium virginicum*. Página WEB: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/brassicaceae/lepidium-virginicum/fichas/ficha.htm>. Consultada el 5 de febrero de 2017.
65. Vibrans, H. Malezas de México. *Tridax coronopifolia*. Página WEB: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/tridax-coronopifolia/fichas/ficha.htm>. Consultada el 20 de mayo de 2017.
66. William, H.M. 2002. Nutrición Para la salud, la condición física y el deporte. Editorial Paidotribo. Madrid, pág. 255.