

UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO



DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA SALUD E INGENIERÍAS
CAMPUS CELAYA-SALVATIERRA
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Evaluación del tratamiento térmico y tamaño de partícula sobre el valor nutrimental del tallo de brócoli a través de diferentes métodos de cocción

Tesis que para obtener el título de Ingeniera en Biotecnología
presenta:

Irais Berenice Deanda Barcenas

Director:

Dr. Adán Topiltzin Morales Vargas

Codirector:

Dra. Brenda Ríos Fuentes

Celaya, Gto. Agosto 2023

UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO



DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA SALUD E INGENIERÍAS
CAMPUS CELAYA-SALVATIERRA
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Evaluación del tratamiento térmico y tamaño de partícula sobre el valor nutrimental del tallo de brócoli a través de diferentes métodos de cocción

Tesis que para obtener el título de Ingeniera en Biotecnología
presenta:

Irais Berenice Deanda Barcenas

Director:

Dr. Adán Topiltzin Morales Vargas

Codirector:

Dra. Brenda Ríos Fuentes

Celaya, Gto. Agosto 2023



Celaya, Gto., 30 de septiembre 2019

Oficio No. 2588/DIR/DCSI/CCS

Asunto: Designación de Director de Trabajo de Titulación

C. IRAIS BERENICE DEANDA BÁRCENAS
ALUMNA DEL PROGRAMA DE LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA
PRESENTE. -

Le informo que con base en las atribuciones que nos confiere el artículo 67 del Estatuto Académico, el comité de Titulación de la División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, tuvo a bien **asignarle** como Director de Tesis, al **Dr. ADÁN TOPILTZIN MORALES VARGAS** con el tema: **"EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO TÉRMICO Y TAMAÑO DE PARTÍCULA SOBRE EL VALOR NUTRIMENTAL DEL TALLO DE BRÓCOLI A TRAVÉS DE DIFERENTES MÉTODOS DE COCCIÓN"**. Como co-directora ha sido designada la **M.C. BRENDA RÍOS FUENTES**.

Sin otro particular, me despido de usted enviándole un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"LA VERDAD OS HARÁ LIBRES"


Campus Celaya-Salvatierra
DRA. SILVIA DEL CARMEN DELGADO SANDOVAL
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme salud, amor, fuerza y paciencia para poder lograr lo que me propongo y poder disfrutar de este momento.

A mis abuelitos María Labrada Parra, Engracia Guerrero Padrón q.e.p.d y Pedro Deanda Sánchez q.e.p.d. que han estado siempre presentes, gracias por sus enseñanzas y darme tanto amor.

A mis queridos padres Manuela Barcenas Labrada y Rey Benjamín Deanda Guerrero por su arduo trabajo para conmigo, dando siempre lo mejor de sí para verme crecer y triunfar en este camino que llamamos vida.

A mis queridos hermanos Johana Morales Barcenas y German Campos Barcenas que siempre han sido una fortaleza para mí el crecer, ser unidos, tener a mis mejores confidentes y amigos más cercanos.

A mi director de tesis el Dr. Adán Topiltzin Morales por su apoyo en el transcurso de mi trabajo de titulación.

A mi codirectora de tesis la Dra. Brenda Ríos Fuentes por apoyarme y guiarme en este trabajo arduo del cual estoy satisfecha de haber sido parte, además de las bellas convivencias dentro y fuera de la institución, no solo me llevo basto conocimiento sino buenas amistades.

Agradezco al Dr. Enrique Botello Álvarez por aceptarme y ser parte de su equipo de trabajo en el Instituto Tecnológico de Celaya.

A la ilustre Universidad de Guanajuato por darme la oportunidad de egresar con las becas otorgadas en el transcurso de la carrera.

A mis profesores por su dedicación, paciencia y motivación en el transcurso de esta etapa finalizada,

A mis compañeros de la carrera por darnos la oportunidad de crecer, apoyarnos y sobre todo los ratos de diversión, siempre llevare en mi corazón los buenos momentos.

Evaluación del tratamiento térmico y tamaño de partícula sobre el valor nutricional del tallo de brócoli a través de diferentes métodos de cocción

Autor: Irais Berenice Deanda Barcenas

Director: Dr. Adán Topiltzin Morales Vargas

Codirector: Dra. Brenda Ríos Fuentes

RESUMEN

El brócoli es una hortaliza rica en antioxidantes, fenoles, compuestos nutraceuticos e isotiocianatos presentes. En el presente trabajo se analizó la composición bioquímica del tallo de brócoli y se realizó un diseño experimental factorial 2^3 , empleando como variables dos métodos de cocción (freído 90°C y hervido 100°C) a diferentes tiempos (5 y 10 min) y dos tamaños de partícula (triturado y cubos 1×1 cm) para observar el valor nutricional de antioxidantes y compuestos fenólicos presentes en el tallo de brócoli según las condiciones de cada tratamiento. El objetivo fue determinar composición proximal, el contenido de antioxidantes y fenoles presentes en tallo de brócoli y evaluar que el método de cocción está ligado al aumento de estos compuestos funcionales presentes en el tallo de brócoli. Al finalizar los tratamientos se observó de acuerdo al análisis estadístico el tratamiento donde el valor nutricional del tallo de brócoli incrementa es el tratamiento frito.

**Evaluation of heat treatment and particle size on the nutritional value of
broccoli stem through different cooking methods**

Author: Irais Berenice Deanda Barcenas

Director: Dr. Adán Topiltzin Morales Vargas

Codirector: Dra. Brenda Ríos Fuentes

ABSTRACT

The brocoli is a rich vegetable in antioxidants, phenols, nutraceutical compounds and isothiocyanates present. In the present work, the biochemical composition of broccoli steam was analyzed and a factorial experimental design 2^3 was elaborate, employing as variables two cooking methods (frying 90°C and boiling 100°C) at different times (5 and 10 min) and two particle size (crushed and cubes $1 \times 1 \text{ cm}$) to observe the nutritional value of antioxidants and phenolic compounds present on the broccoli stem according to the conditions of each treatment. The objective was to determine the proximal composition, the content of antioxidants and phenols present in broccoli stem and to evaluate that the cooking method is linked to the increase of these functional compounds present in the broccoli stem. At the end of the treatments according to the statistical analysis, the treatment where the nutritional value of broccoli steam increases is the treatment frying.

ÍNDICE

Página

| | |
|-------------------------------------|-----|
| RESUMEN | ii |
| ABSTRACT | iii |
| ÍNDICE..... | iv |
| ÍNDICE DE TABLAS..... | vii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | ix |
| ÍNDICE DE ECUACIONES | x |
| ÍNDICE DE APENDICE | xi |
| GLOSARIO | xii |
| GLOSARIO DE SIGLAS..... | xiv |
| 1 INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 Planteamiento del problema..... | 2 |
| 1.2 Justificación | 3 |
| 1.3 Objetivo General..... | 3 |
| 1.3.1 Objetivos Específicos | 3 |

| | | |
|---------|---|----|
| 2 | ANTECEDENTES..... | 4 |
| 2.1 | Descripción del Brócoli | 4 |
| 2.1.1 | Producción de Brócoli | 6 |
| 2.1.2 | Estadísticas de la producción de Brócoli..... | 7 |
| 2.1.3 | Consumo de Brócoli..... | 8 |
| 2.1.4 | Métodos de cocción y beneficios a la salud | 9 |
| 2.2 | Composición Bioquímica | 13 |
| 2.2.1 | Antioxidantes presentes en brócoli..... | 14 |
| 2.2.1.1 | Evaluación de la actividad antioxidante | 17 |
| 2.2.2 | Glucosinolatos | 18 |
| 2.2.2.1 | Biosíntesis y degradación de glucosinolatos | 20 |
| 2.2.2.2 | Sulforafano y sus beneficios..... | 22 |
| 3 | METODOLOGÍA | 23 |
| 3.1 | Materiales y reactivos | 23 |
| 3.1.1 | Materiales | 23 |
| 3.1.1.1 | Equipo y utensilios..... | 23 |
| 3.1.1.2 | Cristalería..... | 24 |
| 3.1.2 | Reactivos | 25 |
| 3.2 | Análisis proximal..... | 26 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.3 | Preparación de muestras | 26 |
| 3.3.1 | Tamaño de partícula | 26 |
| 3.3.2 | Métodos de cocción | 26 |
| 3.3.3 | Extracción de muestras para fenoles y antioxidantes | 27 |
| 3.4 | Determinación total de contenido fenólico | 27 |
| 3.5 | Cuantificación de antioxidantes | 28 |
| 3.6 | Diseño experimental | 29 |
| 3.7 | Análisis estadístico | 30 |
| 4 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 31 |
| 4.1 | Análisis proximal | 31 |
| 4.2 | Determinación total de contenido fenólico en tallo de brócoli | 33 |
| 4.3 | Cuantificación de antioxidantes en tallo de brócoli | 36 |
| 4.4 | Evaluación del diseño factorial 2^3 | 39 |
| 5 | CONCLUSIONES | 51 |
| | BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS | 53 |
| | APÉNDICE | 57 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | Página |
|--|--------|
| Tabla 2.1 Porcentaje humedad en partes de brócoli | 6 |
| Tabla 2.2 Siembra y cosecha de brócoli 2018 | 7 |
| Tabla 2.3 Estudios realizados en Brócoli | 11 |
| Tabla 2.4 Porcentaje elemental de minerales esenciales en tallo de brócoli | 13 |
| Tabla 2.5 Especies reactivas de oxígeno (ERO) | 15 |
| Tabla 2.6 Glucosinolatos presentes en brócoli | 19 |
| Tabla 3.1 Concentraciones para la curva estándar de ácido gálico | 27 |
| Tabla 3.2 Curva estándar de Trolox | 28 |
| Tabla 3.3 Diseño factorial 2^3 | 30 |
| Tabla 4.1 Composición bioquímica del tallo de brócoli..... | 32 |
| Tabla 4.2 Total de contenido fenólico en tallo de brócoli | 35 |
| Tabla 4.3 Porcentaje de inhibición de DPPH en tallo de brócoli | 38 |
| Tabla 4.4 Diseño factorial 2^3 | 39 |
| Tabla 4.5 Contenido fenólico total y antioxidantes presentes en tallo de brócoli | 39 |

| | |
|---|----|
| Tabla 4.6 Tabla de análisis de varianza por factores de total de nutraceuticos presente en tallo de brócoli | 40 |
| Tabla 4.7 Total de contenido fenólico presente en tallo de brócoli por factor | 41 |
| Tabla 4.8 Antioxidantes presente en tallo de brócoli por factor..... | 42 |
| Tabla 4.9 Análisis de varianza combinación FXC | 43 |
| Tabla 4.10 Contenido nutraceutico presente en tallo de brócoli combinación FXC | 44 |
| Tabla 4.11 Análisis de varianza combinación FXT en tallo de brócoli | 45 |
| Tabla 4.12 Contenido nutraceutico presente en tallo de brócoli combinación FXT | 46 |
| Tabla 4.13 Análisis de varianza combinación CXT en tallo de brócoli | 46 |
| Tabla 4.14 Contenido nutraceutico presente en tallo de brócoli combinación CXT | 47 |
| Tabla 4.15 Análisis de varianza combinación FXCXT en tallo de brócoli | 47 |
| Tabla 4.16 Contenido nutraceutico presente en tallo de brócoli combinación FXCXT..... | 48 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Página |
|--|--------|
| Figura 2.1 Composición del brócoli | 4 |
| Figura 2.2 Forma de la cabeza de brócoli..... | 5 |
| Figura 2.3 Principales productores de brócoli en 2018 | 8 |
| Figura 2.4 Neutralización de un radical libre por un Antioxidante | 14 |
| Figura 2.5 Daño celular por radicales libres..... | 16 |
| Figura 2.6 Acción de α -Tocoferol en presencia de acorbato y glutatión reducido | 17 |
| Figura 2.7 Reacción Global DPPH..... | 18 |
| Figura 2.8 Estructura química de glucosinolatos..... | 18 |
| Figura 2.9 Biosíntesis y degradación de Glucosinolatos | 21 |
| Figura 2.10 Estructura química de glucorafanina y sulforafano | 22 |
| Figura 3.1 Estructura del diseño | 29 |

ÍNDICE DE ECUACIONES

| | Página |
|---|--------|
| $Y = 88.851x + 4.0107$ | |
| Ecuación 4.1 | 33 |
| $Y = -1608.6x + 1654.8$ | |
| Ecuación 4.2 | 36 |
| $\% \textit{inhibición DPPH} = Abs\ b - Abs\ mAbs\ b$ | |
| Ecuación 4.3 | 36 |
| $Y = 16.414x + 3.5641$ | |
| Ecuación 4.4 | 37 |

ÍNDICE DE APENDICE

| | Página |
|---|--------|
| Apéndice 1 Diagrama de Análisis Proximal..... | 57 |
| Apéndice 2 Diagrama de extracción de muestra, determinación de antioxidantes y fenoles | 58 |

GLOSARIO

Actividad antioxidante: es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa.

Apoptosis: es el proceso de muerte celular programada.

Alimento: cualquier porción comestible proveniente de otras especies vivas o especies minerales donde conjunto de sustancias químicas contenidas, le confieren propiedades funcionales; nutritivas, fisiológicas, sensoriales y culinarias, a partir de las cuales son elegidas por determinado grupo humano constituyendo su cultura alimenticia.

Alimento funcional: son un alimento o bebida que imparte beneficios fisiológicos que mejoran la salud, previene o trata una enfermedad o afección, y / o mejora rendimiento físico / mental.

Antioxidante: molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas.

Carotenoides: son pigmentos presentes de forma natural en las plantas, algas, en algunos hongos y bacterias, tiene propiedades benéficas para la salud reduciendo el riesgo de ataques cardiacos, antioxidante liposoluble y aumenta la eficiencia del sistema inmunológico. Los más comunes licopenos, zeaxantina y luteínas.

Compuestos fenólicos: una amplia familia de nutraceuticos posee propiedades benéficas para la salud.

Crucíferas: son hortalizas que pertenecen a la familia *Brassicaceae* son una fuente de nutrientes, vitaminas y minerales. Entre ellas tenemos coles de Bruselas, coliflor, brócoli, repollo, rábano, etc.

Flavonoides: son una diversa clase de pigmentos constituyentes normales de las células o los tejidos que dan color a los alimentos. Además de destacar su efecto antioxidante, anticancerosos, antitrombóticos y como reductores de colesterol en la sangre.

Glucosinolatos: compuesto bioactivo presente en crucíferas reconocidos como pesticidas naturales en plantas, propiedades cancerígenas y antibióticas en el hombre.

Hortaliza: planta de huerta cuyos frutos, semillas, hojas, tallos o raíces son comestibles.

Isotiocianatos: grupo funcional obtenido de la degradación enzimática de glucosinolatos por la ruptura de tejido celular, reconocidos por sus propiedades anticancerígenas.

Lixiviados: es el líquido resultante de un proceso de percolación de un fluido a través de un sólido. Por lo general el fluido arrastra gran cantidad de los compuestos presentes del sólido.

Nutracéuticos: cualquier alimento o ingrediente de los alimentos que ejerce acción benéfica en la salud del hombre.

Radical libre: es cualquiera especie (átomo, molécula o ión) que contenga a lo menos un electrón desapareado en su orbital más externo, y que sea a su vez capaz de existir en forma independiente.

Sulforafano: nombre químico 4-metilsulfinilbutil isotiocinato, es un isotiocianato derivado de la familia de compuestos llamado glucocinolatos. Compuesto anticancerígeno muy conocido presente en brócoli.

Trolox: es un análogo hidrosoluble de alfa-tocoferol. En virtud de su alta solubilidad en agua y su amplia disponibilidad comercial, es universalmente empleado como estándar en diversos ensayos de actividad antioxidante.

GLOSARIO DE SIGLAS

ABTS: mediador químico ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico).

DPPH: compuesto químico orgánico 2,2-difenil-1-picrylhidrazil.

DMPD: N,N-dimetil-p-fenilendiamina

DMPO: Defectos por millón de oportunidades 5,5-Dimethyl-1-pyrroline N-oxide (en inglés Defects per Million Opportunities)

FRAP: Poder antioxidante reductor del hierro

TEAC: Capacidad antioxidante de Trolox (en inglés Trolox equivalent antioxidant capacity)

1 INTRODUCCIÓN

El brócoli es una hortaliza de la familia Brassicaceae y género *Brassica*, sus principales partes comestibles son las inflorescencias, es rico en minerales, vitaminas, fuente natural de antioxidantes y compuestos quimiopreventivos benéficos para la salud (Yuan, Sun, Yuan, & Wang, 2009). México ocupa el 5° lugar en producción a nivel mundial con una producción de 2,029,886 t, representando un 2.1% de la producción anual, siendo a nivel nacional Guanajuato el principal productor (SIAP-SAGARPA, Avance de siembras por cultivo, 2018). El brócoli es comercializado fresco o congelado, 7 de cada 10 toneladas son exportadas, siendo sus principales destinos USA, Canadá y Japón, flujo que genera un valor comercial de 390 millones de dólares (Olga N. Campas-Baypoli et al., 2009). El consumo anual per cápita 1.7 kg y su precio rural es de 5,815 pesos/t (SIAP-SAGARPA, Atlas agroalimentario, 2018). Un 50% de la planta cosechada es descartada y usada como alimento animal. Recientemente recibe una gran atención los residuos vegetales con alto valor de componentes nutritivos (Olga N. Campas-Baypoli et al., 2009). Debido al incremento de enfermedades también incrementó el consumo de alimentos funcionales, el brócoli es uno de los vegetales más consumidos en países en vías de desarrollo (Bongoni, Verkerk, Steenbekkers, Dekker, & Stieger, 2014) y uno de los vegetales mayormente cultivados en México. Comúnmente se consume el florete y uno o dos centímetros del tallo, por lo que el consumo de tallo y hojas es poco común, retirándolo y consumiendo solo la florescencia lo que nos lleva solo al consumo de un 15% del total de la planta (Liu, Zhang, Ser, Cumming, & Ku, 2018).

La familia Brassica es conocida por sus componentes quimiopreventivos, como los glucosinolatos los cuales son metabolitos secundarios, que bajo la acción de la enzima mirosinasa son hidrolizados para dar productos como isotiocianatos e indol glucosinolatos que son sus principales compuestos activos (Kapusta-Duch, Kusznierevicz, Leszczyńska, &

Borczak, 2016). El brócoli comúnmente es consumido después de aplicar algún método de cocción (hervido, al vapor, freído, microondas), al aplicar alguno de estos tratamientos térmicos diversos autores reportan que se pueden perder la calidad nutritiva del producto (dos Reis et al., 2015).

La producción de brócoli genera aproximadamente un 70% de residuos desde el sector agrícola, hasta el modulo industrial, actualmente estos residuos son aprovechados por el ganado vacuno, sin embargo contiene un alto valor nutritivo para la salud humana.

En este trabajo se realizó una evaluación de la composición bioquímica de los tallos de brócoli, Se realizó un diseño experimental factorial 2^3 teniendo como variables tamaño de partícula (cubos 1x1 cm y triturado), tiempo de cocción (5 y 20 min) y método de cocción (hervido y freído), para observar el valor nutrimental de antioxidantes y compuestos fenólicos presentes en el tallo de brócoli, con la finalidad de darle un valor agregado y aprovechar sus componentes.

1.1 Planteamiento del problema

La producción y el consumo de brócoli han ido aumentando en las últimas décadas. México ocupa el 5° lugar a nivel mundial en producción de brócoli con una cosecha de 2,029,886 toneladas anuales (SIAP, 2018). En el 2017 el consumo per cápita fue de 1.7kg.

En la agricultura los residuos de brócoli (tallos, hojas y floretes), representan un problema económico y ambiental, puesto que el 50% de estos son implementados en alimentación animal, uso distinto a su finalidad principal (consumo humano) (Olga N. Campas-Baypoli et al., 2009).

En el estado de Guanajuato algunas empresas generan residuos, este residuo proviene de los distintos cortes en el procesado. Durante el proceso se obtienen también residuos de brócoli que no cumplen con los estándares de la empresa y hojas que son destinadas a consumo animal a un precio aproximado de \$100 por tonelada

El costo de florete es cuatro veces mayor al costo del tallo por lo cual sería factible darle valor agregado y aprovechar los componentes quimiopreventivos presentes en el brócoli tal como glucosinolatos e isotiocianatos, además del alto contenido de fibra que ayuda

a la digestión, compuestos fenólicos, carotenoides, flavonoides, vitaminas, minerales y antioxidantes que ayudan a prevenir diversas enfermedades.

1.2 Justificación

El brócoli es un alimento funcional, su producción genera aproximadamente el 50-70% de los residuos desde el campo hasta su procesamiento industrial. Los residuos generados actualmente son destinados a consumo animal, sin embargo, al ser alimento limpio, pueden ser aprovechados para el consumo humano. El tallo y hojas de brócoli son las partes mayormente desechadas consumiendo solo el florete y una parte del tallo. El uso de tallos de brócoli para consumo humano es una forma de dar un valor agregado y disminuir el porcentaje de residuo. Al generar una gran cantidad de residuos, se evaluarán diferentes métodos de cocción y tamaño de partícula del brócoli para cuantificar algunos fotoquímicos de interés y que puedan ser aprovechados como un ingrediente para la elaboración de productos para consumo humano. Por otro lado, se disminuirá el impacto ambiental que actualmente se genera teniendo un producto más sustentable.

1.3 Objetivo General

Evaluar los efectos del tratamiento térmico sobre el valor nutrimental de tallos de brócoli mediante diferentes métodos de cocción, tiempo y tamaño de partícula.

1.3.1 Objetivos Específicos

- Determinar la composición proximal de los tallos de brócoli en crudo.
- Determinar la concentración de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en diferentes tratamientos de cocción sobre los tallos de brócoli.
- Evaluar la variación de los compuestos fenólicos y antioxidantes en el tallo de brócoli por efecto del método de cocción, tiempo y tamaño de partícula del tallo de brócoli.

2 ANTECEDENTES

2.1 Descripción del Brócoli

El brócoli es originario del Mediterráneo y Asia menor. Italia, Libia y Siria recolectaron los primeros ejemplares de esta planta proveniente de las coles y las coliflores. Existen dos variedades de brócoli, el italiano (*Brassica oleracea itálica*) y el brócoli de cabeza (*Brassica oleracea*) (SAGARPA, 2011).

El brócoli está compuesto por tallo, brotes y hojas como se muestra en la Figura 2.1

- Tallo: soporte de la planta y transporte de fotosintatos
- Brotes: composición de capullos que lo soporta el tallo y hojas
- Hojas: lámina que se expande desde el tallo, donde se realiza el proceso de respiración y transpiración (fotosíntesis)

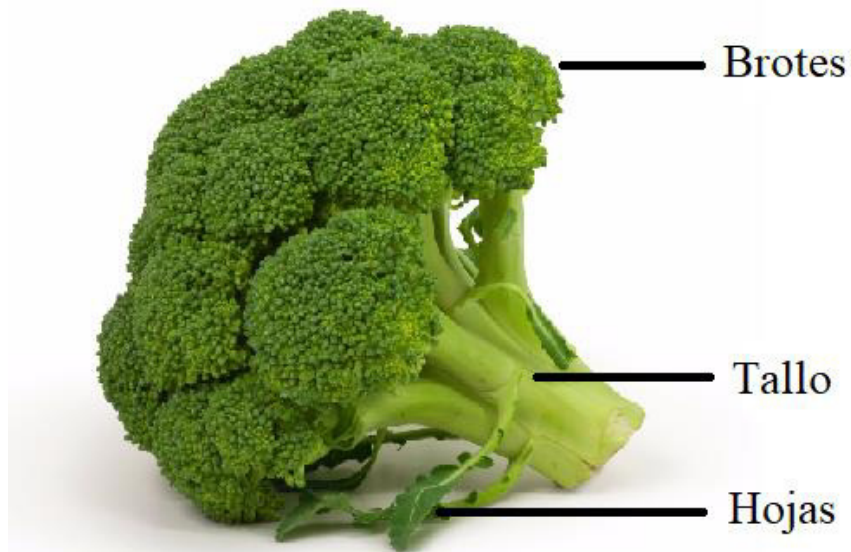


Figura 2.1 Composición del brócoli
(Everardo Zamora, 2016)

En México las variedades más cultivadas de brócoli (*Brassica oleracea itálica*) son:

- Heritage: la cual proporciona altos rendimientos y brotes finos, la siembra de esta semilla es recomendada para la temporada caliente y seca del año en la zona Bajío.
- Ironman: es el estándar para mercado fresco y de insuperable calidad para su proceso.
- Tlálloc: precocidad, uniformidad a cosecha y altos rendimientos.
- Triathlon: se producen brotes pesados ofreciendo mayor producción.
- Arcadia: rentable en el mercado de los frescos y congelados.
- Expo: ideal para las temporadas de otoño-invierno, pues soporta temperaturas bajas.

Las variedades existentes de brócoli son híbridas. Se han realizado investigaciones y mejoras en la planta de brócoli, lo que implica que se modifican genéticamente en laboratorio y que las plantas no producen semillas (SAGARPA, 2011). La parte comestible de esta hortaliza es una inflorescencia inmadura, llega a tener una altura de entre 0.6 cm y una cabeza o pella de 15 cm de diámetro de color verde de varias tonalidades, existen también de color púrpura y distintas formas (Everardo Zamora, 2016). En la Figura 2.2 se muestra la forma del brócoli de acuerdo a su cabeza principal (pella).



Figura 2.2 Forma de la cabeza de brócoli (Zamora, 2016)

El brócoli tiene gran contenido de agua. Estudios realizados reportan alrededor de 90% de agua en brócoli. En la Tabla 2.1 se presenta una comparación de porcentajes de humedad obtenidos de algunos estudios, cabe mencionar que no todos son específicamente de tallo, pero se observa que los resultados generales de brócoli completo a por partes del brócoli no son muy diferentes.

Tabla 2.1 Porcentaje humedad en partes de brócoli

| Autor | Porcentaje de humedad |
|---|-----------------------|
| Tallo y florete (Moreiras Tuni, Carbajal, Cabrera Forneiro, & Cuadrado Vives, 2015) | 89% |
| Tallo (Olga N. Campas-Baypoli & col, 2009) | 89.30% |
| Florete (dos Reis y col, 2015) | 86,76% |
| Tallo (Trabajo) | 89.46% ± 0.14 |

2.1.1 Producción de Brócoli

El proceso de producción comienza con la labranza del terreno, fertilización, control de plagas y enfermedades, los rendimientos por hectárea son de 15 t, la productividad del terreno varía conforme el clima y trabajo (SAGARPA, 2011). La temporada adecuada para el crecimiento del brócoli en México es en otoño-invierno, se adapta mejor a temperaturas promedio de 16 °C, suelos con buen drenaje (suelos arcillosos o arenosos), aunque puede desarrollarse en un amplio rango de textura de suelo, ligeramente tolerante a suelos ácidos de 6-6.8 de pH y moderadamente tolerantes a sales de suelo con 2.8dS/m. Los riegos son ligeros y frecuentes, El brócoli puede requerir de 6-8 riegos por temporada (Everardo Zamora, 2016). Crece a una altitud de 900 a 2,500 msnm y territorios con lluvia de 900-1,500 mm (SIAP-SAGARPA, Atlas agroalimentario, 2018).

Los principales estados donde se siembra y cosecha brócoli en México es Guanajuato, Jalisco, Sonora, Michoacán, Baja California y Puebla, siendo Jalisco con el mejor rendimiento de 20.067 t/ha, estos datos se pueden revisar en la Tabla 2.2 Siembra y cosecha de brócoli 2018.

Tabla 2.2 Siembra y cosecha de brócoli 2018

| Estado | Superficie (ha) | | | Producción (t) | Rendimiento (t/ha) |
|-----------------|-----------------|-------------|-----------|-------------------|-----------------------|
| | Sembrada | Siniestrada | Cosechada | Obtenida | Obtenido |
| Guanajuato | 12,554 | 250 | 12,304 | 200,278 | 16.278 |
| Jalisco | 742 | | 742 | 15,542 | 20.057 |
| Sonora | 1,508 | 188 | 2,320 | 23,257 | 17.619 |
| Michoacán | 962 | | 962 | 18,686 | 19.418 |
| Baja California | 520 | | 520 | 8,301 | 15.947 |
| Puebla | 714 | | 714 | 11,165 | 15.643 |

(SIAP-SAGARPA, Atlas agroalimentario, 2018)

2.1.2 Estadísticas de la producción de Brócoli

Los principales países productores de brócoli a nivel mundial son China, India, Estados Unidos, España, Italia, Francia y México. La producción de México en el año 2017 fue de 2,029,886 toneladas ocupando el 5° lugar a nivel mundial, la superficie sembrada de esta hortaliza es equivalente al territorio de Guanajuato (SIAP-SAGARPA, Atlas agroalimentario, 2017). El país comercializó con el exterior poco más de 374 mil toneladas, por las que obtuvo 408 millones de dólares (SIAP-SAGARPA, Producción nacional, 2018). La exportación de producto se destina principalmente a Estados Unidos, Canadá y Japón, también países europeos como Reino Unido, Alemania, Francia, Holanda y Bélgica conforman el mercado externo de oportunidad para la exportación (SIAP-SAGARPA, Atlas agroalimentario, 2018).

En México los principales productores que reporta el SIAP-SAGARPA del avance de siembra y cosecha de brócoli del 2018 son Guanajuato, con una producción de 200,278 ton seguido de Sonora con 23,257 t y Michoacán con 18,686 t (SIAP-SAGARPA, Avance de siembras por cultivo, 2018). En la Figura 2.3 se muestran la distribución de los principales productores de brócoli en México del año 2018 obtenidos del avance de siembra de septiembre 2018 (SIAP-SAGARPA, Atlas agroalimentario, 2018).



Figura 2.3 Principales productores de brócoli en 2018

2.1.3 Consumo de Brócoli

En las últimas décadas se ha presentado un aumento en el consumo de alimentos benéficos a la salud (SAGARPA, 2011). En el 2017 en México el consumo de brócoli per cápita fue de 1.7 kg y el precio promedio de \$5,815 por tonelada (SIAP-SAGARPA, Atlas agroalimentario, 2018).

En la poscosecha de brócoli se realiza un corte de 8 a 10 cm después de los brotes ver Figura 2.1. El brócoli es comercializado congelado a 0°C, envasado en bolsas de polietileno y empaquetado en cajas de cartón corrugado (SAGARPA, 2011). Únicamente del 10-15% del total de la planta comercializada es consumida, aunque los tallos más cercanos al florete son tiernos y comestibles. El tallo inferior está lignificado y no es aceptable para el consumo humano por ello se realiza el corte de campo (poscosecha) para su comercialización sin embargo, el consumo potencial de tallos y hojas podría incrementar productividad y sustentabilidad del cultivo de brócoli teniendo un rendimiento de 15-83% (Liu et al., 2018).

El brócoli es uno de los alimentos llamado “superfoods”, la población crece rápidamente y demanda alimentos sanos y nutritivos, el brócoli es altamente vitamínico y tiene propiedades que ayudan a combatir las células cancerígenas y retrasan el envejecimiento (SAGARPA, 2017).

En el mercado nacional esta hortaliza se puede encontrar en centrales de abasto (distribuidores mayoristas) y tiendas de auto servicio (distribuidores minoristas), en el mercado internacional se requiere de certificaciones de inocuidad para llegar a los consumidores.

2.1.4 Métodos de cocción y beneficios a la salud

Comúnmente la mayoría de los vegetales se comen una vez que se aplica algún método de cocción, pero al realizar la cocción minerales, vitaminas, glucosinolatos y algunos de sus productos son solubles en agua y son lixiviados (Vallejo, Tomás-Barberán, & Garcia-Viguera, 2002). Algunos de los métodos de cocción más empleados para consumir brócoli son hervido, al vapor y freído (Sosińska & Obiedziński, 2011).

Es bien sabido que los métodos de cocción inducen significativamente en los vegetales tanto en los cambios químicos y composición física, se han reportado negativos y positivos efectos dependiendo de las condiciones de proceso, morfología y características nutricionales del vegetal, además la pérdida de componentes durante la cocción varía de acuerdo al método usado (Soares, Carrascosa, & Raposo, 2017).

Liu et al., 2018, realizó una comparación de la concentración de fitonutrientes presente en florete, tallo y hojas y evaluó el valor de tallo y hojas como fuente de altos nutrientes esenciales, concluyeron que estos fitonutrientes de brócoli (florete, tallo, hojas) son convenientes para consumidores, productores e industrias usando sus compuestos bioactivos y la utilización de residuos de brócoli para consumo humano es favorable.

Dos Reis et al., 2015, evaluó la influencia de diferentes condiciones (hervido 100°C x 5 min, vapor 95°C x 20 min, microondas 98°C x 4 min y al vacío 90°C x 20 min) de brócoli y coliflor orgánico, concluyendo que un sistema orgánico contribuye a incrementar el contenido de componentes antioxidantes y el mejor método de cocción fue al vacío obteniendo un alto contenido de sustancias bioactivas, clorofila, carotenoides, flavonoides y vitamina A.

Yuan et al., 2009 investigaron el efecto de cinco diferentes métodos de cocción (al vapor, microondas, hervido, salteado y salteado seguido de hervido) en cabezas de brócoli (florete con parte de tallo), se evaluó la concentración de Vitamina C, proteína soluble, azúcar, carotenoides y glucosinolatos, el mejor método para cocinar cabezas de brócoli y mantuvieron la mayoría de sus nutrientes fue al vapor.

Lin & Chang., 2005 realizaron una evaluación del efecto de los métodos de cocción (hervido, pre-cocinado y hervido + pre-cocinado) en los cambios de textura del vegetal y antioxidantes conforme transcurría el tiempo. Para su estudio se utilizó florete retirando tallo y hojas. Los resultados indican como mejor método de cocción precocinado con menor efecto en su textura y todos los métodos de cocción no presentan mayores cambios en antioxidantes presentes en florete.

Bongoni et al., 2014 utilizaron floretes de un diámetro de 4-4 cm y tallos de 1.5 cm de largo, utilizando 3 métodos de cocción al vapor, hervido con agua fría al inicio y hervido con agua hervida al inicio, evaluaron el efecto del método de cocción en la retención de glucosinolatos y se analizó su textura y color.

Porter, 2012 investigo el efecto al cocinar (hervido y microondas) en antioxidantes presente en brócoli verde y morado utilizando florete y seis centímetros de tallo. Los resultados mostraron que el cocimiento causa alteraciones dramáticas en las propiedades de los antioxidantes en brócoli.

Martínez-Hernández et al., 2013 trabajaron con bimi (brócoli bebé), se evaluó durante 45 días con diferentes tratamientos térmicos (hervido, baja presión, alta presión, vacío estéril, microondas, vacío estéril – microondas, parrilla) antioxidantes, fenoles y sensorialmente. Se realizó análisis microbiológico y calidad física. Los tratamientos que retienen mayormente clorofila, fenoles y antioxidantes fueron microondas, vacío estéril - microondas y baja presión. En la Tabla 2.3 se presenta métodos de cocción, estudios realizados en diferentes partes de brócoli con su respectiva fuente

Tabla 2.3 Estudios realizados en Brócoli

| Parte del brócoli | Método de cocción | Estudio | Fuentes (Referencias) |
|---|---|--|---------------------------------|
| Hojas, tallo y florete | Tejido crudo | Concentración de fitonutrientes | Liu et al., 2018 |
| Florete | Hervido 100°C x 5 min Vapor 95°C x 20 min Microondas 98°C x 4 min Al vacío 90°C x 20 min | Evaluó la influencia de diferentes condiciones en sustancias bioactivas presentes en brócoli y coliflor orgánico | Dos Reis et al., 2015 |
| Florete con parte de tallo | Al vapor Microondas Hervido Salteado Salteado seguido de hervido | El efecto de diferentes métodos de cocción en cabeza de brócoli | Yuan et al., 2009 |
| Florete | Hervido Pre-cocinado Hervido + pre-cocinado | evaluación del efecto de los métodos de cocción en los cambios de textura del vegetal y antioxidantes | Lin & Chang., 2005 |
| Floretes de un diámetro de 4-4 cm y tallos de 1.5 cm de largo | Vapor Hervido con agua fría al inicio Hervido con agua hervida al inicio, | Evaluaron el efecto del método de cocción en la retención de glucosinolatos y se analizó su textura y color | Bongoni et al., 2014 |
| Florete y seis centímetros de tallo | Hervido Microondas | Efecto al cocinar en antioxidantes presente en brócoli verde y morado | Porter, 2012 |
| Bimi (brócoli bébe) | Hervido Baja presión Alta presión Vacío estéril Microondas, Vacío estéril seguido de microondas Parrilla | Se evaluó durante 45 días con diferentes tratamientos térmicos antioxidantes, fenoles y sensorialmente. | Martínez-Hernández et al., 2013 |

El brócoli es una hortaliza con componentes funcionales y se ha comprobado que una dieta rica en vegetales crucíferos como el brócoli pueden reducir el riesgo de padecer cáncer con tan solo consumir 10 g por día (Vallejo et al., 2002). Además algunos de sus beneficios que se le atribuyen es prevenir el cáncer, algunas enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes e hipertensión, su contribución a la salud es debida a la presencia de compuestos fenólicos, carotenoides, flavonoides, vitaminas, minerales y su capacidad antioxidante (Dos Reis et al., 2015).

2.2 Composición Bioquímica

El brócoli es una planta de la familia *Cruciferae* ó *Brassicaceae* y género *Brassica*, tiene un alto contenido de agua 89.30%, bajo en grasa 0.37%, proteína 2,82%, fibra dietaria 2.60% y 6.64% de carbohidratos, minerales esenciales tal como sodio, potasio, calcio, y fósforo, también es rico en vitamina C, vitamina A y ácido fólico, además es una fuente natural de antioxidantes y compuestos quimiopreventivos como glucosinolatos e isotiocianatos, que son benéficos para la salud (Olga N. Campas-Baypoli et al., 2009).

El contenido de la composición bioquímica de las hojas y tallos tratados en secador rotatorio a 400°C reportadas por Hu et al., 2011 son 9.6% de humedad, 7.11% de cenizas, 13.26% de fibra cruda, 4.2% de grasa y 25% de proteína cruda. Olga N. Campas-Baypoli et al., 2009 reportan harina de tallo de brócoli con 8.76% de proteína, 6.58% de grasa, 75.42% de carbohidratos y 15.74% de fibra dietaria. Algunos minerales esenciales donde se muestra el porcentaje en peso seco (DW) presentes en 100g de tallo de brócoli que se muestran en la Tabla 2.4 reportados por (Liu et al., 2018).

Tabla 2.4 Porcentaje elemental de minerales esenciales en tallo de brócoli

| Mineral esencial | Porcentaje |
|------------------|------------|
| Ca | 5.3% |
| Mg | 4.3% |
| P | 7.7% |
| Na | 0.5% |
| K | 3.9% |

Porcentaje basado en 100g de tallo de brócoli en peso seco (DW) Fuente:(Liu et al., 2018)

2.2.1 Antioxidantes presentes en brócoli

Los componentes antioxidantes están asociados con la reducción de enfermedades crónicas por la protección celular de radicales libres (Soares et al., 2017), por ello se recomienda consumir frutas y vegetales ricos en antioxidantes. Los vegetales contienen abundantes antioxidantes nutricionales, vitamina C, vitamina E y β -carotenos, pero también una gran cantidad de antioxidantes no nutricionales como flavonoides, flavona y otros compuestos polifenólicos (Lin & Chang, 2005). Todos proporcionan protección en contra de los radicales libres.

Los radicales libres se liberan durante el metabolismo humano y también se producen por contaminantes ambientales, radiaciones, uso de tóxicos como el alcohol, tabaco y drogas, alimentación no adecuada, exposición a pesticidas o fertilizantes. En la Figura 2.4 se muestra la interacción entre un radical libre y un antioxidante.

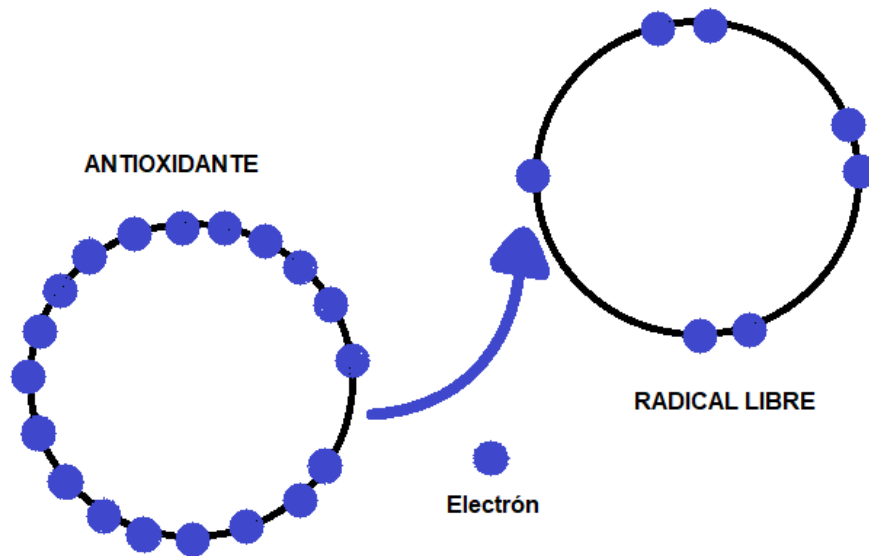


Figura 2.4 Neutralización de un radical libre por un Antioxidante
(Jaramillo & Valdivia, 2016)

Los radicales libres son reconocidos como el principal factor de varias enfermedades como cáncer, desórdenes cardiovasculares y diabetes (Lin & Chang, 2005). Aproximadamente del 30-40% de cáncer está asociado directamente con una mala alimentación. El principal factor de estas enfermedades es el estrés oxidativo (Soares et al., 2017). El estrés oxidativo conduce a un aumento de especies reactivas de oxígeno (ERO) en la Tabla 2.5 se muestran las especies reactivas de oxígeno (ERO). Las ERO se producen normalmente en el organismo como productos del metabolismo celular, mediante procesos regulados por enzimas antioxidantes (Jaramillo & Valdivia, 2016).

Tabla 2.5 Especies reactivas de oxígeno (ERO)

| Formula molecular | Compuesto |
|-------------------------------|-----------------------|
| O ₂ | Superóxido |
| ROO° | Peroxilo |
| RO° | Alcoxilo |
| °OH | Hidroxilo |
| NO° | Óxido nítrico |
| NO ₂ ° | Dióxido de nitrógeno |
| ONOO° | Peroxinitrico |
| HOCl | Ácido hipocloroso |
| H ₂ O ₂ | Peroxido de hidrogeno |

(Jaramillo & Valdivia, 2016)

El sistema biológico está constantemente expuesto a ERO exógenamente y endógenamente, la acumulación de ERO puede dirigir a enfermedades perjudiciales, ataque al ADN, proteínas y lípidos, los cuales son centro de patogénesis de enfermedades crónicas en la Figura 2.5 se muestra el daño a la célula ocasionado por radicales libres. El estrés oxidativo es inducido por diferentes factores incluyendo radiación UV, reacción metal-catalizado, inflamación y reacción de transporte de electrones en la mitocondria (Porter, 2012).

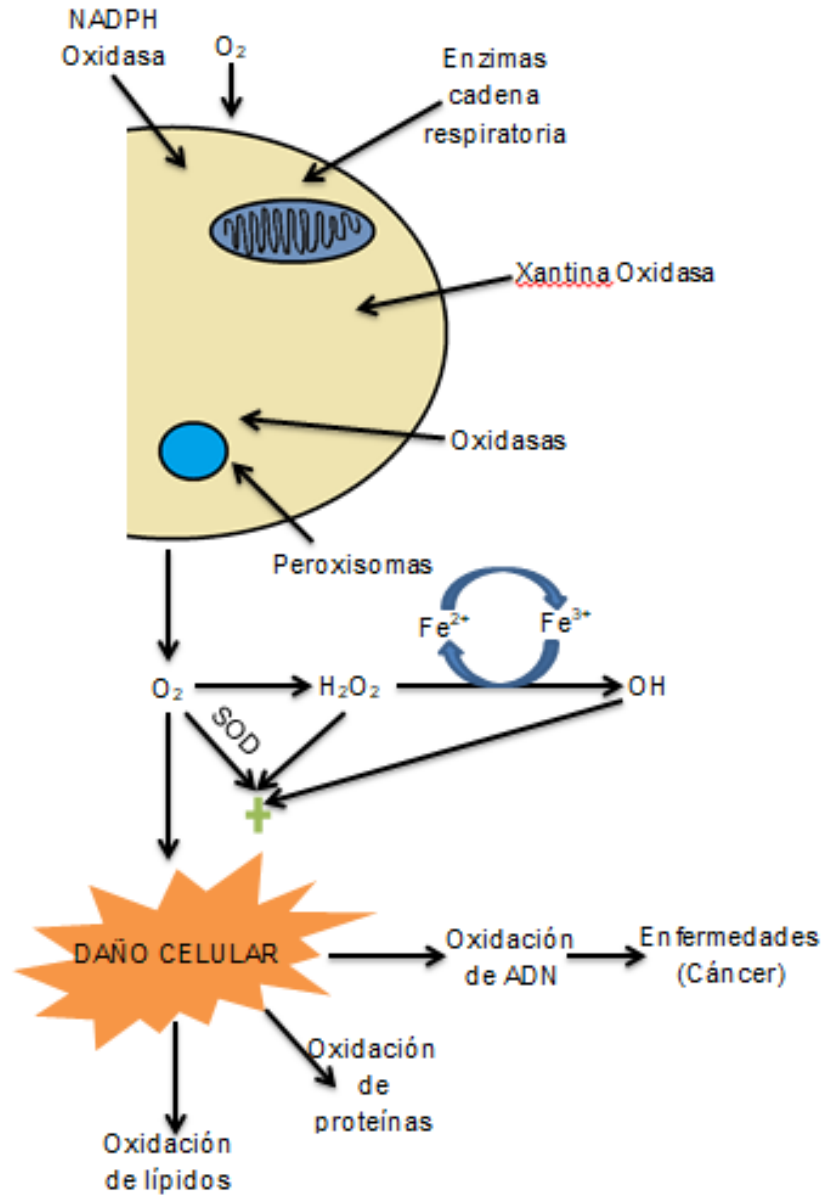


Figura 2.5 Daño celular por radicales libres
(Gomez, 2001)

El brócoli es rico en polifenoles un grupo largo de fotoquímicos que son considerados los antioxidantes más abundantes en la dieta (Porter, 2012). El brócoli contiene en especial ácidos fenólicos, también contiene β -caroteno y vitamina A (Dos Reis et al., 2015). Dentro de los compuestos fenólicos se encuentran los flavonoides que dan lugar a sus derivados quercetin y kaempferol (Vallejo, Tomás-Barberán, & García-Viguera, 2003)

La vitamina C es uno de los nutrientes más importantes en el brócoli y tiene función biológica principal en el cuerpo humano. La concentración de ácido ascórbico es la forma predominante de la vitamina C importante para la degradación de glucosinolatos (Yuan et al., 2009), es buen antioxidante y quelante de hidroxilos, superóxido, algunos metales y puede reducir al radical tocoferilo en α -Tocoferol que actúan sobre peróxidos lipídicos como se observa en la Figura 2.6.

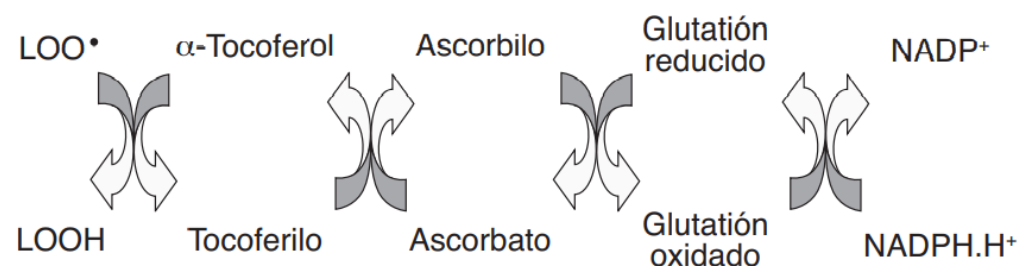


Figura 2.6 Acción de α -Tocoferol en presencia de ascorbato y glutatión reducido
LOO•: Radical peróxido; LOOH: Lipoperóxido; NADP+: Nicotin adenin dinucleótido fosfato (forma oxidada); NADPH.H+: (Forma reducida). (Jaramillo & Valdivia, 2016)

2.2.1.1 Evaluación de la actividad antioxidante

Diversos compuestos cromógenos (ABTS, DPPH, DMPD, DMPO y FRAP) son utilizados para determinar la capacidad antioxidante. Los métodos más aplicados son ABTS y DPPH. Ambos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, solo puede disolverse en medio orgánico y presenta un pico máximo de absorbancia a 515nm (Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini-Filho, & Fett, 2005).

El método DPPH utiliza el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo. Este radical libre es susceptible de reaccionar con compuestos antioxidantes a través de un proceso caracterizado por la cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante. Los estudios cinéticos muestran que este proceso ocurre a través de una reacción de pseudo primer orden la que puede seguirse midiendo la disminución de la absorbancia en función del tiempo (Guija-Piema, Inocente-Camones, Ponce-Pardo & Zarzosa-Norabuena, 2015). Este método, desarrollado por Brand-Willams, con modificaciones el método descrito por Kim, se basa en la

medida de la absorbancia del radical DPPH 100µM disuelto en metanol al 80%, a la longitud de onda de 517nm. Las medidas de absorbancia a 517nm se realizan al blanco obteniendo una absorbancia inicial (A0) y a la muestra de interés pasados los 30 y 60 minutos obteniendo absorbancia final (Af) de cada tiempo respectivamente. La concentración de DPPH en el medio de reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresan en TEAC, o sea, actividad equivalente a Trolox (µM/g de muestra peso fresco) (Kuskoski et al., 2005). A continuación se muestra el mecanismo de reacción DPPH con el compuesto antioxidante.

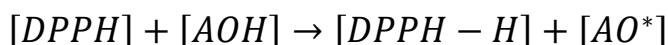


Figura 2.7 Reacción Global DPPH

2.2.2 Glucosinolatos

Los vegetales del género *Brassica* están clasificados como alimentos funcionales debido a sus metabolitos secundarios presentes y los productos de la degradación enzimática de glucosinolatos están asociados a los beneficios a la salud en especial a reducir el riesgo de padecer cáncer (Sarvan, Verkerk, Van Boekel, & Dekker, 2014). Los glucosinolatos son un largo grupo de componentes que contienen sulfuro, su estructura comúnmente comprende un grupo β-D-tioglucosa, resto de oxima sulfonada, cadena lateral variable derivada de metionina, triptófano o fenilalanina y algunos aminoácidos de cadena ramificada (Kapusta-Duch et al., 2016), como se muestra a continuación en la figura 2.5.

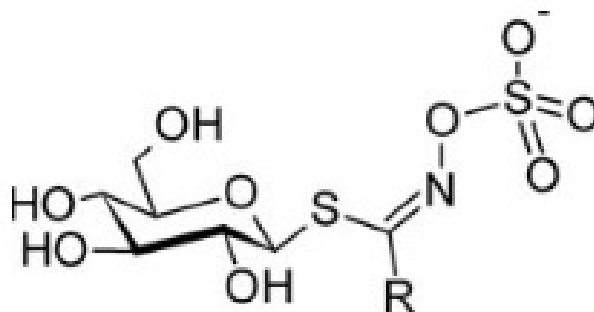


Figura 2.8 Estructura química de glucosinolatos
(Soares et, al., 2017)

Glucosinolatos son los principales componentes activos que son reconocidos por su actividad anticancerígena (Bongoni et al., 2014). En la actualidad se han identificado más de 200 glucosinolatos que ocurren en altos niveles naturalmente, el contenido de glucosinolatos depende de algunos factores como la variación de la planta, condiciones de crecimiento, clima, la distribución específica del tejido (semillas, tallos, hojas, raíces), condiciones de almacenamiento y tratamiento culinario (Kapusta-Duch et al., 2016). Altos niveles de glucosinolatos son encontrados en hojas jóvenes y tejido reproductivo mientras el contenido declina en hojas maduras, además el distintivo sabor de brócoli se ha demostrado que es resultado del contenido de glucosinolatos (Soares et al., 2017).

Los glucosinolatos identificados en brócoli son gluconapina, glucobrassicinapina, progoitrina, glucoiberina, glucorafanin, glucoalisina, gluconasturtina, glucobrassicina y neoglucobrassicina (Vallejo et al., 2002). En la Tabla 2.6 se muestra los glusinolatos presentes en brócoli por tipo y estructura.

Tabla 2.6 Glucosinolatos presentes en brócoli

| Tipo | Nombre común | Estructura |
|----------------------------|---------------------|------------------------------|
| Alqueno | Gluconapina | 3-Butenilo-dsg |
| | Glucobrassicinapina | 4-Pentenilo-dsg |
| Hidroxi alquenos | Progoitrina | 2-Hidroxi-3-butenilo-dsg |
| Alquenos de metilsulfinilo | Glucoiberina | 3-Metilsulfonyl propilo-dsg |
| | Glucorafanin | 4-Metilsulfonyl butilo-dsg |
| | Glucoalisina | 5-Metilsulfonyl pentilo-dsg |
| Bencilo | Gluconasturtina | 2-Peniletilo-dsg |
| Indolilo | Glucobrassicina | 3-Indol metilo-dsg |
| | Neoglucobrassicina | 1-Metoxi-3-indol metilo-dsg |
| | | 4-Metoxi-3-indol metilo-dsg |
| | | 4-Hidroxi-3-indol metilo-dsg |

(Vallejo et al., 2002)

2.2.2.1 Biosíntesis y degradación de glucosinolatos

La biosíntesis y degradación de glucosinolatos se da en tres fases: conversión de un aminoácido en su aldoxima y elongación de cadena lateral, formación de la estructura nuclear de glucosinolatos y decoración de cadena lateral (Soares et al., 2017). Los glucosinolatos no son biológicamente activos solo sus derivados lo son (Kapusta-Duch et al., 2016).

La degradación de glucosinolatos toma lugar con la ruptura celular y es hidrolizada por la enzima mirosinasa (β -tioglucosidasa) E.C 3.2.1.147 o son hidrolizados en la microbiota intestinal en humanos dando como productos intermedios inestables. Dependiendo de las condiciones de reacción se producen productos diferentes (Sarvan et al., 2014) ver Figura 2.9. Algunas de estas condiciones depende de la estructura química de glucosinolatos tal como alifáticos, aromáticos, indol glucosinolatos, factores presentes en los vegetales tales como proteínas epitioespecificadoras (ESP), ácido ascórbico o Fe^{+2} y condiciones ambientales como pH (Kapusta-Duch et al., 2016) dando lugar a nitrilos, tiocianatos, epitionitrilos, axazolidinas o isotiocianatos (Sarvan et al., 2014).

En la transformación de productos de glucosinolatos Glucorafanina y Glucobrasicina son los más deseables. Glucobrasicina es el precursor del compuesto indol-3-carbinol, responsable de la inducción de la fase I y II detoxificación enzimática, inhibición ADN aducto, proliferación celular, detención del ciclo celular, inhibición del crecimiento invasivo y angiogénesis, inducción de apoptosis y actividad anticancerígena (Kapusta-Duch et al., 2016). El compuesto 3-3'-diindolilmetano derivado de indol-3-carbinol muestra similar actividad además de reparar ADN. Glucorafanina es el precursor de 1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)-butano (Sulforafano) en la Figura 2.10 se muestra la estructura de glucorafanina y sulforafano, la cantidad depende de las enzimas de unión a la mirosinasa y otros factores (Liu et al., 2018), la presencia de proteínas epitioespecificadoras (ESP) en algunas variedades de brócoli incrementa la conversión de glucosinolatos a nitrilos, sin embargo estos compuestos no son biológicamente activos. Las condiciones que beneficia la formación de sulforafano en *Brassica oleracea* son pH entre 5 y 6 y una temperatura entre 14°C y 25°C (Vanduchova, Anzenbacher, & Anzenbacherova, 2019).

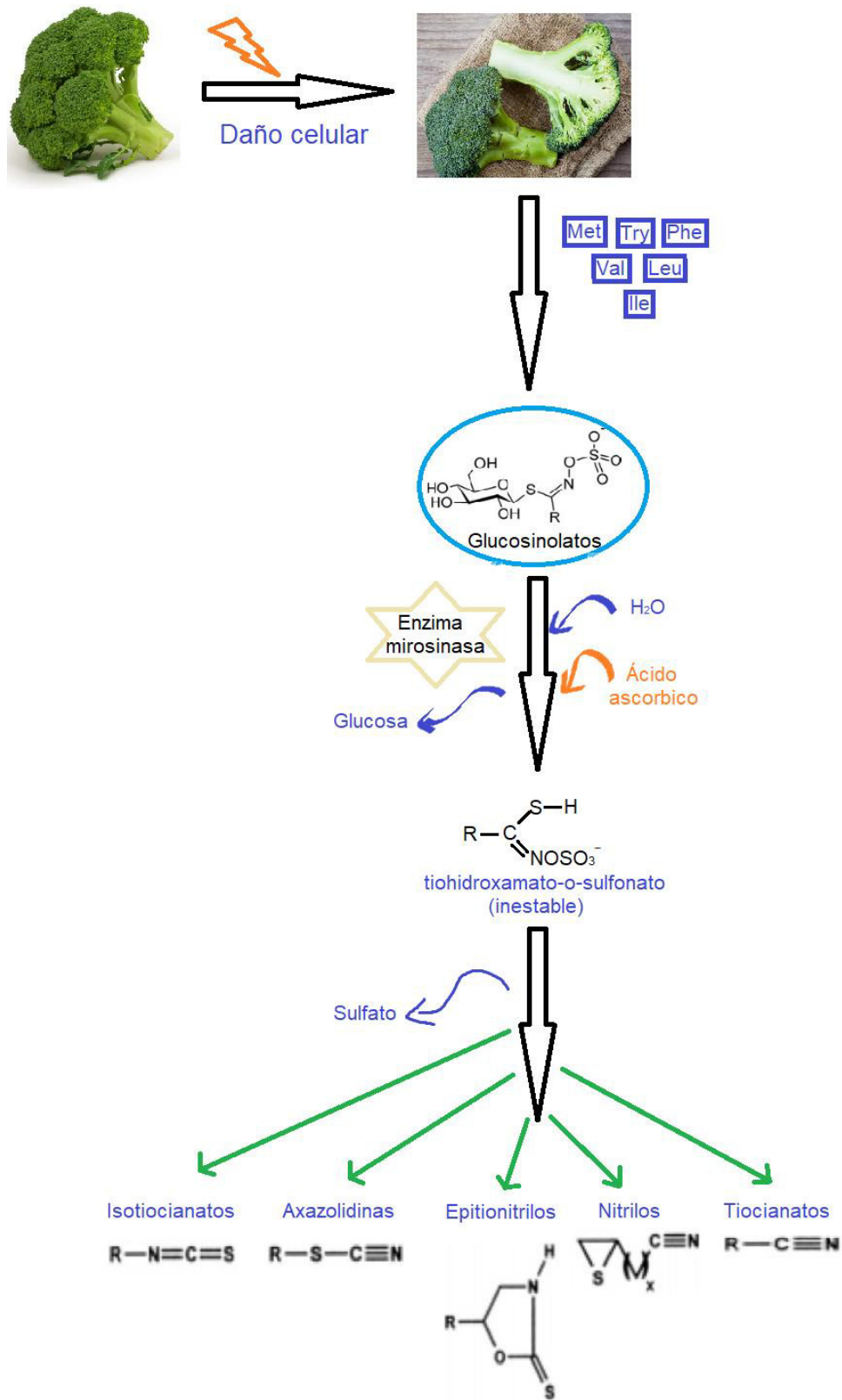


Figura 2.9 Biosíntesis y degradación de Glucosinolatos
(Soares et al., 2017)(Latté, Appel, & Lampen, 2011)

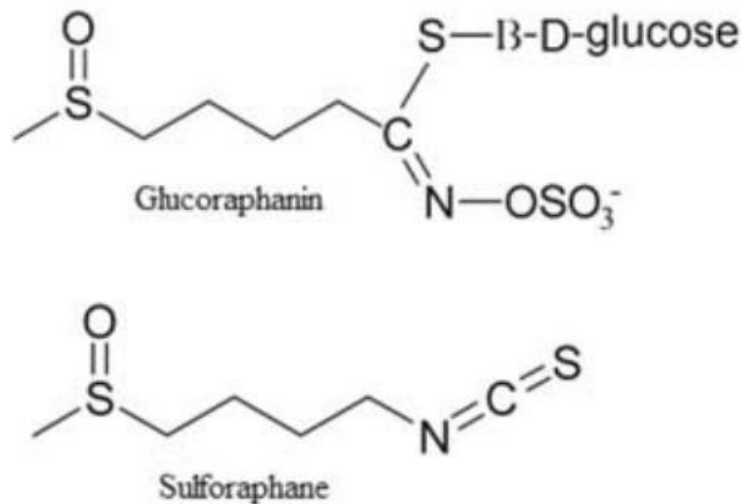


Figura 2.10 Estructura química de glucorafanina y sulforafano

(O. N. Campas-Baypoli, Sánchez-Machado, Bueno-Solano, Ramírez-Wong, & López-Cervantes, 2010)

2.2.2.2 Sulforafano y sus beneficios

Sulforafano es un isotiocianato natural que contiene azufre, que es relativamente único en crucíferos. Este compuesto atrajo mucho la atención desde que se encontró que es el potente inductor natural de la desintoxicación de posibles sustancias cancerígenas (O. N. Campas-Baypoli et al., 2010), por lo que ha sido ampliamente estudiado debido a su usualmente alto potencial para inducir enzimas de desintoxicación fase II y para inhibir enzimas fase I que activan carcinógenos (Yilmaz & Bagci, 2018) Es un fotoquímico en la dieta de baja toxicidad con muchos nutracéuticos dietéticos y su administración a humanos es tolerada.

Algunos estudios han mostrado mejoramiento en la salud en pacientes con neuroinflamación y autismo, también ha sido identificado como quimiopreventivo previniendo cáncer pancreático, cáncer de colon, leucemia y cáncer de próstata (Vanduchova et al., 2019). Sulforafano tiene actividad des inflamatoria y actividad antimicrobiana (Kapusta-Duch et al., 2016). La influencia de sulforafano mejora los síntomas de osteoporosis y puede prevenir la destrucción del cartílago en las células (Vanduchova et al., 2019).

3 METODOLOGÍA

3.1 Materiales y reactivos

3.1.1 Materiales

3.1.1.1 Equipo y utensilios

- Pinzas
- Desecador
- Balanza analítica
- Estufa
- Guantes de asbesto
- Mufla
- Digestor Kjendahl
- Destilador Kjeldahl
- Bomba de circulación de agua
- Destilador
- Cartucho de celulosa
- Manguera
- Bomba de refrigeración
- Plancha de calentamiento
- Botellas de agua congeladas

- Asbesto preparado
- Papel satinado para fibra cruda o lino de 40 hilos por 2.5 cm
- Papel filtro de ceniza conocidas
- Gasa
- Centrifuga
- Espectrómetro
- Vortex
- Guantes
- Micropipetas

3.1.1.2 Cristalería

- Crisoles
- Bureta
- Matraces Erlenmeyer 250 ml
- Tubos Kjendahl
- Matraz volumétrico aforado 1000 ml
- Pipeta 10 ml
- Frasco de cristal oscuro con tapón rosca
- Perlas de cristal
- Soxhlet
- Crisoles de porcelana
- Embudo Buckner con matraz tipo Kitasano
- Vaso de precipitado 250 ml
- Celdas

- Matraz volumétrico aforado 15 ml
- Tubos eppendorf 10ml

3.1.2 Reactivos

- Agua destilada
- Ácido bórico 3%
- Ácido sulfúrico concentrado
- Ácido clorhídrico 0.1 N
- Hidróxido de sodio al 40%
- Pastillas catalíticas
- Municiones de zinc
- Indicador mixto (rojo de metilo + azul de metileno)
- Hexano
- Ácido sulfúrico 0.255 N
- Hidróxido de sodio 0.313 N
- Metanol grado HPLC
- Extracto de muestra
- Trolox
- Reactivo de Folin-Ciocalteu
- Carbonato de Sodio (Na_2CO_3)
- Ácido gálico

3.2 Análisis proximal

La humedad de las muestras fue determinada por el método gravimétrico secado en estufa a 105°C (NMX-F-083, 1986), llevándolas a peso seco (DW). El contenido de cenizas fue determinado a 550°C por 4 horas (Dirección General de Normas Mexicanas, 1978). La evaluación del contenido total de lípidos fue extraído con el método Soxhlet (Programa & Alimentos, 1983). La determinación de fibra cruda se determinó con ácido sulfúrico 0.255N e hidróxido de sodio 0.313N (Programa & Alimentos, 1978), con muestra DW y desgrasada. El contenido de nitrógeno se llevó a cabo con el método colorimétrico micro kjendahl y el contenido de proteína fue determinado con el factor 6.25 (NMX-F-068-, 1980).

3.3 Preparación de muestras

El brócoli se obtuvo de comercios de verdura local los cuales fueron empleados para obtener 1000g de tallo de brócoli aproximadamente, se lavó con agua y jabón para su uso.

3.3.1 Tamaño de partícula

Para los análisis se usó tallo de brócoli triturado, se utilizó un procesador de alimentos marca nutribullet y en forma de cubos (1x1cm aproximadamente) que fueron cortados manualmente.

3.3.2 Métodos de cocción

Los métodos empleados fueron hervido a 100°C con una relación sólido-líquido 1:1 y freído a 90°C controlando la temperatura, se pesaron 10g y cocinaron, posteriormente se realizó un choque térmico 4°C durante 5 min. Las temperaturas empleadas se tomaron en base a la temperatura necesaria para eliminar microorganismos presentes en el alimento y sea inocuo para su consumo. Además, el cocer los alimentos ayuda a una mejor digestión de los nutrientes.

3.3.3 Extracción de muestras para fenoles y antioxidantes

La extracción es realizada enseguida del choque térmico, evitando pasar demasiado tiempo y que la muestra este expuesta a la luz el menor tiempo. Se siguió la metodología de Porter, 2012 con algunas modificaciones. Se pesó 1 g (Peso seco) de tejido cocinado, homogeneizado con 20 ml de metanol 80% en centrifuga a 8000 rpm por 20 min, posteriormente se filtró el homogeneizado con cuatro capas de gasa, el residuo se vuelve a homogeneizar con 15 ml de metanol 80% y se centrifugó por 20 min, filtrar nuevamente y repetir una vez más. Centrifugar el filtrado a 8000 rpm por 10 min y recolectar el sobrenadante. El sobrenadante obtenido se utiliza el mismo día para realizar lectura por triplicado.

3.4 Determinación total de contenido fenólico

Se elaboró una curva estándar de ácido gálico de 100 ppm como se muestra en la tabla 3.1.

Tabla 3.1 Concentraciones para la curva estándar de ácido gálico

| Concentración (ppm) | Stock (mL) | CH ₃ OH 80% (mL) |
|------------------------|---------------|--------------------------------|
| 10 | 2.5 | 22.5 |
| 20 | 5 | 20 |
| 40 | 10 | 15 |
| 60 | 15 | 10 |
| 80 | 20 | 5 |
| 100 | 25 | 0 |

El contenido fenólico se determinó con el método de Folin-ciocalteu reportado por Porter, 2012 con algunas modificaciones.

El extracto o stock (0.5mL) fue mezclado con 0.5mL de Folin-ciocalteu 1N. Después de 3 min en obscuridad se añadió 0.5mL de Na₂CO₃ 10% (p/v) nuevamente fue mezclado, almacenado en obscuridad por 60 min y leído a una absorbancia de 725 nm. Se usó como blanco metanol 80% (v/v).

Los datos (absorbancias) se ingresan a una hoja de Excel, con la ecuación lineal obtenida de la curva patrón de ácido gálico, se realizan los cálculos para obtener el contenido fenólico. Los resultados son expresados en µg de ácido gálico equivalentes / 0.5mL de extracto (GAE).

3.5 Cuantificación de antioxidantes

Se elaboró una curva estándar de Trolox de 1000µM como se muestra a continuación en la tabla 3.2

Tabla 3.2 Curva estándar de Trolox

| Concentración (µM) | Stock (µl) | MeOH 80% (µl) |
|-----------------------|---------------|------------------|
| 10 | 15 | 1500 |
| 30 | 45 | 1485 |
| 50 | 75 | 1455 |
| 100 | 150 | 1425 |
| 250 | 375 | 1350 |
| 500 | 750 | 1125 |
| 1000 | 1500 | 750 |

La actividad antioxidante se determina con el método DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl) 150 μ M a una longitud de onda de 517nm (Rodríguez, Andrade, & Diaz, 2015). El DPPH 150 μ M con metanol se mezcla durante 30 min en oscuridad obteniendo absorbancias de 1 ± 0.1 .

El extracto o stock (0.1mL) se mezcla con DPPH 150 μ M preparado con metanol al 80%, almacenado en oscuridad por 30 min y leído a una absorbancia de 517nm. Se usa como blanco metanol al 80%.

Los datos (absorbancias) son ingresados a una hoja de Excel y utilizando la ecuación lineal obtenida de la curva de porcentaje de inhibición DPPH se calcula la actividad antioxidante (% inhibición), el grafico de la curva estándar de DPPH y la curva de porcentaje de inhibición DPPH.

3.6 Diseño experimental

Se realizó el análisis de resultados del total de contenido fenólico y el porcentaje de inhibición de la actividad antioxidante presente en el tallo de brócoli, utilizando un diseño factorial 2^3 . En la Figura 3.1 se muestra la estructura del diseño.

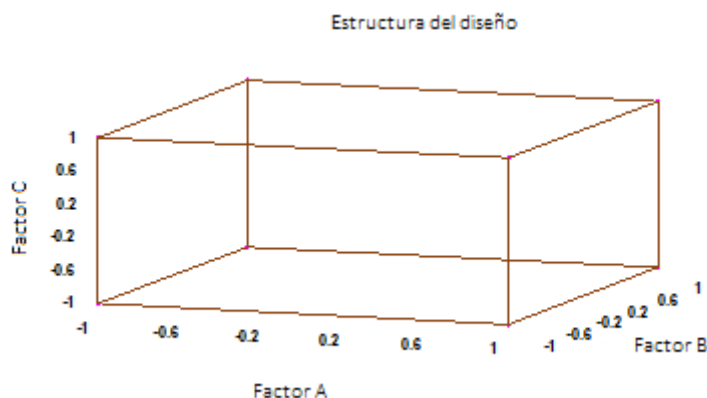


Figura 3.1 Estructura del diseño

Este modelo experimental estudia tres factores con dos niveles cada uno, en la Tabla 3.3 se muestra el diseño factorial 2^3 con los datos correspondientes al experimento de este trabajo, cada ejecución tiene un triplicado.

Tabla 3.3 Diseño factorial 2^3

| Ejecución | Factor A | Factor B | Factor C |
|------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
| N | Tiempo de cocción | Tamaño de partícula | Método de cocción |
| 1 | 20 min | Triturado | Freído |
| 2 | 20 min | Cubos | Hervido |
| 3 | 5 min | Cubos | Freído |
| 4 | 5 min | Triturado | Hervido |
| 5 | 5 min | Cubos | Hervido |
| 6 | 20 min | Triturado | Hervido |
| 7 | 20 min | Cubos | Freído |
| 8 | 5 min | Triturado | Freído |
| 9 | 20 min | Triturado | Freído |
| 10 | 20 min | Cubos | Hervido |
| 11 | 5 min | Cubos | Freído |
| 12 | 5 min | Triturado | Hervido |
| 13 | 5 min | Cubos | Hervido |
| 14 | 20 min | Triturado | Hervido |
| 15 | 20 min | Cubos | Freído |
| 16 | 5 min | Triturado | Freído |

(Elaborado en Statgraphics)

3.7 Análisis estadístico

Se realiza un análisis estadístico en el programa SAS, se obtiene un análisis de varianza (ANOVA) con una $P \leq 0.05$, para determinar el factor más importante, las interacciones de los factores y concluir cual es el mejor tratamiento que mantiene la concentración de compuestos fenólicos y antioxidantes.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis proximal

La composición química de las hortalizas depende del tipo y la procedencia (Púa-Rosado, Barreto, & De La Hoz, 2017) la Tabla 4.1 muestra los resultados del análisis proximal del tallo de brócoli comparados con los resultados obtenidos por Hu et al., (2011) y Campas-Baypoli., (2009). Es importante aclarar que los resultados obtenidos por Hu et al., (2011) son de tallo y hojas secadas en secador rotatorio a 400°C, los obtenidos por Campas-Baypoli., (2009) son de harina de tallo secada al vacío a 60 °C, siendo los resultados que utilizan tallo de brócoli. Otro aspecto importante a tener es que la variación del contenido de nutrientes puede deberse a la variedad de brócoli y parte utilizada (brotes, tallo, hojas).

Con relación a la humedad es notablemente alta debido a que se encuentra el porcentaje en base húmeda, siendo razonable ya que las hortalizas tienen mucho contenido de agua, el porcentaje en base seca de la humedad sería 8.9 un valor que se encuentra entre los dos valores con los que se realiza la comparación, pero otros estudios realizados reportan el porcentaje en base húmeda mayor a 89% dato reportado por Moreiraas Tuni et al., (2015) donde se utilizó brócoli entero y Campas Baypoli y col., (2009) realizaron una curva de secado donde se observó la pérdida de hasta un 96%, teniendo como humedad inicial el tallo de brócoli de 90%.

La fibra cruda es elevada que la reportada por los otros trabajos, lo cual nos indica que el tallo de brócoli contiene mayor fibra cruda antes de cualquier transformación aplicada y parte utilizada, en cada trabajo es notable el contenido de fibra cruda.

Tabla 4.1 Composición bioquímica del tallo de brócoli

| Componente | % BH Trabajo | % BS Trabajo | % BS (Hu et al., 2011) | % BS (Campas-Baypoli et al., 2009) |
|----------------|--------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------------------|
| Humedad | 89.46 | 8.9 | 9.6 | 3.9 |
| Ceniza | 1.20 | 1.22±0.03 | 7.11 | 9.24 |
| Grasa Cruda | 0.42 | 0.43±0.04 | 4.24 | 6.58 |
| Proteína cruda | 14.67 | 17.20±0.92 | 25 | 8.76 |
| Fibra Cruda | 17.59 | 21.35±0.26 | 13.26 | 15.74 |
| Carbohidratos | 83.71 ^a | 81.15 ^a | - | 75.42 ^a |

^aCarbohidratos=100-(proteína+grasa+ceniza) BH=Base húmeda BS=Base seca

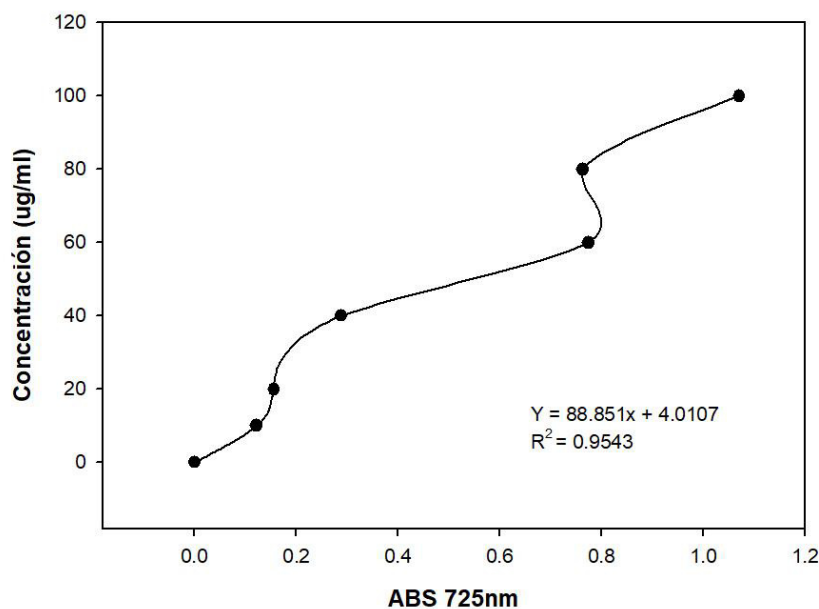
Se puede observar en general que el tallo de brócoli cuenta con un elevado contenido de proteína, fibra y carbohidratos, en cada uno de los trabajos independientemente del pre tratamiento y transformaciones de cada uno. Las variaciones son debido a los métodos empleados para su determinación y la parte utilizada del brócoli.

El valor de grasa cruda es menor en comparación a los otros autores, esta diferencia nuevamente se le atribuye a la transformación del tallo de brócoli Campas-Baypoli et al., (2009) determinaron sus resultados como harina, pero una investigación con relación a la composición nutricional de diferentes tallos realizada por Púa-Rosado et al., (2017) muestran un valor de 0.3 % de lípidos presente en tallo de brócoli, ligeramente menor a la reportada en este trabajo. El valor de ceniza también es menor ya que cambia de acuerdo al tipo de alimento, presenta menor contenido mineral, pero el valor es igual al investigado por Púa-Rosado et al., (2017).

4.2 Determinación total de contenido fenólico en tallo de brócoli

Se determinó una curva tipo patrón de ácido gálico (100 ppm) que va desde 2.5 ml a 25 ml como se muestra en la Tabla 3.1 del capítulo 3 apartado 3.4. Se obtuvieron las absorbancias a una longitud de onda de 725nm, se graficó en Excel (Figura 4.1) y obtuvo la línea de tendencia (Ecuación 4.1) con un coeficiente de determinación de 95.43%.

Figura 4.1 Curva estándar de ácido gálico
Curva de ácido gálico



$$Y = 88.851x + 4.0107$$

Ecuación 4.1

El total de contenido fenólico es calculado utilizando la Ecuación 4.1 para cada tratamiento.

Dónde:

Y= Es el contenido fenólico y expresado en μg de ácido gálico equivalentes / 0.5mL de extracto (GAE).

x= La absorbancia a una longitud de onda de 725nm del tratamiento.

Se realizan los experimentos de acuerdo al número combinaciones posibles. Se obtiene la tabla 4.2 donde se muestra los resultados del total de contenido en ug ác. Galico/0.5ml de extracto presente en tallo de brócoli empleando la ecuación 4.2.

En la tabla podemos observar las diferentes combinaciones posibles y las concentraciones por triplicado de cada combinación.

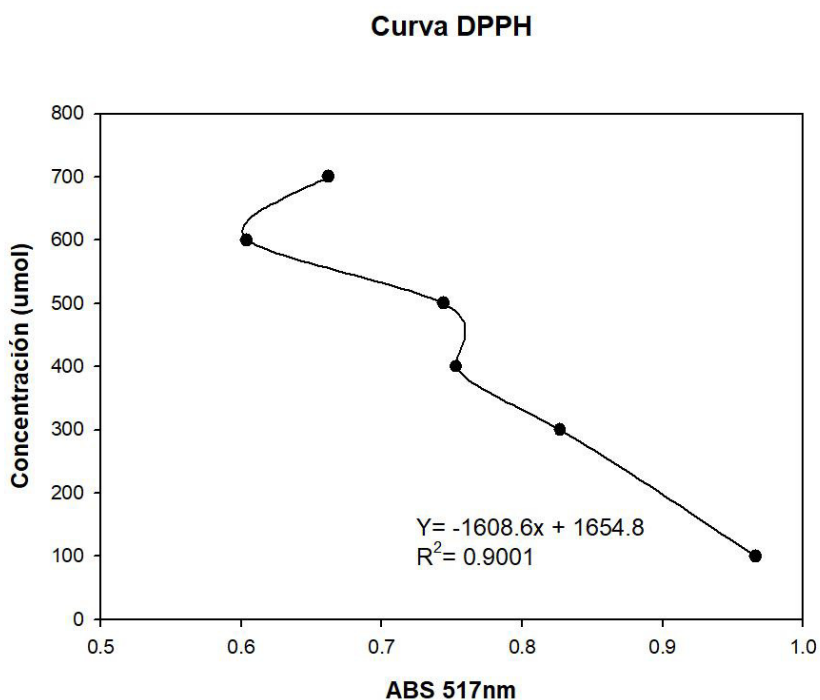
Tabla 4.2 Total de contenido fenólico en tallo de brócoli

| Orden de corrida | Combinaciones | Concentración (ug ác. Galico/0.5ml de extracto) | | |
|-------------------------|----------------------|--|-------|-------|
| 1 | CH20 | 21.33 | 22.49 | 16.00 |
| 2 | TH20 | 29.42 | 27.55 | 27.46 |
| 3 | TF5 | 46.48 | 48.79 | 36.44 |
| 4 | CH5 | 20.44 | 39.10 | 38.66 |
| 5 | TF5 | 25.51 | 33.86 | 41.86 |
| 6 | CH5 | 51.99 | 27.28 | 13.42 |
| 7 | CH20 | 39.37 | 8.89 | 26.84 |
| 8 | TF20 | 35.37 | 25.77 | 32.79 |
| 9 | TH5 | 28.88 | 23.11 | 22.49 |
| 10 | TH20 | 30.22 | 33.24 | 27.20 |
| 11 | CF5 | 44.08 | 14.31 | 59.98 |
| 12 | CF20 | 20.35 | 22.22 | 13.87 |
| 13 | CF20 | 25.69 | 15.02 | 24.44 |
| 14 | TF20 | 29.06 | 27.11 | 42.03 |
| 15 | CF5 | 32.79 | 42.48 | 47.72 |
| 16 | TH5 | 27.11 | 28.97 | 34.30 |

4.3 Cuantificación de antioxidantes en tallo de brócoli

Se elabora una curva estándar de Trolox de 1000µM que va de 10-1000 µM como ver tabla 3.2 del apartado 3.5. Las lecturas se realizan con una absorbancia de 517nm, se grafica en Excel la curva DPPH (Figura 4.2) y obtiene la línea de tendencia (Ecuación 4.3) con un coeficiente de determinación de 90.01%.

Figura 4.2 Curva de DPPH



$$Y = -1608.6x + 1654.8$$

Ecuación 4.2

Dónde:

Y= Es la concentración en umol de DPPH presentes en la muestra de tallo de brócoli

x= Es el dato corregido de la absorbancia obtenida (Abs blanco – Abs muestra de tallo de brócoli)

Para la curva de porcentaje de inhibición de DPPH se calcula con los datos de absorbancia obtenidos de la curva Trolox 10-1000 µM y su respectivo blanco (Ecuación 4.4).

$$\% \text{ inhibición DPPH} = \frac{Abs\ b - Abs\ m}{Abs\ b}$$

Ecuación 4.3

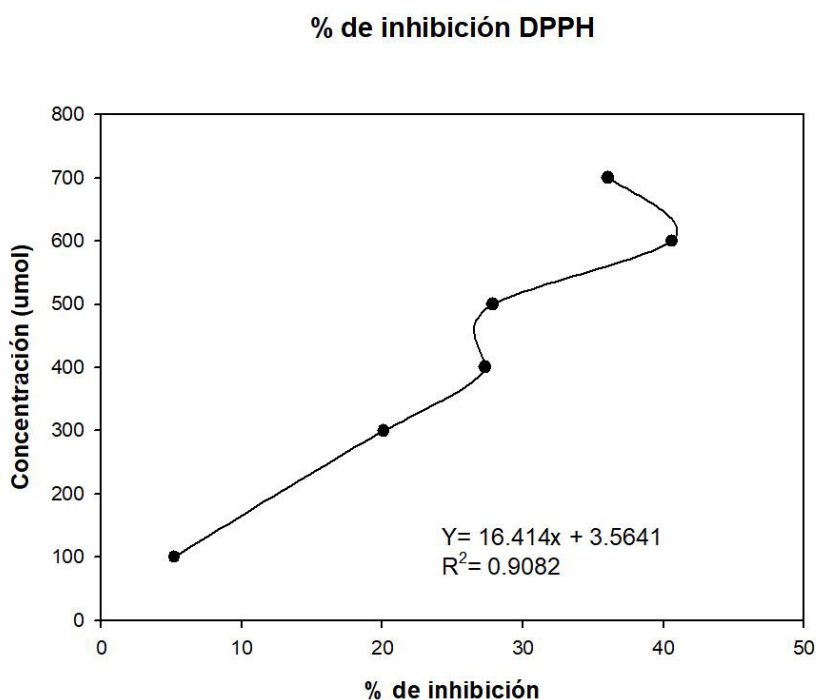
Dónde:

Abs b= Absorbancia del blanco (metanol 80%)

Abs m= Absorbancia de la muestra (Concentración de la curva Trolox 10-1000 μM)

Los resultados se grafican en Excel (Figura 4.3) y se obtiene la línea de tendencia (Ecuación 4.5) con un coeficiente de determinación de 90.82%

Figura 4.3 Curva de Porcentaje de inhibición DPPH



$$Y = 16.414x + 3.5641$$

Ecuación 4.4

Dónde:

Y= Es la concentración en umol de DPPH presentes en la muestra de tallo de brócoli

x= Porcentaje de inhibición de DPPH

Una vez obtenidos los resultados de concentración de DPPH se sustituyen en la Ecuación 4.5 para obtener el porcentaje de inhibición de DPPH para cada tratamiento (Tabla 4.3).

Tabla 4.3 Porcentaje de inhibición de DPPH en tallo de brócoli

| Orden de corrida | Combinaciones | Porcentaje de inhibición DPPH | | |
|-------------------------|----------------------|--------------------------------------|--------|--------|
| 1 | CH20 | 96.97 | 97.26 | 96.77 |
| 2 | TH20 | 97.75 | 101.18 | 97.56 |
| 3 | TF5 | 98.24 | 98.24 | 99.91 |
| 4 | CH5 | 98.14 | 90.01 | 97.85 |
| 5 | TF5 | 99.52 | 97.26 | 100.20 |
| 6 | CH5 | 92.07 | 89.13 | 93.05 |
| 7 | CH20 | 95.69 | 98.44 | 96.18 |
| 8 | TF20 | 102.55 | 98.63 | 98.24 |
| 9 | TH5 | 100.59 | 102.06 | 100.10 |
| 10 | TH20 | 99.91 | 98.93 | 99.52 |
| 11 | CF5 | 95.50 | 96.18 | 96.09 |
| 12 | CF20 | 77.96 | 95.99 | 95.79 |
| 13 | CF20 | 89.91 | 90.60 | 81.78 |
| 14 | TF20 | 97.46 | 101.97 | 100.20 |
| 15 | CF5 | 91.19 | 86.38 | 91.09 |
| 16 | TH5 | 99.81 | 98.83 | 102.55 |

4.4 Evaluación del diseño factorial 2³

Siguiendo un diseño factorial 2³ completamente al azar se analizan 8 combinaciones por triplicado con una réplica siendo en total 16 tratamientos. El diseño factorial 2³ nos permite realizar una comparación de las variables establecidas en el experimento. En la tabla 4.4 se muestran los 3 factores y 2 niveles empleados en el experimento.

Tabla 4.4 Diseño factorial 2³

| Factores | Nivel (-) | Nivel (+) |
|----------------------------|------------------|------------------|
| Tamaño de partícula | Triturado | Cubos |
| Método de cocción | Hervido | Frito |
| Tiempo | 5 min | 20 min |

La hipótesis planteada en este trabajo es el contenido de nutraceuticos presente en tallo de brócoli tiende a ser afectado por el proceso térmico que se le aplica, para lo que se realiza un Anova (Tabla 4.5) utilizando los datos obtenidos de la Tabla 4.2 y Tabla 4.3.

Tabla 4.5 Contenido fenólico total y antioxidantes presentes en tallo de brócoli

| Variable | GL | Media | DE | F cal | Pr >F | R-cuadrada |
|------------------------------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-------------------|-------------------|
| Total de contenido fenólico | 47 | 30.29 | 9.38 | 3.38 | 0.0063 | 0.37 |
| Antioxidantes | 47 | 96.28 | 3.44 | 9.12 | <0.0001 | 0.48 |

$\alpha=0.05$

Los análisis Anova identificaron efecto sobre el tratamiento térmico empleado sobre el tallo de brocoli con un $Pr>F=0,0063$ y <0.0001 en total de contenido fenólico y antioxidantes respectivamente con un 95% de confianza por lo tanto rechazamos la hipótesis nula, algún factor, interacción y combinación es significativamente diferente. El análisis de varianza (Tabla 4.6) se realiza para cada variable.

Tabla 4.6 Tabla de análisis de varianza por factores de total de nutraceuticos presente en tallo de brócoli

| Fuentes de variación | GL | Cuadrado medio |
|------------------------------------|-----------|-----------------------|
| Total de contenido fenólico | | |
| F: Forma | 1 | 121.07 |
| C: Cocción | 1 | 311.40 |
| TP: Tiempo | 1 | 886.76* |
| F*C | 1 | 47.95 |
| F*TP | 1 | 439.12* |
| C*TP | 1 | 274.54 |
| F*C*TP | 1 | 3.41 |
| Antioxidantes | | |
| F: Forma | 1 | 541.44* |
| C: Cocción | 1 | 73.72* |
| TP: Tiempo | 1 | 0.95 |
| F*C | 1 | 45.52 |
| F*TP | 1 | 0.00 |
| C*TP | 1 | 19.60 |
| F*C*TP | 1 | 75.67* |

En Fenoles las fuentes de variación significativa son Tiempo ($Pr>F=0.0029$) y la combinación Forma y tiempo ($Pr>F=0.0311$), Antioxidantes presenta variación significativa en Forma ($Pr>F<0.0001$), cocción ($Pr>F=0.0169$) y la combinación forma, cocción y tiempo ($Pr>F=0.0156$) por lo tanto con un nivel de confianza del 95% rechazamos la hipótesis nula al menos uno de los factores y una de las combinaciones en ambas variables es significativa.

Cada factor tiene su respectiva prueba post hoc utilizando una prueba de Tukey estandarizada utilizando los siguientes parámetros $\alpha=0.005$ y 40 grados de libertad para cada caso. Para el caso de la prueba post hoc del total de contenido fenólico por factores (Tabla 4.7), el tiempo es significativamente diferente teniendo una mayor concentración de contenido fenólico presente en tallo de brócoli con un valor GAE de 34.59 a los 5 minutos.

Tabla 4.7 Total de contenido fenólico presente en tallo de brócoli por factor

| Factor | Media |
|--------------------------|--------------------------|
| Forma | |
| Cubos | 31.88 ^a |
| Triturado | 28.70 ^a |
| Método de cocción | |
| Hervido | 27.74 ^a |
| Frito | 32.83 ^a |
| Tiempo | |
| 5 min | 34.59^a |
| 20 min | 25.99 ^b |

Diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes entre sí
 CM=87.99795
 CVRS=2.85816
 MSD=5.7567

La prueba post hoc de antioxidantes presentes en tallo de brócoli por factor (Tabla 4.8), se rechaza la hipótesis el factor forma y método de cocción es significativamente diferente con un 95 % de confianza. El factor forma presenta un AA de 99.63 en Triturado mayor al de cubos, mientras que el factor método de cocción presenta un AA de 97.52 en hervido.

Tabla 4.8 Antioxidantes presente en tallo de brócoli por factor

| Factor | Media |
|--------------------------|--------------------------|
| Forma | |
| Cubos | 92.92 ^a |
| Triturado | 99.63^b |
| Método de cocción | |
| Hervido | 97.52^a |
| Frito | 95.04 ^b |
| Tiempo | |
| 5 min | 96.42 ^a |
| 20 min | 96.14 ^a |

Diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes entre sí
 CM=11.85347
 CVRS=2.85816
 MSD=2.0086

Para el caso de las combinaciones se realiza un análisis de varianza para cada caso. En el caso de la combinación FXC forma y cocción (Tabla 4.9), la combinación es significativamente diferente para el caso de antioxidantes teniendo interacción el factor forma y cocción ($P > F = < .0001$), mientras que en fenoles no presenta interacción.

Tabla 4.9 Análisis de varianza combinación FXC

| Fuentes de variación | GL | Cuadrado medio |
|------------------------------------|----|----------------|
| Total de contenido fenólico | | |
| FXC | 3 | 160.14 |
| TP | 1 | 886.76* |
| FXC*TP | 3 | 239.02 |
| Antioxidantes | | |
| FXC | 3 | 220.23* |
| TP | 1 | 0.95 |
| FXC*TP | 3 | 31.76 |

La prueba post hoc para la combinación FXC en total de contenido fenólico y antioxidantes presente en tallo de brocoli se muestra en la Tabla 4.10 para el caso de antioxidantes existe diferencia significativa entre las combinaciones, la combinación triturado frito presenta un AA de 95.13 siendo significativamente diferente negativamente a los demás tratamientos, los tratamientos triturado hervido y triturado frito son significativamente diferentes positivamente con un AA 99.90 y 95.13 respectivamente. Mientras que para el caso de fenoles tenemos un GAE 35.42, pero no existe diferencia significativa entre las combinaciones.

Tabla 4.10 Contenido nutraceutico presente en tallo de brócoli combinación FXC

| Combinación FXC | Media total de contenido fenólico | Media antioxidantes |
|--------------------------|--|----------------------------|
| Cubos Hervidos | 35.42^a | 99.37^a |
| Cubos fritos | 30.25^a | 90.70^a |
| Triturado Hervido | 28.33^a | 99.90^b |
| Triturado Frito | 27.15^a | 95.13^c |

Diferente letra en la misma columna son significativamente entre si
 Total de contenido fenolico CM=87.99795 CVRS=3.7906 MSD=10.265
 Antioxidantes CM=11.85347 CVRS=3.7906 MSD=3.7675

El análisis de varianza para combinación forma y tiempo FXT se muestra en la Tabla 4.11 donde se observa que existe interacción para ambas variables total de contenido fenólico y antioxidantes presentes en tallo de brócoli con un 95% de confianza.

Tabla 4.11 Análisis de varianza combinación FXT en tallo de brócoli

| Fuentes de variación | GL | Cuadrado medio |
|------------------------------------|----|----------------|
| Total de contenido fenólico | | |
| FXT | 3 | 482.32* |
| C | 1 | 311.40 |
| FXT*C | 3 | 108.63 |
| Antioxidantes | | |
| FXT | 3 | 180.80* |
| C | 1 | 73.72* |
| FXT*C | 3 | 46.93* |

La prueba post hoc para la combinación FXT en total de contenido fenólico y antioxidantes presente en tallo de brócoli se muestra en la Tabla 4.12 se tiene un GAE de 33.15 para combinación cubos 20 min siendo el de mayor concentración y significativamente diferente a los demás excepto a cubos 5 min, para el caso de triturado a 20 min presenta una diferencia significativa negativamente con un GAE de 21.38. En el caso de antioxidantes presenta un AA 99.78 en la combinación cubos 20 min siendo la concentración más alta y presenta una interacción significativa menos con el tratamiento cubos a 5 min.

Tabla 4.12 Contenido nutraceutico presente en tallo de brócoli combinación FXT

| Combinación FXT | Media total de contenido fenólico | Media antioxidantes |
|-------------------------|--|----------------------------|
| Cubos 5 min | 30.02 ^a | 93.06 ^a |
| Cubos 20 min | 33.15^a | 99.78^a |
| Triturado 5 min | 30.60 ^{ab} | 99.49 ^b |
| Triturado 20 min | 21.38 ^b | 92.78 ^b |

Diferente letra en la misma columna son significativamente entre si
 Total de contenido fenolico CM=87.99795 CVRS=3.7906 MSD=10.265
 Antioxidantes CM=11.85347 CVRS=3.7906 MSD=3.7675

El análisis de varianza para combinación forma y tiempo CXT se muestra en la Tabla 4.13 en ambas variables existe interacción con un 95% de confianza.

Tabla 4.13 Análisis de varianza combinación CXT en tallo de brócoli

| Fuentes de variación | GL | Cuadrado medio |
|------------------------------------|-----------|-----------------------|
| Total de contenido fenólico | | |
| CXT | 3 | 490.90* |
| F | 1 | 121.07 |
| CXT*F | 3 | 163.49 |
| Antioxidantes | | |
| CXT | 3 | 31.42 |
| F | 1 | 541.44* |
| CXT*F | 3 | 40.40* |

La prueba post hoc para la combinación CXT en total de contenido fenólico y antioxidantes presente en tallo de brocoli se muestra en la Tabla 4.14 en el caso del total de contenido fenólico se tiene un GAE 39.52 en la combinación frito 5 min siendo significativamente diferente a hervido 5 min y 20 min. En antioxidantes no se presenta diferencia significativa entre los tratamientos, pero la combinación que presenta la mayor concentración es en la combinación hervido 20 min.

Tabla 4.14 Contenido nutraceutico presente en tallo de brócoli combinación CXT

| Combinación CXT | Media total de contenido fenólico | Media antioxidantes |
|------------------------|--|----------------------------|
| Frito 5 min | 39.52^a | 95.82 ^a |
| Frito 20 min | 29.65 ^{ab} | 97.02 ^a |
| Hervido 5 min | 26.14 ^b | 94.26 ^a |
| Hervido 20 min | 25.83 ^b | 98.01^a |

Diferente letra en la misma columna son significativamente entre si
 Total de contenido fenolico CM=87.99795 CVRS=3.7906 MSD=10.265
 Antioxidantes CM=11.85347 CVRS=3.7906 MSD=3.7675

El análisis de varianza para combinación forma y tiempo FXCXT se muestra en la Tabla 4.15 siendo la última combinación que presenta los tres factores para ambas variables siendo significativa para ambos casos con un 95% de confianza.

Tabla 4.15 Análisis de varianza combinación FXCXT en tallo de brócoli

| Fuentes de variación | GL | Cuadrado medio |
|------------------------------------|-----------|-----------------------|
| Total de contenido fenólico | | |
| FXCXT | 7 | 329.43* |
| Antioxidantes | | |
| FXCXT | 7 | 87.67* |

La prueba post hoc para la combinación FXCXT en total de contenido fenólico y antioxidantes presente en tallo de brocoli se muestra en la Tabla 4.16 la combinación triturado frito 20 min es significativamente diferente con un AA 100.66 seguido de cubos frito 20 min con un AA 98.90 siendo significativamente diferente a los demás menos a cubos frito 5 y 20 min, pero con una mayor concentración. La concentración significativa en el caso de contenido fenólico es cubos frito 5 min con un GAE 40.23 mientras que triturado hervido 20 min es significativamente diferente de forma negativamente con un GAE 20.27, mientras que para antioxidantes con un AA 88.67.

Tabla 4.16 Contenido nutracéutico presente en tallo de brócoli combinación FXCXT

| Combinación FXCXT | Media total de contenido fenólico | Media antioxidantes |
|---------------------------------|--|-----------------------------|
| Cubos Frito 5 min | 40.23^a | 92.74 ^a |
| Cubos Frito 20 min | 38.82 ^{ab} | 98.90 ^a |
| Cubos Hervido 5 min | 32.02 ^{abc} | 99.84 ^{abc} |
| Cubos Hervido 20 min | 31.82 ^{abc} | 93.38 ^{abc} |
| Triturado Frito 5 min | 29.18 ^{abc} | 99.14 ^{abc} |
| Triturado Frito 20 min | 27.48 ^{abc} | 100.66^{bcd} |
| Triturado Hervido 5 min | 22.49 ^{bc} | 96.89 ^{cd} |
| Triturado Hervido 20 min | 20.27^c | 88.67^d |

Diferente letra en la misma columna son significativamente entre si
 Total de contenido fenolico CM=87.99795 CVRS=3.7906 MSD=10.265
 Antioxidantes CM=11.85347 CVRS=3.7906 MSD=3.7675

Tanto el total de contenido fenólico como los antioxidantes son afectados con el transcurso del tiempo en todos los tratamientos.

Los antioxidantes presentan un incremento en los siguientes tratamientos Cubos frito y triturado frito que presentan un incremento de 6.22% y 1.50% respectivamente con respecto al tiempo.

Porter., 2012 y Martinez-Hernandez y col., 2013 reportan incremento considerable en antioxidantes y fenoles aplicando el tratamiento de cocción con respecto a crudo conforme va pasando el tiempo este disminuye y los fenoles también presentan el mismo efecto. En este trabajo la mayoría siguen esta tendencia con respecto al tiempo, pero hay tratamientos que tienen efecto inverso.

Vallejo y col., 2003 realiza un estudio de compuestos fenólicos en el que se observa como los compuestos fenólicos disminuyen después de aplicar el tratamiento, también muestra que algunos compuestos fenólicos se lixivian en el caso del método hervido lo cual es la explicación para la pérdida en tratamientos en hervido en el caso de antioxidantes, algunos de los compuestos estudiados por Vallejo y col., 2023 son total de flavonoides y derivados del caffeoyl-quinic.

Corroborando con Shi y col., 2019 que realizan un estudio a un jugo donde ven un incremento es su contenido de antioxidantes presentes debido a la ruptura celular el cual corroboran con otro estudio realizado en manzana, lo cual explica el incremento en el caso en tratamiento triturado frito a 20 min.

Analizando más a profundidad cuando el tallo de brócoli recibe daño celular por el corte, temperatura y almacenamiento se induce a la expresión de los genes PAL (fenilalanina amonio liasa), C4L (ácido 4-cinámico hidroxilasa), 4CL (Coenzima A ligasa) asociados a la biosíntesis de metabolitos secundarios que son sintetizados en la ruta metabólica de los fenil propanoides lo cual resulta en la síntesis de compuestos fenólicos individuales (Guan et al., 2020) lo cual se ve reflejado al realizar el corte a tallo de brócoli, pero es más eficiente el corte en cubos que triturado para el caso de fenoles y en antioxidantes lo es triturado.

Dos Reis y col., 2015 en su estudio presentan incrementos en la mayoría de sus tratamientos térmicos entre ellos el tratamiento en hervido, Liu y col., 2018 presenta altos contenidos en comparación al crudo. Ambos autores que el incremento se debe al daño de la pared celular y subcelular y la inhibición de la enzima oxidativa.

Además, los antioxidantes con el contenido fenólico esta relacionados entre si corroboramos con Yuan y col., 2020 que el estrés ocasionado al tallo de brócoli incrementa el contenido fenólico presente y por lo tanto su capacidad antioxidante, lo que explica porque

los resultados se mantienen a excepción del tratamiento triturado hervido 20 min que presenta un efecto negativo disminuyen fenoles y antioxidantes a su vez.

Las concentraciones de antioxidantes obtenidas durante el trabajo son considerablemente altas al igual que en el trabajo realizado por Lin y Chang., 2005. (Dos Reis et al., 2015), por lo que los tratamientos presentan contenidos nutraceuticos de valor para el consumo humano.

De acuerdo con la investigación de Liu y col., 2018 los componentes para florete y tallo no eran tan diferentes, teniendo concentraciones similares estos análisis se realizaron en el fruto en crudo, pero muestran una alta posibilidad para agregarlo a la dieta y aprovechar los beneficios de sus componentes nutraceuticos en diferentes procesos.

5 CONCLUSIONES

El mejor tratamiento que se obtuvo de este estudio de la combinación FormaxCocciónxTiempo es cubos frito 20 min con un AA 98.90 teniendo un efecto positivo en antioxidantes por otro lado el tratamiento cubos frito 5 min presenta un efecto positivo con un GAE de 40.23 para contenido fenólico. Ambos tratamiento podrían ser empleados para implementarlo en la industria alimentaria aprovechando sus valores nutrimentales y quimiopreventivos.

Es interesante ver como los componentes presentes en diferentes partes del brócoli se ven afectados o beneficiados al aplicar un tratamiento térmico diferentes autores lo han reportado. En este trabajo utilizando el tallo de brócoli se observa ambos comportamientos dependiendo el tratamiento aplicado muchos antioxidantes y fenoles son sensibles a temperaturas altas y solubles, pero el brócoli ha mostrado incrementos en sus componentes debido al estrés ocasionado a la pared celular en ciertos tratamientos como es el caso de cubos frito y triturado frito que aumenta su contenido con respecto al tiempo.

Como recomendaciones sería interesante evaluar los tratamientos cubos frito y triturado frito a mayores tiempos y observar si sigue aumentando su concentración en antioxidantes. Además de poder comparar estos tratamientos con muestras en crudo y evaluar su porcentaje de disminución o incremento de componentes con respecto a este.

Otro componente a evaluar es el ensayo de sulforafano que es un compuesto quimiopreventivo benéfico para cáncer de estómago, pulmón, leucemia entre otros, para poder discutir el mejor tratamiento que conserva la mayor concentración de componentes de antioxidantes, fenoles y sulforafano.

Eligiendo el mejor tratamiento se puede llegar a utilizar en un nuevo proceso dentro de la industria alimentaria, en este caso elegiríamos los tratamientos en frito, aprovechando

sus nutrientes al máximo, además damos una solución al desperdicio de tallo de brócoli a nivel agrícola, industria, hogar y reducir ese 50% destinado en alimentación animal.

Por consiguiente hay un gran impacto a favor del medio ambiente en Guanajuato, recordemos que es el principal productor a nivel nacional y México ocupa el 5° lugar a nivel mundial y que mejor se dé un valor agregado, que al final se ve reflejado en la economía de los agricultores y la industria alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

Bongoni R, Verkerk R, Steenbekkers B, Dekker M, Stieger M (2014) Evaluation of Different Cooking Conditions on Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) to Improve the Nutritional Value and Consumer Acceptance. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69(3), 228–234. <https://doi.org/10.1007/s11130-014-0420-2>

Campas-Baypoli O N, Sánchez-Machado D I, Bueno-Solano C, Ramírez-Wong B, López-Cervantes, J (2010) HPLC method validation for measurement of sulforaphane level in broccoli by-products. *Biomedical Chromatography*, 24(4), 387–392. <https://doi.org/10.1002/bmc.1303>

Campas-Baypoli Olga N, Snchez-Machado D I, Bueno-Solano C, Núñez-Gastélum J A, Reyes-Moreno C, López-Cervantes J (2009) Biochemical composition and physicochemical properties of broccoli flours. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(SUPPL.4), 163–173. <https://doi.org/10.1080/09637480802702015>

Dirección General de Normas Mexicanas (1978) NMX-F-066-S-1978 Determinación De Cenizas En Alimentos. *Colpos.Mx*, 3–6. Retrieved from <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-FF-038-2002.PDF>

Dos Reis L C R, De Oliveira V R, Hagen M E K, Jablonski A, Flôres S H, De Oliveira Rios A (2015) Effect of cooking on the concentration of bioactive compounds in broccoli (*Brassica oleracea* var. Avenger) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. Alphina F1) grown in an organic system. *Food Chemistry*, 172, 770–777. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.124>

dos Reis L C R, Pechina M, de Oliveira V R, Hagen M E K, Jablonski A, Flôres S H, de Oliveira Rios A (2015) Effect of Different Thawing Conditions on the Concentration of Bioactive Substances in Broccoli (*Brassica oleracea* var. Avenger). *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 2673–2679. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12517>

Everardo Zamora (2016) *Universidad de Sonora (cultivo de brócoli)*. Retrieved from <http://www.dagus.uson.mx/Zamora/BROCOLI-DAG-HORT-010.pdf>

Gomez, E (2001) Estres oxidativo y falla cardiaca. *Acta Méd. Colomb*, 26, 185–192.

Hu C H, Zuo A, Wang D G, Pan H Y, Zheng W B, Qian Z C, Zou X T (2011) Effects of broccoli stems and leaves meal on production performance and egg quality of laying hens. *Animal Feed Science and Technology*, 170(1–2), 117–121. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.07.019>

Jaramillo F, Valdivia A (2016) *Fundamentos de estrés oxidativo celular*. Retrieved from https://www.uaa.mx/direcciones/dgdv/editorial/docs/zombis_fundamentos_estres_oxidativo_celular.pdf

Kapusta-Duch J, Kusznierevicz B, Leszczyńska T, Borczak B (2016) Effect of cooking on the contents of glucosinolates and their degradation products in selected Brassica vegetables. *Journal of Functional Foods*, 23, 412–422. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.03.006>

Kuskoski E M, Asuero A G, Troncoso A M, Mancini-Filho J, Fett R (2005) Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726–732. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612005000400016>

Latté K P, Appel K E, Lampen A (2011) Health benefits and possible risks of broccoli - An overview. *Food and Chemical Toxicology*, 49(12), 3287–3309. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.08.019>

Lin C H, Chang C Y (2005) Textural change and antioxidant properties of broccoli under different cooking treatments. *Food Chemistry*, 90(1–2), 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.053>

Liu M, Zhang L, Ser S L, Cumming J R, Ku K M (2018) Comparative phytonutrient analysis of broccoli by-products: The potentials for broccoli by-product utilization. *Molecules*, 23(4). <https://doi.org/10.3390/molecules23040900>

Moreiras Tuni O, Carbajal Á, Cabrera Forneiro L, Cuadrado Vives C (2015) *Tablas de composición de alimentos. 17th edicion.* 52–53. Retrieved from https://catedraalimentacioninstitucional.files.wordpress.com/2014/09/3-1-tablas_de_composicion_de_alimentos.pdf

NMX-F-068 (1980) *Alimentos. Determinación de proteínas.* 3.

NMX-F-083 (1986) *Determinación de humedad en productos alimenticios. Dirección general de normas mexicanas.* 8–10.

Porter Y (2012) Antioxidant properties of green broccoli and purple-sprouting broccoli under different cooking conditions. *Bioscience Horizons*, 5, 1–11. <https://doi.org/10.1093/biohorizons/hzs004>

Programa E L, Alimentos U D E (1978) *Nmx-F090-S-1978.* 25–27.

Programa E L, Alimentos U D E (1983) Programa, E L, and Universitario D E Alimentos. 1978. “Recopilado Por: El Programa Universitario de Alimentos.” : 1–3. *Norma Oficial Mexicana*, 1–3. Retrieved from <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-041-1983.PDF>

Púa-Rosado A L, Barreto G, De La Hoz M (2017) Composición nutricional del tallo de Silbadero (*Geoffroea spinosa jacq.*) del municipio de Tubara, Atlántico. *Temas Agrarios*, 22(2), 90–96. <https://doi.org/10.21897/rta.v22i2.948>

Rodríguez O E, Andrade W A, Diaz F E (2015) Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens L.* (*Papaveraceae*) Antioxidant activity of extracts from leaves of *Bocconia*. *Journal of Technology*, 14 (2), 21–36.

Sarvan I, Verkerk R, Van Boekel M, Dekker M (2014) Comparison of the degradation and leaching kinetics of glucosinolates during processing of four Brassicaceae (broccoli, red cabbage, white cabbage, Brussels sprouts). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 25(C), 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.01.007>

Soares A, Carrascosa C, Raposo A (2017) Influence of Different Cooking Methods on the Concentration of Glucosinolates and Vitamin C in Broccoli. *Food and Bioprocess Technology*, 10(8), 1387–1411. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1930-3>

Sosińska E, Obiedziński M W (2011) Effect of processing on the content of glucobrassicin and its degradation products in broccoli and cauliflower. *Food Control*, 22(8), 1348–1356. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.02.011>

Vallejo F, Tomás-Barberán F A, Garcia-Viguera C (2002) Glucosinolates and vitamin C content in edible parts of broccoli florets after domestic cooking. *European Food Research and Technology*, 215(4), 310–316. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0560-8>

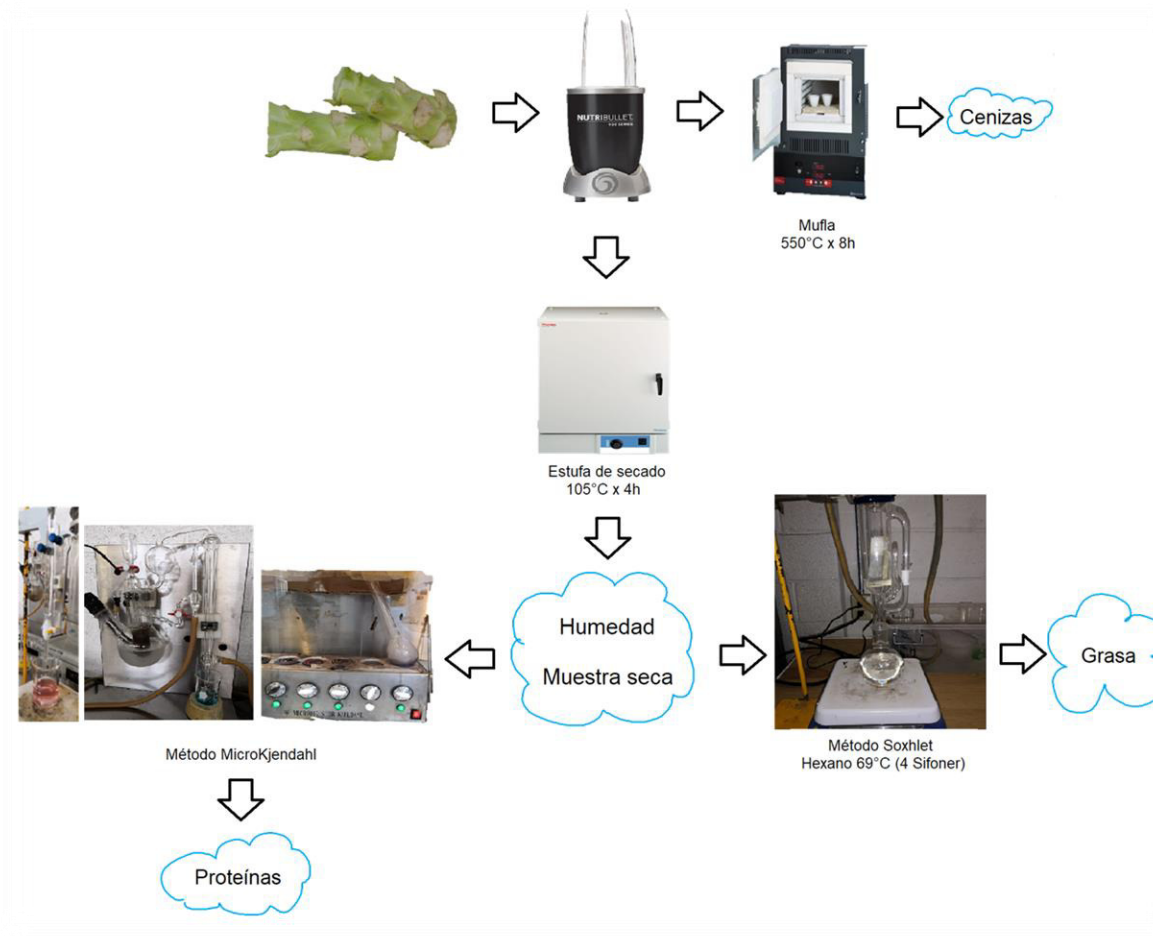
Vallejo F, Tomás-Barberán F A, García-Viguera C (2003) Phenolic compound contents in edible parts of broccoli inflorescences after domestic cooking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(14), 1511–1516. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1585>

Vanduchova A, Anzenbacher P, Anzenbacherova E (2019) Isothiocyanate from Broccoli, Sulforaphane, and Its Properties. *Journal of Medicinal Food*, 22(2), 121–126. <https://doi.org/10.1089/jmf.2018.0024>

Yilmaz E, Bagci P O (2018) Production of phytotherapeutics from broccoli juice by integrated membrane processes. *Food Chemistry*, 242(September), 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.056>

Yuan G F, Sun B, Yuan J, Wang Q M (2009) Effects of different cooking methods on health-promoting compounds of broccoli. *Journal of Zhejiang University: Science B*, 10(8), 580–588. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0920051>

Apéndice 1 Diagrama de Análisis Proximal



Apéndice 2 Diagrama de extracción de muestra, determinación de antioxidantes y fenoles

