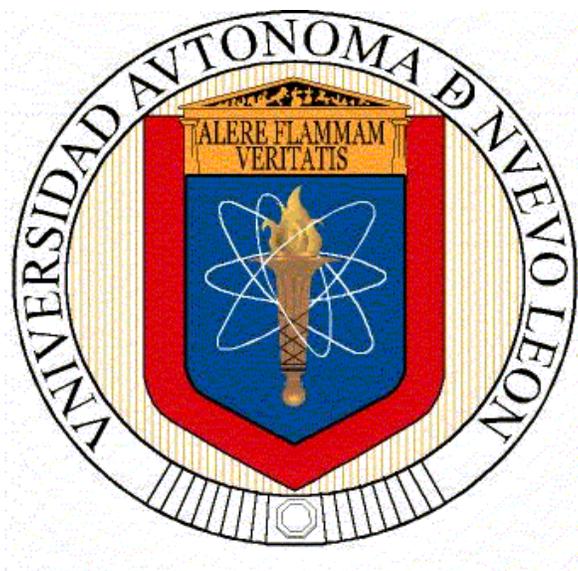


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



**EFFECTO DE DIFERENTES MÉTODOS DE COCCIÓN EN EL  
CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y LA ACTIVIDAD  
ANTIOXIDANTE EN BRÓCOLI (*Brassica oleracea var. Italica*) Y  
COLIFLOR (*Brassica oleracea var. Botrytis*)**

**POR**

**ABAD ARTURO LÓPEZ HERNÁNDEZ**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

**OCTUBRE, 2017**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



**TESIS**

**EFFECTO DE DIFERENTES MÉTODOS DE COCCIÓN EN EL  
CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y LA ACTIVIDAD  
ANTIOXIDANTE EN BRÓCOLI (*BRASSICA OLERACEA VAR.  
ITALICA*) Y COLIFLOR (*BRASSICA OLERACEA VAR. BOTRYTIS*)**

**POR**

**ABAD ARTURO LÓPEZ HERNÁNDEZ**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

**DIRECTOR: DRA. BLANCA EDELIA GONZÁLEZ MARTÍNEZ**

MONTERREY, NUEVO LEÓN, MÉXICO

OCTUBRE DE 2017

## Dedicatoria

## Agradecimientos

## **LUGAR DE TRABAJO**

La presente tesis fue desarrollada en las siguientes instancias de la Universidad Autónoma de Nuevo León:

- Centro de Investigación de la Facultad de Salud Pública y Nutrición.
  - Laboratorio de Alimentos
  - Laboratorio de Bioquímica Nutricional
  - Laboratorio de Genética y Biología Molecular

## Tabla de contenido

RESUMEN .....	iv
ABSTRACT .....	v
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES .....	3
2.1 Consumo de frutas y hortalizas .....	3
2.2 Hortalizas .....	4
2.2.1 Hortalizas en México .....	4
2.2.2 Coles .....	5
2.2.3 Hortalizas seleccionadas para el estudio .....	6
2.2.4 Brócoli ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>itálica</i> ).....	6
2.2.5 Coliflor ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> ) .....	7
2.2.6 Composición química nutrimental .....	8
2.3 Compuestos bioactivos .....	9
2.4 Compuestos fenólicos .....	10
2.4.1 Ácidos fenólicos .....	12
2.4.2 Flavonoides.....	12
2.4.3 Propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos .....	13
2.4.4 Compuestos fenólicos en <i>Brassica oleracea</i> .....	15
2.4.5 Biodisponibilidad de los compuestos fenólicos .....	16
2.4.6 Análisis de compuestos fenólicos .....	18
2.5 Técnicas de análisis de la capacidad antioxidante .....	18
2.5.1 Técnica de DPPH .....	19
2.5.2 Técnica de ABTS.....	19
2.5.3 Técnica de FRAP.....	19

2.6 Métodos de cocción de hortalizas .....	19
2.6.1 Efectos de la cocción en las hortalizas .....	21
2.6.2 Tratamiento térmico en compuestos fenólicos .....	22
III. HIPÓTESIS.....	24
IV. OBJETIVOS .....	25
4.1 Objetivo general .....	25
4.2 Objetivos específicos .....	25
V. METODOLOGIA .....	26
5.1 Diseño del estudio.....	26
5.1.1 Esquema general de trabajo .....	26
5.1.2 Material biológico.....	27
5.2 Procedimiento.....	27
5.2.1 Métodos de cocción.....	27
5.2.2 Hervido .....	27
5.2.3 Al vapor .....	27
5.2.4 Microondas .....	27
5.2.5 Cinética .....	27
5.3 Obtención de extractos .....	28
5.4 Contenido de compuestos fenólicos.....	28
5.4.1 Contenido de polifenoles totales .....	28
5.4.2 Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC .....	29
5.5 Actividad antioxidante .....	30
5.5.1 Técnica de DPPH .....	30
5.5.2 Técnica de ABTS.....	30
5.5.3 Técnica de FRAP.....	31

5.6 Análisis estadístico .....	31
VI. RESULTADOS .....	32
6.1. Métodos de cocción .....	32
6.2. Obtención de extractos del líquido de cocción.....	32
6.3. Contenido de compuestos fenólicos .....	33
6.3.1. Contenido de polifenoles totales .....	33
6.3.2. Estandarización de la técnica cromatográfica .....	34
6.3.3. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC .....	36
6.4. Actividad antioxidante .....	45
6.5 Correlación del contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante .....	51
VII. DISCUSIÓN .....	53
7.1. Contenido de compuestos fenólicos en brócoli y coliflor .....	53
7.2. Efecto de la cocción en el contenido de compuestos fenólicos .....	54
7.2.1. Hidrólisis parcial de compuestos fenólicos por efecto de la cocción.....	57
7.3. Actividad antioxidante en brócoli y coliflor.....	58
7.4. Efecto de la cocción en la actividad antioxidante.....	59
7.5. Correlación entre el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante....	60
7.6. Biodisponibilidad de los compuestos fenólicos .....	61
VIII. CONCLUSIONES .....	64
IX. REFERENCIAS.....	65

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	Nutrientes que aportan las crucíferas	5
<b>2</b>	Composición nutritiva de brócoli y coliflor	9
<b>3</b>	Compuestos fenólicos en brócoli y coliflor crudos	16
<b>4</b>	Métodos de cocción comunes en hortalizas	20
<b>5</b>	Temperatura interna en los tiempos y métodos de cocción (° C)	32
<b>6</b>	Rendimiento del líquido de cocción	33
<b>7</b>	Contenido de polifenoles totales	34
<b>8</b>	Estandarización de la técnica cromatográfica para compuestos fenólicos	36
<b>9</b>	Contenido de agliconas de flavonoides en brócoli y coliflor	45
<b>10</b>	Actividad antioxidante por DPPH en brócoli y coliflor	46
<b>11</b>	Actividad antioxidante por ABTS en brócoli y coliflor	47
<b>12</b>	Actividad antioxidante por FRAP en brócoli y coliflor	48
<b>13</b>	Correlación del contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante	51

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	Estructura y clasificación general de los compuestos fenólicos	11
<b>2</b>	Estructura general y clasificación de los flavonoides	13
<b>3</b>	Estructura química de la quercetina como ejemplo de criterios que establecen la capacidad antioxidante de los flavonoides	15
<b>4</b>	Esquema general metodológico	26
<b>5</b>	Cromatogramas de los estándares de compuestos fenólicos evaluados	35
<b>6</b>	Contenido de compuestos fenólicos en brócoli	37-39
<b>7</b>	Contenido de compuestos fenólicos en coliflor	41-43
<b>8</b>	Actividad antioxidante en hortalizas hervidas y el líquido de cocción	50

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>° C</b>	Grados Celsius
<b>µg</b>	Microgramo
<b>µl</b>	Microlitro
<b>µM</b>	Micromolar
<b>µm</b>	Micrómetro
<b>ABTS</b>	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)
<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza
<b>C18</b>	18 carbonos
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-picrihidrazilo
<b>FRAP</b>	Poder de reducción antioxidante de ion férrico
<b>g</b>	Gramo
<b>GAE</b>	Equivalentes de ácido gálico
<b>HPLC</b>	Cromatografía líquida de alta resolución
<b>M</b>	Concentración Molar
<b>mg</b>	miligramo
<b>mg/100 g</b>	Miligramo por cien gramos
<b>mg/g</b>	Miligramo por gramo
<b>mg/mL</b>	Miligramo por mililitro
<b>min</b>	Minuto
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mL/min</b>	Mililitro por minuto
<b>mm</b>	Milímetro
<b>mM</b>	Milimolar
<b>nm</b>	Nanómetro
<b>pH</b>	Potencial de hidrógeno
<b>TE</b>	Equivalente de Trolox
<b>USDA</b>	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
<b>UV</b>	Ultravioleta

## RESUMEN

Las frutas son la primera opción de obtención de compuestos antioxidantes ya que son de fácil consumo y no requieren métodos previos de cocción para ser consumidas, caso contrario ocurre a la mayoría de las hortalizas. Entre los métodos de cocción más frecuentes en las hortalizas se encuentran: a vapor, hervido y microondas, los cuales pueden afectar el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante. El objetivo del presente estudio fue analizar el efecto que ejercen los diferentes tiempos de los métodos de cocción en la concentración de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante, en brócoli y coliflor.

Se analizaron muestras de brócoli y coliflor sometidas a diferentes tratamientos de cocción: hervido, al vapor y microondas, a los minutos 1, 3, 5 y 10, siendo las muestras crudas el control. Se realizaron extractos hidroalcohólicos por triplicado de cada tiempo de cocción. La capacidad antioxidante fue evaluada con los métodos de ABTS, DPPH y FRAP. El contenido de polifenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu. La cuantificación de compuestos fenólicos se realizó mediante HPLC, utilizando como estándares: ácidos: gálico, cafeico y clorogénico, miricetina, luteolina, kaempferol, apigenina, quercetina y quercetina-3-O- $\beta$ -D-glucósido.

El contenido de compuestos fenólicos (polifenoles totales y compuestos fenólicos individuales) y la actividad antioxidante de las muestras crudas fue similar a lo reportado por otros autores. Los tratamientos de cocción afectaron el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en las muestras de brócoli y coliflor. El resultado en el contenido de polifenoles totales en la cocción a microondas aumentó 12 y 48% a los 5 minutos en brócoli y coliflor, respectivamente, caso contrario en el método de hervido que disminuyó 60 y 20% a los 10 minutos (en brócoli y coliflor). Con relación al contenido de compuestos fenólicos individuales en ambas hortalizas, el método de hervido mostró una disminución significativa en todos los compuestos. La cocción al vapor por 10 minutos mostró un aumento significativo para brócoli en: ácido clorogénico, quercetina-3-O- $\beta$ -D-glucósido, miricetina y luteolina (57, 18, 12 y 30%, respectivamente); mientras que en la coliflor se observó un aumento no significativo en 5 de los 9 compuestos analizados.

En el análisis de actividad antioxidante, el brócoli cocido al vapor por 10 minutos aumentó 15, 6 y 7% para DPPH, ABTS y FRAP, respectivamente. Para la coliflor, el método por microondas presentó un aumento del 38% en DPPH a 1 minuto de cocción y el 40 y 6% a los 3 minutos para ABTS y FRAP. En ambas hortalizas, solamente se alcanzó la significancia estadística en el método de DPPH. Por lo contrario, las hortalizas hervidas por 10 minutos disminuyeron la actividad antioxidante en comparación con las muestras crudas 60, 47 y 56% para brócoli y 38, 27 y 26% para coliflor en las técnicas de DPPH, ABTS y FRAP, respectivamente. Los diferentes tratamientos de cocción produjeron una hidrólisis parcial de los compuestos fenólicos, la cual puede afectar la actividad antioxidante y la biodisponibilidad de estos compuestos. También, se observó una correlación positiva entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en las muestras de brócoli y coliflor.

En conclusión, la cocción al vapor por 10 minutos conservó e incrementó el contenido de compuestos fenólicos (polifenoles totales e individuales) y la actividad antioxidante en brócoli y coliflor, por lo cual es posible considerarlo como el mejor método de cocción para su consumo. Los tratamientos térmicos moderados, como la cocción a vapor, pueden considerarse como herramienta para mejorar el contenido de compuestos bioactivos y aumentar las propiedades benéficas del brócoli y la coliflor.

## ABSTRACT

Fruits are the first option to obtain antioxidant compounds since they are easy to consume and do not require previous methods of cooking to be consumed, otherwise it happens to most of vegetables. Among the most frequent methods of cooking vegetables, are steam, boiled and microwave, which can affect the content of phenolic compounds and antioxidant activity. The aim of the present study was to analyze the effect that exert different times of cooking methods on the concentration of phenolic compounds and the antioxidant activity in broccoli and cauliflower.

Broccoli and cauliflower samples were analyzed under different cooking treatments: boiled, steamed and microwaved at minutes 1, 3, 5 and 10, with crude samples being the control. Hydroalcoholic extracts were made in triplicate of each cooking time. The antioxidant capacity was evaluated with the ABTS, DPPH and FRAP methods. The content of phenolic compounds was determined by the Folin-Ciocalteu method. The quantification of phenolic compounds was performed by HPLC, using as standards: gallic, caffeic and chlorogenic acids, myricetin, luteolin, kaempferol, apigenin, quercetin and quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucoside.

The content of phenolic compounds (total polyphenols and individual phenolic compounds) and antioxidant activity of the raw samples were similar to those reported by other authors. Cooking treatments affected phenolic compounds content and antioxidant activity in broccoli and cauliflower samples. The result in total polyphenol contents in microwave cooking increased 12 and 48% at 5 minutes in broccoli and cauliflower, respectively, otherwise in the boiling method that decreased by 60 and 20% at minute 10 (in broccoli and cauliflower). Regarding the content of individual phenolic compounds in both vegetables, the boiling method showed a significant decrease in all the compounds. Steaming during 10 minutes showed a significant increase for broccoli in: chlorogenic acid, quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucoside, myricetin and luteolin (57, 18, 12 and 30%, respectively); in cauliflower a non-significant increase was observed in 5 of the 9 compounds analyzed.

In the antioxidant activity analysis, steamed broccoli for 10 minutes increased 15, 6 and 7% for DPPH, ABTS and FRAP, respectively. In cauliflower, the microwave method showed a 38% increase in DPPH at 1 minute of cooking and 40 and 6% at 3 minutes, for ABTS and FRAP. In both vegetables, only the statistical significance was reached in the DPPH method. On the contrary, vegetables boiled for 10 minutes decreased antioxidant activity compared to raw samples 60, 47 and 56% for broccoli and 38, 27 and 26% for cauliflower in the DPPH, ABTS and FRAP techniques, respectively. The different cooking treatments produced a partial hydrolysis of the phenolic compounds, which can affect the antioxidant activity and the bioavailability of these compounds. Also, a positive correlation was observed between the content of phenolic compounds and the antioxidant activity mainly in DPPH and FRAP in broccoli and cauliflower samples.

In conclusion, steaming for 10 minutes preserved and increased the content of phenolic compounds (total and individual polyphenols) and antioxidant activity in broccoli and cauliflower, which is why it is possible to consider it as the best cooking method for its consumption. Moderate heat treatments, such as steam cooking, can be considered as a tool to improve the content of bioactive compounds and increase the beneficial properties of broccoli and cauliflower.

## I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la recomendación del consumo de frutas y verduras es contemplada como un estilo de vida saludable. Diferentes investigaciones señalan que el consumo regular de frutas y verduras incorporadas a la dieta está relacionado con un efecto protector y de retardo en el desarrollo de estrés oxidativo y de procesos de inflamación presentes en las enfermedades crónicas degenerativas, tales como diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares y neuronales (González-Jiménez, Cooper-Bribiesca, Hernández-Espinosa, Núñez-Bretón, & Reyes-Reyes, 2015; Pojer, Mattivi, Johnson, & Stockley, 2013).

La mayoría de los beneficios del consumo de alimentos de origen vegetal radican en la concentración de sus metabolitos secundarios o compuestos bioactivos, entre los cuales destacan los que poseen propiedades antioxidantes como son: los flavonoides, los polifenoles, los carotenoides y las vitaminas A, C y E (Rietjens et al., 2002).

Los antioxidantes son moléculas que tienen la característica de presentar una estabilidad suficiente para donar un electrón a un radical libre y neutralizarlo, reduciendo su capacidad dañina hacia otras moléculas del organismo. Estos compuestos retrasan o inhiben el daño celular principalmente a través de su propiedad de eliminación de radicales libres (Birben, Sahiner, Sackesen, Erzurum, & Kalayci, 2012; Lobo, Patil, Phatak, & Chandra, 2010).

En años recientes, distintos estudios han demostrado una importante asociación entre los radicales libres y el envejecimiento celular y enfermedades crónicas degenerativas (Atoui, Mansouri, Boskou, & Kefalas, 2005; Nilsson, Stegmark, & Åkesson, 2004; Nimse & Pal, 2015; Pham-Huy, He, & Pham-Huy, 2008). Estas propiedades han resaltado la importancia del consumo de determinados productos vegetales como las frutas y las hortalizas.

El consumo de frutas es generalmente la primera opción para la obtención de estos compuestos bioactivos ya que son fácilmente consumidas de forma natural y no requieren de métodos de cocción. Caso contrario, ocurre en la mayoría de las hortalizas que se consumen por lo general después de ser sometidas a un proceso de cocción (Murador, Mercadante, & De Rosso, 2015).

Actualmente, las investigaciones reportan datos poco consistentes sobre el efecto de los diferentes métodos de cocción en las hortalizas en relación con el contenido y el perfil de compuestos fenólicos, así como en su capacidad antioxidante. De manera general, se piensa que los efectos térmicos son negativos para la capacidad antioxidante y destructivos para los compuestos fenólicos pero no siempre es así, ya que existen reportes de productos vegetales en donde estos compuestos permanecen sin cambios o incluso aumentan (Ramírez-Anaya, Samaniego-Sánchez, Castañeda-Saucedo, Villalón-Mir, & de la Serrana, 2015).

En el momento en que los vegetales son sometidos a las técnicas de cocción caseras, los compuestos fenólicos que poseen presentan alteraciones diferentes que dependen del medio de cocción (polar o apolar). Por ejemplo, hay algunos estudios que sostienen que al someterse a procesos térmicos en agua se puede obtener un efecto de reducción significativo en el contenido de antioxidantes, tales como fenoles en forma de glicósidos (unidos a azúcares) debido al fenómeno de lixiviación (Miglio, Chiavaro, Visconti, Fogliano, & Pellegrini, 2008).

Por todo lo descrito anteriormente, el presente estudio planteará un enfoque que muestre los efectos del tiempo (cinética) en las técnicas de cocción caseras (hervido, al vapor y microondas) sobre la concentración de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante en brócoli y coliflor, productos seleccionados por su elevado consumo y producción en México, sus características morfológicas, nutricionales y su contenido de compuestos antioxidantes.

## **II. ANTECEDENTES**

### **2.1 Consumo de frutas y hortalizas**

Desde hace muchos años una dieta rica en frutas y verduras ha sido recomendada como parte de un estilo de vida saludable, su consumo cotidiano ofrece además de macronutrientes (hidratos de carbono, proteínas y lípidos) y micronutrientes (vitaminas y minerales), una serie de metabolitos secundarios (terpenos, compuestos fenólicos y alcaloides) que contribuyen a la prevención de enfermedades crónico degenerativas que actualmente tienen una alta prevalencia tales como: la arteriosclerosis, la diabetes mellitus tipo 2, el cáncer, la cardiopatía isquémica y el accidente cerebrovascular (Gawlik-Dziki, 2008; Quiñones, Miguel, & Aleixandre, 2012).

La OMS (Organización Mundial de la Salud) en su informe sobre la salud en el mundo en el 2002 estimó que un consumo pobre de frutas y hortalizas es causa del 19% de los casos de cáncer gastrointestinal y un 31% de los casos de cardiopatía isquémica, produciendo 2,7 millones de muertes anuales en todo el mundo (el 5% del total). Por tal motivo, para el sector salud y específicamente para los educadores en nutrición, es prioridad el fomento del consumo de frutas y hortalizas (Organización Mundial de la Salud & Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2005).

Una gran parte de la población no incluye suficientes frutas y hortalizas en su dieta. En un informe de expertos en alimentación, nutrición y prevención de enfermedades crónicas publicado en el 2003 por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la OMS, fue sugerido el consumo de nueve o diez porciones de fruta y hortalizas al día. Las estrategias mundiales suelen recomendar el consumo de por lo menos cinco porciones al día, sin embargo, la media poblacional no consume más de 3 porciones (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2003).

Por otra parte, la gran diversidad de climas y ecosistemas presentes en México facilita la producción de un gran número de frutas y hortalizas durante todo el año,

beneficiando a la población al otorgar variedad a la dieta con bajos costos en productos nacionales. En los últimos años, México se ha mantenido como potencia internacional como productor y exportador de hortalizas (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, 2012).

## 2.2 Hortalizas

El término *hortaliza* hace referencia a todas aquellas plantas herbáceas que son cultivadas con fin de consumo, ya sea crudas o cocidas. Es importante aclarar que el término *verdura* hace referencia exclusivamente a los órganos verdes, es decir, hojas y tallos tiernos o las inflorescencias (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, 2009).

Las hortalizas se pueden clasificar de manera muy general en función de la parte de la planta a la que pertenecen:

- **Frutos:** tomates, chiles (variedades), berenjena, pimientos, chayote, etc.
- **Bulbos:** ajo, cebolla, puerro, poro, chalota, etc.
- **Coles:** repollo, brócoli, col de bruselas y coliflor, etc.
- **Hojas y tallos tiernos:** acelga, endibias, escarola, espinacas y lechuga, etc.
- **Pepónides:** calabacín, calabaza, chilacayote y pepino, etc.
- **Raíces:** nabo, rábanos, remolacha de mesa, zanahoria, betabel y papas, etc.
- **Tallos jóvenes:** apio, espárrago blanco y triguero, etc.
- **Flores comestibles:** alcachofa y flor de calabaza, etc.

### 2.2.1 Hortalizas en México

Gracias a la diversidad del ecosistema de México, nuestro país se ha mantenido en los últimos años como una potencia en su papel de productor y exportador de hortalizas. En el 2012, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) reportó que, con respecto a la producción mundial de hortalizas, nuestro país ocupa el segundo lugar en Chile, el cuarto en

espárragos, el sexto en coliflor, el séptimo en calabacita, el décimo en tomate y cebolla y el decimoctavo en zanahoria.

Por otra parte, en el caso de exportaciones, México ocupa el primer lugar en chile, tomate y brócoli, cuarto en cebollas y séptimo en ajo. Por este motivo, México se posiciona como la quinta potencia mundial en la producción de hortalizas (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, 2012).

### 2.2.2 Coles

El género botánico *Brassica* (crucíferas) incluye una gran diversidad de hortalizas entre las que destacan: brócoli, coliflor, col de Bruselas, col, repollo, entre otros. A pesar de presentar diferentes aspectos, en su mayoría, al ser variedades de la especie *Brassica oleracea* poseen nutrimentos en común (Tabla 1). Se ha encontrado que estos cultivos contienen un amplio número de nutrientes y fitoquímicos, entre los que destacan: carotenoides, clorofila y folatos, así como flavonoides, con un gran efecto antioxidante (Ares, Nozal, & Bernal, 2013; Gómez & Namesny, 2010).

**Tabla 1.** Nutrimentos que aportan las crucíferas

<b>Crucífera</b>	<b>Compuestos</b>
<b>Coles de Bruselas</b>	Vitamina A, potasio y calcio (en mayor cantidad que las demás crucíferas), fósforo, sodio y magnesio
<b>Brócoli</b>	Vitamina A y C, potasio, calcio y hierro, magnesio, azufre y fosfatos
<b>Repollo</b>	Vitamina A y C, potasio, fósforo, magnesio y folatos
<b>Coliflor</b>	Fibra, vitamina C, azufre y fósforo

Fuente:(Gómez & Namesny, 2010)

La amplia capacidad de adaptación a diversas condiciones climáticas posiciona a las crucíferas como hortalizas de gran interés, siendo los tres cultivos más importantes de este género en México; el brócoli, la coliflor y el repollo, producidos tanto para el consumo interno como para la exportación, principalmente como producto congelado a Estados Unidos de América. Por otra parte, la FAO cataloga los cultivos de brócoli y coliflor como el primer y tercer lugar, respectivamente con respecto a su contenido nutrimental y de acuerdo a las demandas del mercado y a

las necesidades de salud mundial, satisfaciendo las necesidades de orden nutricional, contribuyendo a la preservación de la salud (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, 2011b).

### **2.2.3 Hortalizas seleccionadas para el estudio**

Para la elección de hortalizas en el presente estudio se consideraron elementos tales como: las hortalizas de mayor consumo en México y con un abundante aporte nutrimental y de contenido de compuestos bioactivos. A continuación, se muestra una breve descripción de las dos hortalizas seleccionadas: brócoli y coliflor.

### **2.2.4 Brócoli (*Brassica oleracea var. itálica*)**

#### **2.2.4.1. Generalidades y economía**

Su origen parece estar situado en el mediterráneo oriental, siendo más exactos en la península de Anatolia, Líbano y Siria. Antiguamente los romanos lo cultivaban y consumían, por ese motivo su uso está muy arraigado en la cocina italiana. Fue hasta la mitad del siglo pasado donde su producción y sobre todo su consumo empezó a verse incrementado. Hoy en día, este cultivo se encuentra en diversos países en el mundo (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, 2011a).

México está posicionado como primer exportador de brócoli a nivel internacional, la SAGARPA informa una producción en el año 2011 de 357,079 toneladas, siendo el estado de Guanajuato quien lidera la mayor producción de esta hortaliza (México- Produce, 2015).

En el mercado mexicano, el consumo per cápita de brócoli fresco es de 2.5 kg al año (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, 2011a); mientras que en otros países como Estados Unidos o Canadá, su consumo asciende a más de 5 kg al año (Hernández & Rodríguez, 2014).

#### **2.2.4.2. Taxonomía y morfología**

Familia: *Crucíferas*.

Género: *Brassica*

Especie: *Brassica oleracea* var. *italica*

Nombre común: brécoles, brócoli, bróculi, brécol

El brócoli es un cultivo anual, por lo general la planta es recta, de 60 a 90 centímetros de altura y terminando en una masa floral de color verde. Estos racimos pueden llegar a medir hasta 35 centímetros de diámetro. A diferencia de la coliflor, el brócoli tiende a presentar los racimos menos compactados, con los granos sueltos y con las inflorescencias verdes (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2014a).

#### **2.2.5 Coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*)**

##### **2.2.5.1. Generalidades y economía**

La coliflor es una hortaliza procedente de las regiones del mediterráneo oriental, Asia menor, Líbano y Siria. En la antigüedad no era consumida como alimento, sino que era utilizada como tratamiento para algunas enfermedades tales como el dolor de cabeza o la diarrea (Maroto Borrego, 2002).

Actualmente, China es el principal productor de coliflor. En México el consumo anual de esta hortaliza es de 700 gramos por cada mexicano en el 2011, ese mismo año se alcanzó una producción de 70 mil 804 toneladas, siendo el estado de Hidalgo, el mayor productor (México-Produce, 2015).

### **2.2.5.2. Taxonomía y morfología**

Familia: *Crucíferas*.

Género: *Brassica*

Especie: *Brassica oleracea var. botrytis*

Nombre común: coliflor, minicoliflores

La coliflor es una hortaliza de ciclo anual, posee raíces muy profundas que pueden llegar a más de un metro. Por el contrario, el tallo es pequeño, sin ramas, alcanzando una altura de 5 a 10 centímetros. La inflorescencia es de color blanco o crema y se encuentra hipertrofiada, por lo cual forma una masa de botones foliares apelmazados. La pella es un conjunto de flores carnosas por lo general desarrolladas. Todo lo anterior constituye la parte comestible de la coliflor (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2014b).

### **2.2.6 Composición química nutrimental**

Las hortalizas contribuyen de manera muy importante en la hidratación corporal debido a su alto contenido de agua; a su vez, son consideradas alimentos ricos en vitaminas, minerales y fibra, poseen un bajo aporte de almidón y azúcares (a excepción de la papa) por lo cual son alimentos de bajo aporte calórico. De igual forma, son una importante fuente de múltiples compuestos con actividad biológica como vitaminas, minerales y compuestos antioxidantes (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, 2009). En la tabla 2 se muestra la composición nutrimental de las hortalizas a analizar.

**Tabla 2.** Composición nutritiva de brócoli y coliflor

<b>Nutriente</b>	<b>Unidad</b>	<b>Brócoli</b>	<b>Coliflor</b>
<i>Proximal</i>			
		%	%
Humedad	g	89.30	92.07
Energía	kcal	34	25
Proteína	g	2.82	1.92
Grasa Total	g	0.37	0.28
Ceniza	g	0.87	0.76
Extracto libre de N <sub>2</sub>	g	6.64	4.97
Fibra Dietética	g	2.60	2.00
Azúcar total	g	1.70	1.91
Glucosa	g	0.49	0.94
Fructosa	g	-	0.97
<i>Minerales</i>			
Calcio, Ca	mg	47	22
Hierro, Fe	mg	0.73	0.42
Magnesio, Mg	mg	21	15
Fosforo, P	mg	66	44
Potasio, K	mg	316	299
Sodio, Na	mg	33	30
Zinc, Zn	mg	0.41	0.27
Cobre, Cu	mg	0.05	-
Manganeso, Mn	mg	0.21	0.15
<i>Vitaminas</i>			
Vitamina C	mg	89.2	48.2
Tiamina	mg	-	0.05
Riboflavina	mg	0.12	0.06
Niacina	mg	0.64	0.51
Ácido pantoténico	mg	0.57	0.67
Piridoxina	mg	0.18	0.18
Folato	µg	63	57
Colina	mg	18.70	44.30
Vitamina A	µg	31	-
Vitamina E	mg	0.78	-
Vitamina K	µg	101.60	15.50

Adaptado de (USDA, 2015).

### 2.3 Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos son definidos como sustancias esenciales y no esenciales que se producen en la naturaleza y se encuentran presentes en los alimentos. Estos compuestos han demostrado poseer efectos benéficos para la

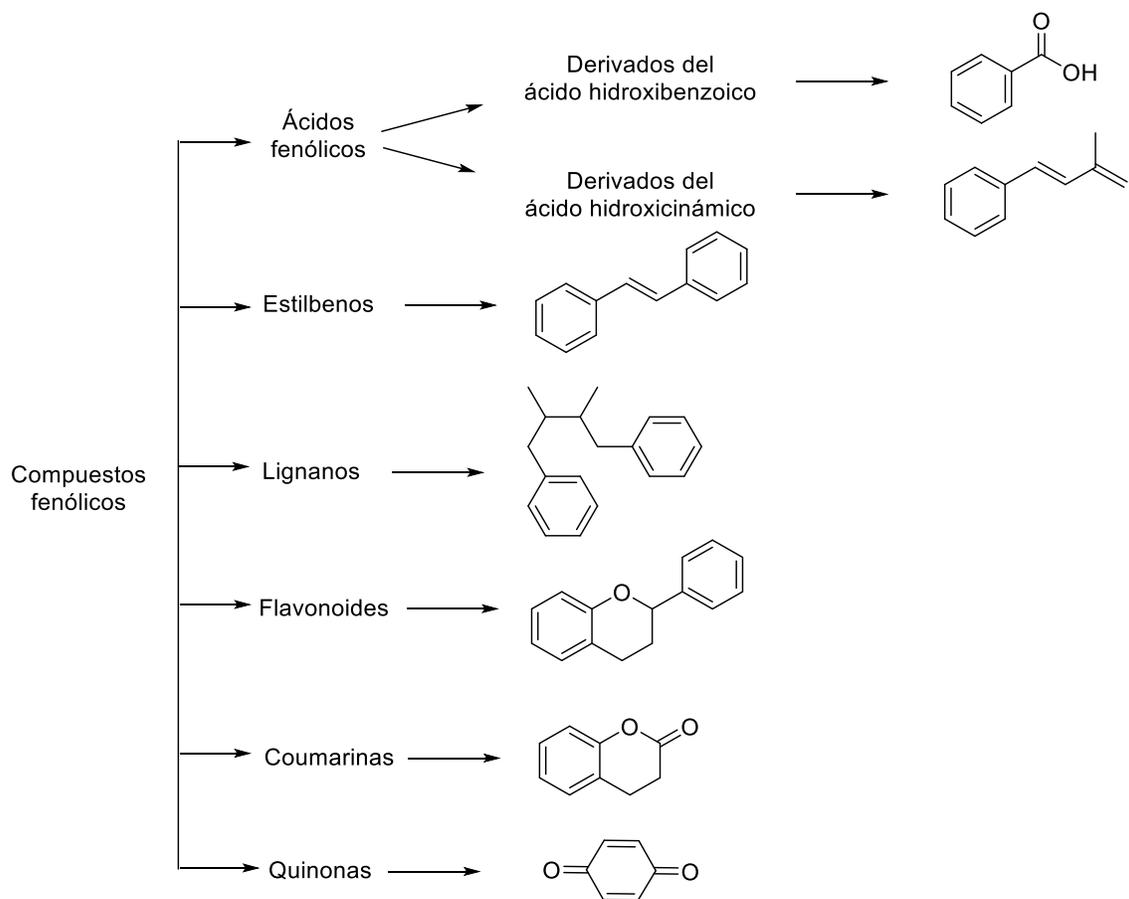
salud en la prevención de enfermedades crónicas degenerativas, tales como: obesidad, diabetes, algunos tipos de cánceres y enfermedades cardiovasculares. (Biesalski et al., 2009).

Entre los compuestos bioactivos más estudiados se encuentran los antioxidantes como los compuestos fenólicos, los carotenoides y las vitaminas A, C y E. Su consumo está asociado al retraso en la aparición de enfermedades crónicas, siendo los grupos de compuestos fenólicos los más difundidos en las hortalizas (Biesalski et al., 2009; Rietjens et al., 2002).

La tecnología actual permite extraer los ingredientes activos de los productos naturales (vitaminas, minerales, terpenos, compuestos fenólicos y alcaloides) con el fin de concentrarlos y purificarlos de manera óptima para el consumo humano. La concentración de compuestos bioactivos depende de las diferentes especies de plantas, las técnicas de cultivo y los procedimientos tecnológicos utilizados para el procesamiento de la materia prima (Pérez-Leonard & Heidy, 2006). La concentración de compuestos químicos depende también de la naturaleza química de los compuestos que se desea concentrar.

#### **2.4 Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos cubren un extenso grupo de metabolitos secundarios de las plantas, entre los más representativos se pueden encontrar a los ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, estilbenos y lignanos (Figura 1). Todos ellos contribuyen al sabor y color final de las hortalizas, adicionándolos de potentes propiedades antioxidantes y antimicrobianas con el fin de protegerse en estadíos de estrés (Perla, Holm, & Jayanty, 2012).



**Figura 1.** Estructura y clasificación general de los compuestos fenólicos; adaptado de (Quiñones et al., 2012; Shao & Bao, 2015; Wollgast & Anklam, 2000).

De forma general, se cuenta con más de ocho mil variantes dentro de las clases y subclases de compuestos fenólicos dependiendo del número de anillos fenólicos con los que cuenta y las estructuras químicas que presentan (Huang, Cai, & Zhang, 2010).

La clasificación de los compuestos fenólicos se realiza con base en el número de subunidades del fenol, ocupando dos agrupaciones básicas, los fenoles y los polifenoles (aquellos que contienen al menos dos anillos fenólicos). Dentro de los fenoles simples se encuentran los ácidos fenólicos (Marinova, Ribarova, & Atanassova, 2005).

### **2.4.1 Ácidos fenólicos**

Los ácidos fenólicos poseen un único anillo aromático hidroxilado y un ácido carboxílico en su estructura. Se encuentran distribuidos prácticamente en todos los alimentos vegetales variando su concentración en la semilla, tallo, raíz y hoja (Mujica, Granito, & Soto, 2012).

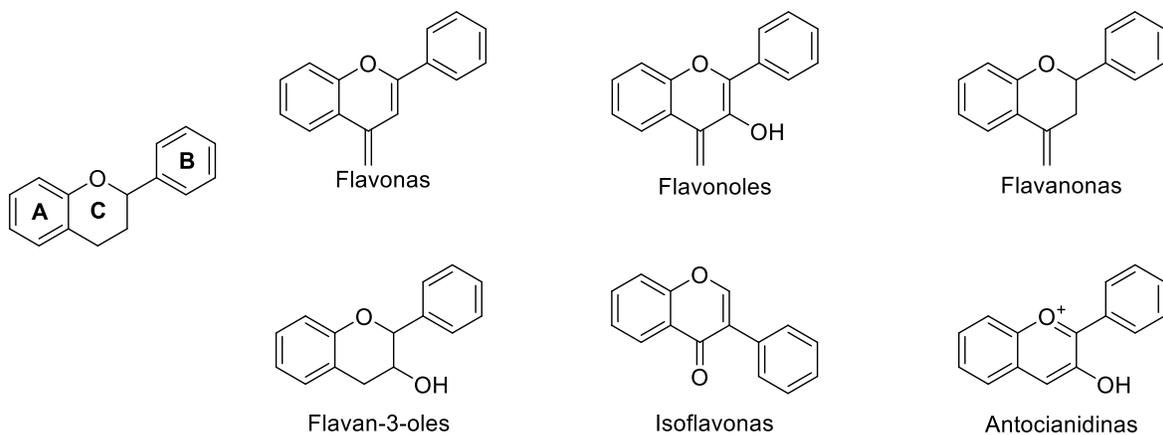
Estos compuestos son clasificados en dos subgrupos (Figura 1). Los derivados del ácido hidroxibenzoico incluyen a los ácidos gálico, *p*-hidroxibenzoico, protocatecuico, vanílico y siríngico. Por otra parte, los ácidos hidroxicinámicos están representados por los ácidos cafeico, ferúlico, *p*-coumárico y sinápico (Balasundram, Sundram, & Samman, 2006).

De manera general, se encuentran como ésteres solubles o insolubles, pueden estar unidos con azúcares simples o con un polisacárido, con otros fenoles, formando parte de taninos, con esteroides, gliceroides o con aminoácidos (Ho, Lee, & Huang, 1992).

### **2.4.2 Flavonoides**

Existen más de cinco mil flavonoides diferentes descritos en las plantas. Estos compuestos comprenden el grupo más representativo de los compuestos fenólicos y el más abundante en las plantas, proporcionando gran parte de su sabor y color.

Los flavonoides se clasifican en seis subclases principales: a) flavonas: siendo la apigenina y luteolina los más representativos, b) flavonoles: con la quercetina y miricetina, c) flavanonas: donde se encuentran la naringenina y la hesperidina, d) catequinas o flavan-3-oles: resaltando la epicatequina y galocatequina, e) isoflavonas: siendo la genisteína y la daidzeína las más representativas y f) antocianidinas, encontrándose la cianidina y pelargonidina. De igual forma que los ácidos fenólicos, la mayoría de los flavonoides se encuentran en forma conjugada y en muy pocas ocasiones se encuentra en su forma libre como aglicona (Balasundram et al., 2006; Marinova et al., 2005; Mujica et al., 2012).



**Figura 2.** Estructura general y clasificación de los flavonoides. Adaptado de (Oidor-Juárez, 2013).

Los flavonoides son metabolitos propios del reino vegetal, las fuentes ricas en estos compuestos son: frutas, hortalizas, raíces, tubérculos, especias, leguminosas, té, café, vino tinto, etc. La gran mayoría de los flavonoides y en general de los compuestos fenólicos, poseen actividad antioxidante sobre los radicales libres en el organismo, protegiendo de la oxidación al ADN, lípidos y proteínas. Debido a este efecto, se ha encontrado la asociación de estos compuestos con la disminución al riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y algunas variedades de cáncer (Atoui et al., 2005; Martínez-Valverde, Periago, & Ros, 2000).

#### **2.4.3 Propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos**

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) engloban a los radicales de oxígeno que funcionan como oxidante. En las células eucariotas, la generación de ROS es común al ser subproductos principales de su metabolismo (por ejemplo, el transporte de electrones), iniciando reacciones autocatalíticas, transformando a las moléculas con las que reacciona en radicales libres, aumentando su concentración, dañando material genético y estructuras celulares tanto lipídicas como proteicas, entrando en un estado de estrés oxidativo al producirse un desequilibrio entre la producción y la degradación de ROS. (Rahman, 2007).

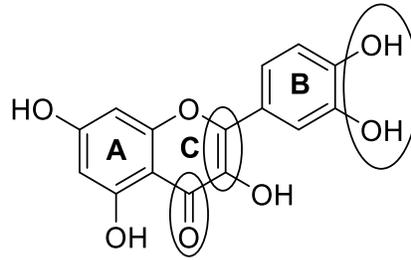
El deterioro oxidativo presente en células del cuerpo está relacionado con procesos degenerativos y de riesgo a padecer enfermedades como diabetes,

cardiovasculares y cáncer, teniendo como denominador común la formación de radicales libres involucrando a las moléculas biológicas en un proceso oxidativo constante. De esta forma, los compuestos fenólicos son sensibles a la aceptación de electrones dando como resultado la estabilidad de los radicales, concluyendo de esta forma el ciclo de oxidación de las moléculas biológicas y celulares (Scalbert, Manach, Morand, Rémésy, & Jiménez, 2005).

Dentro de las propiedades más destacables de los compuestos fenólicos son su actividad antioxidante. Su alta susceptibilidad a ser oxidados y su capacidad quelante hacen que evite las reacciones de oxidación (Gimeno, 2004).

La capacidad de los compuestos fenólicos para actuar como antioxidantes en los sistemas biológicos fue identificada y descrita hace más de 80 años, sin embargo, la mayoría de estos compuestos antioxidante fueron ignorados hasta hace poco tiempo. Este repentino interés por los compuestos fenólicos se debe en gran medida a su amplia gama de actividades biológicas y farmacológicas, debido a su posible unión con polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, su capacidad de quelar iones metálicos (como el  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ), también catalizar el tráfico de electrones y eliminar los radicales libres, además de sus actividades antiviral, antimicrobiana, antialérgica, antitrombótica y antiinflamatoria (Martínez-Flórez, González-Gallego, Culebras, & Tuñón, 2002; Van Acker et al., 1996).

Dentro de los criterios que establecen la capacidad antioxidante de los flavonoides se encuentran: a) la presencia de estructura *O*-dihidroxi en el anillo B; la cual le confiere mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones, b) un doble enlace en conjunción con la función 4-oxo del anillo C y c) la presencia de los grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C, los cuales potencializan el efecto antioxidante (Figura 3). Con base en ello, la quercetina es el compuesto fenólico que mejor satisface estos criterios, siendo su capacidad antioxidante cinco veces mayor a la que presentan las vitaminas E y C (Martínez-Flórez et al., 2002; Rice-Evans, Miller, & Paganga, 1996).



**Figura 3.** Estructura química de la quercetina como ejemplo de criterios que establecen la capacidad antioxidante de los flavonoides. Adaptado de (Furia, Marino, & Russo, 2014) .

#### 2.4.4 Compuestos fenólicos en *Brassica oleracea*

Dentro de las hortalizas, el grupo de las crucíferas ha sido reconocido por su contenido de polifenoles. En el caso de la coliflor, Ahmed & Ali (2013) reportaron altas concentraciones de quercetina y ácido protocatecuico, seguido por el ácido clorogénico, kaempferol, ácido vanílico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico, y ácido cafeico en muestras crudas. De forma similar a la coliflor, en el brócoli los principales compuestos fenólicos reportados por Moreno, Carvajal, López-Berenguer, & García-Viguera (2006), fueron: ácidos fenólicos y glucósidos de la familia de kaempferol y quercetina.

Algunas bases de datos en línea como Phenol-Explorer y USDA recopilan información acerca del contenido de compuestos fenólicos en alimentos. Específicamente, Phenol-Explorer reporta las medias de los compuestos fenólicos identificados por cromatografía posterior a la liberación de la aglicona por hidrólisis. En brócoli (100 g) en estado crudo, se reportan concentraciones de 4.2 y 5.6 mg de quercetina y kaempferol, respectivamente y concentraciones menores de miricetina y luteolina. En el caso de la coliflor, la quercetina y el kaempferol son los compuestos más abundantes con 0.8 y 0.2 mg/100 g respectivamente, seguidos de apigenina (0.1 mg/100 g) y luteolina (0.07 mg/100 g) (Rothwell et al., 2013).

En la Tabla 3 se presenta el contenido de compuestos fenólicos que ha sido reportado en las hortalizas en estado fresco.

**Tabla 3.** Compuestos fenólicos en brócoli y coliflor crudos

Compuestos fenólicos (mg/ 100 g)		Coliflor	Brócoli
Polifenoles totales ( <i>Ensayo de Folin</i> )		81.7	198.5
Flavonoles	Kaempferol 3- <i>O</i> -glucósido	-	1.4
	Quercetina 3- <i>O</i> -glucósido	-	1.8
Ácidos hidroxibenzoicos	Ácido gálico	0.7	-
	Ácido siríngico	1.1	-
Ácidos hidroxicinámicos	Ácido clorogénico	0.1	1.8
	Ácido cafeico	0.1	-
	Ácido sinápico	4.2	-
<i>Después de la hidrólisis</i>			
Flavonas	Luteolina	0.07	0.8
	Apigenina	0.1	-
Flavonoles	Kaempferol	0.2	5.6
	Miricetina	0.01	0.06
	Quercetina	0.8	4.2

Adaptado de (USDA, 2015; Rothwell et al., 2013).

#### 2.4.5 Biodisponibilidad de los compuestos fenólicos

El grado de absorción de los compuestos fenólicos de la dieta es un tema importante que aún no ha sido estudiado por completo en relación con sus potenciales efectos para la salud, dependiendo estos últimos de la cantidad consumida y de su biodisponibilidad. La biodisponibilidad podría definirse como la tasa y extensión a la que un fármaco o sustancia administrada alcanza la circulación sistémica o los objetivos tisulares para ejercer una actividad dada. Parámetros tales como vía de administración, absorción y metabolismo de estas sustancias, entre otros, son los que ejercen influencia en su efectividad (de Souza, Casanova, & Costa, 2015; Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

En las últimas décadas, diversos estudios utilizando modelos animales y ensayos clínicos han demostrado que, en general, la mayoría de los compuestos fenólicos tienen una baja disponibilidad ya que han sido detectados en concentraciones muy bajas tanto en plasma como en tejidos (Cartea, Francisco, Soengas, & Velasco, 2011).

Los compuestos fenólicos se pueden presentar ya sea en forma libre o como compuestos conjugados. Es bien sabido que las propiedades estructurales de los polifenoles afectan la tasa y el grado de absorción en el intestino delgado y el colon de los humanos, así como la formación y presencia de metabolitos en plasma. En este sentido, la absorción, las funciones fisiológicas y la biodisponibilidad de los compuestos unidos a la pared celular de las plantas, difieren de aquellos que se encuentran de forma libre. La biodisponibilidad también varían entre los diferentes polifenoles, por lo que los compuestos fenólicos más abundantes de la dieta no son necesariamente aquéllos que poseen los mejores perfiles de biodisponibilidad, conduciendo a las concentraciones más altas de metabolitos activos en los tejidos diana (Carbonell-capella, Buniowska, Barba, Esteve, & Fr, 2014; Cartea et al., 2011).

Dos de los factores importantes a considerar son la solubilidad y la tasa de disolución de los compuestos. La solubilidad es importante para la biodisponibilidad oral porque sólo la sustancia disuelta puede ser absorbida a través del epitelio gastrointestinal. Por su parte, la velocidad de disolución debe tomarse en cuenta debido a que el tracto gastrointestinal tiene establecidos el ritmo y la motilidad, y mediante la vía oral, la dosis administrada de compuestos fenólicos tiene normalmente entre 4 y 6 horas para ser absorbida antes que la dosis restante sea considerada perdida o no absorbible. Por lo tanto, es deseable que los compuestos ingeridos se disuelvan de forma rápida. En el caso de los flavonoides, la solubilidad en agua no suele ser un impedimento importante para su absorción (Gao & Hu, 2011).

La biodisponibilidad de los glicósidos de flavonoides se lleva a cabo en el colon por la microflora intestinal. La acción de las enzimas glucosidasas rompe el enlace glucosídico y se piensa que los flavonoides se absorben en mínimas cantidades debido a que los restos de glucósidos de origen natural elevan la hidrofiliidad de las moléculas (Velderrain-Rodríguez et al., 2014). Las agliconas (flavonoides sin azúcar) pueden pasar eficientemente a través de la pared intestinal, sin embargo, los flavonoides rara vez se encuentran como agliconas en las plantas. Se ha

sugerido que el colon posee microflora intestinal que puede hidrolizar el enlace glicosídico, dando como resultado la aglicona, pero el proceso también degrada el compuesto. La aglicona puede ser absorbida en el intestino grueso debido a su lipofiliidad y luego ser metaboliza en el hígado (Cartea et al., 2011).

Hasta la fecha, muchos estudios que analizan la biodisponibilidad de flavonoides han mostrado resultados contradictorios, lo que sugiere que la absorción de flavonoides depende de la variedad y posición de los grupos de azúcar unidos. La mayoría de la información actual acerca del metabolismo de estos compuestos ha sido obtenida a partir de estudios en animales experimentales, pero se dispone de pocos datos en seres humanos; es por este motivo que la fuente limitada de conocimiento sobre la absorción y el metabolismo de los flavonoides se ha generado mediante el estudio de los flavonoides aislados y los alimentos individuales.

#### **2.4.6 Análisis de compuestos fenólicos**

Aunado al creciente interés por los compuestos antioxidantes, actualmente numerosas investigaciones tienen como objetivo principal caracterizar y cuantificar estos compuestos en frutas y hortalizas. A la par, nuevas técnicas analíticas se desarrollan con la finalidad de mejorar estos análisis sin la necesidad de procesos prolongados en las muestras y con el fin de reducir las variaciones. Dichos análisis abarcan desde la cuantificación, la identificación de los compuestos fenólicos y la determinación de su actividad antioxidante.

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) puede ser empleada como herramienta para identificar la naturaleza química de los compuestos fenólicos presentes en los alimentos. Esta técnica permite el análisis simultáneo de diferentes tipos de compuestos, haciendo posible su comparación frente a diferentes tratamientos o estados de maduración en frutas y hortalizas (López-Hernández, A. A., Ortega-Villarreal, 2014).

#### **2.5 Técnicas de análisis de la capacidad antioxidante**

A diferencia de las técnicas de cuantificación del contenido de compuestos antioxidantes (como la cromatografía líquida de alta resolución), las técnicas

analíticas de la capacidad antioxidante de un alimento permiten mediante un ensayo controlado, determinar la acción de la protección antioxidante. Debido a la cuantificación indirecta de la capacidad antioxidante, ya sea por la transferencia de electrones (radical ABTS, radical DPPH y el potencial reductor férrico FRAP) o de protones (capacidad de absorción del radical oxígeno ORAC y potencial antioxidante reactivo total TRAP), es importante basarse en diferentes técnicas con el fin de no sobreestimar la actividad antioxidante (Orjuela Rodriguez, 2015).

### **2.5.1 Técnica de DPPH**

Se emplea el reactivo 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) el cual es un radical orgánico estable de coloración violeta. Esta técnica tiene como fundamento la reducción de DPPH por la acción de antioxidantes midiendo la pérdida de color del mismo con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm (Prior, Wu, & Schaich, 2005).

### **2.5.2 Técnica de ABTS**

Se emplea el radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) (ABTS) el cual presenta una coloración que va de verde a azul y constituye la base de uno de los métodos espectrofotométricos que se han aplicado a la medición de la actividad antioxidante. Se basa en la activación de metamioglobina con peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS para producir el catión radical, en presencia o ausencia de antioxidantes (Re et al., 1999).

### **2.5.3 Técnica de FRAP**

El ensayo del poder de reducción antioxidante de ión férrico (FRAP) se basa en la producción del complejo coloreado tripiridiltriazina-ferroso a pH bajo, el cual se mide a 593 nm, utilizando sulfato de hierro heptahidratado como estándar (Benzie & Strain, 1996).

## **2.6 Métodos de cocción de hortalizas**

La modificación del contenido nutricional de los alimentos debido a los procesos de cocción es de gran importancia para la ciencia de los alimentos, la nutrición y la salud (Gil, 2010).

Los métodos de cocción tradicionales o caseros se utilizan para mejorar la palatabilidad (cualidad de ser grato al paladar) del alimento, la inactivación de compuestos anti-nutricionales y la eliminación de sustancias tóxicas y microorganismos. A su vez, también se presentan modificaciones en la textura, el color y el sabor de los alimentos (Murador et al., 2015).

De manera general, los métodos de cocción se pueden clasificar en tres grupos, siendo las técnicas ideales para vegetales las que se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Métodos de cocción comunes en hortalizas

Método	Descripción	Tipo	Características
Calor y humedad	El calor se transfiere de mejor manera gracias al vapor, alcanzando temperaturas de 70 a 120 °C.	Hervido	Cocimiento sumergido en abundante líquido a una temperatura aproximada de 100 °C
		Al vapor	Cocción a temperatura aproximada de 100 °C en vapor con el alimento y el líquido de cocción completamente separados
		Microondas	Cocción por medio de ondas electromagnéticas (por fricción de las moléculas del agua), ya sea con o sin pequeñas cantidades de líquido adicional. Alcanza temperaturas de hasta 74 °C
Calor en seco	El calor es trasferido por el aire o grasa con temperaturas de 120 a 200 °C.	Salteado	Método de cocción en el cual el calor se conduce a través de una pequeña cantidad de grasa, en ellos el alimento se mantiene en movimiento constante y puede alcanzar hasta los 200 °C
		Asado	Cocimiento y dorado en la estufa u horno con o sin grasa agregada a una temperatura de 140 °C.
Fritura	Es el cocimiento dorando en aceite caliente de 140 a 190 °C.	Fritura	Dora alimentos crudos o preparados en grasa alcanzando una temperatura de 160 °C.

Adaptado de (United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, 2011; Villarreal, 2007).

### **2.6.1 Efectos de la cocción en las hortalizas**

Se entiende como procesos de cocción de alimentos a las prácticas culinarias realizadas en el hogar o industrial. Durante este proceso gran parte las vitaminas y de los minerales pasan al líquido de cocción (lixiviación), por lo cual, si este no se consume, se presentan pérdidas elevadas de nutrientes. Por otra parte, algunos nutrientes aumentan su biodisponibilidad (por inactivación de enzimas y proteínas que dificultan la absorción) y la digestibilidad de las proteínas y de los hidratos de carbono complejos. En los alimentos las proteínas son desnaturalizadas por efecto del calor, por lo cual altera su actividad en algunas de ellas. También tienen lugar reacciones de Maillard disminuyendo la biodisponibilidad de aminoácidos esenciales, en esta misma reacción se implican también pérdidas de hidratos de carbono (aunque suelen ser estables al calor). Por otra parte, los lípidos se oxidan con facilidad al ser sensibles a la luz, la temperatura y el oxígeno (Gil, 2010; Miglio et al., 2008).

Por este motivo, se considera que el consumo de las frutas y las hortalizas frescas o crudas aportan un mayor valor nutricional que las que son consumidas con técnicas previas de cocción. Es por esto que surge la importancia de la evaluación del efecto que ejercen las técnicas de cocción con el fin de preservar las propiedades antioxidantes deseables de los alimentos (Kamel, 2013).

Numerosas investigaciones han reportado que los procesos térmicos sobre las hortalizas pueden ser tanto positivos (aumento de la digestibilidad, eliminación de patógenos y factores antinutricionales) como negativos (pérdidas significativas de nutrientes si no se consume el líquido de cocción) sin llegar a conclusiones claras. Estas alteraciones están relacionadas dependiendo a la elección de las diferentes técnicas de cocción, así como de las características nutricionales y morfológicas de cada hortaliza, por lo cual existen distintos factores interviniendo en este fenómeno (Blessington et al., 2010; Cardoso et al., 2015; Chuah et al., 2008; Perla et al., 2012; Ramírez-Anaya et al., 2015; Turkmen, Sari, & Velioglu, 2005; Zhang & Hamauzu, 2004).

Rickman, Barrett, y Bruhn (2007) sugieren que puede existir una pérdida significativa de nutrientes como resultado de un proceso de lixiviación o de un tratamiento térmico como la esterilización, la pasteurización y la deshidratación.

### **2.6.2 Tratamiento térmico en compuestos fenólicos**

El estudio realizado por Lupano (2013) demostro que, frente a los tratamientos térmicos, los compuestos fenólicos (en especial los flavonoides) mantienen un comportamiento relativamente estable frente a la cocción por ebullición, manteniéndose de igual forma su actividad antioxidante en hortalizas como pimiento, calabaza, puerro, espinaca, brócoli, ajo y cebolla. Por otra parte, el estudio realizado por Murador et al. (2015) en col rizada y col roja mostró que la utilización de la técnica de cocción al vapor dio lugar a un aumento significativo (2.8 veces) en el contenido fenólico en la col rizada (86.1%;  $p < 0.001$ ) y su actividad antioxidante, mientras que en la col roja fue significativamente reducido bajo el mismo tratamiento (34.6%;  $p < 0.001$ ).

Douiri-Bedoui et al. (2011) analizaron el contenido de compuestos fenólicos en calabacitas crudas y cocidas mediante microondas, encontrando una notable disminución desde los primeros minutos de cocción. De igual forma, en estudios realizados en papa cocinada por hervido, microondas y al horno, se observaron importantes pérdidas de compuestos fenólicos, flavonoides, flavonoles, antocianinas, así como de su actividad antioxidante (Perla et al., 2012).

Recientemente, el estudio de Delgado-Flores (2015) concluyó que un tratamiento térmico corto (1 minutos) a 100 °C produce incrementos significativos ( $p < 0.05$ ) en el contenido de compuestos fenólicos en extractos de dos especies de perejil; por lo contrario, los tratamientos prolongados (15 a 30 minutos) ocasionaron una reducción en su contenido. Las antocianinas, por su parte, fueron degradadas , aunque en menor medida, como ocurre con las vitaminas al emplearse tratamientos de alta temperaturas y tiempos cortos (Im et al., 2011).

Actualmente, se desconoce si los cambios en el contenido de compuestos fenólicos (incrementos y/o disminuciones) se deben a la temperatura utilizada o al tiempo de

calentamiento. Tampoco se cuenta con datos concretos acerca de cuál es la concentración de estos compuestos que permanece en el líquido de cocción, ni si el tratamiento térmico modifica la proporción de los flavonoides que se encuentran en forma conjugada (como glicósidos) o como agliconas y por lo tanto la biodisponibilidad de los mismos. Asimismo, existe poca información entre el contenido de los compuestos bioactivos y el efecto antioxidante en los diferentes tiempos de tratamiento térmico entre muestras de brócoli y coliflor, específicamente.

Por todo lo anterior, en este trabajo de investigación se propone el análisis de tres métodos de cocción empleando una cinética de diferentes tiempos, para dilucidar las incógnitas existentes y ampliar el panorama, con el fin de conocer si existe un tratamiento térmico específico en el que se logre obtener la mayor concentración de compuestos fenólicos y la mayor actividad antioxidante.

### **III. HIPÓTESIS**

Tiempos de cocción cortos (menores a 3 minutos) aumentan la concentración y actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de brócoli y coliflor, los cuales disminuyen con cocciones prolongadas (mayores a 10 min).

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Analizar el efecto de tres métodos de cocción a diferentes tiempos sobre el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) y coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*).

### 4.2 Objetivos específicos

- Determinar la concentración de compuestos fenólicos presentes en extractos de brócoli y coliflor crudos.
- Identificar y cuantificar los compuestos fenólicos presentes en el brócoli y coliflor sometidos a distintos métodos de cocción a diferentes tiempos.
- Determinar el efecto de los tratamientos térmicos de los métodos de cocción (hervido, al vapor y microondas) en la hidrólisis de los compuestos fenólicos conjugados y su consecuente liberación de las agliconas correspondientes.
- Evaluar la actividad antioxidante en extractos de brócoli y coliflor crudos y cocidos a diferentes tiempos.
- Comparar el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de extractos de brócoli y coliflor crudos y sometidos a diferentes tiempos y métodos de cocción.

## V. METODOLOGIA

### 5.1 Diseño del estudio

La presente investigación es un estudio analítico, descriptivo, experimental.

#### 5.1.1 Esquema general de trabajo

Se analizaron muestras de crucíferas (brócoli y coliflor) de manera fresca y sometida a diferentes tratamientos de cocción casera: hervido (agua destilada a 100 °C), al vapor y microondas (600 W), realizando una cinética de cocción a los minutos 1, 3, 5 y 10, siendo las muestras frescas el control (tiempo 0 minutos). En la Figura 4 se presenta el esquema general metodológico para los tratamientos realizados y las determinaciones en los extractos de los diferentes métodos de cocción.

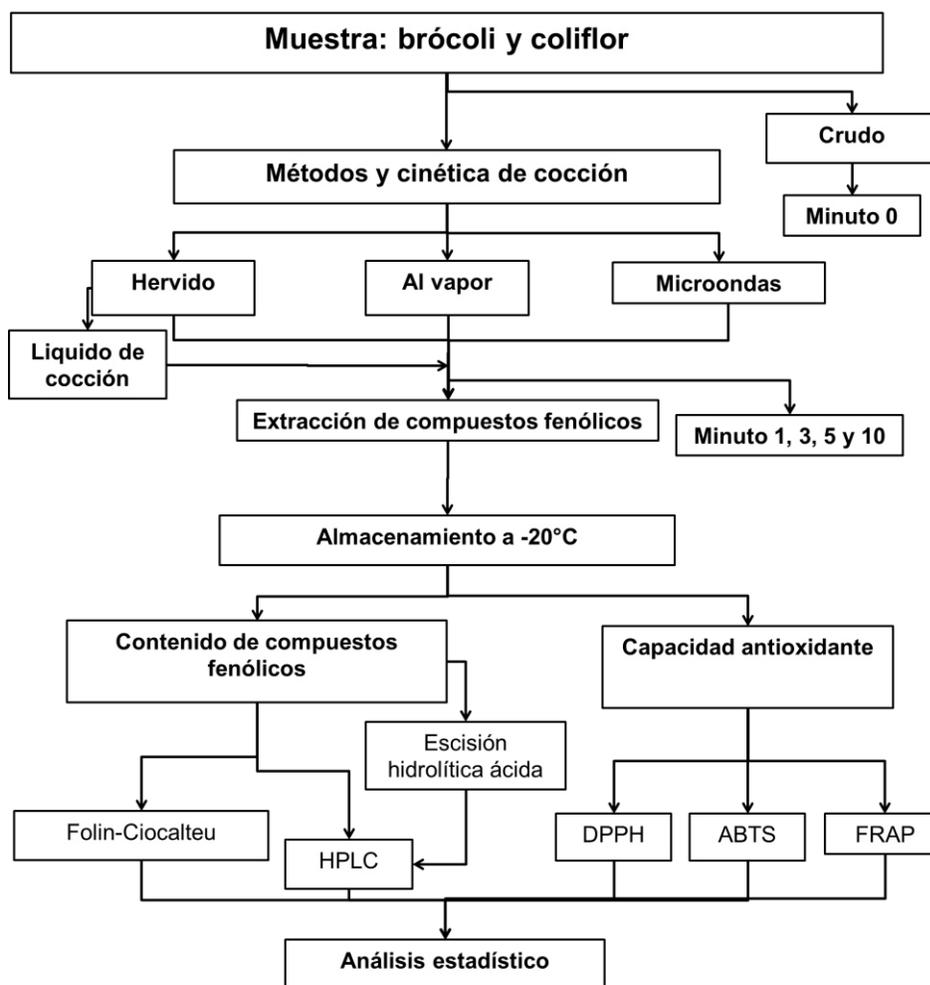


Figura 4. Esquema general metodológico

### **5.1.2 Material biológico**

Los materiales biológicos de estudio fueron brócoli (*Brassica oleracea* var. *itálica*) y coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) de procedencia nacional, las cuales se obtuvieron en un supermercado del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México.

## **5.2 Procedimiento**

### **5.2.1 Métodos de cocción**

Las muestras vegetales fueron lavadas y cortadas previo a su cocción. Todos los procedimientos de cocción se realizaron en tres muestras independientes por triplicado.

### **5.2.2 Hervido**

Se colocaron las especies vegetales en ebullición utilizando agua potable guardando una proporción de 1:15 vegetal/agua y se tomaron alícuotas del líquido de cocción a los diferentes tiempos. El tiempo de cocción fue tomado a partir de que las muestras fueron colocadas en el agua hirviendo.

### **5.2.3 Al vapor**

La cocción se realizó en una olla vaporera de acero inoxidable con agua hirviendo. El material vegetal quedó suspendido sin tocar directamente el agua, el tiempo de cocción se tomó al colocar las muestras en contacto con el vapor.

### **5.2.4 Microondas**

El material vegetal fue colocado sobre un recipiente cubierto con plástico. Se utilizó un horno de microondas de uso doméstico con una potencia de 600 W y se programaron los tiempos de cocción a los minutos 1, 3 y 5.

### **5.2.5 Cinética**

Se utilizaron los minutos 0, 1, 3, 5 y 10 como tiempos de cocción, considerando el minuto 0 cuando la hortaliza, se encontraban cruda o fresca (no sometida a cocción). Se tomó la temperatura y se detuvo la cocción de las muestras vegetales a los tiempos ya descritos, colocándolas sobre hielo. Todas las muestras frescas y

aquellas sometidas a los procesos de cocción se almacenaron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  previo a su extracción.

### **5.3 Obtención de extractos**

Todos los reactivos utilizados el análisis experimental fueron grado analítico. Los compuestos fenólicos se obtuvieron siguiendo una adaptación al método descrito por Saura-Calixto (1998), modificado por Ramírez-Anaya et al., (2015), realizando extracciones secuenciales de 10 g de muestra (1:3 p/v) utilizando metanol/agua (70:30 v/v) y macerando durante 12 horas a 250 rpm. La mezcla se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos y el sobrenadante fue recuperado. Se repitió la maceración del residuo utilizando acetona/agua (80:20 v/v) y se combinaron los sobrenadantes y la mezcla fue aforada a 50 mL con metanol. El extracto obtenido se almacenó a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . En el caso del método de hervido, las alícuotas del líquido de cocción fueron liofilizadas y se almacenaron de igual forma para su posterior análisis (no mayor a 7 días).

### **5.4 Contenido de compuestos fenólicos**

#### **5.4.1 Contenido de polifenoles totales**

El contenido de polifenoles totales fue determinado mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton, Orthofer y Lamuela-Raventós, (1998) y Lamien-Meda et al.,(2008) con algunas adaptaciones.

El ensayo consistió en la adición de 2.5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu a 0.2 N a 500  $\mu\text{L}$  del extracto vegetal, dejando reposar durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron 2 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7.5%. Las muestras se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 120 minutos, evitando el contacto con la luz. Transcurrido el tiempo, se determinó la absorbancia a 760 nm. El contenido de polifenoles totales se expresó como equivalentes de ácido gálico por gramo de peso fresco (mg GAE/ 100 g) y fue obtenido mediante una curva de calibración de ácido gálico (de 0 a 200 mg/L).

#### **5.4.2 Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC**

Las muestras de los extractos fueron analizadas sin hidrolizar (para cuantificar los compuestos fenólicos en forma de glicósidos) y posterior a la hidrólisis (para cuantificar las agliconas).

##### **5.4.2.1 Escisión hidrolítica de glicósidos de polifenoles**

Previo a su análisis por HPLC se realizó una hidrólisis ácida de los compuestos fenólicos (tanto a la materia vegetal como al líquido de cocción) con el fin de liberar la aglicona, siguiendo la metodología reportada por Taga, Miller, & Pratt, (1984) con algunas modificaciones. Se tomaron alícuotas de 5 mL de extracto agregando 7 mL de HCl-metanol 5 M. Las muestras fueron cerradas herméticamente y calentadas a 100° C durante 45 minutos. Posteriormente, se añadieron 7 mL de agua y se agitó durante 60 segundos. La hidrólisis se llevó a cabo utilizando un embudo de separación y realizando lavados por cuatro ocasiones utilizando 3 mL de éter dietílico en cada una de ellas. La fase acuosa fue descartada y las fases etéreas fueron combinadas y llevadas a sequedad. Por último, el residuo fue resuspendido en 1 mL de metanol 70% grado HPLC para su posterior análisis en las siguientes 24 horas.

##### **5.4.2.2 Análisis por HPLC**

El análisis se realizó en un equipo de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) de la marca Thermo Scientific Spectra System provisto con detector UV/visible fijado en 270 y 354 nm y se utilizó una columna Acclaim 120 C18 (250 mm x 4.6 mm x 5 µm) Thermo Scientific.

Se utilizó la técnica descrita por Wang et al. (2011) con algunas modificaciones y se realizaron nueve curvas de calibración (de 0 a 0.2 mg/mL) con los estándares: ácido galico, ácido cafeico, ácido clorogénico, miricetina, luteolina, kaempferol, apigenina, quercetina e isoquercitrina (quercetina-3-O-β-D-glicósido), grado HPLC (Sigma-Aldrich).

La fase móvil constó de los componentes: A) acetonitrilo 3% + ácido acético 0.5%; B) acetonitrilo 50% + ácido acético 0.5% con un gradiente de elución de: 79% a 55%

del componente A en 10 min, de 55% a 20% en los siguientes 11 min, manteniéndose isocrático por 8 minutos y de 20% a 79% en 5 min. Se utilizó un flujo de 1 ml/min y se inyectaron 20  $\mu$ L por muestra.

## **5.5 Actividad antioxidante**

### **5.5.1 Técnica de DPPH**

Una de las técnicas para determinar la actividad antioxidante fue, el método de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) descrito por primera vez por Brand-Williams, Cuvelier, y Berset (1995) adaptado por Zou, Chang, Gu, & Qian (2011) con ligeras modificaciones, las cuales se describen a continuación. El ensayo se llevó a cabo empleando microplacas. La mezcla de reacción consistió en 190  $\mu$ L de DPPH (0.1 mM en metanol) con 10  $\mu$ L de muestra. Se agitó y se dejó durante 60 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Transcurrido el tiempo, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm.

Se realizaron curvas de calibración de Trolox (0 a 1000  $\mu$ M) expresando los resultados como micromol de equivalente de Trolox (TE) por gramo ( $\mu$ mol TE/g).

### **5.5.2 Técnica de ABTS**

La técnica se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Re et al. (1999) y modificada por Nenadis, Wang, Tsimidou, & Zhang, (2004) y Loubet-González, (2010). La solución ABTS<sup>•+</sup> (radical ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) fue preparada al reaccionar 5 mL de una solución acuosa de ABTS 7 mM con 88  $\mu$ L de persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ) 140 mM (2.45 mM de concentración final), posteriormente fue almacenada en oscuridad durante 16 h, y fue diluida con etanol hasta obtener un valor inicial de absorbancia de  $0.7 \pm 0.05$  a una longitud de onda de 734 nm. La determinación se realizó tomando una alícuota 20  $\mu$ L de muestra y se mezcló con 230  $\mu$ L de la solución del radical ABTS<sup>•+</sup>. Se preparó una curva de calibración con Trolox (0 a 1000  $\mu$ M) y los resultados fueron expresados como  $\mu$ mol equivalentes de Trolox/gramo.

### **5.5.3 Técnica de FRAP**

El ensayo se realizó siguiendo la metodología descrita previamente por (Benzie & Strain (1996) y modificada por Zou et al.,(2011). El reactivo FRAP se preparó mezclando (10:1:1) de buffer de acetatos (250 mM a pH 3.6), 10 mM de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) en HCl 40 mM y 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , respectivamente.

Se empleó una microplaca en la cual se mezclaron 10  $\mu\text{L}$  de muestra, 30  $\mu\text{L}$  de agua deionizada y 260  $\mu\text{L}$  del reactivo FRAP recién preparado. Esta mezcla se incubó a 37 °C por 10 minutos y posteriormente se analizó la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm.

Los resultados fueron expresados como  $\mu\text{mol}$  de  $\text{Fe}^{2+}$  equivalentes por gramo de muestra, mediante una curva de calibración usando  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  como estándar (a concentraciones de 0 a 2000  $\mu\text{M}$ ).

### **5.6 Análisis estadístico**

El análisis de los datos se llevó a cabo utilizando estadística descriptiva y medidas de tendencia central como media y medidas de dispersión como desviación estándar. Todos los experimentos y tratamientos fueron evaluados en tres lotes independientes por triplicado.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor a los datos obtenidos con un nivel de significancia de 0.05, comprobando el cumplimiento de los supuestos (normalidad, homocedasticidad y aleatoriedad de muestras independientes); De igual forma, se utilizó la prueba post-hoc de Tukey para probar la diferencia de las medias de los tratamientos. La técnica no paramétrica Kruskal-Wallis fue utilizada para algunas muestras al no cumplirse la normalidad. El análisis de correlación entre variables (compuestos fenólicos y actividad antioxidante) fue evaluado mediante una prueba de correlación de Pearson empleando un nivel de significancia de 0.01.

Los análisis fueron realizados utilizando el programa Microsoft Excel 2010 y el programa estadístico informático SPSS versión 20.

## VI. RESULTADOS

### 6.1. Métodos de cocción

Las muestras de brócoli y coliflor fueron sometidas a tres métodos de cocción casera (microondas, al vapor y hervido) en los minutos 1, 3, 5 y 10, analizando tres muestras vegetales independientes por triplicado.

La medición de la temperatura interna de los alimentos en los diferentes métodos y tiempos de cocción se presentan en la tabla 5. Se observó que el método de hervido alcanzó la mayor temperatura en ambas hortalizas.

**Tabla 5.** Temperatura interna en los tiempos y métodos de cocción (° C).

	<b>Método</b>	<b>1 min</b>	<b>3 min</b>	<b>5 min</b>	<b>10 min</b>
<b>Brócoli</b> (22.2 ± 0.8 en crudo)	Microondas	57.8 ± 1.3	58.6 ± 1.3	57.3 ± 1.7	-
	Vapor	55.8 ± 1.3	59.2 ± 0.8	61.5 ± 1.7	64.1 ± 1.2
	Hervido	71.2 ± 1.6	77.0 ± 0.6	78.6 ± 0.7	80.2 ± 1.1
<b>Coliflor</b> (22.1 ± 1.0 en crudo)	Microondas	62.8 ± 0.7	58.4 ± 0.7	55.5 ± 0.7	-
	Vapor	65.5 ± 0.9	68.5 ± 0.8	75.5 ± 1.0	76.4 ± 1.2
	Hervido	70.4 ± 1.0	79.4 ± 0.9	80.1 ± 0.9	81.2 ± 1.0

Todos los valores son expresados como media ± DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado.

### 6.2. Obtención de extractos del líquido de cocción

Posterior a la cocción por el método de hervido, el líquido de cocción fue recuperado, congelado y posteriormente fue liofilizado. En la tabla 6 se presentan el peso y el rendimiento del líquido de cocción, siendo el brócoli la hortaliza con el mayor contenido de residuo liofilizado, en comparación con la coliflor.

En ambas hortalizas se observó que al incrementar el tiempo de hervido se incrementó el contenido de sólidos disueltos en el líquido de cocción, observado como un mayor rendimiento del liofilizado.

**Tabla 6.** Rendimiento del líquido de cocción

Tiempo de cocción	Residuo liofilizado (g) en 150 mL de agua	Rendimiento (%)	
<b>Brócoli</b>	<b>1 min</b>	0.03 ± 0.01	0.27
	<b>3 min</b>	0.07 ± 0.01	0.69
	<b>5 min</b>	0.17 ± 0.02	1.73
	<b>10 min</b>	0.16 ± 0.04	1.56
<b>Coliflor</b>	<b>1 min</b>	0.02 ± 0.01	0.15
	<b>3 min</b>	0.05 ± 0.01	0.46
	<b>5 min</b>	0.07 ± 0.02	0.65
	<b>10 min</b>	0.08 ± 0.01	0.81

Todos los valores son expresados como media ± DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado.

### 6.3. Contenido de compuestos fenólicos

#### 6.3.1. Contenido de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales fue expresado como miligramos equivalentes de ácido gálico por cien gramos de muestra fresca (mg GAE/ 100 g). En la tabla 7 se presenta el contenido de estos compuestos en los diferentes métodos y tiempos de cocción, en donde se observó que el brócoli obtuvo la mayor concentración de polifenoles totales en comparación con la coliflor; el método de microondas a los 5 minutos fue el tratamiento que presentó la mayor concentración con 185.8 y 122.2 mg GAE/ 100 g para brócoli y coliflor, respectivamente. Por otra parte, en el método de hervido a los 10 minutos se observó la mayor disminución con 67.9 y 66.3 mg GAE/ 100 g para brócoli y coliflor, respectivamente. Los líquidos de cocción a los 5 y 10 minutos presentaron el mayor contenido de polifenoles totales para brócoli y coliflor, respectivamente.

Asimismo, se observó que la cocción en microondas por 5 minutos produjo un aumento significativo en el contenido de polifenoles totales en un 10 y 48% para brócoli y coliflor, respectivamente. Por lo contrario, en el método de hervido durante 10 minutos se observó una disminución del 60 y 20% para brócoli y coliflor, respectivamente.

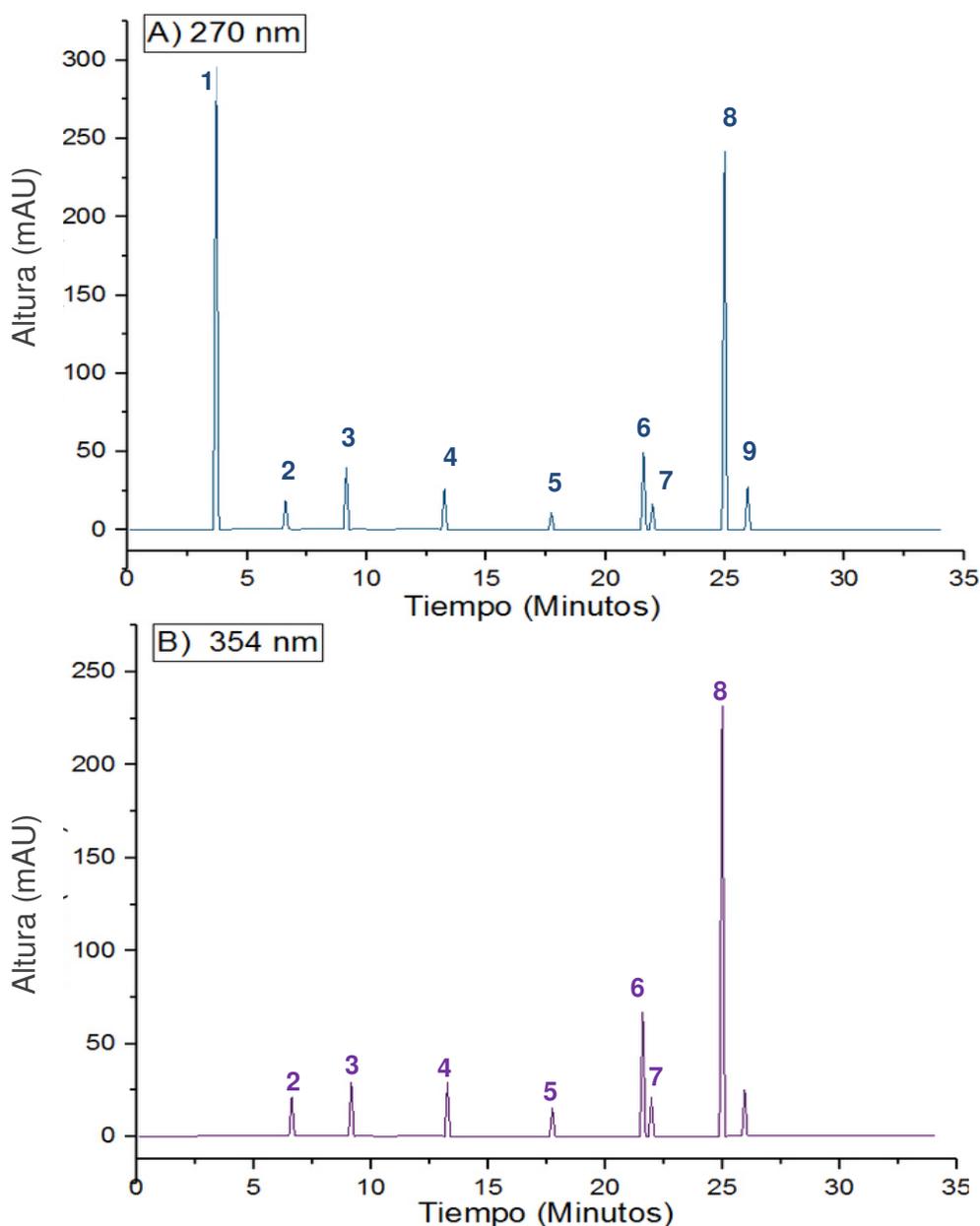
**Tabla 7.** Contenido de polifenoles totales

Método	Tiempo (min)	Brócoli (mg GAE/ 100 g)	Coliflor (mg GAE/ 100 g)
<b>Crudo</b>	0	169.6 ± 3.6 <sup>a</sup>	82.5 ± 1.8 <sup>a,b</sup>
	1	164.3 ± 13.8 <sup>a</sup>	112.6 ± 5.8 <sup>d</sup>
<b>Microondas</b>	3	178.4 ± 7.9 <sup>a,c</sup>	118.4 ± 7.0 <sup>d</sup>
	5	185.8 ± 9.5 <sup>c</sup>	122.2 ± 6.3 <sup>d</sup>
<b>Vapor</b>	1	170.2 ± 14.8 <sup>a</sup>	100.0 ± 6.1 <sup>c</sup>
	3	171.3 ± 10.8 <sup>a</sup>	100.4 ± 9.1 <sup>c</sup>
	5	154.2 ± 7.8 <sup>e</sup>	99.9 ± 6.7 <sup>c</sup>
	10	167.8 ± 13.9 <sup>a</sup>	119.9 ± 4.3 <sup>d</sup>
<b>Hervido</b>	1	139.3 ± 8.5 <sup>b</sup>	87.4 ± 5.7 <sup>a,b</sup>
	3	107.1 ± 13.8 <sup>d</sup>	82.8 ± 5.5 <sup>a,b</sup>
	5	72.1 ± 8.3 <sup>f</sup>	78.6 ± 4.3 <sup>a</sup>
	10	67.9 ± 10.9 <sup>f</sup>	66.3 ± 6.5 <sup>e</sup>
<b>Líquido de cocción de hervido</b>	1	1.3 ± 0.13 <sup>1</sup>	1.1 ± 0.10 <sup>1</sup>
	3	1.6 ± 0.11 <sup>1,2</sup>	1.2 ± 0.13 <sup>1</sup>
	5	1.6 ± 0.14 <sup>2</sup>	1.4 ± 0.14 <sup>2</sup>
	10	1.4 ± 0.16 <sup>1</sup>	1.6 ± 0.09 <sup>3</sup>

Todos los valores son expresados como media ± DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado. <sup>a-f</sup> Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ). <sup>1-3</sup> Números diferentes en la misma columna indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ).

### 6.3.2. Estandarización de la técnica cromatográfica

Siguiendo la metodología descrita anteriormente, se realizó la estandarización de la técnica cromatográfica para la identificación y cuantificación de 9 compuestos fenólicos presentes en brócoli y coliflor. En la figura 5 se presentan un cromatograma con los nueve estándares analizados mediante HPLC.



**Figura 5.** Cromatogramas de los estándares de compuestos fenólicos evaluados. A) cromatograma a 270 nm para la cuantificación de ácido gálico (1). B) cromatograma a 354 nm para la cuantificación de ácido clorogénico (2), ácido cafeico (3), isoquercitrina (quercetina-3-O-β-D-glucósido)(4), miricetina (5), luteolina (6), quercetina (7) apigenina (8), y kaempferol (9). \* mAU= mili unidades de absorbancia

En la Tabla 8 se presentan los parámetros de la estandarización del método, incluyendo el tiempo de retención (TR), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), los límites de detección (LD) y los límites de cuantificación (LC), de los diferentes estándares de compuestos fenólicos, analizando la linealidad de cada uno.

**Tabla 8.** Estandarización de la técnica cromatográfica para compuestos fenólicos

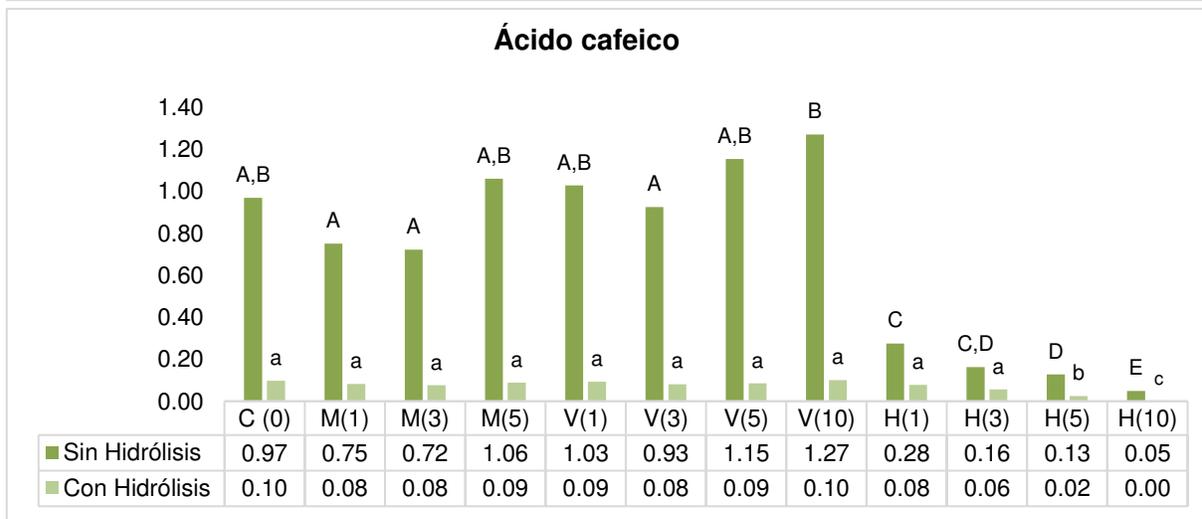
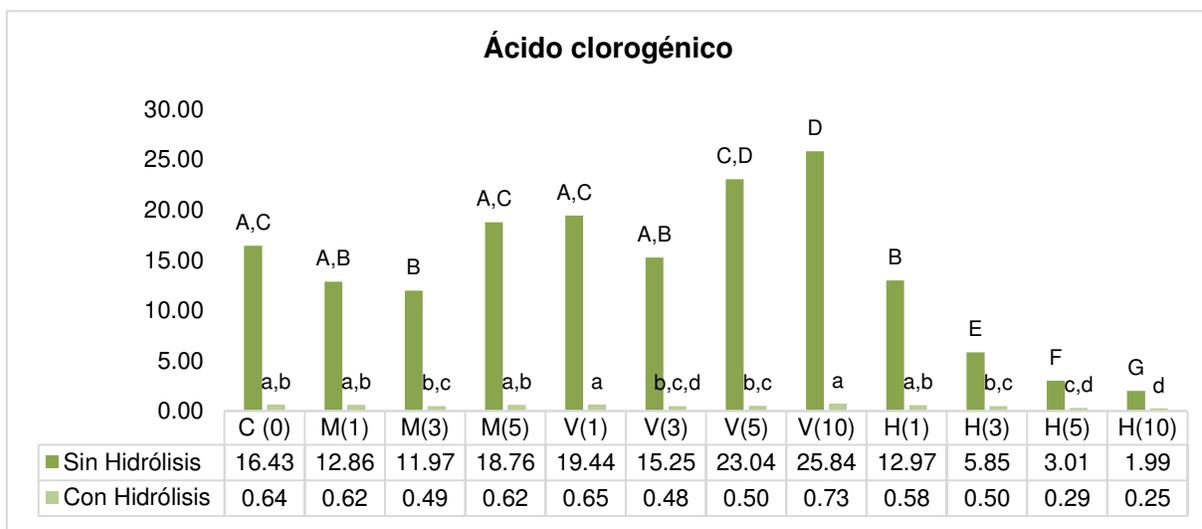
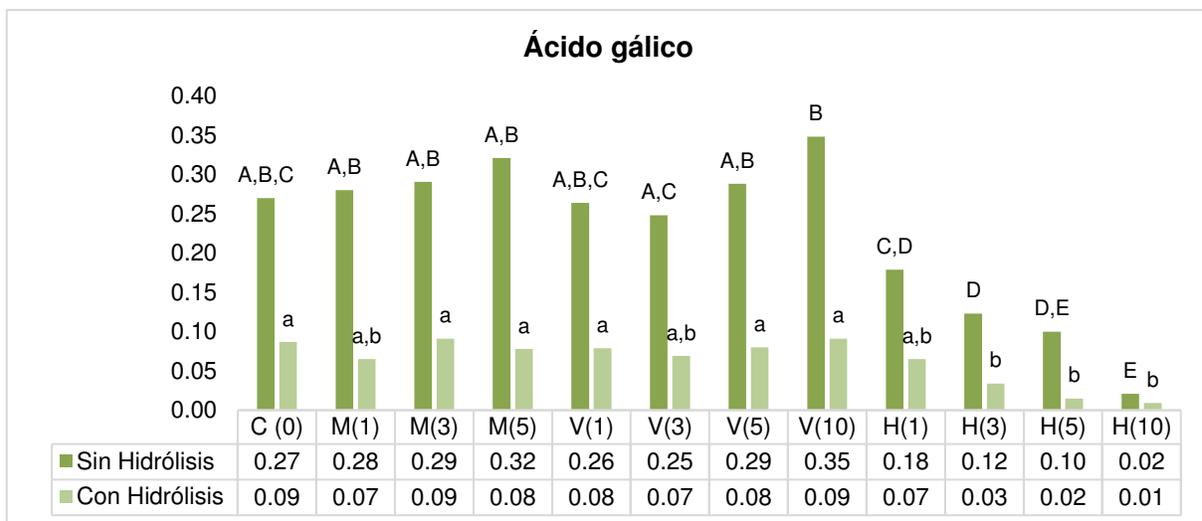
Estándar	TR (min)	r <sup>2</sup>	LD (mg/mL)	LC (mg/mL)
Ácido galico	3.75	0.9996	0.0001	0.002
Ácido clorogénico	6.64	0.9997	0.0006	0.003
Ácido cafeico	9.12	0.9983	0.0003	0.001
Isoquercitrina	13.12	0.9998	0.0002	0.004
Miricetina	17.68	0.9994	0.0002	0.002
Luteolina	21.58	0.9999	0.0005	0.003
Quercetina	22.01	0.9998	0.0001	0.001
Apigenina	24.96	0.9996	0.0007	0.005
Kaempferol	25.93	0.9986	0.0003	0.004

### 6.3.3. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC

El análisis de las muestras mediante HPLC se realizó antes y después del tratamiento de hidrólisis, determinando la presencia de compuestos fenólicos en forma libre (agliconas) y unidos a azúcares (glicósidos). En las figuras 6 y 7 se muestran los resultados del contenido de compuestos fenólicos antes y después del tratamiento de hidrólisis en las muestras de brócoli y coliflor, respectivamente.

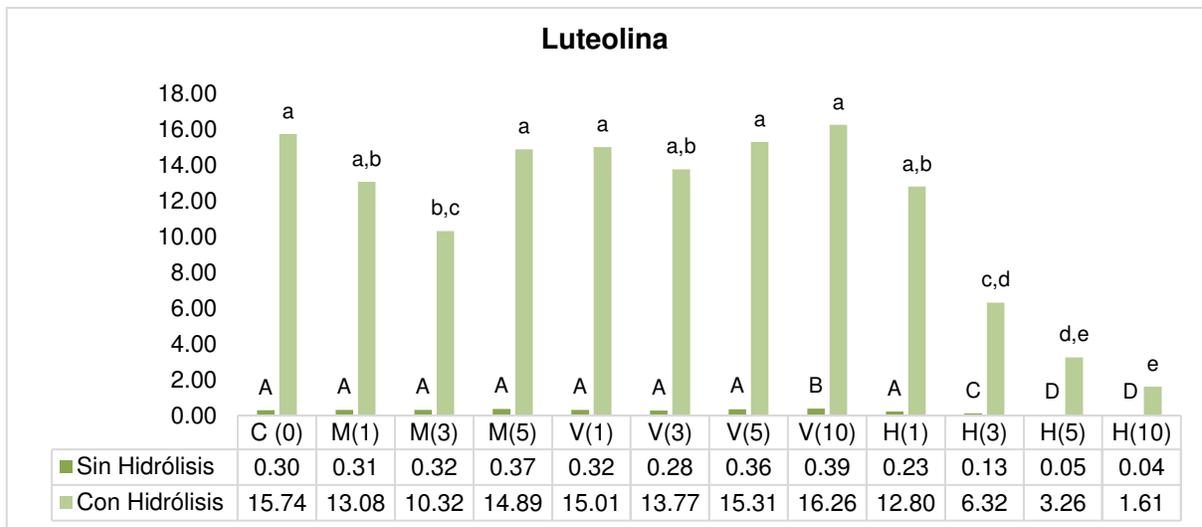
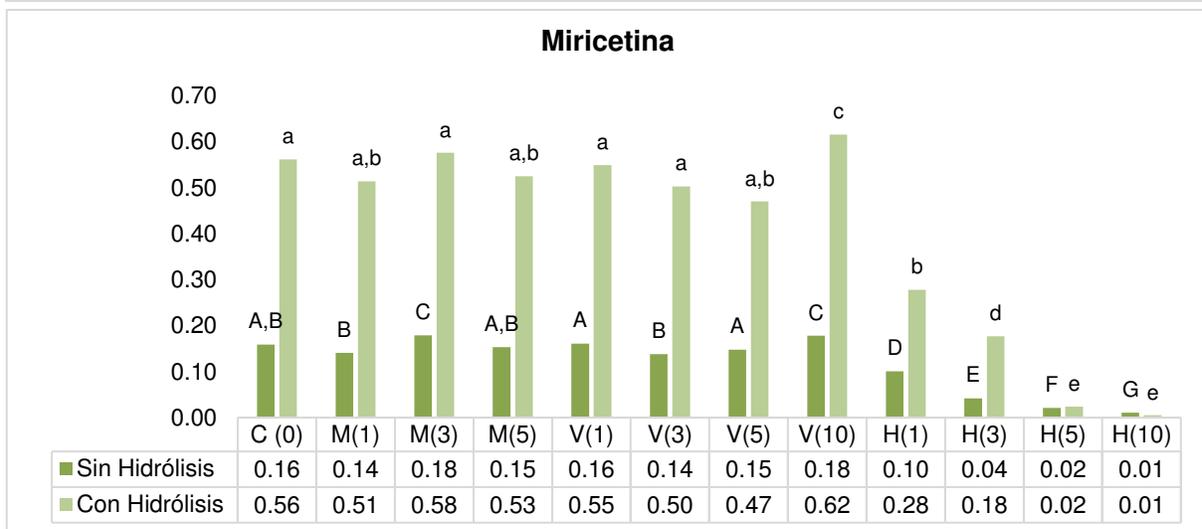
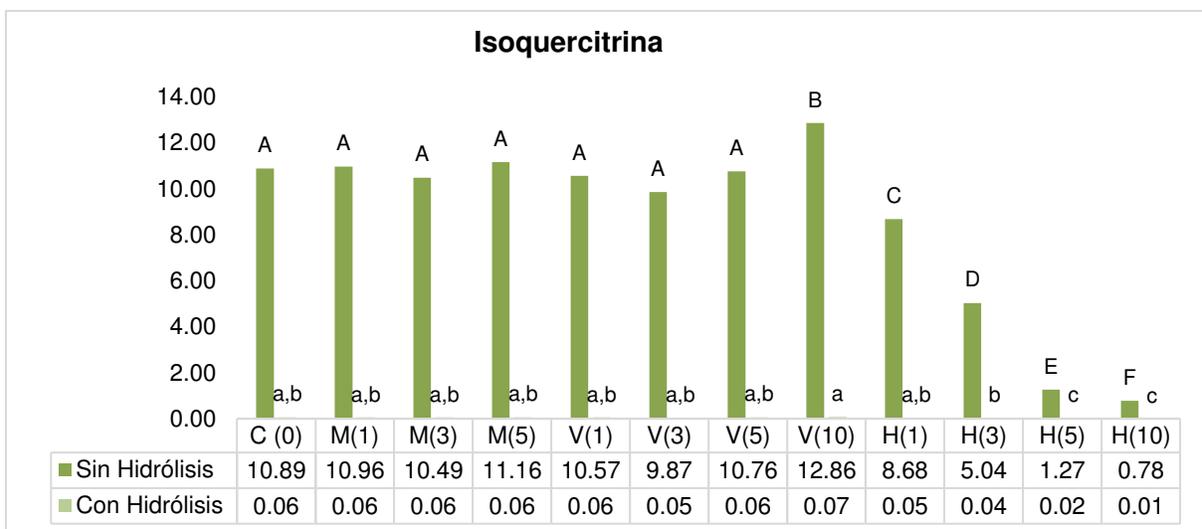
En ambas hortalizas, las mayores concentraciones de los ácidos gálico, clorogénico y cafeico y el conjugado isoquercitrina (quercetina-3-*O*- $\beta$ -D-glucósido), se observaron previo a la hidrólisis; por lo contrario, los flavonoides: miricetina, luteolina, quercetina, apigenina y kaempferol fueron cuantificados después de la hidrólisis, lo que indica que la mayor cantidad de estos compuestos se encontraba en forma conjugada.

En la figura 6 se presentan las gráficas comparativas de cada uno de los compuestos analizados en todos los métodos y tiempos de cocción de brócoli. El análisis estadístico realizado (ANOVA) permitió establecer diferencias significativas entre el tiempo y/o los tratamientos con respecto al control (brócoli sin cocción).



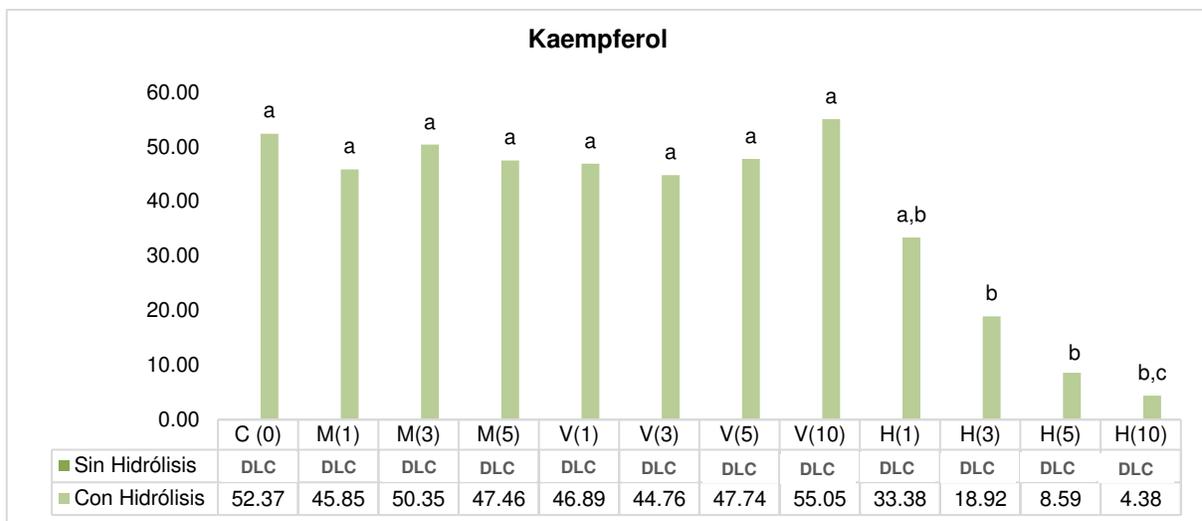
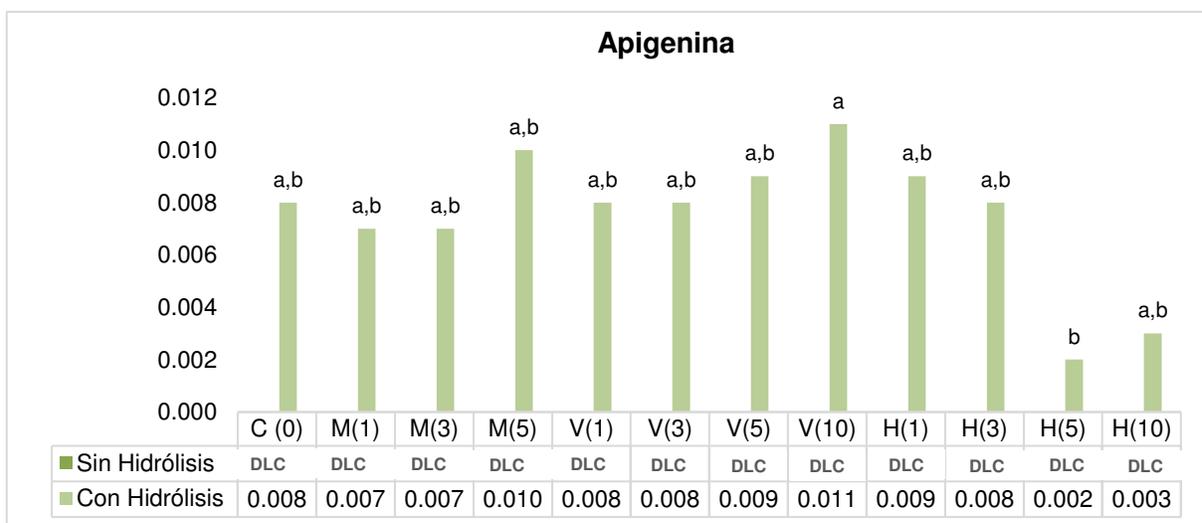
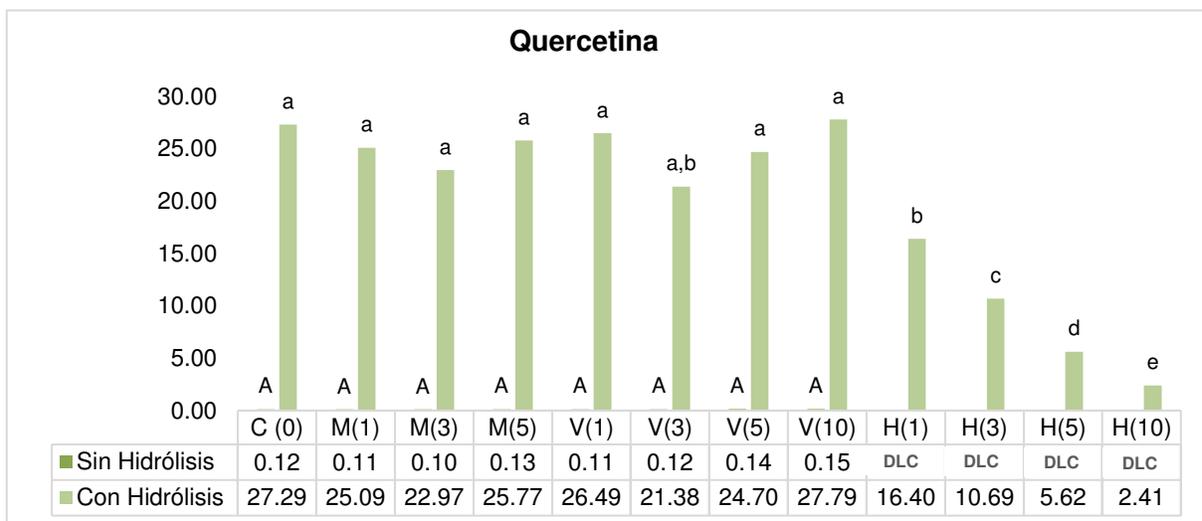
**Figura 6.** Contenido de compuestos fenólicos en brócoli (mg/Kg)

Todos los valores son expresados como media  $\pm$  DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado. <sup>a-f, A-F</sup> Letras diferentes en la misma gráfica indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ). DLC = debajo del límite de cuantificación.



**Figura 6.** Contenido de compuestos fenólicos en brócoli (mg /Kg) continuación...

Todos los valores son expresados como media  $\pm$  DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado. <sup>a-f, A-F</sup> Letras diferentes en la misma gráfica indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ). DLC = debajo del límite de cuantificación.



**Figura 6.** Contenido de compuestos fenólicos en brócoli (mg /Kg) continuación...

Todos los valores son expresados como media  $\pm$  DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado. <sup>a-f, A-F</sup> Letras diferentes en la misma gráfica indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ). DLC = debajo del límite de cuantificación.

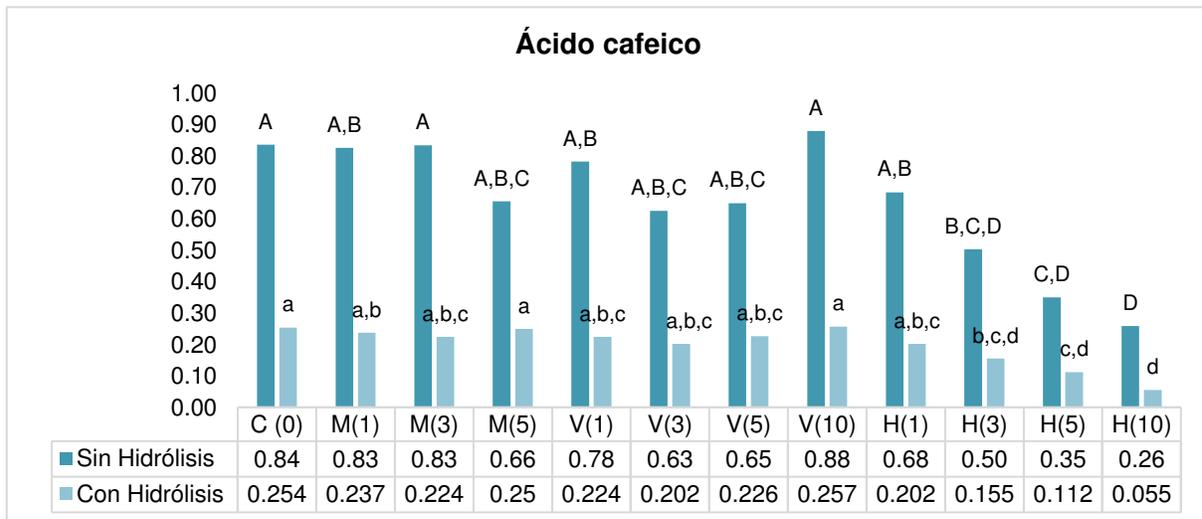
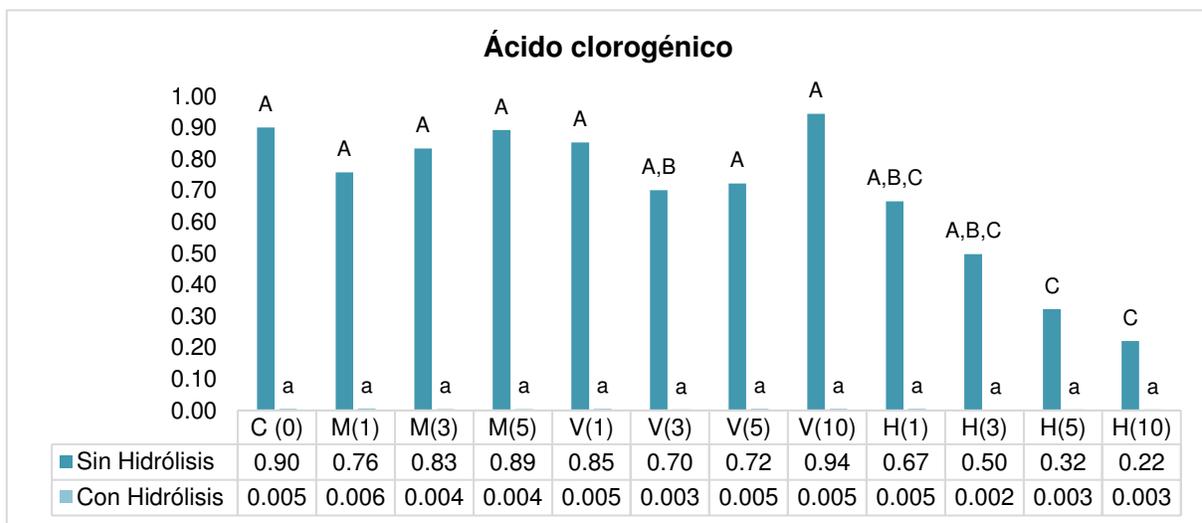
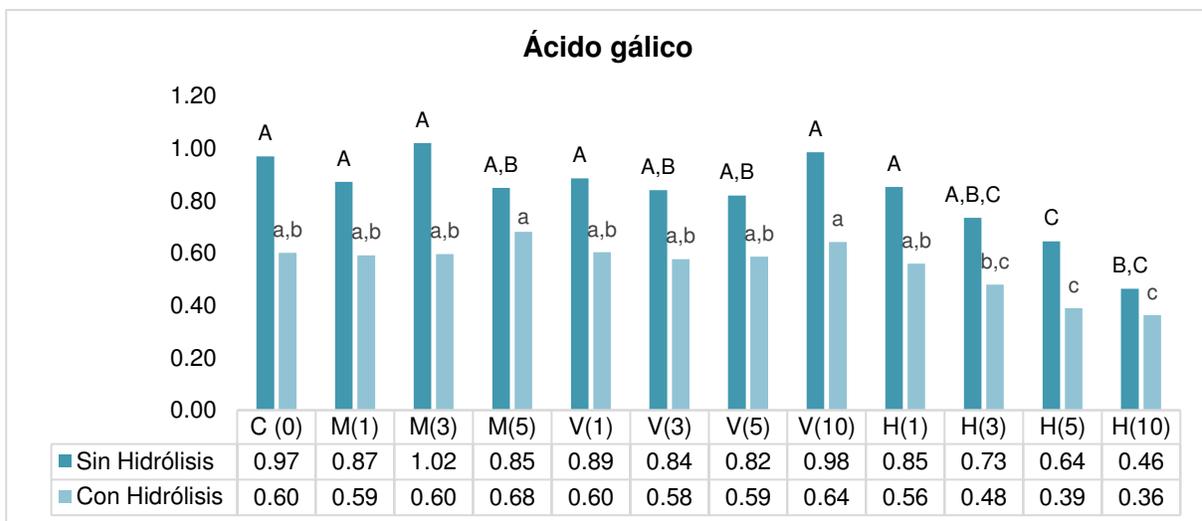
En el análisis de las muestras de brócoli **sin hidrolizar** se observó una disminución significativa en todos los compuestos al ser sometidos al método de hervido por 3 minutos. De igual forma, este comportamiento se presentó en las muestras hidrolizadas sometidas a hervido por 5 minutos, a excepción de la apigenina.

El contenido de ácido gálico y ácido cafeico en las muestras de brócoli **sin hidrolizar** y bajo el método de cocción al vapor por 10 minutos presentó un aumento sin alcanzar la significancia estadística, en este mismo método y tiempo de cocción, los compuestos: ácido clorogénico, isoquercitrina, miricetina y luteolina en las muestras sin hidrolizar presentaron un aumento significativo del 57, 18, 12 y 30% respectivamente, en comparación al brócoli crudo.

En el análisis de quercetina, apigenina y kaempferol en las muestras de brócoli **sin hidrolizar**, solo se logró detectar los compuestos, sin embargo, no fue posible su cuantificación ya que las concentraciones se encontraron por debajo del límite de cuantificación. Similar a lo anterior, al analizar el líquido de cocción del método de hervido se encontraron cantidades por debajo del límite de cuantificación de los compuestos (datos no mostrados).

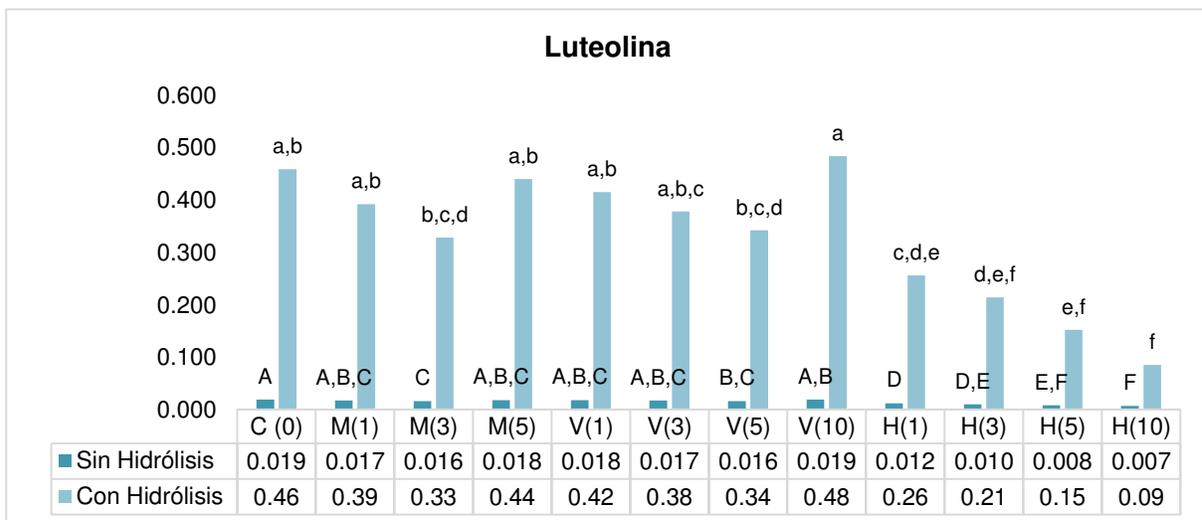
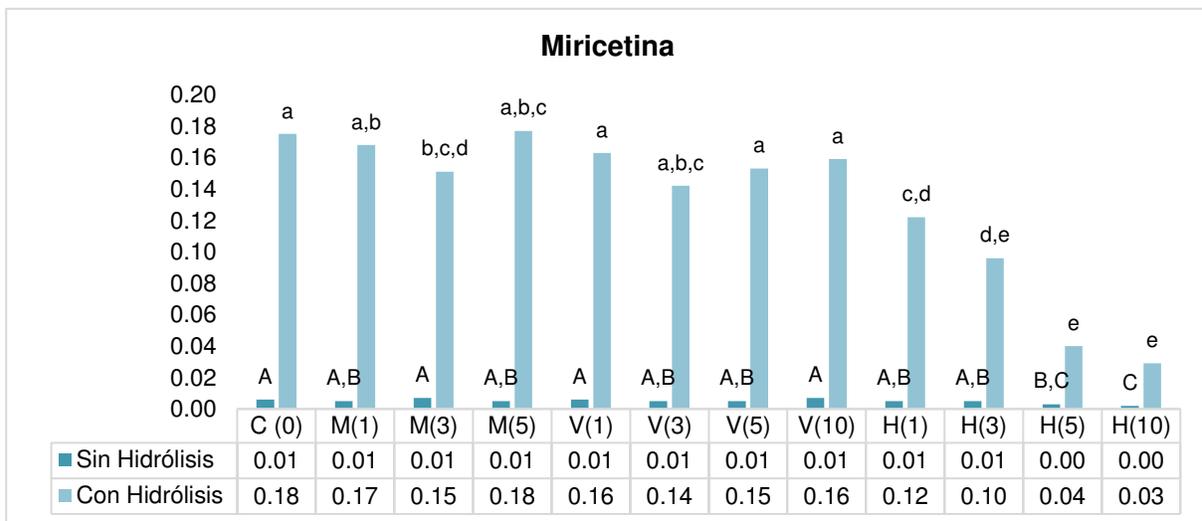
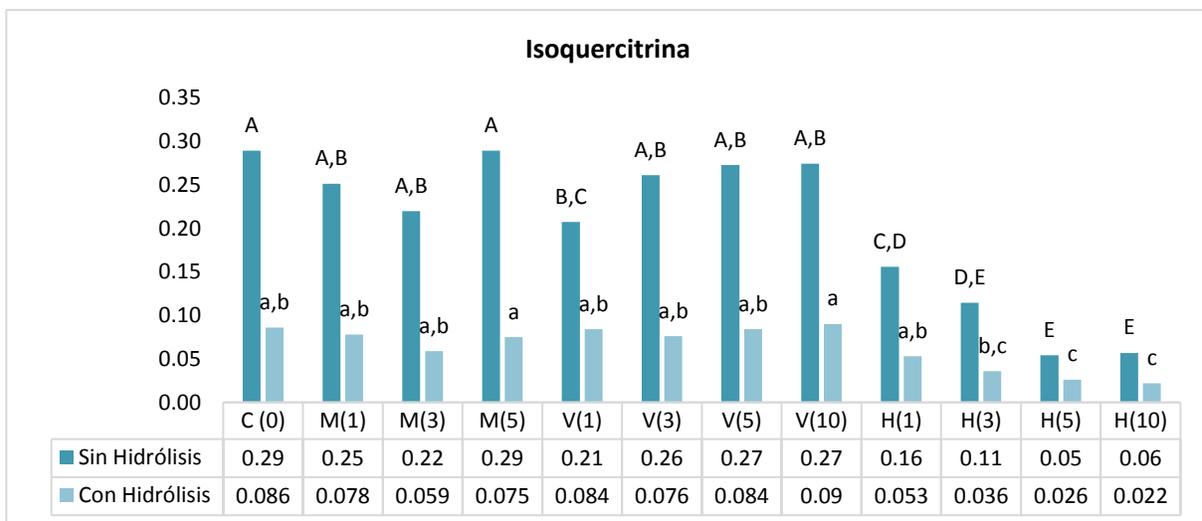
En las muestras de brócoli hidrolizadas se observó un mantenimiento en la concentración de los compuestos fenólicos en los diferentes métodos de cocción (con ligeros aumentos en el método al vapor) a excepción del método de hervido el cual disminuyó significativamente el contenido de compuestos fenólicos (a excepción de la apigenina, la cual permaneció constante).

En la figura 7 se presentan las gráficas comparativas de los compuestos analizados en todos los métodos y tiempos de cocción de la coliflor. El análisis estadístico realizado (Kruskal Wallis y U de Mann Whitney) permitió establecer las diferencias significativas entre el tiempo y/o los tratamientos con respecto al control (coliflor sin cocción).

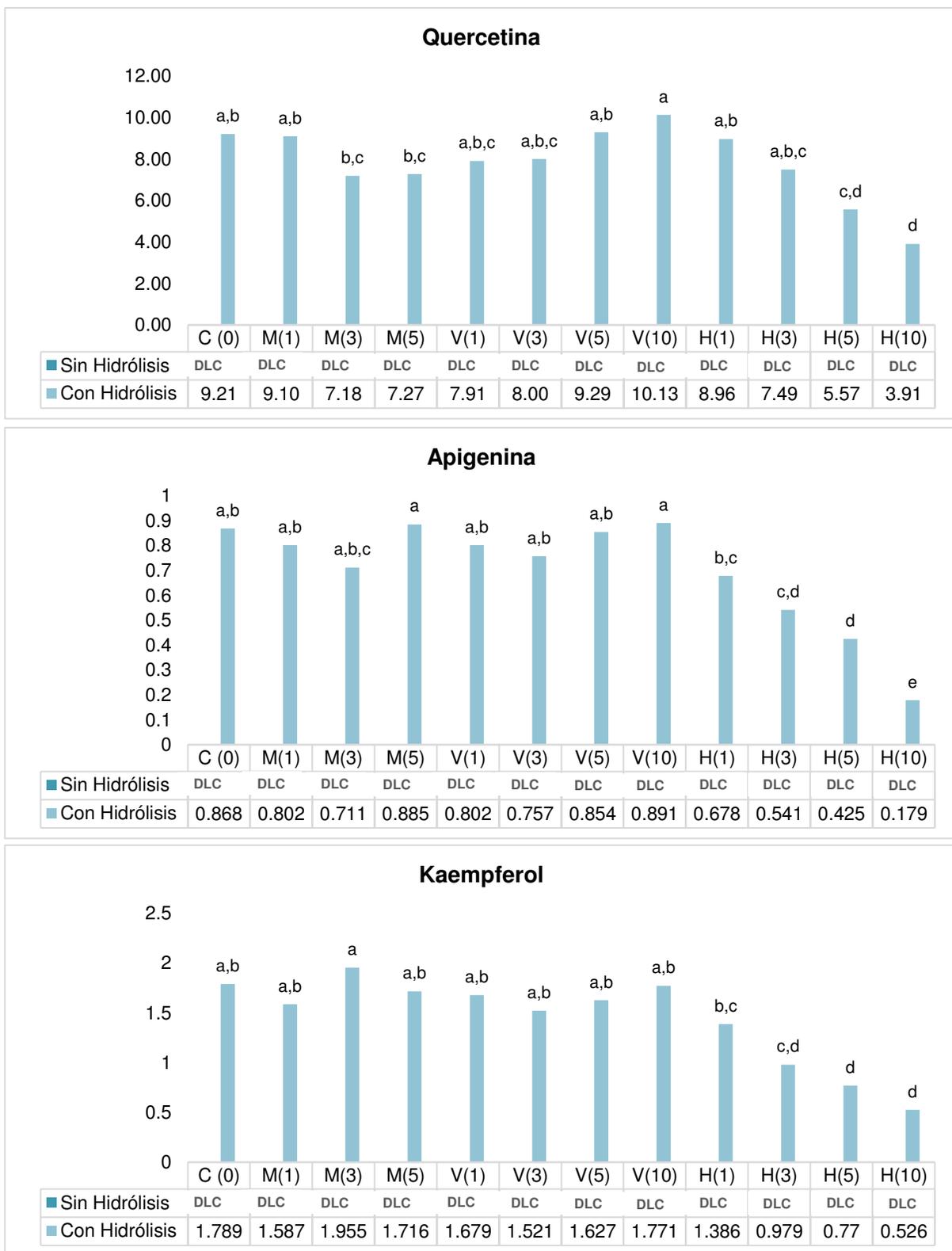


**Figura 7.** Contenido de compuestos fenólicos en coliflor (mg /Kg).

Todos los valores son expresados como media  $\pm$  DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado. <sup>a-f, A-F</sup> Letras diferentes en la misma gráfica indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ). DLC = debajo del límite de cuantificación.



**Figura 7.** Contenido de compuestos fenólicos en coliflor (mg /Kg) continuación... Todos los valores son expresados como media  $\pm$  DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado. <sup>a-f, A-F</sup> Letras diferentes en la misma gráfica indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ). DLC = debajo del límite de cuantificación.



**Figura 7.** Contenido de compuestos fenólicos en coliflor (mg /Kg) continuación...  
 Todos los valores son expresados como media  $\pm$  DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado. <sup>a-f, A-F</sup> Letras diferentes en la misma gráfica indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ). DLC = debajo del límite de cuantificación.

Similar a los resultados obtenidos en el contenido de compuestos fenólicos en las muestras de brócoli, en la coliflor el método de hervido mostró una disminución significativa en todos los compuestos con y sin hidrólisis, a excepción del ácido clorogénico en las muestras hidrolizadas.

Durante la cocción de la coliflor al vapor por 10 minutos se observó un aumento aparente (sin alcanzar la significancia estadística) en el contenido de ácido gálico, ácido clorogénico y ácido cafeico en las muestras sin hidrolizar y apigenina y quercetina en las muestras hidrolizadas. En el caso del contenido de kaempferol posterior a la hidrólisis, se observó un aumento (no significativo estadísticamente) a los 3 minutos de cocción por microondas.

De igual forma a lo observado en las muestras de brócoli, durante el análisis de quercetina, apigenina y kaempferol sin hidrolizar, las concentraciones se encontraron por debajo del límite de detección. Este mismo efecto fue observado en todos los compuestos del líquido de cocción (datos no mostrados).

#### **6.3.4. Efecto de los tratamientos térmicos en los compuestos fenólicos conjugados**

Posterior al análisis por HPLC de los compuestos fenólicos presentes en brócoli y coliflor, se obtuvo el porcentaje de compuestos tanto en forma libre (aglicona) como conjugada con el fin de evaluar el efecto del tratamiento térmico de los métodos de cocción (hervido, al vapor y microondas) en la hidrólisis de los compuestos fenólicos conjugados y la liberación de las agliconas correspondientes.

En la tabla 9 se presenta el contenido (%) de agliconas de flavonoides en donde se encontró una diferencia significativa en el contenido de agliconas (sin realizar hidrólisis) presentes en brócoli durante la cocción al vapor por 5 y 10 minutos; mientras que, en el caso de la coliflor la cocción en microondas por 3 minutos presentó el mayor contenido con 26.14% (esta última sin alcanzar la significancia estadística).

**Tabla 9.** Contenido de agliconas de flavonoides en brócoli y coliflor

Método	Tiempo (min)	Brócoli (%)	Coliflor (%)
Crudo	0	30.07± 2.3 <sup>a</sup>	22.46± 2.8 <sup>a,b</sup>
	1	29.77± 2.3 <sup>a</sup>	21.05± 2.6 <sup>a,b</sup>
Microondas	3	28.34± 1.9 <sup>a</sup>	26.14± 3.7 <sup>b</sup>
	5	35.70± 2.8 <sup>a,b</sup>	23.56± 2.8 <sup>a,b</sup>
Vapor	1	35.50± 3.4 <sup>a,b</sup>	23.16± 2.6 <sup>a,b</sup>
	3	33.08± 2.2 <sup>a,b</sup>	21.01± 2.4 <sup>a,b</sup>
	5	40.33± 2.7 <sup>b,c</sup>	18.92± 2.3 <sup>a,b</sup>
	10	40.74± 2.8 <sup>c</sup>	21.55± 2.5 <sup>a,b</sup>
Hervido	1	35.34± 2.8 <sup>b</sup>	19.44± 2.6 <sup>a,b</sup>
	3	30.86± 3.7 <sup>a</sup>	18.66± 2.9 <sup>a,b</sup>
	5	25.63± 3.5 <sup>d</sup>	18.47± 1.8 <sup>a</sup>
	10	33.42± 2.7 <sup>a,b</sup>	19.50± 2.6 <sup>a,b</sup>

Todos los valores son expresados como media ± DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado. <sup>a-d</sup>, Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ).

Contrario al aumento del 35% en el contenido de agliconas en brócoli durante la cocción al vapor por 10 minutos, se observó una disminución en los valores de agliconas al hervir ambas hortalizas por 5 minutos, del 15 y 18% para brócoli y coliflor, respectivamente.

#### 6.4. Actividad antioxidante

Los resultados de la actividad antioxidante presente en brócoli y coliflor determinada mediante tres técnicas: DPPH, ABTS y FRAP se presenta a continuación en las tablas 10, 11 y 12, respectivamente.

### 6.4.1. Técnica de DPPH

Para la determinación de la actividad antioxidante mediante la técnica de DPPH las muestras analizadas de brócoli con mayor y menor actividad fueron encontradas en el método al vapor a los 10 minutos y hervido por 5 minutos (73.2 y 24.9  $\mu\text{mol TE/g}$ ), respectivamente. La mayor actividad en la coliflor fue encontrada en el método de microondas por 1 y 3 minutos (537 y 534  $\mu\text{mol TE/ 100 g}$ ) y por lo contrario la coliflor hervida por 10 minutos presentó el menor contenido (241  $\mu\text{mol TE/ 100 g}$ ). En ambas hortalizas, el método de hervido por 3, 5 y 10 minutos disminuyó significativamente la actividad antioxidante del brócoli y la coliflor. La mayor actividad del líquido de cocción se observó a los 3 y 10 minutos para brócoli y coliflor, respectivamente.

**Tabla 10.** Actividad antioxidante por DPPH en brócoli y coliflor

Método	Tiempo (min)	Brócoli ( $\mu\text{mol TE/ 100 g}$ )	Coliflor ( $\mu\text{mol TE/ 100 g}$ )
<b>Crudo</b>	0	637 $\pm$ 38 <sup>a</sup>	389 $\pm$ 64 <sup>a,b</sup>
	1	563 $\pm$ 71 <sup>b</sup>	537 $\pm$ 59 <sup>c</sup>
<b>Microondas</b>	3	692 $\pm$ 67 <sup>d</sup>	534 $\pm$ 73 <sup>c</sup>
	5	616 $\pm$ 67 <sup>c</sup>	501 $\pm$ 62 <sup>b,c</sup>
	1	599 $\pm$ 58 <sup>c</sup>	356 $\pm$ 68 <sup>a</sup>
<b>Vapor</b>	3	650 $\pm$ 27 <sup>a</sup>	463 $\pm$ 61 <sup>b</sup>
	5	623 $\pm$ 85 <sup>c</sup>	422 $\pm$ 44 <sup>b</sup>
	10	732 $\pm$ 33 <sup>g</sup>	346 $\pm$ 63 <sup>a</sup>
	1	617 $\pm$ 34 <sup>c</sup>	374 $\pm$ 13 <sup>a,b</sup>
<b>Hervido</b>	3	454 $\pm$ 29 <sup>e</sup>	337 $\pm$ 10 <sup>d</sup>
	5	249 $\pm$ 85 <sup>f</sup>	304 $\pm$ 13 <sup>d,e</sup>
	10	255 $\pm$ 68 <sup>f</sup>	241 $\pm$ 44 <sup>e</sup>
	1	29 $\pm$ 1.4 <sup>1</sup>	14 $\pm$ 2.2 <sup>1</sup>
<b>Líquido de cocción de hervido</b>	3	34 $\pm$ 1.9 <sup>2</sup>	15 $\pm$ 2.6 <sup>1</sup>
	5	33 $\pm$ 1.8 <sup>2</sup>	17 $\pm$ 0.9 <sup>2</sup>
	10	33 $\pm$ 1.7 <sup>2</sup>	19 $\pm$ 1.4 <sup>2</sup>

Todos los valores son expresados como media  $\pm$  DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado. <sup>a-f</sup>, Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ). <sup>1-3</sup> Números diferentes en la misma columna indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ).

#### 6.4.2. Técnica de ABTS

Con respecto a la técnica de ABTS, la mayor actividad antioxidante la presentó el brócoli sometido a cocción al vapor a los 10 minutos (2387  $\mu\text{mol TE/ 100 g}$ ) con un incremento significativo del 6%; por otra parte, a los 5 y 10 minutos por el método de hervido se observó la menor actividad (1429 y 1185  $\mu\text{mol TE/ 100 g}$ ), con una reducción significativa del 36 y 47%, respectivamente.

En la coliflor cocida al vapor y microondas no se observaron diferencias significativas con respecto a la coliflor cruda. La coliflor hervida presentó una reducción significativa en todos los tiempos de cocción, disminuyendo un 10, 12, 15 y 27% para los minutos 1, 3, 5 y 10, respectivamente. En las muestras del líquido de cocción, la coliflor presentó un aumento en la actividad antioxidante conforme al incremento en el tiempo de cocción, caso contrario fue encontrado en el brócoli.

**Tabla 11.** Actividad antioxidante por ABTS en brócoli y coliflor

Método de cocción	Tiempo (min)	Brócoli ( $\mu\text{mol TE/ 100 g}$ )	Coliflor ( $\mu\text{mol TE/ 100 g}$ )
<b>Crudo</b>	0	2246 $\pm$ 42 <sup>a,c</sup>	2076 $\pm$ 69 <sup>a,b,c</sup>
	1	2262 $\pm$ 34 <sup>a</sup>	2125 $\pm$ 63 <sup>a,b,c</sup>
<b>Microondas</b>	3	2239 $\pm$ 35 <sup>a,c</sup>	2192 $\pm$ 64 <sup>c</sup>
	5	2090 $\pm$ 115 <sup>a,c</sup>	2172 $\pm$ 42 <sup>c</sup>
	1	2261 $\pm$ 115 <sup>a,b,c</sup>	2038 $\pm$ 63 <sup>a</sup>
<b>Vapor</b>	3	2294 $\pm$ 100 <sup>a,b</sup>	2066 $\pm$ 73 <sup>a,b</sup>
	5	2271 $\pm$ 111 <sup>a,b,c</sup>	2150 $\pm$ 43 <sup>b,c</sup>
	10	2387 $\pm$ 49 <sup>b</sup>	2111 $\pm$ 61 <sup>a,b,c</sup>
	1	2193 $\pm$ 28 <sup>a</sup>	1869 $\pm$ 70 <sup>d</sup>
<b>Hervido</b>	3	1782 $\pm$ 46 <sup>a</sup>	1836 $\pm$ 84 <sup>d,e</sup>
	5	1429 $\pm$ 71 <sup>e</sup>	1759 $\pm$ 84 <sup>e</sup>
	10	1185 $\pm$ 48 <sup>f</sup>	1507 $\pm$ 43 <sup>f</sup>
	1	24 $\pm$ 6.1 <sup>1</sup>	45 $\pm$ 2.8 <sup>1</sup>
<b>Líquido de cocción de hervido</b>	3	40 $\pm$ 3.7 <sup>2</sup>	44 $\pm$ 2.5 <sup>1</sup>
	5	64 $\pm$ 8.4 <sup>3</sup>	25 $\pm$ 3.3 <sup>2</sup>
	10	65 $\pm$ 5.6 <sup>3</sup>	17 $\pm$ 3.8 <sup>3</sup>

Todos los valores son expresados como media  $\pm$  DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado. <sup>a-f</sup> Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ). <sup>1-3</sup> Números diferentes en la misma columna indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ).

### 6.4.3. Técnica de FRAP

La actividad antioxidante analizada mediante la técnica de FRAP en las muestras de brócoli no mostró diferencia significativa en la cocción a microondas y al vapor con respecto al brócoli crudo. En el brócoli hervido por 3, 5 y 10 minutos se observó una reducción significativa, disminuyendo un 19, 55 y 56%, respectivamente.

En el caso de la coliflor, se observó diferencia significativa en la cocción a microondas y al vapor con respecto al crudo. Durante la cocción por hervido, la coliflor presentó una disminución del 24 y 26%, en los minutos 1 y 10, respectivamente. En relación con el líquido de cocción, la mayor actividad se observó a los 5 y 3 minutos para ambas hortalizas.

**Tabla 12.** Actividad antioxidante por FRAP en brócoli y coliflor

Método de cocción	Tiempo (min)	Brócoli ( $\mu\text{mol Fe}^{2+}/ 100 \text{ g}$ )	Coliflor ( $\mu\text{mol Fe}^{2+}/ 100 \text{ g}$ )
Crudo	0	1882 $\pm$ 53 <sup>a</sup>	976 $\pm$ 65 <sup>a</sup>
	1	1634 $\pm$ 153 <sup>a,b</sup>	1143 $\pm$ 41 <sup>b</sup>
Microondas	3	1859 $\pm$ 89 <sup>a</sup>	1372 $\pm$ 58 <sup>c</sup>
	5	2003 $\pm$ 140 <sup>a</sup>	1283 $\pm$ 107 <sup>b,c</sup>
Vapor	1	1707 $\pm$ 132 <sup>a,b</sup>	968 $\pm$ 215 <sup>a,b,d</sup>
	3	2025 $\pm$ 139 <sup>a</sup>	1148 $\pm$ 167 <sup>a,b,c</sup>
	5	1814 $\pm$ 103 <sup>a,b</sup>	1186 $\pm$ 179 <sup>a,b,c</sup>
	10	2032 $\pm$ 136 <sup>a</sup>	1195 $\pm$ 65 <sup>b</sup>
Hervido	1	1857 $\pm$ 82 <sup>a,b</sup>	741 $\pm$ 56 <sup>d</sup>
	3	1529 $\pm$ 102 <sup>c</sup>	915 $\pm$ 149 <sup>a,d</sup>
	5	833 $\pm$ 65 <sup>d</sup>	910 $\pm$ 202 <sup>a,b,d</sup>
	10	819 $\pm$ 94 <sup>d</sup>	722 $\pm$ 111 <sup>d</sup>
Líquido de cocción de hervido	1	13 $\pm$ 1.3 <sup>1</sup>	17 $\pm$ 1.6 <sup>1</sup>
	3	16 $\pm$ 1.1 <sup>2</sup>	19 $\pm$ 1.0 <sup>1,2</sup>
	5	16 $\pm$ 1.4 <sup>2</sup>	20 $\pm$ 1.5 <sup>2</sup>
	10	14 $\pm$ 1.6 <sup>3</sup>	15 $\pm$ 2.8 <sup>3</sup>

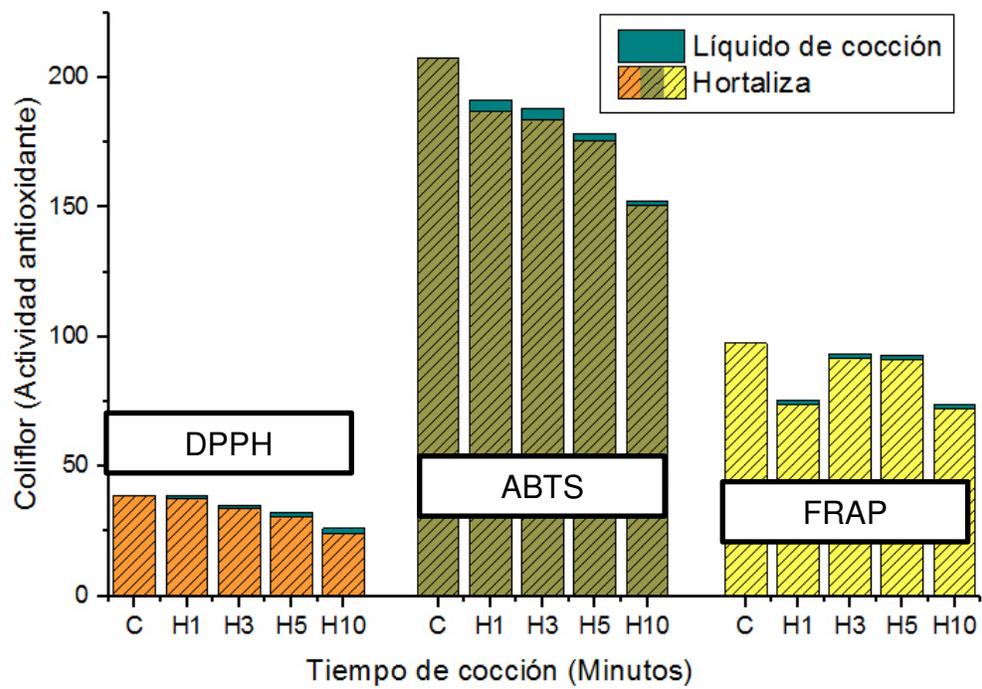
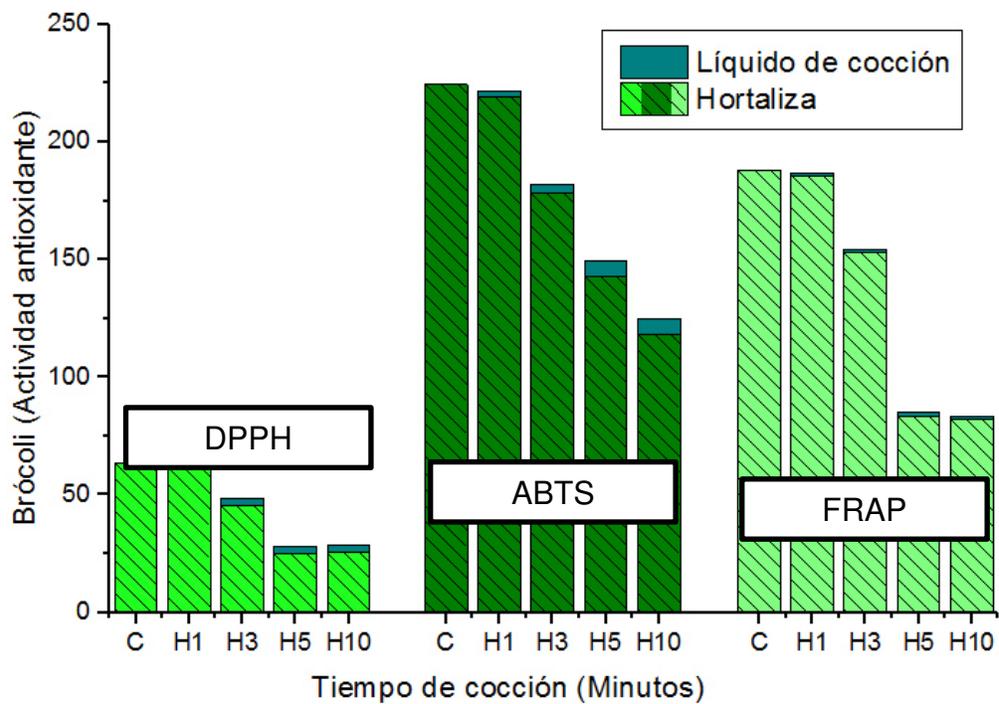
Todos los valores son expresados como media  $\pm$  DE de tres lotes independientes analizadas por triplicado. <sup>a-f</sup>, Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ). <sup>1-3</sup> Números diferentes en la misma columna indican diferencia significativa. ( $\alpha=0.05$ ).

A pesar de que las técnicas implementadas en la evaluación de la actividad antioxidante de las hortalizas poseen fundamentos y unidades de medición distintos, los resultados presentan un comportamiento similar en las tres técnicas. Los valores más altos para brócoli se observaron a los 10 minutos de cocción a vapor, aumentando un 15, 6 y 7% para DPPH, ABTS y FRAP, respectivamente.

De igual forma para la coliflor, los valores más altos fueron observados en el método por microondas presentando un aumento del 38% en DPPH a 1 minuto de cocción y el 40 y 6% a los 3 minutos para ABTS y FRAP.

En el método de cocción de hervido a los 10 minutos se encontró la mayor pérdida de actividad antioxidante en comparación con las muestras crudas (en algunas de las técnicas de evaluación no se encontró diferencia estadística a los 5 minutos de cocción). Las mayores disminuciones encontradas en este análisis fueron de 60, 47 y 56% para brócoli y 38, 27 y 26% para coliflor en las técnicas de DPPH, ABTS y FRAP, respectivamente.

Con respecto a la actividad antioxidante presente en el líquido de cocción, se observó un aumento conforme al tiempo de exposición de la hortaliza con el agua de hervido. Dicho aumento no sustituye a la pérdida de la actividad antioxidante en el brócoli y la coliflor por efecto de la cocción por ebullición, por lo cual, aun sumando la actividad antioxidante presente en el líquido de cocción y la retenida por las hortalizas (cocidas por 3, 5 y 10 minutos) no alcanza la actividad presente en el brócoli y la coliflor sin cocción (figura 8).



**Figura 8.** Actividad antioxidante en hortalizas hervidas y el líquido de cocción

Todos los valores son expresados como media de tres lotes independientes analizadas por triplicado. C= crudo, H1, H3, H5 y H10 = hervido 1, 3, 5 y 10 minutos, respectivamente. DPPH y ABTS cuantificado en "µmol TE/ 10 g", FRAP cuantificado en "µmol de Fe<sup>2+</sup>/10 g".

## 6.5 Correlación del contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante

Se realizó el análisis de la correlación entre el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante presente en brócoli y coliflor, evaluando: contenido de polifenoles totales y compuestos individuales (analizados por HPLC) y actividad antioxidante medida por las técnicas de DPPH, ABTS y FRAP (tabla 13).

**Tabla 13.** Correlación del contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante

	DPPH		ABTS		FRAP		
	Sig.	R	Sig.	R	Sig.	R	
<b>Brócoli</b>	<b>Polifenoles totales</b>	< 0.01	0.872	< 0.01	0.511	< 0.01	0.877
	Ácido Gálico	< 0.01	0.766	0.334	0.051	< 0.01	0.535
	Ácido clorogénico	0.110	0.146	0.154	-0.122	0.097	0.208
	Ácido cafeico	< 0.01	0.768	0.255	0.079	< 0.01	0.659
	Isoquercitrina	< 0.01	0.723	0.474	-0.008	< 0.01	0.587
	Miricetina	< 0.01	0.786	0.305	0.061	< 0.01	0.526
	Luteolina	< 0.01	0.802	0.291	0.066	< 0.01	0.607
	Quercetina	< 0.01	0.848	0.497	-0.001	< 0.01	0.611
	Apigenina	< 0.01	0.338	0.282	0.069	< 0.01	0.331
	Kaempferol	< 0.01	0.845	0.255	0.079	< 0.01	0.538
<b>Coliflor</b>	<b>Polifenoles totales</b>	< 0.01	0.753	0.045	0.201	< 0.01	0.910
	Ácido Gálico	< 0.01	0.300	0.105	-0.150	< 0.01	0.534
	Ácido clorogénico	< 0.01	0.280	0.260	0.077	< 0.01	0.335
	Ácido cafeico	< 0.01	0.446	0.269	0.074	< 0.01	0.517
	Isoquercitrina	0.310	0.221	0.059	-0.185	< 0.01	0.448
	Miricetina	< 0.01	0.279	0.266	-0.075	< 0.01	0.535
	Luteolina	0.045	0.201	0.088	-0.161	< 0.01	0.481
	Quercetina	0.105	0.149	0.178	-0.110	0.010	0.275
	Apigenina	< 0.01	0.337	0.193	-0.104	< 0.01	0.565
	Kaempferol	< 0.01	0.456	0.411	0.027	< 0.01	0.609

Sig= p-valor, R= correlación de Pearson

Los resultados de las muestras de brócoli demostraron una alta correlación entre el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante medida por DPPH y

FRAP ( $R=0.872$ ,  $p < 0.01$  y  $R=0.877$ ,  $p < 0.01$ , respectivamente). Por otra parte, la técnica de ABTS presentó significancia estadística pero una baja correlación con los compuestos fenólicos. En el análisis de los compuestos fenólicos individuales contra la actividad antioxidante de las muestras de brócoli, el ácido clorogénico no presentó significancia estadística frente a ninguna técnica de actividad antioxidante y la apigenina presentó una baja correlación con respecto a DPPH y FRAP. No se alcanzó la significancia estadística en ningún compuesto contra la técnica de ABTS. Por otra parte, la quercetina, el kaempferol, la luteolina y el ácido cafeico fueron los compuestos con la correlación más alta para DPPH y FRAP.

En el análisis de las muestras de coliflor, se presentó un comportamiento similar al observado en brócoli, encontrando una alta correlación entre el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante medida por DPPH y FRAP ( $R=0.753$ ,  $p < 0.01$  y  $R=0.910$ ,  $p < 0.01$ , respectivamente). Para la técnica de ABTS no se encontró significancia estadística. Al analizar los compuestos fenólicos individuales contra la actividad antioxidante de las muestras de coliflor, solo el ácido cafeico y el kaempferol, presentaron significancia estadística con una moderada correlación con respecto a DPPH y FRAP. El resto de los compuestos presentaron correlación moderada en la técnica de FRAP a excepción del ácido clorogénico y la quercetina. En la técnica de ABTS, no se alcanzó la significancia estadística en ningún compuesto.

## VII. DISCUSIÓN

### 7.1. Contenido de compuestos fenólicos en brócoli y coliflor

Los valores de polifenoles totales en brócoli y coliflor crudos (169.6 y 82.5 mg GAE/ 100 g, respectivamente) fueron comparables con lo reportado por otros autores. Ninfali y col. en el 2005, encontraron concentraciones menores a los del presente estudio, reportando valores de 109.5 y 62.3 mg GAE/ 100 g, para brócoli y coliflor, respectivamente. También en la base de datos Phenol-Explorer se reportaron concentraciones de 150.3 y 198.5 mg GAE/ 100 g para brócoli y 96.0 y 81.7 mg GAE/ 100 g en coliflor (Kaur & Kapoor, 2002; Rothwell et al., 2013; Yamaguchi et al., 2003).

Los principales compuestos fenólicos observados en las muestras de brócoli sin hidrolizar analizados en presente estudio fueron: el ácido clorogénico 16.4 mg/kg y la isoquercitrina 10.8 mg/kg y posterior a la hidrólisis la quercetina y el kaempferol (27.2 y 52.3 mg/kg, respectivamente). Las concentraciones observadas fueron congruentes con lo reportado por diversos autores, encontrando 11.6 mg/kg para ácido clorogénico y 18 mg/kg para isoquercitrina (Yamaguchi et al., 2003; Price, Casuscelli, Colquhoun, & Rhodes, 1998). En la cuantificación de los flavonoides presentes en extractos hidrolizados de brócoli se reportaron concentraciones de 37.0, 137.0 y 15.4 mg/kg de quercetina, y 60.0, 46.0 y 30.8 mg/kg para kaempferol en los trabajos de: Justesen, Knuthsen, y Leth, 1998; Bajorun, Luximon-Ramma, Crozier, y Aruoma, 2004 y Lugast y Hóvári, 2000, respectivamente.

En la coliflor, los principales compuestos fenólicos individuales cuantificados en las muestras sin hidrolizar fueron: el ácido gálico 0.97 mg/kg, el ácido cafeico 0.84 mg/kg y el ácido clorogénico 0.90 mg/kg y posterior a la hidrólisis se encontraron: la quercetina, el kaempferol, la apigenina y la luteolina (9.21, 1.78, 0.86 y 0.45 mg/kg, respectivamente). En la mayoría de ellos, se observaron valores menores a los reportados por otros autores, encontrando 6.8 mg/kg para el ácido gálico, 0.1 mg/kg en el ácido cafeico y 1 mg/kg en el ácido clorogénico (Li, Wang, Wang, & Wu, 1993). En extractos hidrolizados de coliflor se reportaron concentraciones de 39.0 y 1.5 mg/kg de quercetina, 12.0 y 12.5 mg/kg para kaempferol, 2.0 mg/kg para apigenina

y 4.0 mg/kg para luteolina en los trabajos de Bahorun et al., 2004, y Lugast y Hóvári, 2000, respectivamente.

Los compuestos fenólicos son productos del metabolismo secundario de las plantas los cuales contribuyen al sabor y color final de las hortalizas, adicionándolos de potentes propiedades antioxidantes y antimicrobianas con el fin de protegerse en estadíos de estrés (Perla, Holm, & Jayanty, 2012). Por lo cual, las variaciones en las concentración de los compuestos bioactivos presentes en las hortalizas están influenciadas por múltiples factores en los que se encuentran: la variedad vegetal, las condiciones climáticas y del cultivo (tipo de suelo, nutrientes, plagas), el tiempo de madurez y almacenamiento (Girgin & El, 2015; Jeffery et al., 2003; Podsędek, 2007).

## **7.2. Efecto de la cocción en el contenido de compuestos fenólicos**

### **7.2.1. Cocción por hervido**

Al comparar el contenido de compuestos fenólicos en los diferentes métodos de cocción con respecto a los valores en crudo se observaron diferencias significativas para ambas hortalizas. El método de hervido presentó una reducción en todos los compuestos analizados, siendo los 10 minutos de cocción donde se observó la mayor disminución.

Wachtel-Galor y col. en el 2008, reportaron un efecto negativo sobre el contenido de compuestos fenólicos después de 5 y 10 minuto de hervido en comparación con el brócoli y la coliflor crudos. Esta disminución en la concentración de los compuestos fenólicos después de la ebullición podría deberse a la degradación de los compuestos por la temperatura alcanzada durante la cocción, la cual fue mayor a la alcanzada por la cocción al vapor y por microondas.

En el contenido de compuestos fenólicos individuales presentes en el brócoli y la coliflor se observó un efecto negativo en la cocción por hervido, el cual afecta en mayor medida al brócoli que a la coliflor disminuyendo un 42, 33, 13 y 7% más en el brócoli en comparación a la coliflor hervida por 1, 3, 5 y 10 minutos, respectivamente. También fue observado para ambas hortalizas, que el ácido

clorogénico, el ácido cafeico, la isoquercitrina (quercetina-3-O-β-D-glucósido) y la apigenina fueron los compuestos que preservaron su concentración frente al método de hervido. Este fenómeno puede ser explicado por la diferencia en la textura (dureza de los tejidos) en las hortalizas y el tamaño de la superficie expuesta al líquido de cocción, afectando de manera diferente el efecto del calor durante la cocción; también se sugiere que el brócoli posee un mayor contenido de compuestos fenólicos conjugados, los cuales son afectados significativamente por la lixiviación en la cocción por hervido.

González y col. en el 2016, observaron una reducción en los compuestos fenólicos cuando las hortalizas se cuecen en contacto directo con el agua, considerando que dicha reducción puede deberse a un efecto de lixiviación de los compuestos. En el presente estudio se observó un efecto de disolución de los compuestos fenólicos, sin embargo, este fenómeno no puede ser considerado como suficiente para explicar la reducción de los compuestos fenólicos por causa del método de hervido ya que, al sumar el contenido de compuestos retenido en las hortalizas hervidas y el líquido de cocción, no fue alcanzado el valor inicial que representaron las hortalizas crudas.

### **7.2.2. Cocción a vapor**

La cocción al vapor presentó efectos diferentes en las hortalizas. En el brócoli se observó un mantenimiento y reducción de los polifenoles totales, mientras que, en la coliflor, se observó un aumento significativo en todos los tiempos de cocción.

Gliszczyńska-Świgło y col. en el 2006, reportaron concentraciones de polifenoles totales de:  $167.3 \pm 3.7$  y  $89.2 \pm 6.4$  mg GAE / 100 g para el brócoli cocido al vapor (10 minutos) y hervido (5 minutos), similares a los observados en el presente estudio ( $167.8 \pm 13.9$  y  $72.1 \pm 8.3$  mg GAE / 100 g), respectivamente. Girgin y El en el 2015, observaron un aumento de hasta el 20% en el contenido de polifenoles totales cuando las muestras de coliflor fueron cocidas a vapor. Estos resultados son similares a los reportados en este estudio, en el cual se observó un aumento del 21% en el contenido de polifenoles totales de la coliflor durante los primeros 5 minutos de cocción a vapor.

Este aumento en la concentración de polifenoles totales en el método de cocción al vapor puede deberse a la interrupción del complejo polifenol-proteína, mejorando la disponibilidad de los compuestos fenólicos para ser extraídos y cuantificados. A su vez, la cocción al vapor puede inhibir enzimas oxidativas e hidrolíticas, (por ejemplo: la polifenoloxidasas) disminuyendo la degradación del contenido de polifenoles, lo cual resulta en el aumento del contenido de compuestos fenólicos (Girgin & El, 2015; Gliszczynska-Świgło et al., 2006).

Por otra parte, Wachtel-Galor y col. en el 2008 sugirieron que, durante la cocción a vapor, la temperatura alcanzada por las hortalizas es menor (comparada con el hervido y microondas), por lo cual, el efecto del calor no afecta negativamente en la concentración de compuestos fenólicos en comparación a los otros métodos de cocción. Es importante recordar, que se realizó la evaluación de la temperatura interna alcanzada por las hortalizas en los diferentes tiempos y métodos de cocción encontrando que: el método de hervido alcanzó las temperaturas más altas en ambas hortalizas, seguida por la cocción al vapor en los minutos 5 y 10 de cocción, mientras que la cocción por microondas, registró las temperaturas más bajas.

En las muestras de brócoli, el contenido de compuestos fenólicos individuales (cuantificados por HPLC) presentó aumento significativo en 4 de los 9 compuestos analizados (ácido clorogénico, miricetina, luteolina y quercetina-3-O-β-D-glucósido) utilizando el método de cocción al vapor por 10 minutos.

### **7.2.2. Cocción por microondas**

En el presente estudio, la cocción por microondas provocó un aumento significativo en el contenido de polifenoles totales a los 5 minutos de cocción en brócoli y a todos los tiempos de cocción en la coliflor.

Turkmen y col. en el 2005, observaron un aumento significativo del 25% del contenido de polifenoles totales en brócoli cocido por microondas durante 90 segundos, este efecto se observó también en las muestras analizadas en este estudio hasta los 3 y 5 minutos de cocción, con un aumento del 5 y 10%, respectivamente. Una posible explicación del efecto tardío observado en esta

investigación, ser debido a la diferencia de la potencia de los equipos utilizados, 1000 y 600 W para el trabajo del 2005 y el presente estudio, respectivamente. Esto sugiere que las diferentes potencias que poseen los equipos de microondas repercuten de manera diferente en el contenido de compuestos fenólicos.

En las muestras de coliflor se observó un aumento significativo en el contenido de polifenoles totales (analizada mediante la técnica de Folin-Ciocalteu) en la cocción por microondas y al vapor en todos los tiempos de cocción. Dicho efecto no fue reflejado en el contenido de los compuestos fenólicos individuales cocidos al vapor y microondas. Este fenómeno puede ser explicado debido a que el reactivo de Folin-Ciocalteu también puede ser reducido por otros compuestos como taninos, vitaminas (como el ácido ascórbico), algunos aminoácidos (como la tirosina) y azúcares (como fructosa y glucosa), los cuales pudieron haberse visto incrementados debido al aumento en su biodisponibilidad ocasionada por los métodos de cocción.

### **7.2.1. Hidrólisis parcial de compuestos fenólicos por efecto de la cocción**

Como se ha mencionado anteriormente, los compuestos fenólicos se pueden encontrar de forma libre (aglicona) o conjugada (unidos principalmente a hidratos de carbono) y en las hortalizas frescas es más común encontrar los conjugados o como glicósidos. Es importante mencionar que el tratamiento térmico repercute de manera significativa en el contenido de agliconas, pudiéndose observar un aumento en su contenido a los 5 y 10 minutos cuando el brócoli es cocinado al vapor y a los 3 minutos en microondas en el caso de la coliflor. Esto nos indica que el calor produce una hidrólisis parcial de los glicósidos, liberando las agliconas.

Por lo tanto, un incremento en el contenido de compuestos fenólicos libres (agliconas) en el método de cocción al vapor y por microondas puede explicar los aumentos en el contenido de compuestos fenólicos (polifenoles totales e individuales por HPLC) y actividad antioxidante, ya que, al ser hidrolizados los compuestos conjugados, aumentan su disponibilidad para realizar su actividad y poder ser extraídos y cuantificados con los métodos empleados en esta investigación. Gliszczyńska-Świgło y col. en el 2006 sugieren que el aparente

aumento en los compuestos fenólicos polifenoles es probablemente debido a la interrupción de complejos entre compuestos fenólicos y otras moléculas (por ejemplo, proteínas) que dan como resultado una mejor disponibilidad y extracción de los compuestos fenólicos en las muestras de brócoli cocido al vapor en comparación con las muestras en crudo.

### **7.3. Actividad antioxidante en brócoli y coliflor**

La actividad antioxidante total es un efecto o resultado de la acción de varios compuestos presentes en los alimentos, por lo que no es dependiente únicamente de los compuestos fenólicos estudiados. También es necesario tomar en cuenta que la identificación y cuantificación de todos los componentes individuales con actividad antioxidantes en las muestras vegetales como las hortalizas es costoso, poco práctico e ineficiente, ya que por lo general la actividad antioxidante total de la muestra está dada por varios compuestos que pueden tener efectos sinérgicos. Por este motivo, es recomendable el uso de diferentes técnicas para la evaluación de la actividad antioxidante tomando en cuenta el fundamento y las variaciones de las diferentes técnicas empleadas, las cuales pueden dificultar la comparación de los resultados entre un método y otro (Orjuela Rodriguez, 2015; Ryan & Prescott, 2010).

En el brócoli y la coliflor sin tratamiento de cocción, se observó que la actividad antioxidante (637 y 389  $\mu\text{mol Trolox/ 100 g}$ , respectivamente), presentó algunas similitudes con los resultados expuestos en el trabajo de Proteggente y col. en el 2002, en el cual se reportó la actividad antioxidante por TEAC (capacidad antioxidante equivalente de Trolox) en 648 y 295  $\mu\text{mol Trolox/ 100 g}$  para brócoli y coliflor.

Sikora y col. en el 2008 evaluaron la actividad antioxidante de brócoli y coliflor, determinando la capacidad de las hortalizas de neutralizar el radical de  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ , reportando concentraciones de 2620  $\mu\text{mol Trolox/ 100 g}$  para brócoli y 2090  $\mu\text{mol Trolox/ 100 g}$  en coliflor. Estos resultados son similares a los observados en este estudio para la misma técnica, en los cuales se obtuvieron valores de 2246 y 2070  $\mu\text{mol Trolox/ 100 g}$  para brócoli y coliflor, respectivamente.

Los resultados de la actividad antioxidante obtenidos por la técnica de FRAP en brócoli y coliflor (1882 y 976  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/ 100 \text{ g}$ , respectivamente), superaron a los valores reportados por Proteggente y col. en el 2002 (833 y 259  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/ 100 \text{ g}$ , respectivamente), estas diferencias pueden ser explicadas debido a que las muestras de brócoli y coliflor empleadas en el estudio, contenían menor cantidad de polifenoles totales con respecto a nuestras muestras. Por otra parte, Volden y col. en el 2009 reportaron concentraciones que oscilaron entre 760 y 860  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/ 100 \text{ g}$  para la coliflor por el método de FRAP, los cuales son congruentes con los observados en el presente estudio. Sin embargo, en muestras de brócoli evaluadas por otros autores y utilizando la misma técnica, se observaron valores entre 5000 y 5230  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/ 100 \text{ g}$  los cuales son 2.7 veces mayores a los encontrados en nuestro trabajo (Miglio et al., 2008; NG, Chai, & Kuppusamy, 2011).

Es importante mencionar que al igual que el contenido de compuestos bioactivos, la actividad antioxidante en las hortalizas depende en gran medida de: las variedades de plantas analizadas, las condiciones geográficas y climáticas, y las condiciones de cosecha, las cuales modifican el contenido de antioxidantes dentro de la hortaliza y por lo tanto su actividad (Ou, Huang, Hampsch-Woodill, Flanagan, & Deemer, 2002).

#### **7.4. Efecto de la cocción en la actividad antioxidante**

Volden, Bengtsson, y Wicklund en el 2009, determinaron el efecto que ejercía el hervir la coliflor durante 3 minutos sobre la actividad antioxidante y observaron una reducción de un 10 a un 21% utilizando el método de FRAP. De igual forma, Girgin y El en el 2015, determinaron la actividad antioxidante en coliflor utilizando las técnicas de DPPH y ABTS, observando una reducción del 8 y 7% cuando la coliflor fue sometida a hervido, dichos valores fueron menores a los reportados en el presente estudio, encontrando una disminución a los 3 minutos de hervido de: 13, 20 y 7% para las técnicas de DPPH, ABTS y FRAP, respectivamente.

Gliszczyńska-Świgło y col. en el 2006, reportaron un incremento en la actividad antioxidante del brócoli en un 21% durante cocción al vapor utilizando el método de DPPH, mientras que en el presente estudio se observó un aumento del 15% a los 10 minutos de cocción con ese mismo método. Girgin y El en el 2015, sugirieron que el aumento de la actividad antioxidante es debido al ablandamiento y la modificación de los componentes celulares promoviendo la liberación de compuestos antioxidantes. Probablemente las discrepancias encontradas en los resultados sean debidas a las variaciones en los métodos de extracción y al tamaño de las hortalizas sometidas al tratamiento térmico.

#### **7.5. Correlación entre el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante**

Relativo a los resultados del análisis de correlación entre el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante presentes en brócoli y coliflor, se sugiere que las técnicas de DPPH y FRAP fueron las más apropiadas para evaluar la actividad antioxidante ejercida por los compuestos fenólicos en brócoli y coliflor. Por otra parte, la baja correlación obtenida en la técnica de ABTS sugiere que dicho método basa su actividad antioxidante en otros compuestos presentes en las hortalizas como son los carotenoides y las vitaminas. Diversos autores han sugerido esta correlación (Anwar et al., 2013; Gawlik-Dziki, 2008; Jacobo-Velázquez & Cisneros-Zevallos, 2009; Zhou & Yu, 2006), ya que los polifenoles totales cuantificados por el método de Folin-Ciocalteu, está basada en una reacción de oxidación-reducción y por lo tanto, puede ser considerada como una técnica antioxidante (Kurilich, Jeffery, Juvik, Wallig, & Klein, 2002).

Dentro del análisis estadístico individualizado de los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante, la mayor correlación (con base al coeficiente de correlación de Pearson) se observó en la quercetina, el kaempferol y la luteolina, los cuales también presentaron la mayor concentración en las muestras de brócoli tratadas con hidrólisis. Esta alta correlación encontrada entre la quercetina, el kaempferol y la luteolina y la actividad antioxidante puede estar relacionada debido a que, estructuralmente la quercetina y la luteolina cumplen los criterios químicos-estructurales establecidos por Rice-Evans y col. en 1996, en donde se establece un

aumento en la capacidad antioxidante de los flavonoides. Estos criterios son: la presencia de estructura O-dihidroxi en el anillo B, el doble enlace en conjunción con la función 4-oxo del anillo C y la presencia de los grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C (como se explicó en la figura 3 en el apartado de antecedentes).

Sin embargo, estos criterios son aplicables en las agliconas, ya que la presencia y la posición de unidades de azúcares en los glicósidos de flavonoides, modifican la actividad antioxidante, disminuyendo con el número de azúcares unidos a la aglicona (Kumar & Pandey, 2013). Esto puede explicar las diferencias encontradas en las correlaciones de los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante, como es el caso de la miricetina, la cual por su estructura, posee mayor actividad antioxidante que el kaempferol y la luteolina, pero posiblemente sus conjugados sean menos antioxidantes. En las hortalizas analizadas la mayoría de estos compuestos fueron encontrados en forma conjugada, debido a que presentaron un aumento en su concentración después del tratamiento de hidrólisis. Dicha actividad antioxidante, también puede deberse a un efecto sinérgico entre diferentes compuestos fenólicos o incluso con otro tipo de compuestos (vitaminas, carotenoides, azúcares, etc.) y no puede ser atribuida a un único compuesto.

Es importante mencionar que en el presente estudio se emplearon condiciones controladas en los métodos de cocción implementados, utilizando muestras pequeñas de las hortalizas (aproximadamente 10 gramos) y tiempos de cocción cronometrados de 1 a 10 minutos, en contraste con la cocción casera, en donde se utilizan piezas más grandes de las hortalizas y se cuecen por más de 20 minutos.

#### **7.6. Biodisponibilidad de los compuestos fenólicos**

Una de las definiciones más aceptada del término biodisponibilidad es: “la proporción de nutrientes que se digieren, se absorben y se metabolizan a través de las rutas metabólicas habituales”. Siguiendo esta definición, el estudio de la biodisponibilidad se debe considerar a la par del contenido de compuestos fenólicos en los alimentos, ya que, no necesariamente los compuestos presentes en mayor concentración en los alimentos son los más activos en el organismo, debido a una

menor actividad intrínseca, una baja absorción intestinal o una rápida excreción (Quiñones et al., 2012; Srinivasan, 2001).

La biodisponibilidad de los polifenoles, principalmente de los flavonoides depende de su estructura, es decir, si está en forma de glicósido o aglicona, debido a que las agliconas son fácilmente absorbidas en el intestino delgado (sin embargo, los flavonoides rara vez se encuentran como agliconas en las plantas), mientras que los glicósidos de flavonoides tienen que ser hidrolizados (Hollman et al., 1999; Kumar & Pandey, 2013). Aunque las enzimas glucosidasas pueden romper el enlace glucosídico, se cree que los flavonoides se absorben en mínimas cantidades debido a que los restos de glucósidos ligados a la aglicona aumentan la hidrofiliidad de las moléculas dificultando su absorción (Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

También se ha sugerido que la microflora presente en el colon puede hidrolizar el enlace glicosídico, dando como resultado la liberación de la aglicona, sin embargo, estos mismos microorganismos pueden degradar los compuestos. Después de su hidrólisis la aglicona tiene la capacidad de ser absorbida en el intestino grueso debido a su lipofiliidad y luego se metaboliza en el hígado (Cartea et al., 2011).

Es importante recordar que los métodos de cocción a los que fueron sometidas las muestras repercuten en el contenido de agliconas presentes en el brócoli y la coliflor. En este estudio, se observó un aumento en el contenido de compuestos fenólicos libres (agliconas) en las muestras cocidas al vapor de brócoli y microondas en la coliflor, lo que nos indicó que el tratamiento térmico produjo una hidrólisis parcial de los glicósidos, liberando las agliconas. Tomando en cuenta que la biodisponibilidad de los polifenoles depende principalmente de su estructura (si está en forma de glicósido o libre como aglicona) esta hidrólisis parcial observada en las hortalizas por los métodos de cocción al vapor (brócoli) y microondas (coliflor) puede modificar la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos al facilitar su absorción en el intestino delgado al estar hidrolizados.

Por todo lo anterior, se rechaza la hipótesis del estudio en la cual se postuló que “un tiempo de cocción menor a 3 minutos aumenta la concentración y la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de brócoli y coliflor, las cuales disminuyen en cocción prolongada (mayor a 10 minutos)” debido a que no se puede generalizar el efecto del tiempo en las diferentes técnicas de cocción, ya que las hortalizas se exponen a diferentes temperaturas de cocción. Pudiendo encontrar efectos benéficos en el contenido de compuestos fenólicos a los 10 minutos de cocción al vapor y un efecto inverso en la técnica de hervido en el mismo tiempo. Por lo cual, estos resultados sugieren que la elección de un método de cocción preferencial en cada tipo de hortaliza (tomando en cuenta el tiempo de exposición y la temperatura de cocción), podría ayudar a preservar o incluso mejorar los valores nutricionales presentes en las hortalizas.

## VIII. CONCLUSIONES

- Las muestras de brócoli presentaron mayor contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante con respecto a la coliflor.
- Los métodos de cocción afectaron el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante.
- Los efectos ocasionados por causa de los métodos de cocción (hervido al vapor y microondas) en brócoli y coliflor, presentaron diferencia entre cada hortaliza y entre cada método de cocción.
- El tiempo de cocción y la temperatura repercutieron de manera significativa en las hortalizas conforme al método de cocción utilizado.
- Los resultados en el contenido de compuestos fenólicos observados en el presente estudio no coinciden con la creencia que las hortalizas sometidas a un método de cocción tienen menor valor nutricional (respecto al contenido de polifenoles y la actividad antioxidante) que los vegetales crudos.
- La mayor disminución en el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante la presentaron las hortalizas hervidas
- La cocción al vapor por 10 minutos conservó e incrementó el contenido de compuestos fenólicos (polifenoles totales e individuales) y la actividad antioxidante en brócoli y coliflor.
- Los tratamientos térmicos moderados, como la cocción a vapor, pueden considerarse como herramienta para mejorar el contenido de compuestos bioactivos y aumentar las propiedades nutricionales del brócoli y la coliflor.

## IX. REFERENCIAS

- Ahmed, F. A., & Ali, R. F. M. (2013). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh and processed white cauliflower. *BioMed Research International*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/367819>
- Anwar, F., Kalsoom, U., Sultana, B., Mushtaq, M., Mehmood, T., & Arshad, H. A. (2013). Effect of drying method and extraction solvent on the total phenolics and antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea L.*) Extracts. *International Food Research Journal*, 20(2), 653–659.
- Ares, A. M., Nozal, M. J., & Bernal, J. (2013). Extraction, chemical characterization and biological activity determination of broccoli health promoting compounds. *Journal of Chromatography A*. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.051>
- Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89, 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.075>
- Bahorun, T., Luximon-Ramma, A., Crozier, A., & Aruoma, O. I. (2004). Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(12), 1553–1561. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1820>
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Biesalski, H. K., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk,

- D., ... Weber, P. (2009). Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. *Nutrition*, 25(11–12), 1202–1205. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.023>
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization journal*, 5, 9–19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Blessington, T., Nzaramba, M. N., Scheuring, D. C., Hale, A. L., Reddivari, L., & Miller, J. C. (2010). Cooking methods and storage treatments of potato: effects on carotenoids, antioxidant activity, and phenolics. *American Journal of Potato Research*, 87(6), 479–491. <https://doi.org/10.1007/s12230-010-9150-7>
- Carbonell-capella, J. M., Buniowska, M., Barba, F. J., Esteve, J., & Fr, A. (2014). Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 155–171. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12049>
- Cardoso, L. de M., Pinheiro, S. S., de Carvalho, C. W. P., Queiroz, V. A. V., de Menezes, C. B., Moreira, A. V. B., ... Pinheiro-Sant'Ana, H. M. (2015). Phenolic compounds profile in sorghum processed by extrusion cooking and dry heat in a conventional oven. *Journal of Cereal Science*, 65, 220–226. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.06.015>
- Cartea, M. E., Francisco, M., Soengas, P., & Velasco, P. (2011). Phenolic compounds in Brassica vegetables. *Molecules*, 16, 251–280. <https://doi.org/10.3390/molecules16010251>
- Chuah, A. M., Lee, Y.-C., Yamaguchi, T., Takamura, H., Yin, L.-J., & Matoba, T. (2008). Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. *Food Chemistry*, 111(1), 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.022>
- de Souza, J., Casanova, L., & Costa, S. (2015). Bioavailability of phenolic

- compounds: a major challenge for drug development. *Revista Fitos, Río de Janeiro*, 9(1), 55–67. <https://doi.org/10.5935/2446-4775.20150006>
- Deepa, N., Kaur, C., George, B., Singh, B., & Kapoor, H. C. (2007). Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annum* L.) genotypes during maturity. *LWT - Food Science and Technology*, 40(1), 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.016>
- Delgado-Flores, M. L. (2015). *Caracterización y cuantificación de flavonoides en dos especies de petroselinum con diferentes tratamientos térmicos*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Douiri-Bedoui, I., Abdellaoui, H., Alexa, R., Jacolot, P., Druon, C., Tessier, F. J., & Laguerre, J.-C. (2011). Optimization of microwave cooking of courgette in terms of nutrient preservation and energy consumption. *Procedia Food Science*, 1, 805–813. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.122>
- Furia, E., Marino, T., & Russo, N. (2014). Insights into the coordination mode of quercetin with the Al(iii) ion from a combined experimental and theoretical study. *Dalton Transactions*, 43(19), 7269. <https://doi.org/10.1039/c4dt00212a>
- Gao, S., & Hu, M. (2011). Bioavailability challenges associated with development of anti-cancer phenolics. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 10(6), 550–567.
- Gawlik-Dziki, U. (2008). Effect of hydrothermal treatment on the antioxidant properties of broccoli (*Brassica oleracea* var. botrytis italica) florets. *Food Chemistry*, 109(2), 393–401. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.058>
- Gil, Á. (2010). *Tratado de nutrición. Tomo IV. Nutrición clínica. Tratado de nutrición* (2da ed.). Panamericana.
- Gimeno, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *OFFARM*, 23, 80–84.
- Girgin, N., & El, S. N. (2015). Effects of cooking on in vitro sinigrin bioaccessibility, total phenols, antioxidant and antimutagenic activity of cauliflower (*Brassica*

oleraceae L. var. Botrytis). *Journal of Food Composition and Analysis*, 37, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.04.013>

Gliszczyńska-Świgło, A., Ciska, E., Pawlak-Lemańska, K., Chmielewski, J., Borkowski, T., & Tyrakowska, B. (2006). Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. *Food Additives & Contaminants*, 23(11), 1088–1098. <https://doi.org/10.1080/02652030600887594>

Gómez, M., & Namesny, A. (2010). *Guía de las mejores frutas y hortalizas*. España: Ediciones de Horticultura, S. L.

González, N. D., Gely, M. C., & Pagano, M. A. (2016). Influencia del método de cocción sobre el color y los antioxidantes de coliflor. *La alimentación latinoamericana*, 319, 56–62.

Hernández, R., & Rodríguez, A. (2014). Guanajuato encabeza la producción de brócoli; EU, su principal mercado. *El Financiero*. Recuperado a partir de <http://www.elfinanciero.com.mx/economia/guanajuato-encabeza-la-produccion-de-brocoli-eu-su-principal-mercado.html>

Ho, C.-T., Lee, C. Y., & Huang, M.-T. (Eds.). (1992). *Phenolic compounds in food and their effects on health I* (Vol. 506). Washington, DC: American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-1992-0506>

Hollman, P. C. H., Bijsman, M. N. C. P., van Gameren, Y., Cnossen, E. P. J., de Vries, J. H. M., & Katan, M. B. (1999). The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radical Research*, 31(6), 569–573. <https://doi.org/10.1080/10715769900301141>

Huang, W.-Y., Cai, Y.-Z., & Zhang, Y. (2010). Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. *Nutrition and cancer*, 62(1), 1–20. <https://doi.org/10.1080/01635580903191585>

Im, M. H., Park, Y. S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Ham, K. S., ...

- Gorinstein, S. (2011). The thermostability, bioactive compounds and antioxidant activity of some vegetables subjected to different durations of boiling: Investigation in vitro. *LWT - Food Science and Technology*, 44(1), 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.037>
- Jacobo-Velázquez, D. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2009). Correlations of Antioxidant Activity against Phenolic Content Revisited: A New Approach in Data Analysis for Food and Medicinal Plants. *Journal of Food Science*, 74(9), R107–R113. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01352.x>
- Jeffery, E. H., Brown, A. F., Kurilich, A. C., Keck, A. S., Matusheski, N., Klein, B. P., & Juvik, J. A. (2003). Variation in content of bioactive components in broccoli. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(3), 323–330. [https://doi.org/10.1016/S0889-1575\(03\)00045-0](https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00045-0)
- Justesen, U., Knuthsen, P., & Leth, T. (1998). Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 799(1–2), 101–110. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)01061-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)01061-3)
- Kamel, S. M. (2013). Effect of microwave treatments on some bioactive compounds of parsley (*Petroselinum Crispum*) and dill (*Anethum graveolens*) leaves. *Journal of Food Processing & Technology*, 4(6). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000233>
- Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(2), 153–161. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00552.x>
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *TheScientificWorldJournal*, 2013, 162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Kurilich, A. C., Jeffery, E. H., Juvik, J. A., Wallig, M. A., & Klein, B. P. (2002).

Antioxidant Capacity of Different Broccoli (*Brassica oleracea*) Genotypes Using the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Assay. <https://doi.org/10.1021/JF025535L>

Lamien-Meda, A., Lamien, C. E., Compaoré, M. M. Y., Meda, R. N. T., Kiendrebeogo, M., Zeba, B., ... Nacoulma, O. G. (2008). Polyphenol content and antioxidant activity of fourteen wild edible fruits from Burkina Faso. *Molecules*, *13*, 581–594. <https://doi.org/10.3390/molecules13030581>

Li, P., Wang, X. Q., Wang, H. Z., & Wu, Y. N. (1993). High performance liquid chromatographic determination of phenolic acids in fruits and vegetables. *Biomedical and environmental sciences: BES*, *6*(4), 389–98. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8198755>

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, *4*(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>

López-Hernández, A. A., Ortega-Villarreal, A. S. (2014). *Caracterización de semilla de chía (Salvia hispanica L.): Cuantificación parcial de compuestos fenólicos y capacidad de inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I in vitro*. Universidad Autónoma de Nuevo León.

Loubet-González, A. L. (2010). *Efecto de diferentes metodos de coccion sobre el contenido y capacidad antioxidante de la flor de calabaza*. Universidad Autónoma de Queretaro, Querétaro.

Lugast, A., & Hóvári, J. (2000). FLAVONOID AGLYCONS IN FOODS OF PLANT ORIGIN I. VEGETABLES. *Acta Alimentaria*, *29*(4), 345–352. <https://doi.org/10.1556/AAlim.29.2000.4.4>

Lupano, C. E. (2013). *Modificaciones de componentes de los alimentos*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). Recuperado a partir de <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/32177>

- Marinova, D., Ribarova, F., & Atanassova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40(3), 255–260.
- Maroto Borrego, J. V. (2002). *Horticultura herbácea especial*. (Mundi-Prensa, Ed.) (5ta ed.). Madrid.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nutricion Hospitalaria*. [https://doi.org/10.3305/nutr\\_hosp.v17in06.3338](https://doi.org/10.3305/nutr_hosp.v17in06.3338)
- Martínez-Valverde, I., Periago, M. J., & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 50(1), 5–18.
- México-Produce. (2015). México Produce. Recuperado a partir de <http://www.mexicoproduce.mx/productos.html>
- Miglio, C., Chiavaro, E., Visconti, A., Fogliano, V., & Pellegrini, N. (2008). Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(1), 139–147. <https://doi.org/10.1021/jf072304b>
- Moreno, D. A., Carvajal, M., López-Berenguer, C., & García-Viguera, C. (2006). Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1508–1522. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.003>
- Mujica, M. V, Granito, M., & Soto, N. (2012). VARIACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DE *Phaseolus vulgaris* L. DURANTE EL ALMACENAMIENTO Y SU RELACIÓN CON EL ENDURECIMIENTO. *Bioagro*, 24(3), 163–174. Recuperado a partir de <http://www.scielo.org.ve/pdf/ba/v24n3/art02.pdf>
- Murador, D. C., Mercadante, A. Z., & De Rosso, V. V. (2015). Cooking techniques improve the levels of bioactive compounds and antioxidant activity in kale and

red cabbage. *Food Chemistry*, 196, 1101–1107.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.037>

Nenadis, N., Wang, L. F., Tsimidou, M., & Zhang, H. Y. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS•+ assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4669–4674.  
<https://doi.org/10.1021/jf0400056>

NG, Z.-X., Chai, J.-W., & Kuppusamy, U. R. (2011). Customized cooking method improves total antioxidant activity in selected vegetables. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(2), 158–163.  
<https://doi.org/10.3109/09637486.2010.526931>

Nilsson, J., Stegmark, R., & Åkesson, B. (2004). Total antioxidant capacity in different pea (*Pisum sativum*) varieties after blanching and freezing. *Food Chemistry*, 86(4), 501–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.002>

Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5, 27986–28006.  
<https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>

Ninfali, P., Mea, G., Giorgini, S., Rocchi, M., & Bacchiocca, M. (2005). Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *British Journal of Nutrition*, 93(2), 257. <https://doi.org/10.1079/BJN20041327>

Oidor-Juárez, J. A. (2013). *Determinacion de compuestos bioctivos en la planta Cucumis sativus L. (pepino) evaluando dferentes tipos de fertilizacion en invernadero*. Universidad Autónoma de Querétaro.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2003). Prioridad mundial al consumo de fruta y hortalizas. Recuperado el 1 de febrero de 2015, a partir de <http://www.fao.org/spanish/newsroom/focus/2003/fruitveg1.htm>

Organización Mundial de la Salud, & Organización de las Naciones Unidas para la

- Alimentación y la Agricultura. (2005). Un marco para la promoción de frutas y verduras a nivel nacional. Recuperado a partir de [http://www.who.int/dietphysicalactivity/reportSP\\_final.pdf?ua=1](http://www.who.int/dietphysicalactivity/reportSP_final.pdf?ua=1)
- Orjuela Rodriguez, A. A. (2015). *Determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de hojas de Chromolaena perglabra (B.L. Robinson) R.M. King y H. Robinson*. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Recuperado a partir de <http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/handle/11158/408>
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. (2002). Analysis of Antioxidant Activities of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assays: A Comparative Study. <https://doi.org/10.1021/JF0116606>
- Pérez-Leonard, & Heidy. (2006). Nutraceúticos: componente emergente para el beneficio de la salud. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, XL(3), 20–28. Recuperado a partir de <http://www.redalyc.org/pdf/2231/223120665003.pdf>
- Perla, V., Holm, D. G., & Jayanty, S. S. (2012). Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. *LWT - Food Science and Technology*, 45(2), 161–171. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.005>
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96. <https://doi.org/10.1073/pnas.0804252105>
- Podsędek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT - Food Science and Technology*, 40(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.023>
- Price, K. R., Casuscelli, F., Colquhoun, I. J., & Rhodes, M. J. C. (1998). Composition and content of flavonol glycosides in broccoli florets (*Brassica olearacea*) and

their fate during cooking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(4), 468–472. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199808\)77:4<468::AID-JSFA66>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199808)77:4<468::AID-JSFA66>3.0.CO;2-B)

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>

Proteggente, A. R., Pannala, A. S., Paganga, G., Buren, L. van, Wagner, E., Wiseman, S., ... Rice-Evans, C. A. (2002). The Antioxidant Activity of Regularly Consumed Fruit and Vegetables Reflects their Phenolic and Vitamin C Composition. *Free Radical Research*, 36(2), 217–233. <https://doi.org/10.1080/10715760290006484>

Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición hospitalaria : organo oficial de la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral*. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418>

Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*, 2(2), 219–236. <https://doi.org/http://dx.doi.org/>

Ramírez-Anaya, J. del P., Samaniego-Sánchez, C., Castañeda-Saucedo, M. C., Villalón-Mir, M., & de la Serrana, H. L.-G. (2015). Phenols and the antioxidant capacity of Mediterranean vegetables prepared with extra virgin olive oil using different domestic cooking techniques. *Food Chemistry*, 188, 430–438. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.124>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity

- relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
- Rickman, J. C., Barrett, D. M., & Bruhn, C. M. (2007). Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2825>
- Rietjens, I. M. C. M., Boersma, M. G., Haan, L. de, Spenklink, B., Awad, H. M., Cnubben, N. H. P., ... Koeman, J. H. (2002). The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 11(3–4), 321–333. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00003-0](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00003-0)
- Rothwell, J. A., Perez-Jimenez, J., Neveu, V., Medina-Remón, A., M'Hiri, N., García-Lobato, P., ... Scalbert, A. (2013). Phenol-Explorer 3.0: A major update of the Phenol-Explorer database to incorporate data on the effects of food processing on polyphenol content. *Database*, 2013. <https://doi.org/10.1093/database/bat070>
- Ryan, L., & Prescott, S. L. (2010). Stability of the antioxidant capacity of twenty-five commercially available fruit juices subjected to an in vitro digestion. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(6), 1191–1197. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02254.x>
- Saura-Calixto, F. (1998). Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4303–4306. <https://doi.org/10.1021/jf9803841>
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287–306. <https://doi.org/10.1080/1040869059096>
- Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. (2009). *Diagnóstico de Infraestructura Logística en la Cadena de Suministro de*

*Hortalizas para la Exportación a Estados Unidos y Canadá.*

Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. (2011a). *Monografía de cultivos: Brócoli*. México. Recuperado a partir de <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Estudios/Documents/monografias/brocoli.pdf>

Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. (2011b). *Proyecto sectorial: Estudio de infraestructura logística hortofrutícola en el sur del país*. México. México. Recuperado a partir de [http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios\\_promercado/FDTAFT.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/FDTAFT.pdf)

Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. (2012). Es México potencia en producción y exportación de hortalizas; reto: diversificar oferta y mercados.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2014a). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera: Brócoli. Recuperado el 17 de noviembre de 2015, a partir de <http://www.siap.gob.mx/brocoli/>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2014b). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera: Coliflor. Recuperado el 17 de noviembre de 2015, a partir de <http://www.siap.gob.mx/coliflor/>

Shao, Y., & Bao, J. (2015). Polyphenols in whole rice grain: Genetic diversity and health benefits. *Food Chemistry*, *180*, 86–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.027>

Sikora, E., Cieślík, E., Leszczyńska, T., Filipiak-Florkiewicz, A., & Pisulewski, P. M. (2008). The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. *Food Chemistry*, *107*(1), 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.023>

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1998). Analysis of total

phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

Srinivasan, V. S. (2001). Bioavailability of nutrients: a practical approach to in vitro demonstration of the availability of nutrients in multivitamin-mineral combination products. *The Journal of nutrition*, 131(4 Suppl), 1349S–50S. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11285352>

Taga, M. S., Miller, E. E., & Pratt, D. E. (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(5), 928–931. <https://doi.org/10.1007/BF02542169>

Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, 93(4), 713–718. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.038>

United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service. (2011). *Microwave ovens and safety*. Mechanicsville, Virginia. Recuperado a partir de [https://www.fsis.usda.gov/shared/PDF/Microwave\\_Ovens\\_and\\_Food\\_Safety.pdf](https://www.fsis.usda.gov/shared/PDF/Microwave_Ovens_and_Food_Safety.pdf)

USDA, D. de A. de los E. U. (2015). Disponible de United States Department of Agriculture Agricultural National Nutrient Database for Standard Reference Retrieved Broccoli & Cauliflower. Recuperado a partir de <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods>

Van Acker, S. A. B. E., Van Den Berg, D., Tromp, M. N. J. L., Griffioen, D. H., Van Bennekom, W. P., Van Der Vijgh, W. J. F., & Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(3), 331–342. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02047-0](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02047-0)

Velderrain-Rodríguez, G. R., Palafox-Carlos, H., Wall-Medrano, A., Ayala-Zavala, J. F., Chen, C.-Y. O., Robles-Sánchez, M., ... González-Aguilar, G. A. (2014). Phenolic compounds: their journey after intake. *Food and Function*, 5, 189–197.

<https://doi.org/10.1039/C3FO60361J>

- Villarreal, A. M. (2007). *Métodos de Cocción*.
- Volden, J., Bengtsson, G. B., & Wicklund, T. (2009). Glucosinolates, l-ascorbic acid, total phenols, anthocyanins, antioxidant capacities and colour in cauliflower (*Brassica oleracea* L. ssp. botrytis); effects of long-term freezer storage. *Food Chemistry*, *112*(4), 967–976. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.018>
- Wachtel-Galor, S., Wong, K. W., & Benzie, I. F. F. (2008). The effect of cooking on Brassica vegetables. *Food Chemistry*, *110*(3), 706–710. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.056>
- Wang, Y., Ying, L., Sun, D., Zhang, S., Zhu, Y., & Xu, P. (2011). Supercritical carbon dioxide extraction of bioactive compounds from *Ampelopsis grossedentata* stems: process optimization and antioxidant activity. *International Journal of Molecular Sciences*, *12*(10), 6856–6870. <https://doi.org/10.3390/ijms12106856>
- Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, *33*(6), 423–447. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00068-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00068-5)
- Yamaguchi, T., Katsuda, M., Oda, Y., Terao, J., Kanazawa, K., Oshima, S., ... Matoba, T. (2003). Influence of Polyphenol and Ascorbate Oxidases during Cooking Process on the Radical- Scavenging Activity of Vegetables. *Food Sci. Technol. Res*, *9*(1), 79–83. Recuperado a partir de [https://www.jstage.jst.go.jp/article/fstr/9/1/9\\_1\\_79/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/fstr/9/1/9_1_79/_pdf)
- Zhang, D., & Hamazu, Y. (2004). Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*, *88*(4), 503–509. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.065>
- Zhou, K., & Yu, L. (2006). Total phenolic contents and antioxidant properties of

commonly consumed vegetables grown in Colorado. *LWT - Food Science and Technology*, 39(10), 1155–1162. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.015>

Zou, Y., Chang, S. K. C., Gu, Y., & Qian, S. Y. (2011). Antioxidant activity and phenolic compositions of lentil (*Lens culinaris* var. Morton) extract and its fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6), 2268–2276. <https://doi.org/10.1021/jf104640k>