

Efecto de tratamientos domésticos de cocción sobre la capacidad antioxidante de quintonil (*Amaranthus hybridus*), un cultivo poco valorado

Campos-González N^{a*}, Sosa-Morales M.A^a, Lopez-Martínez L.X^b

^a Posgrado en Biociencias, Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex-Hacienda El Copal, Carretera Irapuato-Silao km 9, C.P 36500, Irapuato, Guanajuato, México.

^b CONACYT- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán No. 46 Rosas, CP. 83304. Col. La Victoria, Hermosillo, Sonora, México.

*n.camposgonzalez@ugto.mx

RESUMEN

El presente estudio evaluó los efectos de la cocción (hervido y al vapor) sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT), la capacidad antioxidante determinada por DPPH y ORAC y la inhibición de la formación de óxido nítrico (NO) y peroxinitrito (ONOO⁻) de quintonil. Los CFT aumentaron durante la cocción al vapor en 10.2 veces. Los valores de DPPH oscilaron entre 284.7 y 3014.0 $\mu\text{mol ET/g}$, para ORAC se mostraron valores de 123.1, 318.6 y 3228.5 $\mu\text{mol TE/100 g}$ para quintonil crudo, hervido y al vapor, respectivamente. La capacidad para neutralizar al NO varió entre un 10.55 al 83% y los valores de ONOO⁻ no fueron afectados por los tratamientos de cocción. Se observó que la cocción al vapor produce una mayor liberación de compuestos fenólicos y una mayor actividad antioxidante del quintonil. Los tratamientos de cocción demostraron liberar más compuestos fenólicos debido a la destrucción de las estructuras celulares; aunque también puede ocurrir la liberación de enzimas oxidativas que pueden inactivar los compuestos fenólicos. La cocción al vapor parece desactivar mayoritariamente a estas enzimas evitando que ocurra la pérdida de los compuestos fenólicos.

Palabras clave: *Amaranthus hybridus*; capacidad antioxidante; compuestos fenólicos; quintonil, tratamientos de cocción

ABSTRACT

This study evaluated the effects of cooking (boiling and steaming) on the content of total phenolic compounds (TPC), the antioxidant capacity determined by DPPH and ORAC and the inhibition of the formation of nitric oxide (NO) and peroxynitrite (ONOO⁻) on quintonil. TPC increased during steaming by 10.2 times. DPPH values ranged between 284.7 and 3014.0 $\mu\text{mol ET/g}$, for ORAC values of 123.1, 318.6 and 3228.5 $\mu\text{mol TE/100 g}$ were obtained for raw, boiled, and steamed quintonil, respectively. The capacity to neutralize NO ranged between 10.55 to 83%, and the ONOO⁻ values were not affected by the cooking method. The steam cooking produces a greater release of phenolic compounds and greater antioxidant activity of quintonil. The cooking treatments proved to be able to release more phenolic compounds due to the destruction of the cellular structures; although the release of oxidative enzymes, which may inactivate phenolic compounds. Steam cooking seems to largely deactivate these enzymes to prevent loss of phenolic compounds.

Keywords: *Amaranthus hybridus*; antioxidant capacity; phenolic content; quintonil, cooking treatment

INTRODUCCIÓN

El quintonil (*Amaranthus hybridus*) pertenece a la familia de los quelites, un grupo de plantas silvestres y cultivables con follaje comestible que se encuentra ampliamente distribuido en toda la república mexicana, sin embargo, se considera un cultivo subvalorado y poco utilizado a pesar de que posee un notable valor nutritivo debido a su contenido de vitaminas, minerales y un contenido de proteínas de 3.65% (Santiago-Saenz *et al.*, 2018). Además, es capaz de contribuir con aproximadamente un 30% a los requerimientos diarios de fibra, con casi un 25% a la ingesta diaria recomendada de proteínas, al consumir 100 g de hojas frescas (FND, 2002). El consumo de una dieta rica en vegetales juega un papel importante en la disminución de distintas patologías como enfermedades cardíacas, cerebrovasculares, diabetes y diferentes tipos de cáncer (Tomás *et al.* 2017). Los beneficios se han relacionado con el contenido de carotenoides, vitaminas y compuestos fenólicos. Típicamente, el quintonil se consume crudo (como ensalada) o después de cocinar (hervido, frito o al vapor), afectando el contenido de fitoquímicos, así como su capacidad antioxidante. El presente estudio determinó el efecto diferentes formas de cocción (hervido, freído y al vapor) sobre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos acuosos obtenidos a partir de hojas de quintonil con el fin de resaltar sus beneficios para la salud y promover su consumo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El quintonil fue cosechado en la comunidad de San Lorenzo Tlacotepec, Atlacomulco, Estado de México. La cocción por hervido se realizó con agua a 93°C y presión atmosférica durante 10 min. Para la cocción al vapor, las hojas de quintonil se cocieron en una vaporera de acero inoxidable por incidencia directa de vapor saturado por 10 min. Después de los tratamientos, las muestras se colocaron en un baño de agua a 4°C por 30 s para detener la cocción. Se tomaron 5 g de las hojas (crudas, cocidad y al vapor) previamente trituradas, se depositaron en tubos y se le añadieron 20 mL de agua destilada. Las muestras fueron sonicadas por 30 min en sonicador (Bransonic, modelo 2510R-DTH, Connecticut, EUA) y posteriormente se centrifugó a 18407 x g por 15 min a 4 °C. Los sobrenadantes fueron recuperados y los residuos lavados dos veces con 10 mL de agua destilada y posteriormente centrifugados como se describió anteriormente. Los sobrenadantes se filtraron a través de papel Whatman No. 1 y el volumen obtenido se aforó a 50 mL. Los extractos se conservaron a una temperatura de -35 °C para las próximas determinaciones (Campos-Gonzalez, 2019).

El contenido de compuestos fenólicos se analizó con el reactivo de Folin-Ciocalteu acorde a lo descrito por Singleton y Rosi (1999), 30 µL de la extracción se hicieron reaccionar con 150 µL del reactivo Folin-Ciocalteu, previamente diluido 1:10 v/v con agua destilada. Se incubó por 5 min y se adicionaron 120 µL de carbonato de sodio (7.5%). La mezcla se incubó por 2 h en la oscuridad y la absorbancia se midió a 765 nm utilizando un lector de microplacas (FLUOstar OMEGA, modelo SN/415-0695, EUA). El contenido de CFT se calculó empleando una curva de calibración de ácido gálico (0.04-0.80 mg/mL) y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ 100 g peso fresco (PF). La capacidad antioxidante se determinó por los métodos de DPPH y ORAC siguiendo la metodología de Huang *et al.* (2005) y Huang *et al.* (2002), respectivamente. Para la medición por DPPH, se transfirió una alícuota de 20 µL de cada muestra a una microplaca de fondo plano Costar® de 96 pocillos y se permitió que reaccionara con una solución de DPPH 200 µM (280 µL). La mezcla se incubó en la oscuridad durante 30 min a temperatura ambiente y se determinó la disminución de la absorbancia a 540 nm con un lector de microplacas. Se empleó la curva de Trolox de 0,05–1 mmol TE/g para calcular los resultados, que se expresan como µmol de equivalentes de Trolox por 100g (µmol ET/ 100g PF).

El ensayo ORAC se realizó utilizando fluoresceína como reactivo de fluorescencia, AAPH (diclorhidrato de 2,2-azobis (2-amidino-propano)) se utilizó como generador de radicales peroxilo y

Trolox se utilizó como estándar. La mezcla de reacción contenía 25 μL de extracto, 25 μL de tampón fosfato 75 mM (pH 7,4), 75 μL de AAPH 0,8 M y 200 μL de fluoresceína 0,106 μM . Los extractos, el tampón fosfato y la fluoresceína se incubaron a 37 °C durante 15 min. Se añadió AAPH para iniciar la reacción y se midió la fluorescencia cada 70 s durante 70 min con un filtro de excitación de 485 nm y un filtro de emisión de 580 nm utilizando un espectrofotómetro Synergy HT. Los valores se calcularon utilizando una ecuación de regresión que describe la relación entre la concentración de Trolox y el área neta bajo la curva de descomposición de la fluoresceína. Se utilizó la curva de Trolox de 6,25 a 125 ($\mu\text{mol TE/g}$) para estimar los resultados, que se expresaron como μmol de equivalente de Trolox por 100 g PF ($\mu\text{mol ET/100 g PF}$).

La inhibición de la formación de NO se determinó utilizando nitroprusiato de sodio y agente de Griess (Giraldo y col. 2003) La absorbancia se midió a 546 nm. Una muestra de control que no contenía extracto y una muestra en blanco contenían todos los reactivos excepto el reactivo de Griess se emplearon para corregir la absorbancia de fondo conferida por el extracto de hojas de quintonil o la referencia. El ácido ferúlico se utilizó como patrón de referencia. El porcentaje de inhibición de la formación de NO fue calculado. La inhibición de la formación ONOO⁻ se evaluó acorde a Fábila-Garca *et al.* (2019). El ONOO⁻ se sintetizó mezclando 20 mL de una solución ácida (HCl 0,6 M) de H₂O₂ (0,7 M) con 20 mL de KNO₂ (0,6 M) en hielo durante 10 s, y la reacción se inactivó con 20 mL de NaOH enfriado con hielo (1,2 M). El H₂O₂ residual se eliminó agregando 10-15 mg de MnO₂. Luego, la solución se filtró y se congeló durante la noche a -20 °C. La capa superior amarilla formada por el fraccionamiento por congelación se separó por raspado y la concentración de ONOO⁻ se determinó a 302 nm, utilizando un coeficiente de extinción molar de 1670 cm⁻¹ M⁻¹.

Los ensayos se realizaron por triplicado, utilizando un diseño completamente al azar para evaluar los efectos de los métodos de cocción sobre CFT y la capacidad antioxidante medida por DPPH y ORAC y el efecto inhibitorio de NO y ONOO⁻. Los tratamientos fueron hojas de quintonil crudas, hervidas y cocidas al vapor. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza simple y los tratamientos se compararon entre sí con una prueba de rangos múltiple de Tukey para establecer diferencias entre los mismos ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

México posee una biodiversidad muy vasta, pero cultivos antiguos, incluido el quintonil, se encuentran sin explotar, subvalorados y subutilizados. En un esfuerzo por promover su consumo, se evaluó su capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos. La Tabla 1 muestra que los diferentes tratamientos por cocción afectaron de una manera significativa a los CFT en comparación con las muestras crudas. La cocción con vapor demostró tener un efecto positivo en la liberación de CFT en comparación con el método de hervido. Cuando se sometió el quintonil al hervido, las muestras presentaron una disminución ($p < 0.05$) en comparación con el quintonil crudo (13.55 y 29.21 mg GAE/100 g). Salamatullah *et al.* (2021) determinaron que el tratamiento por cocción disminuye significativamente los valores de compuestos fenólicos en apio (22.22 a 3.01 mg EAG/100 g PF). Por otro lado, en calabazas cocidas se apreció que el proceso de cocción incrementó los contenidos de carotenoides totales, pero en el caso de los compuestos fenólicos se observaron pérdidas a partir de los 6 min (Xu y Chang, 2008). El comportamiento descrito por ambos autores coincide con los datos reportados en nuestra investigación. La pérdida o la ganancia de compuestos fenólicos son una consecuencia principalmente de los métodos de cocción y/o procesamiento, por otro lado, otro factor determinante es la sensibilidad que presenten los compuestos a la degradación o modificación de su estructura (Bernaert *et al.*, 2013; López-García *et al.*, 2018). En el presente estudio el hervido afectó mayoritariamente el contenido de compuestos fenólicos, en comparación con el método de cocción a vapor. La degradación de los compuestos fenólicos depende, además del tratamiento de cocción, de la estructura química del compuesto presente en las hojas de quintonil, además de la lixiviación de compuestos fenólicos hacia el agua de cocción (Bernaert *et al.*, 2013).

En este estudio los valores de capacidad antioxidante fueron influenciados significativamente por los tratamientos de cocción (Tabla 1). Esto puede ser atribuido a que los tratamientos térmicos pueden romper los enlaces glucosídicos de los compuestos fenólicos para formar agliconas, que poseen mayores propiedades antioxidantes (Rohn *et al.*, 2007). Tanto para DPPH como para ORAC los mayores valores fueron encontrados cuando el quintonil fue cocido al vapor. Por ello, para preservar la capacidad antioxidante del quintonil se podría recomendar un tratamiento de cocción indirecto del alimento.

La inhibición de NO varió de 66,71 a 83,32% y para inhibición de ONOO⁻ de 27.26 a 31.29 sin mostrar diferencia significativa (Tabla 1). Las actividades de cada extracto contra la formación de NO se encuentran relacionadas con el contenido de compuestos fenólicos, que son reconocidos como eficientes neutralizadores de radicales libres como NO y peroxinitrito (ONOO⁻) (López-Martínez *et al.*, 2012). El NO es una molécula con características de radical libre, que es reducida directamente por los compuestos fenólicos, principalmente por los grupos hidroxilos presentes en la molécula antioxidante. Por otro lado, los compuestos fenólicos pueden reaccionar con el peroxinitrito ya sea dirigiendo la nitración a sus propias estructuras o por medio de la donación de electrones (Coz-Bolaños *et al.*, 2018). Las actividades inhibitorias parecen guardar relación con los contenidos de compuestos fenólicos en las muestras. Las diferencias de inhibición de la formación de ONOO⁻ se encuentran relacionadas con la concentración y composición específica de los compuestos fenólicos presentes en las muestras (López-Martínez *et al.*, 2012).

Tabla 1. Efecto de los métodos de cocción en el contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en extractos acuosos de hojas de quintonil (*Amaranthus hybridus*).

Tratamiento	CFT	DPPH	ORAC	NO	ONOO ⁻
Crudo	29.2 ±0.2 ^b	284.7 ±5.5 ^b	123.1 ±8.1 ^c	66.7 ±4.4 ^b	27.9 ±2.2 ^a
Al vapor	148.4 ±6.3 ^a	3014.0 ±28.9 ^a	3228.1 ±66.5 ^a	82.5 ±3.3 ^a	31.0 ±3.6 ^a
Hervido	13.5 ±2.5 ^c	298.5 ±6.3 ^b	318.8 ±9.1 ^b	83.3 ±6.3 ^a	30.3 ±2.7 ^a

Diferentes letras en la misma columna denotan diferencias ($p \leq 0.05$). CFT: mg EAG/ 100g PF; DPPH y ORAC: $\mu\text{mol ET/ 100g PF}$; NO y ONOO⁻: porcentaje de inhibición.

CONCLUSIÓN

La cocción al vapor no presentó efectos negativos sobre los compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante de quintonil. La inhibición de NO y ONOO⁻ no fue afectada por los tratamientos de cocción en quintonil, sin embargo, la inhibición de ONOO⁻ fue mayor para el quintonil crudo (crudo > tratamiento al vapor > hervido). Los resultados obtenidos muestran que el método más efectivo para la conservación de compuestos fenólicos y mantenimiento de la capacidad antioxidante es el tratamiento al vapor. Por ello, es recomendable que al realizar las preparaciones culinarias de este, y posiblemente otros alimentos vegetales similares, se considere la cocción con vapor sobre otros métodos para mantener la funcionalidad natural de los alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

- Bernaert, N., De Loose, M., Van Bockstaele, E., & van Droogenbroeck, B. (2014). Antioxidant changes during domestic food processing of the white shaft and green leaves of leek (*Allium ampeloprasum* var. porrum). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 1168–1174.
- Campos-Gonzalez, N. 2019. Aplicación de Ultrasonido para aumentar la concentración de compuestos bioactivos en una bebida funcional de mango, zanahoria y cúrcuma. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), México.

- Coz-Bolaños, X., Campos-Vega, R., Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gómez, M., Loarca-Piña, G. F., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2018). Moringa infusion (*Moringa oleifera*) rich in phenolic compounds and high antioxidant capacity attenuate nitric oxide pro-inflammatory mediator in vitro. *Industrial Crops and Products*, 118, 95-101.
- Fabila-Garca, P., Dublán-García, O., Gómez-Oliván, L. M., Baeza-Jiménez, R., & López-Martínez, L. X. (2017). In vitro antioxidant and bioactive properties of corn (*Zea mays* L.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 67, 300-308.
- FND. (2002). Dietary reference intake for energy, carbohydrate, fibre, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acid (Micronutrients). FND. USA: National Academy of Sciences.
- Giraldo, B. L., Hernández, P. M., Angulo, H. P., & Fuertes, R. C. (2003). Actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa* Willd. D.C. (uña de gato). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 69, 229-242.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Prior, R. L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a Microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4437-4444.
- López-García, G., López-Martínez, L. X., Dublán-García, O., & Baeza-Jiménez, R. (2017). Extraction and characterization of the fatty acid profile of quintonil (*Amaranthus hybridus*). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(3), 835-844.
- Lopez-Martinez, L. X., Parkin, K. L., & Garcia, H. S. (2012). Effect of processing of corn for production of masa and tortilla chips on the scavenging capacity of reactive nitrogen species. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1321-1327.
- Rohn, S., Buchner, N., Driemel, G., Rauser, M., & Kroh, L.W. (2007). Thermal degradation of onion quercetin glucosides under roasting conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1568-1573.
- Salamatullah, A. M., M. M. Özcan, M. S. Alkaltham, N. Uslu, K. J. J. o. F. P. Hayat. 2021. Influence of boiling on total phenol, antioxidant activity, and phenolic compounds of celery (*Apium graveolens* L) root. *Preservation*. 45(2): e15171.
- Santiago-Saenz, Y. O., A. D. Hernández-Fuentes, R. Monroy-Torres, R. Cariño-Cortés & R. Jiménez-Alvarado. 2018. Physicochemical, nutritional and antioxidant characterization of three vegetables (*Amaranthus hybridus* L., *Chenopodium berlandieri* L., *Portulaca oleracea* L.) as potential sources of phytochemicals and bioactive compounds. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12(4):2855-2864.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants, Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Tomas, M., Beekwilder, J., Hall, R. D., Sagdic, O., Boyacioglu, D., & Capanoglu, E. (2017). Industrial processing versus home processing of tomato sauce: Effects on phenolics, flavonoids and in vitro bioaccessibility of antioxidants. *Food Chemistry*, 220, 51-58.
- Xu, B., & Chang, S. K. (2008). Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. *Food Chemistry*, 110(1), 1-13.