

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**BIOACCESIBILIDAD DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA FLOR *Agave inaequidens* MEDIANTE UN SISTEMA GASTROINTESTINAL *in vitro***

**POR**

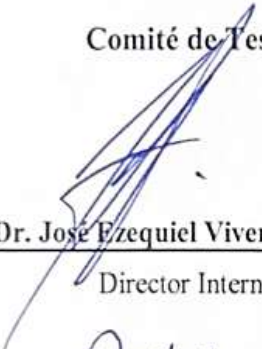
**LAURA LUCELY GONZÁLEZ GALVÁN**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA  
EN MANEJO Y APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE RECURSOS  
BIÓTICOS**

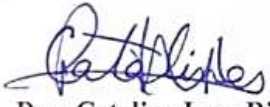
**2023**

BIOACCESIBILIDAD DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA FLOR *Agave*  
*inaequidens* MEDIANTE UN SISTEMA GASTROINTESTINAL *in vitro*

Comité de Tesis

  
\_\_\_\_\_  
Dr. José Ezequiel Viveros Valdez

Director Interno

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Catalina Leos Rivas

Secretario

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Catalina Rivas Morales

Vocal

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Eduardo Sánchez García

Vocal

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Mayra Zulma Treviño Garza

Vocal

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Katiushka Arvalo Nino

Subdirectora de Posgrado



DIRECCIÓN  
DE POSGRADO

**BIOACCESIBILIDAD DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA FLOR *Agave*  
*inaequidens* MEDIANTE UN SISTEMA GASTROINTESTINAL *in vitro***

**Dirección de Tesis**



Dr. José Ezequiel Viveros Valdez

---

Director



Dra. Imelda Nohemí Monroy García

---

Asesor externo

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

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, le agradezco a Dios por darme esta oportunidad y las capacidades necesarias para desempeñarme adecuadamente en esta área y crecer profesionalmente.

Quiero agradecerle a mi director de tesis el Dr. José Ezequiel Viveros Valdés, por permitirme trabajar juntos y compartirme sus conocimientos, además de hacer uso de su área laboral. También le agradezco por su trato siempre amable, apoyo, comprensión y amistad.

Como asesora externa, la Dra. Imelda Nohemí Monroy García, le agradezco su trato amable y por permitirse darse tiempo para asesorarme y orientarme en todas las dudas que se me presentaron. Siempre demostrando calidad en su desempeño laboral.

Agradezco a mi comité de tesis, Dra. Catalina Leos Rivas, Dra. Catalina Rivas Morales, Dr. Eduardo Sánchez García y Dra. Mayra Zulema Treviño Garza por sus indicaciones, comentarios, asesorías y tiempo. Muchas gracias a todos Ustedes, que me ayudaron a finalizar este proyecto.

También agradezco al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de manutención otorgada.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León, le agradezco haberme recibido como alumna de posgrado, por permitirme hacer uso de las instalaciones de la Facultad de Ciencias Biológicas y los recursos que se me brindaron para poder realizar esta investigación adecuadamente. También estoy agradecida con las personas que allí laboran y me han brindado su ayuda o apoyo en algún momento.

Le agradezco a mis tíos Zacarías Alejandro González Meraz y Daniel González Meraz, que me ayudaron con gusto, en la colecta de las flores que se necesitaron para realizar esta investigación.

Finalmente le agradezco a mi familia, principalmente a mi madre Rosa Elia Galván González y a mi pareja Aarón Rocha Burciaga, por apoyarme incondicionalmente en mis decisiones.

## **DEDICATORIA**

Esta tesis está dedicada con amor a mi madre, sobrinos y pareja, quienes han sido mi mayor motivación y en honor a su apoyo incondicional

# ÍNDICE DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	ANTECEDENTES.....	3
2.1.	Flores comestibles .....	3
2.2.	Flores como alimento funcional .....	4
2.3.	Agave.....	6
2.3.1.	Flor de Agave.....	7
2.4.	Contenido nutricional de flores comestibles .....	10
2.5.	Compuestos bioactivos en las flores comestibles .....	11
2.6.	Compuestos fenólicos.....	12
2.6.1.	Clasificación.....	13
2.7.	Propiedades terapéuticas de los compuestos fenólicos.....	16
2.7.1.	Actividad antioxidante .....	16
2.7.2.	Inhibición de enzimas digestivas: $\alpha$ – amilasa y $\alpha$ – glucosidasa .....	17
2.7.3.	Inhibición de enzimas digestivas: Lipasa.....	19
2.8.	Bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los compuestos fenólicos por medio de un sistema de digestión <i>in vitro</i> .....	20
3.	JUSTIFICACIÓN .....	23
4.	HIPÓTESIS.....	24
5.	OBJETIVOS.....	25
5.1.	Objetivo general.....	25
5.2.	Objetivo específicos .....	25
6.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	26
6.1.	Materiales .....	26
6.2.	Identificación taxonómica.....	26
6.3.	Colecta y preparación del material vegetal .....	28
6.4.	Análisis proximal .....	28
6.5.	Acondicionamiento de resina amberlite XAD-7-HP .....	28
6.6.	Metodología de extracción y fraccionamiento .....	29
6.7.	Digestión gastrointestinal (DGI) <i>in vitro</i> .....	30
6.7.1.	Cálculo de bioaccesibilidad .....	31
6.8.	Contenido total de compuestos fenólicos: método de Folin-Ciocalteu (FC).....	31

6.9.	Contenido total de flavonoides: método tricloruro de aluminio (AlCl <sub>3</sub> ).....	32
6.10.	Actividad antioxidante/anti-radical .....	33
6.10.1.	Actividad anti-radical por el reactivo DPPH• .....	33
6.10.2.	Capacidad antioxidante equivalente a Trolox (CAET) .....	35
6.10.3.	Efecto protector sobre eritrocitos AAPH .....	35
6.11.	Actividad inhibitoria de enzimas digestivas .....	37
6.11.1.	Actividad inhibitoria de α-amilasa .....	37
6.11.2.	Actividad inhibitoria de α-glucosidasa .....	37
6.11.3.	Actividad inhibitoria de lipasa pancreática .....	38
7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	40
8.	RESULTADOS Y DICUSIONES .....	41
8.1.	Identificación taxonómica.....	41
8.2.	Análisis proximal .....	41
8.3.	Rendimiento de los extractos .....	43
8.4.	Contenido tota de fenoles y flavonoides y, porcentaje de bioaccesibilidad .....	44
8.5.	Actividad antioxidante/anti-radical .....	47
8.6.	Actividad inhibitoria de enzimas digestivas α-amilasa, α-glucosidasa y lipasa .....	49
9.	CONCLUSIONES.....	52
10.	PERSPECTIVAS.....	53
11.	BIBLIOGRAFÍA.....	54



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla No</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
<b>1</b>	<b>Análisis proximal de la flor de Agave (Agave salmiana) (g/100g de muestra) en peso seco.</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>Compuestos fenólicos y actividad biológica asociada a flores de agave.</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>Contenido nutricional de flores comestibles.</b>	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>Información de la colecta de flor de Agave para identificación.</b>	<b>26</b>
<b>5</b>	<b>Resultados del análisis proximal de la flor de agave.</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>Tabla de información nutrimental de la flor de agave.</b>	<b>43</b>
<b>7</b>	<b>Porcentaje de rendimiento de los extractos y fracciones de la flor de agave.</b>	<b>44</b>
<b>8</b>	<b>Contenido de fenoles totales y flavonoides totales, y porcentaje de bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos de los extractos sin digerir y digeridos de la Flor de Agave.</b>	<b>45</b>
<b>9</b>	<b>Actividad antioxidante/anti-radical de los extractos sin digerir y digeridos de la Flor de Agave por tres métodos diferentes.</b>	<b>48</b>
<b>10</b>	<b>Concentración inhibitoria media de los extractos sin digerir y digeridos de la Flor de Agave sobre tres enzimas digestivas.</b>	

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura No</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
<b>1</b>	a) <i>Agave inaequidens</i> con escapo floral y herramienta implementada para la colecta de la flor. b) Acercamiento de las flores donde se aprecia la diferencia de maduración, las cosechadas son las de coloración entre amarillo y verde.	<b>8</b>
<b>2</b>	Compuestos no flavonoides. a) no carboxílicos o simples; b) derivados del ácido benzoico; c) derivados del ácido cinámico.	<b>14</b>
<b>3</b>	Estructura general de flavonoides	<b>14</b>
<b>4</b>	Ejemplos de flavonoides; a) Flavonona Naringenina; b) Flavonol Taxifolina; c) Flavona Apigenina; d) Flavonoles Kaempferol; e) Isoflavona Genisteína; f) Antocianina Cianidina 3-O-glucósido. Se muestra con círculos rojos las diferencias estructurales entre cada compuesto	<b>15</b>
<b>5</b>	<i>Agave inaequidens</i> 1. a) Escapo floral; b) Estructura foliar del agave; c) Flores de agave con regla de medición	<b>27</b>
<b>6</b>	<i>Agave inaequidens</i> 2. a) Escapo floral; b) Estructura foliar del agave; c) Flores de agave con regla de medición	<b>27</b>
<b>7</b>	<i>Agave inaequidens</i> 3. a) Escapo floral; b) Estructura foliar del agave; c) Flores de agave con regla de medición	<b>27</b>
<b>8</b>	Esqueleto molecular de flavonoides	<b>33</b>
<b>9</b>	Reacción entre DPPH• y un antioxidante (AH). A° es un radical libre producido	<b>34</b>

## LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

AAPH	2,2'-Azobis(2-amidinopropano) dihidrocloruro
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
AG	Ácido gálico
AlCl <sub>3</sub>	Tricloruro de aluminio
CAET	Capacidad antioxidante equivalente a trolox
CE <sub>50</sub>	Capacidad efectiva media
CI <sub>50</sub>	Capacidad inhibitoria media
CIIDIR	Centro interdisciplinario de investigación para el desarrollo integral regional
CP	Compuestos fenólicos
CTFe	Contenido total de fenoles
CTFI	Contenido total de flavonoides
DGI	Digestión gastrointestinal
DM	Diabetes mellitus
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
EF	Extracto fenólico
EFE	Extracto fenólico enriquecido
EFE-D	Extracto fenólico enriquecido digerido
ELN	Extracto libre de nitrógeno
FC	Folin-Ciocalteu
FSG	Fluido de simulación gástrica
FSI	Fluido de simulación oral
FSO	Fluido de simulación intestinal
H <sub>2</sub> O	Agua
HCl	Ácido clorhídrico
I <sub>2</sub>	Diyodo
ID	Intestino delgado

IG	Intestino grueso
$K_2S_2O_8$	Persulfato de potasio
$KH_2PO_4$	Fosfato de potasio monobásico
KI	Yoduro de potasio
MeOH	Metanol
msnm	Metros sobre nivel del mar
$Na_2CO_3$	Carbonato de sodio
$Na_2HPO_4$	Fosfato de sodio dibásico
NaCl	Cloruro de sodio
$NaHCO_3$	Bicarbonato de sodio
$NaNO_2$	Nitrito de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NOM	Norma oficial mexicana
-OH	Hidroxilo
PBS	Solución salina de fosfato
PF	Peso fresco
PFD	Peso fresco digerido
pH	Potencial de hidrogeno
p-NPP	p-nitrofenil palmitato
p-PNPG	p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosido
Trolox	Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico
T1DM	Diabetes mellitus tipo uno
T2DM	Diabetes mellitus tipos dos

## RESUMEN

Las flores comestibles son una rica fuente de nutrientes y compuestos fitoquímicos, lo que ha incrementado su popularidad y demanda. La flor de agave se ha consumido de manera tradicional y a través de la bioprospección alimenticia de la especie *Agave inaequidens* se ha demostrado su potencial como recurso de alimento funcional gracias a la presencia de nutrientes y compuestos bioactivos. En este estudio se evaluó la composición nutricional mediante análisis proximal, encontrando un contenido de 7.52% fibra, 6.11% ceniza, 3.19% proteína, 1.95% grasa y 81.24 % ELN. Con respecto a los compuestos bioactivos presentes en la flor *A. inaequidens* se evaluó la concentración fenólica y su bioaccesibilidad empleando un sistema de digestión gastrointestinal *in vitro*. La digestión disminuyó la CTF<sub>e</sub> de 138 a 21 mg EAG/100g de PF de la flor, lo que equivale a una bioaccesibilidad de 16.49%. La CTF<sub>I</sub> también disminuyó después de la digestión de 8 a 4.6 mg ECat/100g de PF con bioaccesibilidad de 57.71%. La concentración de fenoles influye en la actividad antioxidante, siendo mayor a mayor concentración. No obstante, el proceso digestivo reduce la concentración y, por ende, la efectividad de los ensayos CAET (5.7 a 1.9  $\mu$ M/100g de PF), DPPH (CI<sub>50</sub> 0.43 a 4.2 mg/mL) y hemólisis inducida por AAPH (70.43 a >100  $\mu$ g/mL). El proceso de digestión *in vitro* también afectó la actividad inhibitoria de los compuestos fenólicos sobre algunas enzimas digestivas; disminuyó la actividad sobre la inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa (CI<sub>50</sub> 1.8 a 2.1 mg/mL), sin embargo, aumentó la inhibición sobre las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa (CI<sub>50</sub> 2.7 a 1.6 mg/mL) y lipasa (CI<sub>50</sub> >3 a 1.4 mg/mL) al disminuir la concentración inhibitoria media después de la digestión. Estos resultados demuestran la capacidad que tienen la flor *A. inaequidens* de ser considerada como alimento funcional al reportar la presencia de compuestos fenólicos, actividad antioxidante e inhibición de enzimas digestivas después de someterse a un proceso digestivo.

## ABSTRACT

Edible flowers are a rich source of nutrients and phytochemical compounds, which has increased their popularity and demand. The agave flower has been traditionally consumed and through food bioprospecting of the *Agave inaequidens* species, its potential as a functional food resource has been demonstrated thanks to the presence of nutrients and bioactive compounds. In this study, the nutritional composition was evaluated by proximal analysis, finding a content of 7.52% fiber, 6.11% ash, 3.19% protein, 1.95% fat and 81.24% ELN. Regarding the bioactive compounds present in the *A. inaequidens* flower, the phenolic concentration and its bioaccessibility were evaluated using an *in vitro* gastrointestinal digestion system. Digestion decreased the CTF<sub>e</sub> from 138 to 21 mg EAG/100g of PF, which is equivalent to a bioaccessibility of 16.49%. The CTF<sub>i</sub> also decreased after digestion from 8 to 4.6 mg ECat/100g of FP with bioaccessibility of 57.71%. The concentration of phenols influences the antioxidant activity, being higher at higher concentrations. However, the digestive process reduces the concentration and, therefore, the effectiveness of the assays CAET (5.7 to 1.9 μM/100g of FP), DPPH (IC<sub>50</sub> 0.43 to 4.2 mg/mL) and hemolysis induced by AAPH (70.43 to >100 μg/mL). The *in vitro* digestion process also affected the inhibitory activity of phenolic compounds on some digestive enzymes; decreased activity on the inhibition of the α-amylase enzyme (IC<sub>50</sub> 1.8 to 2.1 mg/mL), however, increased inhibition on the enzymes α-glucosidase (IC<sub>50</sub> 2.7 to 1.6 mg/mL) and lipase (IC<sub>50</sub> >3 to 1.4 mg/mL) by decreasing the mean inhibitory concentration after digestion. These results demonstrate the ability of the *A. inaequidens* flower to be considered as a functional food by reporting the presence of phenolic compounds, antioxidant activity, and inhibition of digestive enzymes after undergoing a digestive process.

# 1. INTRODUCCIÓN

En México y a nivel mundial se lleva a cabo el consumo de flores comestibles, con características no solo estéticas sino también nutricionales y funcionales, práctica también denominada como florifagia (Galindo et al 2021, Wilczyńska et al 2023). Estudios recientes han determinado que las flores comestibles contienen componentes benéficos para la salud, aportan un alto contenido de vitaminas, minerales, proteínas, aminoácidos y, sobre todo, sustancias bioactivas con capacidad terapéutica (Cortés et al 2013). Un ejemplo de sustancias bioactivas son los compuestos fenólicos, los cuales se ha demostrado que tienen una alta actividad antioxidante cuando se encuentran en concentraciones elevadas (Mlcek & Rop 2011).

La bioprospección es una ciencia que realiza búsquedas sistemáticas de recursos naturales con valor industrial para desarrollar productos de interés comercial para la humanidad, como productos cosméticos, farmacéuticos, alimenticios y agrícolas (Kumar & P. Singh 2021, Valdivia & Granillo 2020). Aplicada en la industria alimenticia permite obtener ingredientes bioactivos, alimentos funcionales y pre/probióticos (López 2020). Tal es el caso de las flores comestibles que por medio de su bioprospección, se puede inferir que forman parte de los alimentos funcionales, alimentos que además de su valor nutricional contienen compuestos biológicamente activos que aportan efecto benéfico para la salud, reduciendo el riesgo de contraer ciertas enfermedades (Beltrán 2016, Hernández et al 2021).

La flor de agave también conocida como flor de maguey, bayusas, gualumbos, cacayas, entre otras denominaciones, es una de las flores comestibles que forma parte de los platillos tradicionales de México, consumida en varios estados de la república (Figueredo 2020). Investigaciones previas de la flor de agave han señalado el aporte nutricional por medio del análisis proximal identificando alto contenido de proteínas, minerales y fibra (Sotelo et al 2007). Sin embargo, hasta el momento no se ha encontrado información disponible acerca de las propiedades funcionales que puede brindar el consumo de dicha flor. Por ejemplo, la bioprospección clínica y experimental de la alcachofa (*C. scolymus*)

han comprobado que su consumo tiene actividad antioxidante, hepatoprotectora e hipolipemiente, además del contenido nutricional (Salem et al 2015).

Para determinar el potencial del uso de la flor de agave como alimento funcional, se cuantificó el contenido total de fenoles y flavonoides, grupos de metabolitos secundarios de mayor importancia presentes en las plantas y, en el caso de flores comestibles han manifestado propiedades antiinflamatoria, anticancerígena y antidiabética (Zheng et al 2019). Los compuestos fenólicos presentes en las azucenas (*H. fulva*) han demostrado fuerte actividad antioxidante (Fu et al 2009), por lo que, es de crucial importancia determinar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en la flor de agave mediante tres métodos diferentes: actividad captadora de radicales ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), actividad captadora de radicales libres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y, protección de hemólisis oxidativa por AAPH (2,2'-Azobis (2-amidinopropano) dihidrocloruro).

Por otra parte, la inhibición de enzimas digestivas como  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa en el ser humano tienen efecto hipoglucemiante y, por tanto, antidiabético. Flavonoides presentes en crisantemos (*C. morifolium*), yerbaniz (*T. lucida*) y flor de granada (*P. granatum*) reportaron actividad antidiabética por la inhibición de dichas enzimas (Zheng et al 2021). De manera que, se busca identificar el mismo efecto en el extracto de la flor de agave por medio de ensayos de inhibición enzimática ( $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa). Otra enzima digestiva que también puede ser inhibida por compuestos fenólicos es la lipasa, que disminuye el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares, hipertensión, diabetes y obesidad. La capuchina (*T. majus*) ha reportado la disminución de la concentración de lípidos por la inhibición enzimática (Zheng et al 2021). Por esta razón, se espera que el extracto de la flor de agave presente actividad inhibitoria sobre la enzima lipasa.

Los compuestos bioactivos asociados con actividades biológicas, deben ser capaces de cruzar la barrera intestinal, es decir, ser bioaccesibles para el organismo (Andrés 2019). En consecuencia, todos los ensayos por realizar en la flor de agave se van a someter a un sistema de digestión *in vitro* que permita medir la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos.



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Flores comestibles

Las flores se han utilizado por el ser humano principalmente como decoración por su valor estético, sin embargo, debido a sus características organolépticas, inocuas, nutricionales y medicinales, también se han utilizado en la medicina y alimentación (Figueredo et al 2022). La gastronomía de la florifagia, es la práctica del consumo de flores comestibles, actividad ancestral y mundial, en vista de que, en muchas partes del mundo el consumo de flores comestibles ha sido parte de diferentes culturas y continúa como una tradición, de manera que el origen de esta práctica es incierto (Albán et al 2018). Entre los lugares donde se practica la florifagia, se encuentran no solo los continentes americanos, sino también Europa, Asia y África. Siendo países como México, Ecuador, Colombia, Estados Unidos, Bélgica, Francia, Corea, China, Japón, entre otros más, consumidores habituales de diversas especies florales (Cortés et al 2013, Pinakin et al 2019). En la cocina tradicional mexicana se ha hecho uso de flores durante milenios, y en la actualidad muchos platillos mexicanos todavía se elaboran con una gran variedad de especies florales como ingrediente principal (Mulík & Ozuna 2020). Aun cuando la florifagia se considera una práctica ancestral, en la actualidad ha tomado popularidad con reconocimiento en libros, artículos y revistas, debido a recientes descubrimientos como potencial fuente de nutrientes y compuestos bioactivos, incrementando así la demanda de consumo (Fernandes et al 2017).

Las principales fuentes para obtener flores comestibles provienen de plantas frutales, vegetales, medicinales y ornamentales (Xu et al 2021), en consecuencia, las características organolépticas son muy diferentes como forma, color, grosor, sabor, contenido nutricional y compuestos bioactivos (Cortés et al 2013). De igual manera, la preparación y consumo de las flores comestibles es muy variable, se pueden consumir crudas como en ensaladas, postres y bebidas; o por medio de un proceso de cocción (ebullición, vapor, salteado) en

platos más elaborados combinados con otros alimentos como huevos, pastas, lácteos, carnes y verduras (Romero 2019, Takahashi et al 2020).

Por mencionar algunos ejemplos de flores comestibles más comunes y utilizadas mundialmente se encuentra la coliflor (*Brassica oleracea* var. *Botrytis*), el brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), la alcachofa (*Cynara scolymus*) y la flor de calabaza (*Cucurbita spp*) (De Lima et al 2019). No obstante, existe una amplia variedad de flores que son consideradas comestibles, por ejemplo, en México también se consume la flor de agave (*Agave salmiana*), colorín (*Erythrina americana*), palma o izote (*Yucca filifera*), y cempasúchil (*Tagetes erecta*) (Pacheco et al 2021); en otras partes del mundo como Europa, Asia, y África se consume el azulejo (*Centaurea cyanus*), manzanilla (*Matricaria chamomilla*), cosmo (*Cosmos sulphureus*), romero (*Rosmarinus officinalis*), margarita (*Chrysanthemum coronarium*), begonia (*Begonia semperflorens*), lirio (*Hemerocallis fulva*), rosa (*Rosa rugose*), malva (*Malva sylvestris*), jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), boca de dragón (*Antirrhinum majus*), entre otras más (Janarny et al 2021). Por consiguiente, el tipo de flor varía según el lugar, sin embargo, se reporta que se obtienen de 97 familias, 100 géneros y 180 especies en todo el mundo (Lu et al 2015).

No obstante, cabe mencionar que no todas las flores son comestibles debido a su composición química que puede contener sustancias tóxicas como alcaloides, glucósidos cianogénicos, taninos, látex, sales metálicas y no metálicas, compuestos que sirven de defensa para la planta (Pinakin et al 2019, Tuladhar 2021). Por lo que, se recomienda no consumir flores no analizadas provenientes o de cultivos no aprobados que podrían estar contaminadas con fertilizantes y pesticidas (Rop et al 2012).

## **2.2. Flores como alimento funcional**

Recientemente las flores comestibles han arrojado evidencia de su importancia como alimento nutritivo y saludable asociándose con "alimentos funcionales", razón por la cual se ha incrementado su popularidad y demanda (Gostin & Waisundara 2019).

El término "alimento funcional", se refiere a aquel que además de su valor nutritivo contiene componentes biológicamente activos, a partir de los cuales, se ha demostrado afectar benéficamente una o más funciones específicas en el cuerpo humano, relevantes para el estado de bienestar, la reducción del riesgo de enfermedades o tratamiento terapéutico, destacando la existencia de la relación entre el estado de salud y la alimentación (Alongi & Anese 2021, Alvídrez et al 2002, Montagna et al 2005). Algunas de las principales funciones por el consumo de este tipo de alimentos están relacionadas con un óptimo crecimiento y desarrollo debido a su aporte nutricional, y por parte de compuestos bioactivos se relacionan con efectos benéficos sobre la función del sistema cardiovascular, el sistema gastrointestinal, inmunomoduladoras, antivirales, actividad antioxidante, anticancerígenas, antiinflamatoria, anticolesterolémico, etcétera (Beltrán 2016, Hamid et al 2021, Kaur & Das 2011).

Entre los alimentos funcionales se encuentran aquellos que consideramos como convencionales o tradicionales, por ejemplo, cereales integrales, frutos secos, frutas, verduras (en general aquellos de origen natural), en donde sus efectos se observan cuando el alimento se consume dentro de una dieta equilibrada diaria (Varela 2009). En la actualidad, las flores comestibles están logrando posicionarse como alimento funcional, en vista de, estudios que demuestran el contenido nutricional (minerales, vitaminas, fibra, proteínas) pero, sobre todo el contenido de fitoquímicos, compuestos no nutritivos que minimizan enfermedades cardiovasculares, obesidad, cáncer, diabetes, etc. Además, a menudo se ha identificado que las concentraciones de compuestos bioactivos en flores comestibles son más altas en comparación con frutas o verduras comunes (Kumari et al 2021).

El interés por los alimentos funcionales va en aumento, impulsando el interés por los consumidores, investigadores, nutricionistas y productores de comida, en dietas capaces de mantener la salud y prevenir enfermedades crónicas al proporcionar nutrientes esenciales, fitoquímicos y bajos en calorías. Las flores comestibles son una clase importante y novedosa de cultivo que cumple con el perfil fitoquímico, especialmente por la presencia de compuestos fenólicos, (ácidos fenólicos, antocianinas, flavanonas,

flavonas, flavonoles), carotenoides (carotenoides y xantofilas), betalaínas, vitaminas, aminoácidos y macro y microelementos (Rouphael et al 2021).

### **2.3. Agave**

Las plantas del género *Agave* pertenecen a las monocotiledóneas de la familia Agavaceae (Almaraz et al 2013). Es comúnmente conocida como "maguey" nombre de origen español. Científicamente se denomina *Agave* del griego "admirable" o "noble" acuñado por el naturalista Carl von Linneo en su obra *Species Plantarum* en 1753, que denota el género (Conabio 2006). Años más tarde en 1982 Gentry, organizó el género según el tipo de inflorescencia, dividiéndolo en dos subgéneros; el subgénero *Agave* de apariencia peniculada o racemosa (más abundante), y el subgénero *Littaea* de apariencia espigada (menos abundante)(García 2007).

Según reportan varios investigadores existen más de 200 especies del género *Agave*, altamente variables en tamaño, color, tamaño de la hoja y forma de los dientes. De las cuales en México crecen aproximadamente 125 especies con una amplia distribución en desiertos, bosques, selvas; a nivel del mar o a las altas montañas; en paisajes silvestres, rurales o industrializados; razón por la cual, México se considera el centro de origen (Almaraz et al 2009, Conabio 2006, Delgado et al 2021).

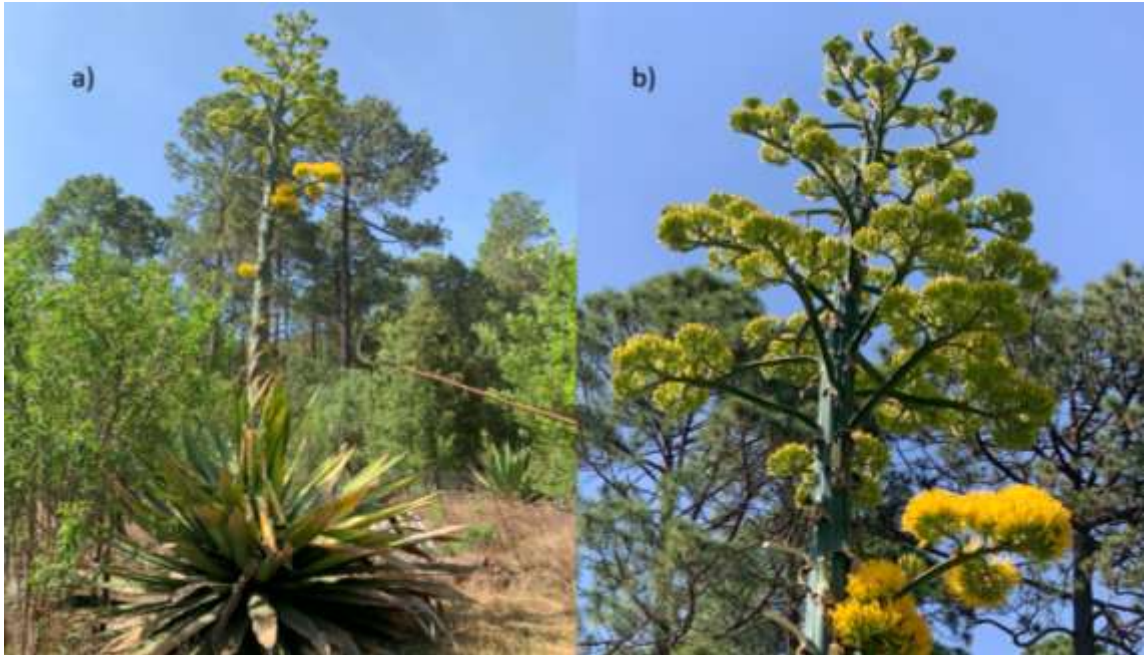
La mayoría de las especies de *Agave* son monocárpicas, que alcanzan la etapa de floración a la edad de siete a diez años, y mueren poco después. A pesar de esto, la especie de *Agave* se ha utilizado ampliamente para satisfacer necesidades básicas como alimento, fibra, forraje, medicamento, construcción y elaboración de bebidas alcohólicas (tequila y mezcal) (Alfaro et al 2007). En la medicina tradicional se utiliza como sustancia anticancerígena, antiinflamatoria, antiparasitaria, entre otras funciones. En virtud de la síntesis de diversos metabolitos secundarios, entre los que destacan los compuestos fenólicos, encontrados principalmente en los tejidos florales y foliares, han demostrado actividad antioxidante, antibacteriana, antifúngica e inmunomoduladores, que permite

considerar a la planta como producto nutracéutico para la aplicación en alimentos funcionales para humanos y animales (Almaraz et al 2013).

### **2.3.1. Flor de Agave**

Como fuente de alimento, la flor de agave, conocida comúnmente como gualumbos, bayusas o flor de maguey, forma parte de los platillos tradicionales en México, consumida en varios estados de la república, reconocida por el gobierno mexicano a través de los Servicios de Información Agroalimentaria y Pesquera. Entre los estados con mayor diversidad de agaves se encuentra Durango junto con Oaxaca, Puebla, Sonora y Querétaro, también se reporta su consumo en Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Guanajuato, Jalisco y Nayarit (Figueredo 2020, González et al 2009, SIAP 2018). Según una encuesta realizada por Pacheco (2021), sobre el consumo de flores comestibles mexicanas, la flor de agave está dentro de los primeros tres lugares en popularidad después de la flor de calabaza y el cempasúchil(Pacheco et al 2021).

A partir del centro del agave crece el escapo floral o pedúnculo (quiote), puede llegar a medir entre seis y diez metros de altura. Tiene brácteas que se reducen en tamaño desde la base hasta el ápice. Las flores tienen diferentes grados de succulencia, son bisexuales, tubulares con ovario ínfero, poseen seis pétalos de color amarillo-verdoso (también las hay en amarillo intenso, rara vez rojizos o violeta), los estambres son más largos que los pétalos, produce abundante néctar por disponer de tres nectarios en la base del tubo (figura 1)(García 2007).



**Figura 1** a) *Agave inaequidens* con escapo floral y herramienta implementada para la colecta de la flor. b) Acercamiento de las flores donde se aprecia la diferencia de maduración, las cosechadas son las de coloración entre amarillo y verde.

Las flores que se colectan para su consumo, son de preferencia flores cerradas (es decir, botones florales), se deshojan y se limpian. En este proceso se puede retirar los estambres, pistilos y pedúnculo y quedarse solo con los pétalos o se puede consumir entera. Posteriormente se pasan por un proceso de cocción, para eliminar o disminuir compuestos tóxicos o sabores desagradables. Para finalmente, darle una preparación en una amplia variedad de platillos salados, solas o con mezcla de otros alimentos como verduras, lácteos, huevos y carnes (Figueredo 2020, Figueredo et al 2022, Sotelo et al 2007) .

De las especies de agave que se han reportado como flores comestible se encuentran *A. salmiana*, *A. mapisaga*, *A. marmorata*, *A. durangensis*, *A. inaequidens*, *A. americana*, *A. applanata*, *A. lechuguilla*, *A. striata*, entre otros más (Figueredo et al 2022). Sin embargo, existen pocos estudios sobre la composición de las flores y su actividad biológica. Sotelo en 2007, analizó el contenido nutricional de flores comestibles de México y determinó la composición de *Agave salmiana* como se muestra en la tabla 1, donde se observó un alto contenido en proteína, fibra y minerales (Sotelo et al 2007).

**Tabla 1 Análisis proximal de la flor de Agave (*Agave salmiana*) (g/100g de muestra) en peso seco.**

Análisis	Resultado (%)
Humedad	87.4 ± 2.4
Proteína cruda	16.4 ± 3
Extracto etéreo	2.8 ± 0.5
Fibra	12.7 ± 3
Cenizas	5.8 ± 0.3
Extracto libre de nitrógeno	62.1

Con respecto a la composición química y actividad biológica de la flor de agave sobre la salud en el ser humano existe poca información. Como se muestra en la tabla 2, Barriada, analizó las flores maduras de la especie *A. durangensis* y determinó que es una excelente fuente de flavonoides, principalmente por la presencia de glucósidos de quercetina y kaempferol, con importante actividad antioxidante, que en consecuencia, le permite considerarse como producto nutracéutico (Barriada et al 2013). Prado, reporta actividad cicatrizante y antioxidante de la inflorescencia de la especie *A. americana*, por la presencia de glucósidos de kaempferol (Prado 2015). Y otros investigadores reportaron actividad anticancerígena y antimicrobiana (Sanchez et al 2005, Santos et al 2012).

**Tabla 2 Compuestos fenólicos y actividad biológica asociada a flores de agave**

Especie	Estructura	Compuestos	Determinación	Referencia
<i>A. durangensis</i>	Flor madura y polen	Glucósidos de quercetina (5) y kaempferol (3)	Antioxidante	Barriada et al 2013
<i>A. americana</i>	Flor	Glucósidos de kaempferol	Capacidad cicatrizante (antioxidantes)	Prado 2015
<i>A. aspérrima</i>	Hojas, raíces, flor y escapo	-	Actividad antimicrobiana	Sanchez et al 2005
<i>A. striata</i>	Hojas, raíces, flor y escapo	-	Actividad antimicrobiana	Sanchez et al 2005
<i>A. schottii</i>	Inflorescencia	-	Anticancerígena	Santos et al 2012

Los numero entre paréntesis indican el número de compuestos identificados.

## 2.4. Contenido nutricional de flores comestibles

Muchas flores comestibles no se han analizado nutricionalmente, lo que destaca la importancia de la caracterización y evaluación de las propiedades nutricionales de las flores, factor fundamental que permite definir las como alimento funcional (Rivas et al 2020). Algunas especies que ya se han analizado se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3** Contenido nutricional de flores comestibles.

Flor comestible	Parámetros evaluados en 100 g de peso seco						Referencia
	Humedad	Proteína	Extracto etéreo	Carbohidratos	Fibra	Ceniza	
<b>Cuchunuc</b> ( <i>G. sepium</i> )	84.71	1.93	0.24	39.96	2.45	0.77	Caballero et al 2009
<b>Agave</b> ( <i>A. salmiana</i> )	88.10	11.58	1.58	71.58	9.65	5.65	Pinedo-Espinoza et al 2020
<b>Colorín</b> ( <i>E. americana</i> )	87.60	19.64	1.05	56.64	13.69	8.97	Pinedo-Espinoza et al 2020
<b>Brócoli</b> ( <i>B. oleracea</i> )	92.60	52.30	2.00	10.00	28.00	15.40	Fernandes et al 2017
<b>Calabacita</b> ( <i>C. pepo</i> )	93.10	21.90	5.00	47.10	10.50	15.90	Fernandes et al 2017
<b>Cempasúchil</b> ( <i>T. erecta</i> )	83.40	7.90	1.90	85.20	55.40	4.80	Fernandes et al 2017

De manera general, los resultados de análisis proximales de flores comestibles indican que el componente mayoritario es el agua con un 70 a 90 %. Con relación al contenido de macronutrientes, los carbohidratos son los más abundantes, seguidos por proteínas. El contenido de cenizas, fibra y grasas son menores. A causa del bajo aporte en grasas, las flores pueden considerarse como alimentos bajos en calorías (Pinedo-Espinoza et al 2020). Los lípidos, proteínas, carbohidratos y vitaminas presentes en las flores comestibles son similares a los contenidos en vegetales (Mlcek et al 2021).



Las propiedades nutricionales, pueden variar según la parte de la flor que se consuma como capullos, flores enteras, pétalos o pistilos (Fernandes et al 2019). Los componentes de mayor interés alimenticio son el polen, el néctar y los pétalos. El polen es una rica fuente de proteínas, carbohidratos, lípidos saturados e insaturados. El néctar contiene aminoácidos, carbohidratos y proteínas. Y en los pétalos nutricionalmente se encuentran vitaminas y minerales (Amrouche et al 2022).

## **2.5. Compuestos bioactivos en las flores comestibles**

La importancia alimenticia de las flores comestibles recae en el contenido de metabolitos secundarios, también denominados fitoquímicos o compuestos bioactivos, compuestos vegetales no nutricionales que se han relacionado con la reducción de enfermedades crónicas (Kandyliis 2022). Al ser la flor el órgano de mayor importancia de algunas plantas por ser responsable de la reproducción y supervivencia, es protegida por el aumento en la producción de metabolitos secundarios durante su desarrollo y disminuyendo significativamente en la senescencia, lo que explicaría el contenido alto de compuestos bioactivos, que incluso puede superar a los cultivos de hortalizas comunes (Cavaiuolo et al 2013).

La producción de metabolitos secundarios en células vegetales se asocia con funciones de supervivencia e interacción con el ambiente, donde sus principales funciones son la protección a la temperatura, déficit hídrico, la radiación ultravioleta excesiva, exposición de plagas y herbivorismo. En las flores también cumplen la función de pigmentos para atraer polinizadores (Jakubczyk et al 2022, Moliner 2018). Y desde el punto de vista alimenticio, los metabolitos secundarios se relacionan con la calidad sensorial, como color y sabor (Matínez-Valverde et al 2000).

Considerando que hay una gran diversidad de flores comestibles, juntamente, existe una gran variedad de fitoquímicos y por consecuencia de propiedades bioactivas. Según diversos estudios donde se han identificado y cuantificado los principales compuestos bioactivos se encuentran ácidos fenólicos (ácido cumárico, ácido ferúlico, ácido cafeico,

ácido clorogénico), flavonoides (kaempferol, miricetina, quercetina, isorhamnetina, apigenina, luteolina, catequina, epicatequina), antocianinas (cianidina, pelargonidina, peonidina), carotenoides (luteína,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, zeaxantina), y en menor cantidad betalaínas y alcaloides (Kumari et al 2021, Ohmiya 2011, Pires et al 2021).

Los compuestos fenólicos, que incluye principalmente los ácidos fenólicos y flavonoides, son los más analizados en la investigación por tener numerosos beneficios para la salud, con aplicación en la industria farmacéutica, alimenticia, cosmética, y textil. Estos compuestos están presentes en todas las partes de la planta, como raíz, corteza, brotes, flores, frutos y semillas. No obstante, se ha demostrado que las flores y brotes presentan un contenido de ácidos fenólicos y flavonoides superior al resto (Stoenescu et al 2022). De acuerdo con la Administración de Desarrollo Rural (ADR), las flores comestibles pueden contener 10 veces más compuestos fenólicos que las frutas y verduras (Kwon et al 2019).

Al igual que el contenido nutricional, la composición química de estos compuestos puede variar según la parte botánica que se analice o consuma, por ejemplo, en el polen y pétalos se pueden encontrar principalmente carotenoides y flavonoides; mientras que en el néctar se pueden encontrar fenoles, alcaloides y terpenoides. Otros factores que pueden generar variación en el perfil químico, es la diferencia de color entre la misma especie, las condiciones del suelo, el clima y la etapa de floración (Kishimoto et al 2005, Pires et al 2021, Sokkar et al 2014). Para la extracción de compuestos fenólicos a partir de flores comestibles se puede obtener mediante solventes polares como metanol, etanol y agua (Prabawati et al 2021)

## **2.6. Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos (CF) representan un grupo muy diverso de fitoquímicos que consta de más de 10 000 compuestos (Kaisoon et al 2012). Este grupo se conforma por monofenoles, polifenoles, ácidos fenólicos y flavonoides. El grupo más amplio y estudiado son los flavonoides, seguidos por los ácidos fenólicos que incluyen los

derivados del ácido hidroxibenzoico y del ácido hidroxicinámico (Hernandez 2010). Los CF se caracterizan por contener en su estructura química al menos un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilo (-OH), lo que conforma la estructura básica del fenol (Rocchetti et al 2021). Los fenoles tienen un comportamiento ácido debido a la fuerte unión del oxígeno del grupo hidroxilo al anillo fenilo, lo que permite la disociación de un protón ( $H^+$ ) gracias al enlace débil entre el oxígeno y el hidrogeno, originando un ion fenolato cargado negativamente. Característica que genera que la mayoría de los compuestos fenólicos sean hidrosolubles, solubles en solventes polares. La polaridad es mayor al aumentar el número de grupos hidroxilos. También se pueden encontrar combinados con azúcares unidos a los grupos hidroxilos, principalmente glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, lo que favorece la polaridad al formar glucósidos (Matínez-Valverde et al 2000, Viña 2013).

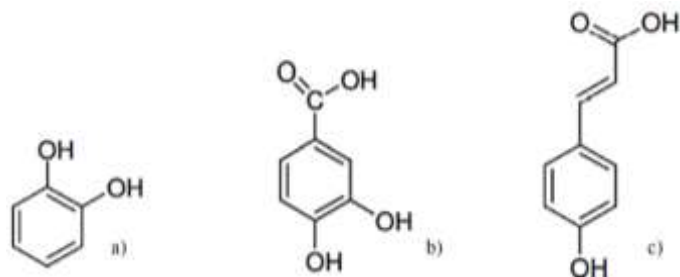
La disposición y cantidad de átomos de carbono en los compuestos fenólicos determina su clasificación (Rocchetti et al 2021). La diferencia estructural de cada uno de estos compuestos modifica el efecto antioxidante y sus propiedades bioactivas (Khalaf et al 2022).

### **2.6.1. Clasificación**

Existe una amplia diversidad de compuestos fenólicos que se pueden clasificar de diferentes maneras debido a su diversidad estructural. Una manera de clasificarlos es según su estructura química, dividiéndolos en dos grandes grupos: no flavonoides y flavonoides (Gimeno 2004).

- No flavonoides:

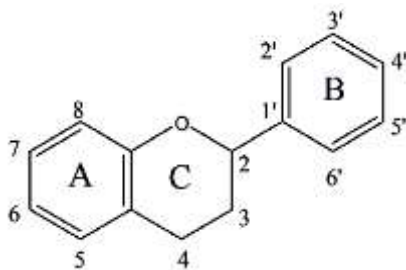
Los no flavonoides se dividen en dos grupos, los fenoles no carboxílicos (simples) y ácidos fenólicos que son derivados del ácido benzoico (ácidos hidroxibenzóicos) y cinámico (ácidos hidroxicinámicos) (figura 2). En el caso de los ácidos fenólicos, la presencia de más grupos hidroxilos y una mayor separación del grupo carbonilo del anillo aromático aumentan la capacidad antioxidante de estos compuestos.



**Figura 2** Compuestos no flavonoides. a) no carboxílicos o simples; b) derivados del ácido benzoico; c) derivados del ácido cinámico.

- Flavonoides:

Existe una amplia diversidad de flavonoides, sin embargo, comparten una estructura básica, que consta de tres anillos; dos anillos aromáticos (A y B) y un heterociclo con oxígeno (C) (figura 3). Dependiendo el nivel de oxidación del anillo C, se da la clasificación que se divide en 12 grupos.

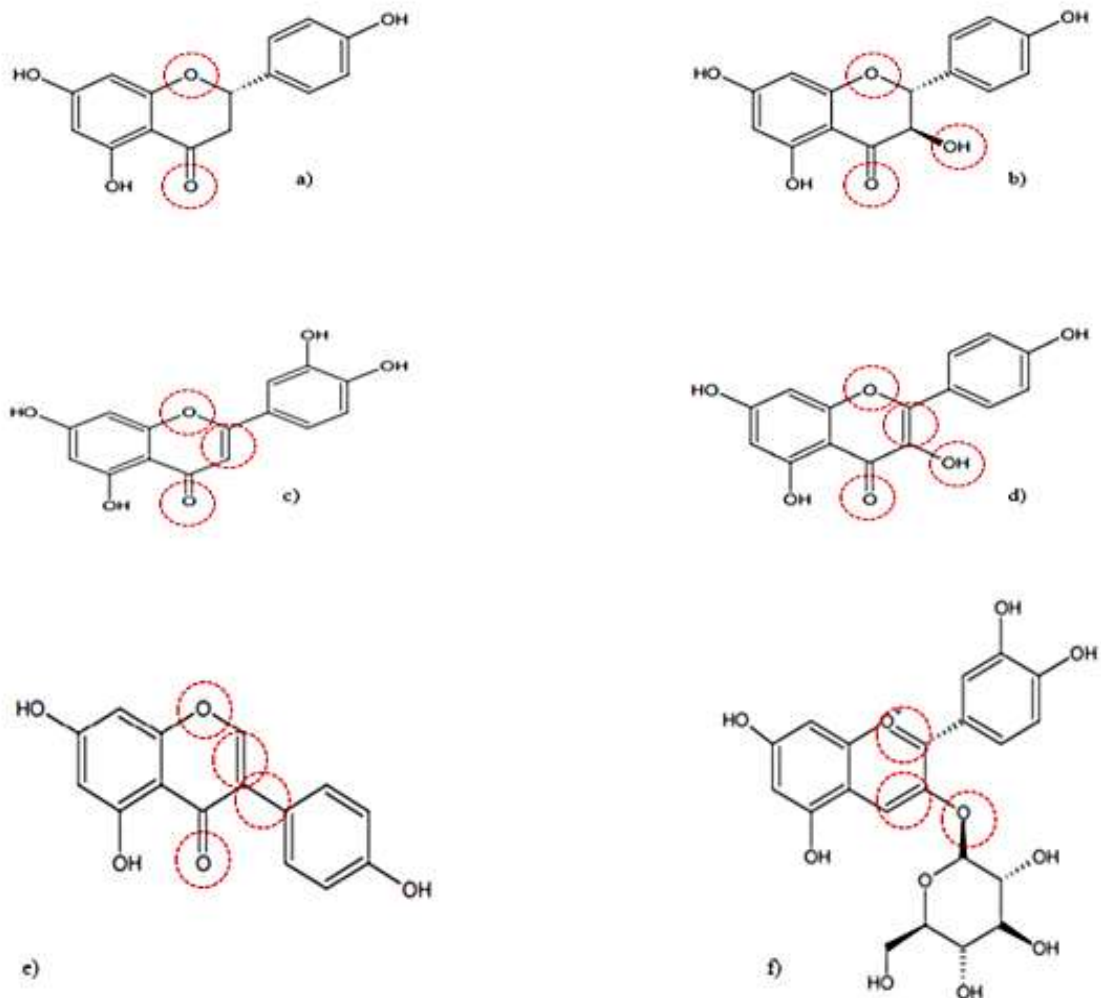


**Figura 3** Estructura general de flavonoides

Los flavonoides más importantes son flavononas, flavanonoles, flavonas, flavonoles, isoflavonas y antocianinas. Las flavonas, flavonoles y antocianinas suelen estar presentes en forma de compuestos O-glucósidos al estar conjugados con azúcares como la galactosa, glucosa o arabinosa, que contribuyen en la función fisiológica. Los flavonoides son pigmentos responsables en gran parte de la coloración de los pétalos de las flores, comprendiendo colores desde rojo, azul, violeta, rosado, amarillo y blanco (Forkman 1990, Peñarrieta et al 2014, Viña 2013).

La diferencia estructural entre los tipos de flavonoides se encuentra en el anillo C, esta característica tiene gran importancia en la función fisiológica que desempeña cada

compuesto (figura 4); la naringenina pertenece a las flavononas, tiene propiedades antiinflamatorias; la quercetina y kaempferol pertenecientes a las flavonas y flavonoles, tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antígenotóxicas y antihiperglucemiantes; la genisteína pertenece a las isoflavonas, tiene efectos estrogénicos con actividades anticancerosa, protección contra enfermedades cardiovasculares, así como, antioxidantes, antiinflamatorios y vasodilatadores; y por último las antocianinas tienen capacidad antioxidante, control de obesidad abdominal, etcétera (Peñarrieta et al 2014).



**Figura 4** Ejemplos de flavonoides; a) Flavonona Naringenina; b) Flavonol Taxifolina; c) Flavona Apigenina; d) Flavonoles Kaempferol; e) Isoflavona Genísteina; f) Antocianina Cianidina 3-O-glucósido. Se muestra con círculos rojos las diferencias estructurales entre cada compuesto.

## **2.7. Propiedades terapéuticas de los compuestos fenólicos**

Como ya se ha mencionado, por medio de numerosos estudios se ha avalado las propiedades biológicas de los compuestos fenólicos. Estos efectos son fundamentalmente consecuencias de sus propiedades antioxidantes, que pueden justificar sus acciones terapéuticas. Los polifenoles son asociados a actividades antimicrobianas, cardioprotección, anticancerosa, antioxidante, antihelmíntico, etcétera; mientras que, los flavonoides se asocian a actividad antioxidante, antiinflamatorias, antimicrobiana, inmunomoduladora, etcétera; y las antocianinas se relacionan con la prevención de enfermedades cardiovasculares, hipertensión, obesidad abdominal, etcétera (Carvajal 2017, Navarro et al 2017).

### **2.7.1. Actividad antioxidante**

Los antioxidantes son compuestos que retardan o previenen la oxidación debido a su capacidad para captar electrones desapareados y metales pesados de otras moléculas. Lo que evita la oxidación de las membranas y organelos celulares protegiéndolos de los efectos dañinos causados por radicales libres como especies reactivas al oxígeno (ROS)(Ramírez & Ruiz 2021, Zenil et al 2014).

Los radicales libres se forman de manera natural en los seres vivos, juegan un papel importante en la producción de energía, síntesis de compuestos esenciales y transducción de señales (Paredes & Roja 2002, Prabawati et al 2021). Sin embargo, tienen una elevada capacidad de reacción por la presencia de un electrón desapareado en su orbital más externo. Lo que les da la capacidad de actuar en los sistemas biológicos produciendo cambios en la composición química o en la estructura de los elementos celulares (ácidos nucleicos, proteínas, fosfolípidos, ADN y azúcares) que los hace incompatibles con la vida. Los radicales libres que tienen mayor patología humana son los derivados de la molécula del oxígeno como el hidroxilo (OH<sup>•</sup>), superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)(García 2015, Paredes & Roja 2002, Ramírez & Ruiz 2021). Además, se puede

generar un incremento de la generación de ROS causado por múltiples factores, como un estilo de vida no saludable (alcohol, nicotina, estrés), mala alimentación, contaminación ambiental y radiación. La liberación excesiva de ROS puede generar daño oxidativo severo desencadenando numerosos desordenes como diabetes mellitus, obesidad e hipertensión (Jakubczyk et al 2021).

Como intento de evitar el daño celular, se utilizan los antioxidantes para eliminar los radicales libres. Entre los principales compuestos con actividad antioxidante, se encuentran los compuestos fenólicos principalmente los flavonoides que se pueden adquirir por medio de la dieta, consumiendo alimentos como vegetales, frutas, semillas y recientemente se ha comprobado que las flores comestibles tienen un alto contenido de flavonoides, incluso mayor al de otros alimentos (Cavaiuolo et al 2013, Moreno 2021, Prabawati et al 2021).

### **2.7.2. Inhibición de enzimas digestivas: $\alpha$ – amilasa y $\alpha$ – glucosidasa**

La  $\alpha$ -amilasa es una enzima proteica salival o pancreática que juega un papel importante en la ruptura temprana de carbohidratos complejos a moléculas simples, en otras palabras cataliza la degradación de polisacáridos, como el almidón para dar la formación de oligosacáridos (Garrido 2009). Mientras que, la  $\alpha$ -glucosidasa es una enzima que se encuentra en los vellos de la superficie de la membrana intestinal e hidroliza oligosacáridos no absorbibles para dar la formación de monosacáridos como la glucosa que más adelante se absorbe por el intestino delgado (Rincon et al 2019, Sevilla et al 2013).

El propósito principal de la inhibición de las enzimas digestivas es retrasar la digestión de los carbohidratos y reducir la velocidad de absorción de la glucosa, y consecuentemente podría disminuir los niveles de glucosa postprandial en sangre, por lo tanto, pueden contribuir al manejo de la diabetes mellitus (Prabawati et al 2021, Sevilla et al 2013).

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por presentar niveles altos de glucosa en sangre (Coral et al 2020). Existen dos tipos de DM, la diabetes mellitus tipo 1 (T1DM), causada por un daño a las células  $\beta$ -pancreáticas que

disminuye o impide la producción normal de insulina. Mientras que la diabetes mellitus tipo 2 (T2DM) tienen una producción normal de insulina, pero el cuerpo es menos sensible, también llamada resistencia a la insulina (Prabawati et al 2021). La hormona insulina, desempeña el papel principal de enviar glucosa a las células del cuerpo para utilizarla como energía o almacenarla en forma de glucógeno. Pero, cuando las células  $\beta$ -pancreáticas no liberan suficiente insulina o las células no responden a la insulina producida, la glucosa permanece en la sangre, lo que dará como resultado un nivel alto de glucosa en sangre (Zuin et al 2015). Los niveles altos de glucosa ocasionan daño oxidativo en varios tejidos y órganos del cuerpo debido a la ruptura del equilibrio entre las especies reactivas del oxígeno y los sistemas de defensa antioxidante (Coral et al 2020).

La T2DM es la más común, la cual se caracteriza por la hiperglicemia postprandial donde la glucosa en sangre se eleva de manera anormal después de las comidas. La hiperglicemia postprandial se puede controlar retrasando la degradación de los carbohidratos mediante la inhibición de la  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa (Sevilla et al 2013). El tratamiento de la DM se realiza por inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa orales que se limitan a acarbosa, voglibosa y miglitol con el objetivo de retrasar la digestión de los carbohidratos y mantener la glucosa en niveles normales. Sin embargo, el uso continuo puede provocar varios efectos adversos, como malestar abdominal, diarrea, flatulencias, náuseas, vómitos y hepatotoxicidad (Orqueda et al 2016, Rincon et al 2019). Estos efectos pueden ser causados por la excesiva inhibición de la amilasa, lo que provoca fermentación bacteriana anormal de los carbohidratos no digeridos en el colon (Sevilla et al 2013).

Los compuestos de naturaleza fenólica, presentes en algunas plantas, están asociados con la actividad inhibidora de enzimas digestivas, que como ya se mencionó, juegan un papel importante en la digestión de carbohidratos y que están relacionadas con el aumento de la glucosa en el estado postprandial. Por ejemplo, tienen actividad inhibidora contra las enzimas  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa por medio de una inhibición no competitiva, que los convierten en potenciales agentes hipoglicemiantes (Coral et al 2020, Prabawati et al 2021). Alguno de los compuestos fenólicos de origen natural que han reportado actividad hipoglicemiante se encuentra el kaempferol, quercetina 3-rutinósido y quercetina 3-ramnósido, rutina, ácido gálico, entre otros (Prabawati et al 2021). Por lo que, los recursos naturales pueden contribuir al manejo de la T2DM utilizándolos como una terapia eficaz



para tratar la hiperglicemia postprandial con efectos adversos mínimos, debido a que poseen baja actividad inhibitoria contra amilasa, y fuerte actividad inhibitoria con la glucosidasa (Das et al 2017, Sevilla et al 2013).

### **2.7.3. Inhibición de enzimas digestivas: lipasa**

La lipasa se produce principalmente en el páncreas, es la enzima encargada de hidrolizar alrededor del 70 % de los lípidos (triglicéridos) ingeridos por la dieta para formar ácidos grasos de manera que puedan ser absorbidos en el sistema digestivo humano (Martinez et al 2019, Orqueda et al 2016). Los triglicéridos no pueden atravesar la membrana intestinal y, por lo tanto, se requiere la hidrólisis mediada por lipasas, seguida de absorción y luego reesterificación. Por lo tanto, las lipasas en el tracto intestinal tienen un papel fundamental en la capacidad para utilizar los lípidos de la dieta (Gilham & Lehner 2005).

El alto consumo de una dieta rica en grasas es uno de los principales factores en el desarrollo de la obesidad, la cual, es un factor de riesgo clave que contribuye a las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, ciertos cánceres, hipertensión y la combinación de factores de riesgos conocida como síndrome metabólico (Othman et al 2021). El fármaco Orlistat es el tratamiento que se ha empleado para tratar la obesidad, causando la supresión de la ingesta energética mediante la inhibición de la acción de la lipasa pancreática, que divide los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos absorbibles (McDougall et al 2009), sin embargo, produce varios efectos secundarios en el sistema tracto gastrointestinal, especialmente diarrea, dispepsia y flatulencias (Orqueda et al 2016, Othman et al 2021).

Se ha reportado que los compuestos polifenoles naturales pueden inhibir la lipasa pancreática y, por lo tanto, influir en la digestión de las grasas (McDougall et al 2009). Se evaluó la actividad de la lipasa en presencia de flavonoides, lo que determinó su actividad inhibitoria. La capacidad de inhibir de los flavonoides se relaciona con propiedades de estructuras que presentan una alta afinidad a las enzimas digestivas, generando interacciones no covalentes. La inhibición reversible de la enzima lipasa dada por los

flavonoides, podría ser parte de un tratamiento alternativo para enfermedades no transmisibles como la obesidad, además de que elimina los efectos secundarios de los inhibidores no reversibles como el Orlistat. La quercetina, rutina, luteolina, catequina y herperetina son algunos de los compuestos fenólicos que tienen actividad inhibitoria de la lipasa, presentes en alimentos de origen natural (Martinez et al 2019).

## **2.8. Bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los compuestos fenólicos por medio de un sistema de digestión *in vitro***

La protección otorgada por el consumo de alimentos de origen natural como frutas, verduras y recientemente flores comestibles contra diversas enfermedades se debe principalmente a la presencia de compuestos fenólicos, lo que da pie a investigar como estos compuestos acceden o llegan a su sitio blanco, en otras palabras, la bioaccesibilidad y posteriormente la biodisponibilidad de estos compuestos en el organismo humano.

La bioaccesibilidad se define como, la fracción de un alimento ingerido que ha sido liberado de la matriz alimentaria de los alimentos al fluido del tracto gastrointestinal después de una digestión simulada y, como resultado, está disponible para su absorción por la mucosa intestinal. Mientras que la biodisponibilidad se define como, la fracción de componente ingerido que se encuentra disponible para su utilización en las funciones fisiológicas normales. Los alimentos deben ser bioaccesibles antes de poder convertirse en biodisponibles para las personas (Andrés 2019, Barrios & Bravo 2020).

Se conoce poco sobre la bioaccesibilidad, biodisponibilidad y metabolismo de los compuestos fenólicos y es probable que cada grupo tenga una cinética diferente. Su estructura química determina la velocidad de absorción, la naturaleza de los metabolitos circulantes y su eliminación (Gimeno 2004). La ingesta de una gran cantidad de productos ricos en polifenoles no está directamente relacionada con la biodisponibilidad. Esto puede deberse a una baja tasa de bioaccesibilidad en el tracto alimentario o su rápida transformación y eliminación metabólica, por lo que, no pueden desarrollar su actividad biológica (Tarko et al 2009).

Una herramienta poderosa para medir la bioaccesibilidad, es el uso de modelos digestivos gastrointestinal (GID) *in vitro* para simular los pasos que ocurren en el proceso de la digestión humana (Burgos et al 2017). La digestión es un proceso metabólico de transformación de alimentos ingeridos en sustancias químicas más pequeñas y sencillas, fáciles de asimilar. El sistema digestivo es el conjunto de órganos agrupados: boca, esófago, estómago, duodeno, intestino delgado (ID) e intestino grueso (IG) (Rivas 2014). La simulación de dicho proceso permite obtener información diversa: la digestibilidad de alimentos, la liberación de nutrientes, evaluar la absorción de un alimento, el punto de liberación de un ingrediente encapsulado, entre otros. Estos sistemas deben ser capaces de reproducir las condiciones fisiológicas bajo las que tienen lugar la digestión humana, de un modo flexible, exacto, reproducible y económico (Andrés 2019).

Existen diferentes modelos de digestión gastrointestinal *in vitro* que difieren entre sí y dependen del componente alimentario a analizar, la naturaleza de la matriz alimentaria y la sofisticación del modelo digestivo utilizado, lo que le otorga un funcionamiento diferente. Entre las variantes principales en los diferentes modelos digestivos se encuentra el número y tipo de pasos incluidos en la secuencia de digestión (bocal, gástrica, ID e IG), la composición de los fluidos digestivos simulados usados en cada etapa (enzimas como lipasa, amilasa, glucosidasa, pepsina, tripsina, así como, sales biliares, buffer) y los parámetros mecánicos (trituration, homogenización, movimientos peristálticos) (Hur et al 2011). Las primeras etapas de la trituración y digestión gástrica corresponden a procesos asociados a la bioaccesibilidad y la etapa de digestión intestinal donde ocurre la absorción y el paso al torrente sanguíneo se asocia con el proceso de biodisponibilidad (Barrios & Bravo 2020).

Los tipos de enzimas incluidos en un modelo de digestión *in vitro* también son otro factor a considerar, tienden a reflejar los principales componentes de los alimentos que se investigan, por ejemplo, lipasa para la digestión de lípidos, proteasa para la digestión de proteína, amilasa y glucosidasa para la digestión de carbohidratos (Hur et al 2011). En cuanto a la temperatura de digestión no hay variaciones entre los distintos modelo digestivos, se incubaba a 37° C, en cambio el tiempo de duración de la digestión si presenta variaciones, que dependen de la naturaleza de la muestra, en concreto, del tamaño de las moléculas (Andrés 2019).

Muchos modelos de digestión simulada están conformados por dos etapas principales, la gástrica e intestinal. Como ejemplo de ello, Burgos et al (2017) realizó el análisis del cambio cualitativo y cuantitativo de la composición de compuestos fenólicos y la bioactividad de estos, después de un sistema de digestión gástrica e intestinal *in vitro*. Esto permitió la determinación de cambios en el contenido y eventualmente la identificación de nuevos productos resultantes de la digestión, en otras palabras, demostró que la composición y el contenido fenólico si se ve afectado por un sistema de DGI *in vitro*, sin embargo, a pesar de las modificaciones los extractos fenólicos analizados aún fueron capaces de ejercer su actividad antioxidante (Burgos et al 2017).

Un parámetro esencial que limita la actividad biológica de los polifenoles es su bioaccesibilidad, que determina la proporción de polifenoles liberados de la matriz alimentaria durante la digestión (Barrios & Bravo 2020). Algunos polifenoles son moderada o altamente solubles, por lo que, se solubilizan en los líquidos digestivos y posteriormente pueden ser absorbidos y metabolizados directamente. Sin embargo, la mayoría de los polifenoles están presentes en los alimentos de distintas formas que no pueden ser absorbidas, como ésteres, glucósidos o polímeros. Es por ello que, durante la absorción de los mismos, sufren modificaciones muy diversas (hidrólisis). Como consecuencia de estas modificaciones, las formas que se encuentran en el plasma y en los tejidos son muy distintas de las que están presentes en los alimentos, lo que dificulta la identificación de sus metabolitos y la evaluación de su actividad biológica. Además, en la etapa de la digestión intestinal, que corresponde al proceso de absorción, tiene una gran relevancia en la biodisponibilidad de los polifenoles y flavonoides. Ya que, al pasar al intestino delgado, algunos compuestos fenólicos se vuelven inestables por causa del pH intestinal (alcalino), lo que puede disminuir su biodisponibilidad (Andrés 2019, Barrios & Bravo 2020).

### 3. JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado que la composición química de las flores comestibles les permite considerarse como un importante recurso de alimentos funcionales. En este trabajo se busca aprovechar el consumo tradicional de la flor del agave (*Agave inaequidens*), realizar la bioprospección alimenticia de la flor y medir la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos para identificar los posibles beneficios sobre la salud de la población.

## 4. HIPÓTESIS

La flor *Agave inaequidens* presenta actividad antioxidante e inhibición de enzimas digestivas antes y después de un proceso de digestión *in vitro*.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Determinar la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos presentes en la flor de agave por medio de un sistema gastrointestinal *in vitro* e identificar el valor nutricional, capacidad antioxidante e inhibición de enzimas digestivas.

### 5.2. Objetivo específicos

1. Determinar el contenido de macronutrientes por análisis proximal.
2. Realizar la obtención del extracto y fraccionamiento (MeOH, EF, EFE) del mismo para purificar e incrementar la concentración de compuestos fenólicos.
3. El extracto con mayor concentración de compuestos fenólicos (EFE) se somete a digestión gastrointestinal *in vitro*, para generar una transformación química en los compuestos presentes (EFE-D).
4. Determinar el contenido total de fenoles y flavonoides de los extractos obtenidos antes y después de la digestión
5. Evaluar la actividad anti-radical/antioxidante de los extractos antes y después de ser digeridos mediante las técnicas de DPPH, ABTS y hemólisis inducida por AAPH.
6. Evaluar el efecto inhibitorio de los extractos sobre las enzimas digestivas  $\alpha$ -amilasa,  $\alpha$ -glucosidasa y lipasa antes y después del proceso digestivo.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Materiales

AAPH, ABTS, acarbosa, ácido ascórbico, ácido gálico, agua destilada, AlCl<sub>3</sub>, almidón, catequina, DMSO, DPPH, Folin-Ciocalteu, glucosa, HCl, I<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KI, lipasa (E.C.3.1.1.3), MeOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, NaNO<sub>2</sub>, NaOH, Orlistat pancreatina (E.C.232-468-9), pepsina (E.C.3.4.23.1), p-NPP, p-PNPG, resina amberlite XAD-7-HP, sales biliares, trolox, α-amilasa (E.C.3.2.1.1), α-glucosidasa (E.C.3.2.1.20).

### 6.2. Identificación taxonómica

La identificación taxonómica se llevó a cabo por la Dra. Martha González Elizondo, Responsable del Herbario CIIDIR Durango. Se recolectó la información que se muestra en la tabla 4 de tres agaves diferentes para su previa identificación.

**Tabla 4 Información de la colecta de flor de Agave para identificación.**

<i>Agave inaequidens</i>	Especie analizada		
	Agave 1	Agave 2	Agave 3
Coordenadas geográficas	24.46290° N, 106.06351° O	24.45295° N, 106.05460° O	24.45306° N, 106.05404° O
Elevación (m snm)	2,321 m snm	2,313 m snm	2,318 m snm
Relieve	Mesa	Ladera	Ladera
<b>Roseta</b>			
Diámetro	0.98 m	1.46 m	1.15 m
Alto	1.90 m	2.70 m	2.00 m
<b>Pencas</b>			
Largo	1.55, 1.53, 1.36 m	1.95, 1.88, 1.97 m	1.56, 1.43, 1.48 m
Ancho	23, 21, 23 cm	23, 25, 28 cm	18, 15, 20 cm
<b>Escapo floral</b>			
Base-Flores	4.00 m	2.90 m	3.90 m
Flores-Punta	4.90 m	5.36 m	3.07 m
Diámetro	24.19 cm	31.83 cm	26.10 cm
Nó. de Ramas	57	57	46



Para la identificación se tomaron las siguientes imágenes (figura 5, 6 y 7):



**Figura 5** *Agave inaequidens* 1. a) Escapo floral; b) Estructura foliar del agave; c) Flores de agave con regla de medición.



**Figura 6** *Agave inaequidens* 2. a) Escapo floral; b) Estructura foliar del agave; c) Flores de agave con regla de medición.



**Figura 7** *Agave inaequidens* 3. a) Escapo floral; b) Estructura foliar del agave; c) Flores de agave con regla de medición.

### **6.3. Colecta y preparación del material vegetal**

Las flores de agave se colectaron en la localidad de San Dimas (Durango–México), en los meses de floración (abril-mayo). La colecta de las flores se hizo de tres plantas diferentes de agave de la misma especie, en una etapa de maduración intermedia, cuando las flores aún están cerradas con una coloración amarillo-verdosa. Posteriormente se limpiaron, que consistió en retirar solo la inflorescencia inmadura (botones) y se desechó desde el receptáculo, el pedúnculo y la ramificación. Las flores se mantuvieron en congelación hasta su análisis. Inicialmente se realizó un proceso de cocción de 30 min y posteriormente se llevaron a cabo los análisis establecidos.

### **6.4. Análisis proximal**

Se realizó un análisis bromatológico para identificar los siguientes parámetros: Humedad (NOM-116-SSA-1994), Proteína cruda (NMX-F-608-NORMEX-2011), Extracto etéreo (NOM-086-SSA1-1994), Fibra (NMX-F-613-NORMEX-2017), Cenizas (NMX-F-607-NORMEX-2020) y extracto libre de nitrógeno. Los resultados se expresaron como porcentaje en base seca (BS) y base húmeda (BH).

### **6.5. Acondicionamiento de resina amberlite XAD-7-HP**

La Amberlite™ XAD™ son adsorbentes poliméricos, estructuras muy porosas cuyas superficies internas pueden adsorber y luego desorber una amplia variedad de especies diferentes dependiendo del entorno en el que se utilizan. Las resinas llevan un proceso de acondicionamiento según su uso, en este caso la Amberlite XAD-7-HP para la adsorción de compuestos fenólicos a partir del extracto MeOH de la flor, se lavó inicialmente con NaOH 0.1 N y se enjuagó con agua destilada, después se repitió el lavado con HCl 0.1 N

y se enjuagó con agua destilada para remover el ácido, por último se almacenó con una mezcla de MeOH;H<sub>2</sub>O (1:9 v/v) hasta su uso (Jimenez-Aspee et al 2015).

## **6.6. Metodología de extracción y fraccionamiento**

El método de extracción está basado en la metodología empleada por Burin en 2011 y repetida por Jimenez en 2016 con algunas variantes (Burin et al 2011, Jimenez-Aspee et al 2015). Las flores previamente cocidas se trituraron para reducir su tamaño. Posteriormente se realizaron tres extracciones con la mezcla de metanol (MeOH) acidificado al 0.01 %, en una relación 1:3 p/v (1 parte del material vegetal: 3 partes del solvente). Cada vez que se realizó la extracción con los solventes se continuo, llevando a cabo una sonicación por 15 min. Finalmente se reunieron las tres extracciones obtenidas y el solvente se eliminó a presión reducida (rotavapor) a 37° C para obtener el primer extracto MeOH concentrado.

Después una fracción del concentrado del extracto MeOH se adsorbió en resina Amberlite XAD-7-HP (previamente acondicionada). Para esto, el extracto concentrado se disolvió en agua y se mezcló con la resina Amberlite en una proporción 1:5 (extracto:Amberlite), se agitó constantemente durante 40 min. La mezcla del extracto:Amberlite se filtró, se lavó con agua para eliminar componentes no deseados (proteínas, azúcares y lípidos) y, finalmente se añadió MeOH para que los compuestos fenólicos pasaran por un fenómeno de desorción. Una vez recuperados los compuestos fenólicos con ayuda del MeOH, se eliminó el solvente a presión reducida a 37° C, para obtener el segundo extracto fenólico (EF).

Finalmente se hizo un fraccionamiento con acetato de etilo, disolviendo una fracción del EF en agua destilada y después se hizo la extracción líquido:líquido con acetato de etilo en relación 1:2 v/v. La fracción de acetato una vez separada se mezcló con sulfato de sodio para secar, se filtró y finalmente se evaporó el solvente por destilación simple a presión reducida a 37° C, para obtener el tercer extracto fenólico enriquecido (EFE).

Para calcular el rendimiento de extracción de los cuatro extractos obtenidos se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso del extracto}}{\text{Peso de la muestra}} * 100$$

### **6.7. Digestión gastrointestinal (DGI) *in vitro***

Se tomó una fracción del extracto EFE para someterla a digestión gastrointestinal (DGI) *in vitro* por triplicado, para esto se llevó a cabo un sistema de digestión de tres fases secuenciales: oral, gástrica e intestinal. Utilizando la metodología empleada por Morais et al 2020 con algunas modificaciones.

#### **Soluciones a preparar:**

1. Preparación de la muestra: se tomó una fracción del extracto EFE y se disolvió en agua destilada mezclando vigorosamente.
2. Fluido de simulación oral (FSO): se disolvieron 2.38 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.19 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 8 g de NaCl y 200 U/L α-amilasa en un litro de agua destilada.
3. Fluido de simulación gástrica (FSG): se disolvió 0.108 g de pepsina en 10 mL de HCl 0.1 M.
4. Fluido de simulación intestinal (FSI): se disolvió 0.08 g de pancreatina en 10 mL de NaHCO<sub>3</sub> 0.5 M y por separado se disolvieron 0.5 g de sales biliares en 10 mL de NaHCO<sub>3</sub> 0.5 M.

**Fase Oral:** Se mezclaron 25 mL de la muestra con 5 mL de FSO, se mantuvo bajo protección de la luz en agitación constante a 90 rpm por 10 min a 37 ± 2 °C.

**Fase Gástrica:** después de la incubación de la fase oral se adicionó 1 mL del FSG, se ajustó el pH a 2.0 con HCl 6 M. Se volvió a incubar la mezcla nuevamente bajo las mismas condiciones por 2 h.

**Fase Intestinal:** después de la segunda incubación a la fase gástrica se le adicionó 2.5 mL de solución de pancreatina y 2.5 mL de la solución de las sales biliares (FSI), se ajustó el pH a 7 con NaOH 6 M. Se volvió a incubar bajo las mismas condiciones por 2 h.

**Recuperación de compuestos fenólicos:** finalizada la digestión se llevó a cabo una extracción líquido-líquido con acetato de etilo a partir del material digerido. Los compuestos fenólicos presentes en la fase de acetato de etilo se concentraron por destilación simple a presión reducida a 37° C, para obtener el cuarto extracto fenólico enriquecido digerido (EFE-D).

#### 6.7.1. Cálculo de bioaccesibilidad

Para conocer la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos de la flor *A. inaequidens*, se empleó la ecuación (Briones et al 2011, Morais et al 2020):

$$Bioaccesibilidad = \frac{[\text{Compuestos digeridos}]}{[\text{Compuestos sin digerir}]} * 100$$

#### 6.8. Contenido total de compuestos fenólicos: método de Folin-Ciocalteu (FC)

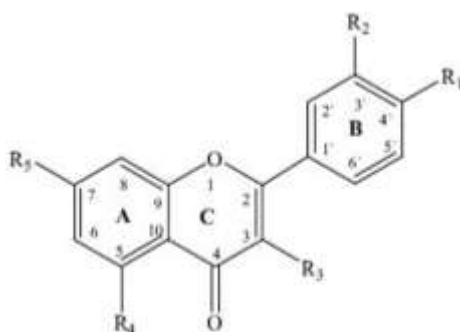
El método de Folin-Ciocalteu (FC) se llevó a cabo por reacciones de reducción-oxidación (redox), la reacción se basa en la transferencia de electrones de grupos fenólicos a compuestos de ácido fosfomolibdico y fosfotúngstico (o fosfowolfrámico), en un medio alcalino. El carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) es el álcali que proporciona un pH óptimo (de al menos 10) para la reacción adecuada entre los compuestos fenólicos y FC. Al cumplir

este criterio de pH, se forman grupos de iones fenolato que conducen a la reducción de los componentes ácidos en el reactivo FC. La presencia de los ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, se reducen al interactuar con los compuestos fenólicos. Los ácidos que reaccionan cambian de color amarillo claro (inicial) a un color azul (estado reducido) de diferente intensidad según el número de grupos fenólicos que reaccionan. La presencia de compuestos fenólicos es cuantificable, según el grado de reducción, produciendo un color azul en la solución, la cual se mide espectroscópicamente entre 730-790 nm (Burgos et al 2017, Carmona et al 2021).

El procedimiento se llevó a cabo como mencionan Carmona et al 2021, con algunas modificaciones: inicialmente se disolvieron los extractos (MeOH, EF, EFE, EFE-D) en agua destilada (10 mg/mL). Posteriormente en un tubo se adicionaron 100  $\mu$ L de cada extracto por separado (por triplicado), después se adicionó a cada uno 250  $\mu$ L del reactivo FC (1N), 1250  $\mu$ L de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (20% p/v) y 400  $\mu$ L de agua destilada, se incubaron por 2 h a temperatura ambiente bajo protección de la luz. Finalmente se pasaron 200  $\mu$ L a una microplaca de 96 posillos y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro de microplacas a 760 nm. Como estándar se utilizó ácido gálico (AG) en un rango de concentraciones (10–1000  $\mu$ g /mL  $\text{H}_2\text{O}$ ). Los resultados se expresaron en mg equivalentes a AG/100 g de peso fresco de la muestra.

### **6.9. Contenido total de flavonoides: método tricloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ )**

El método de tricloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ), es un método colorimétrico que consiste en formar complejos de aluminio-flavonoide en medio básico. El  $\text{AlCl}_3$  forma complejos estables de ácidos con el grupo cetona ( $-\text{C}=\text{O}-$ ) en el C-4 o bien el grupo hidroxilo ( $-\text{OH}$ ) en el C-3 o C-5 de flavonas o flavonoles. Además, también forma complejos lábiles ácidos con los grupos dihidroxilo en el anillo A o B de los flavonoides (figura 8).



**Figura 8** Esqueleto molecular de flavonoides.

El complejo formado presenta una coloración rosa salmón, la cual se mide espectroscópicamente entre 490 a 550 nm (Cruz 2012, Simirgiotis et al 2008, Valenzuela 2015).

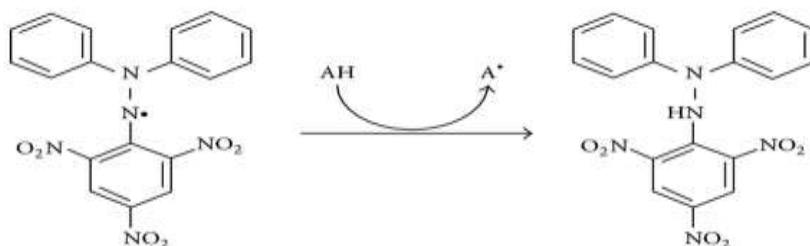
El procedimiento se llevó a cabo según menciona Simirgiotis et al. (2008), con algunas modificaciones: inicialmente se disolvieron los extractos (MeOH, EF, EFE, EFE-D) en MeOH (10 mg/mL). Posteriormente en un tubo se adicionaron 200  $\mu$ L de cada extracto por separado, después se adicionaron 1,250  $\mu$ L de agua destilada y 75  $\mu$ L NaNO<sub>2</sub> (5% p/v), se incubó la mezcla a temperatura ambiente por 5 min bajo protección de la luz. Después se adicionó 150  $\mu$ L de AlCl<sub>3</sub> (10% p/v), se incubó por 1 min y se adicionaron 500  $\mu$ L de NaOH 1M y 325  $\mu$ L de agua destilada. Finalmente se pasaron 200  $\mu$ L a una microplaca de 96 posillos y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro de microplacas a 510 nm. Como estándar se utilizó catequina en un rango de concentración de 50-500  $\mu$ g / mL. Los resultados se expresaron en mg equivalentes a catequina/100 g de peso fresco de la muestra.

## **6.10. Actividad antioxidante/anti-radical**

### **6.10.1. Actividad anti-radical por el reactivo DPPH•**

El ensayo colorimétrico de DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) se realiza para evaluar el potencial de eliminación de radicales libres de una molécula antioxidante. El DPPH• es

un radical estable en solución y tiene un color púrpura que se absorbe a 515 nm en metanol. El fundamento del ensayo se basa en la capacidad del DPPH• en aceptar un átomo de hidrógeno (H) de la molécula depuradora, es decir, un antioxidante, lo que da como resultado una reducción de DPPH• a DPPH<sub>2</sub> durante esta reacción el color púrpura cambia a amarillo con una disminución concomitante de la absorbancia (figura 9). El cambio de color se monitorea espectrofotométricamente y se utiliza para la determinación de parámetros de propiedades antioxidantes (Mishra et al 2012, Sirivibulkovit et al 2018).



**Figura 9** Reacción entre DPPH• y un antioxidante (AH). A° es un radical libre producido.

El procedimiento se llevó a cabo según menciona Monroy con algunas modificaciones (Monroy et al 2021): inicialmente se disolvieron los extractos (MeOH, EF, EFE, EFE-D) en MeOH (1 mg/mL). Posteriormente en una microplaca de 96 pocillos se adicionaron 100 µL de cada extracto por separado, se hizo una dilución seriada y se adicionó a cada pocillo 100 µL del radical DPPH• (80% MeOH). Se dejó incubar por 30 min a temperatura ambiente bajo protección de la luz. Finalmente, en un espectrofotómetro de microplacas se midió la absorbancia a 517 nm. La absorbancia se transformó en porcentaje de actividad anti-radical (AA) utilizando la siguiente formula:

$$AA\% = 100 - [(Am - Ac) * 100 / Ac]$$

Donde Ac y Am son la absorbancia del control y la muestra. Como control positivo se utilizó Trolox y como control negativo MeOH. El ensayo se realizó por triplicado y la actividad de eliminación de radicales se expresó en Concentración Efectiva media (CE<sub>50</sub>) mg/mL.



### **6.10.2. Capacidad antioxidante equivalente a Trolox (CAET)**

La CAET es una técnica espectrofotométrica que se basa en la inhibición del radical libre  $ABTS^+$  (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico). En el ensayo inicialmente el ABTS es oxidado por persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ) u otro oxidante hasta formar el catión  $ABTS^+$ , el cual presenta un color intenso verde-azul que se puede observar a 734 nm. Los antioxidantes pueden neutralizar estos cationes radicales mediante la transferencia de electrones o átomos de hidrogeno. Esto hace que el catión radical  $ABTS^+$  vaya perdiendo coloración y por lo tanto se genera una disminución de la absorción espectrofotométrica. Los resultados obtenidos son expresados en porcentaje de inhibición de la formación de cationes  $ABTS^+$  por la muestra antioxidante añadida en un punto de tiempo fijo (Bohorquez 2016, Huet 2017, Re et al 1999).

El procedimiento se llevó a cabo según menciona Monroy con algunas modificaciones (Monroy et al 2021): inicialmente se preparó el radical mezclando el ABTS 7 mM en solución acuosa con  $K_2S_2O_8$  2.45 mM, se incubó por 16 h a temperatura ambiente bajo protección de la luz. Una vez formado el radical  $ABTS^+$  se diluyó la mezcla con agua destilada hasta tener una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$ , la cual se midió a 734 nm en el espectrofotómetro de microplacas. Después se realizó la mezcla reactiva en microplaca de 96 pocillos con 20  $\mu$ L de cada uno de los extractos (MeOH, EF, EFE, EFE-D) disueltos en MeOH (1 mg/mL) más 200  $\mu$ L del radical  $ABTS^+$ , se incubó por 20 min bajo protección de la luz y finalmente se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a 734 nm. Como estándar se utilizó Trolox y los resultados se expresaron como  $\mu$ M equivalente a Trolox/100 g de peso fresco de la muestra.

### **6.10.3. Efecto protector sobre eritrocitos AAPH**

El método consiste en inducir hemólisis causada por radicales peroxilo generados por AAPH (2,2'-azobis (2-amidinopropano dihidrocloruro), la adición de AAPH induce la oxidación de los lípidos y proteínas de la membrana del eritrocito, lo que resulta en hemólisis.

Inicialmente se tomó una muestra sanguínea (10 mL) a partir de un individuo sano mediante punción venosa, colectada en tubos con EDTA (anticoagulante). La muestra sanguínea se centrifugó a 1,500 rpm durante 10 min, generando la separación de los glóbulos rojos, glóbulos blancos y el plasma. Se separaron los glóbulos rojos o eritrocitos del plasma, posteriormente se hicieron 3 lavados con 5 volúmenes de buffer salino (PBS; 120 mM de NaCl, 22.21 mM de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 5.59 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y 5.5 mM glucosa p/v) a pH 7.4, durante cada lavado se volvió a centrifugar a 1,500 rpm durante 2 min. Después se hizo una suspensión de eritrocitos en 4 volúmenes de solución de PBS para tener una concentración de 8x10<sup>9</sup> cel/mL (Aman et al 2013, Díaz et al 2015, Ko et al 1996, Lucio et al 2015).

La determinación de la actividad anti-hemolítica de los extractos (MeOH, EF, EFE, EFE-D), se realizó siguiendo la metodología mencionada por Aman 2013, Díaz 2015 y repetida posteriormente por Monrroy con algunas modificaciones (Monrroy et al 2021): inicialmente la suspensión de eritrocitos (250 µL), se mezcló con los extractos diluido en PBS (250 µL) a diferentes concentración (250, 500, 1,000 y 2,000 µg/mL) y finalmente se adicionó el reactivo AAPH 300 mM en PBS (250 µL), se agitó suavemente por 3 h a 37° C. Al finalizar la incubación se diluyó la mezcla a 8 volúmenes en PBS, se centrifugó a 4,000 rpm por 5 min. Finalmente se leyó la absorbancia del sobrenadante en espectrofotómetro de microplacas a 540 nm. El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{[AAAPH - Am]}{[AAAPH]} * 100$$

Donde AAAPH es la absorbancia de AAPH a 540 nm y Am es la absorbancia de los extractos a 540 nm. La concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) del extracto se calculó a partir de una curva dosis-respuesta que se obtuvo al representar gráficamente el porcentaje de inhibición del hemólisis frente a la concentración del extracto. Como control positivo se utilizó ácido ascórbico y como control negativo se utilizó agua común. Los resultados se expresaron como Concentración Inhibitoria media CI<sub>50</sub>.

## 6.11. Actividad inhibitoria de enzimas digestivas

### 6.11.1. Actividad inhibitoria de $\alpha$ -amilasa

Este ensayo se realiza para medir la capacidad de inhibición de los extractos (MeOH, EF, EFE, EFE-D) en la hidrólisis del almidón por la enzima  $\alpha$ -amilasa. Inicialmente en una microplaca de 96 pocillos se colocaron 50  $\mu$ L de los extractos disueltos (5 mg/mL) en PBS (pH 6.8) en dilución seriada, después se adicionaron 50  $\mu$ L de  $\alpha$ -amilasa (1 U/mL) disuelta en PBS, se incubó a 37° C por 15 min. Luego, se adicionaron 50  $\mu$ L de almidón (0.5 % p/v) en PBS y se volvió a incubar por 20 min a 37 °C, después de la incubación se adicionaron 20  $\mu$ L de HCl 1M para detener la reacción, finalmente se adicionaron 50  $\mu$ L del reactivo de Yodo (3 mM I<sub>2</sub> y 30 mM KI). Por último, en espectrofotómetro de microplacas se midió la absorbancia a 750 nm. El porcentaje de inhibición se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de actividad} = \left[ \frac{(Ac - Am)}{Ac} \right] * 100$$

Donde Ac y Am son la absorbancia del control y la muestra. Como control positivo se utilizó acarbose y como control negativo se utilizó PBS. Los resultados se expresaron como concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) que se calculó usando un análisis logístico (Burgos et al 2017, Tan et al 2017).

### 6.11.2. Actividad inhibitoria de $\alpha$ -glucosidasa

Este método consiste en medir la capacidad de inhibición de los extractos (MeOH, EF, EFE, EFE-D) en la hidrólisis enzimática de un sustrato de origen sintético por la enzima  $\alpha$ -glucosidasa. El sustrato p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosido (p-PNPG) por acción de la  $\alpha$ -glucosidasa libera unidades de p-nitrofenolato y  $\alpha$ -D-glucosa. El ion p-nitrofenolato presenta una coloración amarillo claro que evidencia la reacción de hidrólisis enzimática (en ocasiones no se observa claramente). Para intensificar el color, se adiciona una solución básica (Avellaneda 2013).

Para este ensayo, inicialmente en una microplaca de 96 pocillos se colocaron 50  $\mu$ L de los extractos disueltos (5 mg/mL) en PBS (pH 6.8) en dilución seriada, después se adicionaron 50  $\mu$ L de  $\alpha$ -glucosidasa (0.8 U/mL) disuelta en PBS, se incubó a 37° C por 15 min. Luego, se adicionaron 50  $\mu$ L del sustrato p-PNPG (625 mM) y se volvió a incubar por 15 min a 37 °C, finalmente después de la incubación se adicionaron 100  $\mu$ L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.2 M para detener e intensificar la coloración de la reacción. En espectrofotómetro de microplacas se midió la absorbancia a 405 nm. El porcentaje de inhibición se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de actividad} = \left[ \frac{(Ac - Am)}{Ac} \right] * 100$$

Donde Ac y Am son la absorbancia del control y la muestra. Como control positivo se utilizó acarbosa y como control negativo se utilizó PBS. Los resultados se expresaron como concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) que se calculó usando un análisis logístico (Burgos et al 2017, Coral et al 2020, Costamagna et al 2016).

### **6.11.3. Actividad inhibitoria de lipasa pancreática**

Las determinaciones analíticas de la actividad de la lipasa generalmente se llevan a cabo utilizando ésteres de p-nitrofenol (pNP) como sustrato. La reacción se lleva a cabo en un medio emulsificado, ya que el éster p-nitrofenol palmitato es hidrófobo. Después de la hidrólisis enzimática el sustrato p-nitrofenol palmitato (pNPP) se liberan unidades de p-nitrofenol y ácido carboxílico. El p-NP liberado es un producto de color amarillo lo que permite la cuantificación espectrofotométricamente midiendo la absorción a 400-420 nm (Rodríguez et al 2020).

Para este análisis inicialmente, la lipasa pancreática se disolvió (20 mg/mL) en PBS (60 mM, pH 8), se centrifugó a 3,500 rpm por 10 min a 4° C. Se tomó el sobrenadante y se procedió a realizar el ensayo. En una microplaca de 96 pocillos se mezclaron 100  $\mu$ L de los extractos (5mg/mL) en diluciones seriadas en PBS, más 30  $\mu$ L de la solución de lipasa

y se incubó por 15 min a 37 °C. Pasado el tiempo de incubación se adicionarán 10 µL del sustrato p-NPP (10 mM en DMSO) y se volvió a incubar a 37° C por 30 min. Con espectrofotómetro de microplacas se midió la absorbancia a 405 nm. El porcentaje de inhibición se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de actividad} = \left[ \frac{(Ac - Am)}{Ac} \right] * 100$$

Donde Ac y Am son la absorbancia del control y la muestra. Como control positivo se utilizó orlistat y como control negativo se utilizó PBS. Los resultados se expresaron como concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) que se calculó usando un análisis logístico (Burgos et al 2017, McDougall et al 2009).

## 7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores se expresaron como media  $\pm$  DE (n=3). Las diferencias observadas entre las medias se determinaron mediante el análisis de varianza factorial (ANOVA), seguido de la comparación de medias por la prueba T-student. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el programa de análisis estadístico OpenStat. La significancia estadística se consideró a  $p < 0.05$ .

## 8. RESULTADOS Y DICUSIONES

### 8.1. Identificación taxonómica

El material vegetal fue analizado por botánicos especialistas del Herbario CIIDIR e identificados siguiendo métodos tradicionales en botánica (consulta de literatura especializada, empleo de claves dicotómicos para la familia y el género botánico y comparación con otros ejemplares de la colección). En base a lo anterior, se asegura que el material vegetal analizado corresponde a la especie *Agave inaequidens* subsp. *barrancensis* Gentry de la familia Asparagaceae.

A partir del material entregado y la información de recolección, se generaron los números curatoriales 55902 y 59903. El primero de San Francisco de los Lobos al sureste camino a Parajes; el segundo del Poblado de San Francisco de los Lobos.

### 8.2. Análisis proximal

El contenido de macronutrientes de las flores comestibles de agave (*A. inaequidens*) se determinó tras haber sido sometidas a un proceso de cocción, en vista de que necesitan ser hervidas antes de su preparación y consumo (Figueredo et al 2022). Los resultados del análisis proximal expresados en peso fresco y peso húmedo de la flor de *A. inaequidens* se muestran en la tabla 4. En donde se observa que el componente de mayor abundancia es el agua con un 88.70%, seguido por el extracto libre de nitrógeno (ELN) con 81.24 %, fibra con 7.52%, ceniza con 6.11%, proteína con 3.19% y como componente menor, extracto etéreo con 1.95%. Mientras que en el análisis que realizó Pinedo-Espinoza, del contenido nutricional de las flores del agave (*Agave salmiana*) crudas arrojó los siguientes valores: humedad en 88.10%, fibra en 9.65%, cenizas en 5.65% proteína en 11.58%, extracto etéreo en 1.58% y ELN en 71.58% (Pinedo-Espinoza et al 2020).

Como ya se mencionó, la flor de agave al igual que la mayoría de los vegetales, son comúnmente hervidas antes de ser consumidas, lo que induce cambios en la concentración

y biodisponibilidad del contenido nutricional y compuestos bioactivos. Los cambios que ocurren en la cocción están directamente relacionados con la especie vegetal y el procesamiento, los cambios pueden ser positivos como; mejorar la textura, sabor, liberar compuestos de la matriz alimenticia, incrementar la biodisponibilidad, o negativos como; disminuir el color y componentes hidrosolubles como proteínas, minerales y carbohidratos (Granito et al 2009, Miglio et al 2008). Sin embargo, al comparar los resultados obtenidos en esta investigación de la flor procesada y la flor cruda analizada por Pinedo-Espinoza, se observa que no existe una pérdida significativa en el contenido nutricional después del proceso de cocción, los parámetros con mayor diferencia entre sí son las proteínas (11.58-3.19%) y la fibra (9.65-7.52%). Lo mismo sucede al comparar el aporte nutricional de la flor de agave (hervida) con otras especies de flores comestibles (crudas), como en el caso de la capuchina (*Tropaeolum majus*), cempasúchil (*Tagetes erecta*) y rosa (*Rosa grandiflora*) donde los valores de ceniza (0.63-0.80% PF), extracto etéreo (0.23-0.33% PF) y carbohidratos son similares (7.14-14.15% PF), mientras que la proteína (1.32-1.99% PF) y fibra (3.20-9.20% PF) muestran una diferencia evidente (De Lima et al 2019, Navarro-González et al 2015).

El contenido de macronutrientes de hortalizas comunes que son sometidas a procesos de cocción como, repollo, pimiento verde y zanahoria, alcanzan valores en base húmeda de 0.77-1.27 % en proteínas, 0.31-0.59% en ceniza, 0.06-0.20% en extracto etéreo y 5.51-6.70% en ELN (Uriarte et al 2018), que en comparación con el contenido nutricional de la flor de agave (tabla 5) tienen un aporte nutricional similar.

**Tabla 5 Resultados del análisis proximal de la flor de agave**

<b>Información nutrimental</b>	<b>Resultado %BH</b>	<b>Resultados %BS</b>
Humedad	88.70	-
Fibra cruda	0.85	7.52
Ceniza	0.69	6.11
Proteína	0.36	3.19
Grasa	0.22	1.95
ELN	10.03	81.24
Aporte calórico Kcal/100g	43.54 Kcal	

%BH: porcentaje en base húmeda. %BS: porcentaje base seca. ELN: Extracto libre de nitrógeno. Los valores de proteína, extracto etéreo, cenizas, fibra cruda y ELN se expresan como porcentaje del peso fresco y peso seco.



En base a la NOM-051 se realizó la tabla de información nutricional de la flor de agave (tabla 6), en la cual se determinó que, por cada 100 g de flor se consumen 360 mg de proteína, 220 mg de grasas totales, 850 mg de fibra y 10.03 g de carbohidratos totales. Lo que da un valor energético total a 43.50 kcal o 184.77 kj por cada 100 g de flor.

**Tabla 6 Tabla de información nutrimental de la flor de agave**

<b>Información nutrimental</b>	<b>Por cada 100 g de flor de agave</b>
Proteínas	360.00 mg
Grasas totales	220.00 mg
Carbohidratos totales	10.03 g
Fibra	850 mg
Contenido energético	43.54 kcal – 184.77 kj

En base a la NOM-051 2010

De acuerdo con el Diario Oficial de la Unión Europea, especifica que si un alimento contiene cerca de 40 kcal/100 g se puede considerar como alimento con bajo valor energético. De igual manera, también menciona que si el alimento contiene menos de 3 g de grasa/100 g se denomina como alimento bajo en grasas (D.O.U.E. 2006). Y conforme a la tabla de información nutricional (tabla 5), la flor de agave se puede declarar como un alimento con bajo valor energético y bajo en grasas.

### **8.3.Rendimiento de los extractos**

El rendimiento de los extractos y fracciones de la flor de agave se muestra en la tabla 7. En donde se observa como el rendimiento va disminuyendo conforme se realiza el fraccionamiento de la extracción inicial (MeOH). El extracto sólido/líquido de la flor de agave con metanol acidificado (0.01%) obtuvo el porcentaje de rendimiento mayor con un 3.68%. Este tipo de extractos además de contener compuestos fenólicos, también pueden tener la presencia de carotenoides, cumarinas, taninos, alcaloides, terpenoides, esteroides y carbohidratos (Kritsi et al 2022, Lu et al 2015). Al emplear la resina polimérica amberlite se lleva a cabo la adsorción de compuestos fenólicos para obtener el extracto fenólico (EF) (Jiménez-Aspee et al 2016) y, se obtiene un rendimiento menor de

0.45%. Posteriormente se realiza una segunda partición con acetato de etilo (AcoEt), a partir, del EF para obtener los compuestos fenólicos con mayor polaridad, lo que disminuye su rendimiento a un 0.03%. Finalmente, también se observa el rendimiento del EFE después de pasar por un proceso de digestión *in vitro* con un rendimiento de 0.15%.

**Tabla 7 Porcentaje de rendimiento de los extractos y fracciones de la flor de agave.**

<b>Extracto</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
Extracto metanólico (MeOH)	3.68
Extracto fenólico enriquecido (EF)	0.45
Fracción de EFE en acetato de etilo (EFE)	0.03
Fracción digerida de EFE (EFE-D)	0.15

#### **8.4. Contenido total de fenoles y flavonoides y, porcentaje de bioaccesibilidad**

En la actualidad, se les ha dado importancia a los compuestos fenólicos de origen vegetal, debido a la capacidad de mejorar la salud pública. El contenido y distribución de dichos compuestos varía a causa de la especie analizada, la madurez, origen geográfico, condiciones de almacenamiento poscosecha, condiciones de procesamiento, etc. (Navarro-Cortez et al 2022). Razón por la cual, se evaluó el contenido total de fenoles (CTFe) y el contenido total de flavonoides (CTFl) a partir de los extractos obtenidos y sometidos a un proceso de digestión *in vitro* de la flor de agave (*Agave inaequidens*). Los resultados se muestran en la tabla 8. En donde se puede observar que el CTFe y CTFl varió significativamente entre los extractos obtenidos a partir de la flor, de manera que el CTFe osciló de 16.4 a 46.1 mg Eq de AG/g extracto, mientras que, el CTFl osciló de 8.4 a 25.3 mg Eq de Cat/g extracto. Es notable que el tipo de solvente influye en la cantidad de fenoles extraídos, el extracto con mayor concentración de fenoles y flavonoides fue el extracto fenólico enriquecido (EFE) con 46.1 mg EAG y 25.3 mg ECat, y el de menor concentración fue el extracto metanólico (MeOH) con 16.4 mg EAG y 8.4 mg ECat. Independientemente de que la fracción soluble del EFE del material vegetal fue menor

comparado con la fracción soluble en metanol, el contenido de compuestos fenólicos fue casi tres veces mayor que en el extracto con MeOH.

Por otro lado, también se evaluó el CTFe y CTFI del extracto fenólico enriquecido después de pasar por un proceso de digestión *in vitro* (EFE-D), en donde, se aprecia la disminución significativa del CTFe de 46.1 a 7.6 mg EAG/g de extracto con un 16.49 % de bioaccesibilidad y, el CTFI de 25.3 a 14.6 mg ECat/g de extracto con una bioaccesibilidad de 57.71%. La exposición a las condiciones gastrointestinales, promueve distintos efectos sobre los compuestos fenólicos como disminución, transformación y en menor porcentaje aumento. Se ha reportado que la bioaccesibilidad de fenoles y flavonoides en flores comestibles es ampliamente variable, por ejemplo, la catequina puede variar desde 50-172%; quercetina desde 1.7-70%; ácido caftárico desde 4-110%, ácido sirínigico desde 6.6-30%. Por lo que, se puede inferir que el porcentaje de bioaccesibilidad depende de la especie analizada, la clase de compuestos fenólicos presentes y los cambios en la estructura de los compuestos fenólicos durante la digestión *in vitro* por oxidación o degradación (Morais et al 2020). De igual forma, se analizó la bioaccesibilidad de jugos elaborados con mezclas de frutas (naranja, kiwi y piña) y se determinó que la bioaccesibilidad para fenoles es de aproximadamente 12.8% y de flavonoides 20.1% (Rodríguez-Roque et al 2014), de manera que la bioaccesibilidad reportada por la flor *A. inaequidens* está dentro de lo que se ha reportado anteriormente.

**Tabla 8 Contenido de fenoles totales y flavonoides totales, y porcentaje de bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos de los extractos sin digerir y digeridos de la Flor de Agave.**

Extracto	Fenoles Totales [mg Eq de AG/g de extracto]	Flavonoides Totales [mg Eq de Cat/g de extracto]
MeOH	<sup>c</sup> 16.4 ±2.0	<sup>c</sup> 8.4 ±0.8
EF	<sup>b</sup> 21.8 ±3.0	<sup>b</sup> 11.2 ±2.0
EFE	<sup>a</sup> 46.1 ±7.0	<sup>a</sup> 25.3 ±4.0
EFE-D	<sup>d</sup> 7.6 ±0.5	<sup>b</sup> 14.6 ±1.0
PF	138.0 mg ±21.0/100 g	8.0 mg ±1.2/100g
PFD	*21.0 mg ±0.4/100g	*4.6 mg ±0.3/100g
Bioaccesibilidad (%)	16.49	57.71

---

Las letras (a-d) representan las diferencias significativas ( $p < 0.5$ ) entre los distintos tratamientos. El asterisco (\*) indica que existe diferencia altamente significativa ( $p < 0.1$ ) entre los resultados expresados en peso fresco. MeOH: Extracto metanólico; EF: Extracto fenólico; EFE: Extracto fenólico enriquecido fraccionado con acetato de etilo; EFE-D: Extracto fenólico enriquecido digerido; Peso fresco (PF); Peso fresco digerido (PFD).

El CTFe en peso fresco (PF) por cada 100 g de flor de agave es de 138 mg EAG, una vez digerido disminuye significativamente a 21 mg EAG. En comparación con el análisis que realizó Li del CTFe en 51 flores comestibles, flores como, girasol (*Helianthus annuus*), campanilla (*Ipomoea cairica*), iris (*Iris japonica*), azucena (*Lilium brownii*), flor de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y salvia (*Salvia splendens*) reportaron valores de 50 a 156 mg EAG/100 PF (Li et al 2013), muy similares al reportado en la flor de *A. inaequidens*. También se han analizado flores como begonia (*Begonia x tuberhybrida*), capuchina (*Tropaeolum majus*), caléndula (*Calendula officinalis*), clavel de moro (*Tagetes patula*), cempasúchil (*Tagetes erecta*), jazmín (*Jasminum officinale*) y petunia (*Ruellia simplex*) con valores superiores de 323 a 758 mg EAG/100 g PF (Kritsi et al 2022, Mlcek et al 2021). En el caso del CTFI de la flor de agave se reportó en 8 mg ECat/100 g PF, una vez digerido disminuye significativamente a 4.6 mg ECat/100 g PF, valor similar al reportado por la flor de albahaca (*Ocimum basilicum*) con un CTFI de 3.99-21.72 mg ECat/100 g PF (según diferentes regiones) (Rashid et al 2023). Mientras que flores como begonia (*Begonia boliviensis*), pincel (*Centaurea cyanus*), rosa (*Rosa odorata*), clavel de moro (*Tagetes patula*), capuchina (*Tropaeolum majus*) y pensamientos (*Viola x wittrockiana*) reportaron valores superiores de CTFI en 135-204 mg ER/100 g PF (Rop et al 2012). Según lo antes mencionado, se han reportado flores comestibles con concentraciones de fenoles similares a la obtenida por la flor *A. inaequidens*. Sin embargo, también se puede notar que existe una gran diferencia en la concentración de fenoles con otras especies de flores comestibles. No obstante, es importante mencionar que la flor *A. inaequidens* se sometió a dos procesos agresivos, cocción y digestión, lo que implica la pérdida de compuestos, en especial compuestos hidrosolubles y termolábiles como algunos fenólicos (Granito et al 2009). Esclareciendo así, una de las razones por la cual hay una diferencia entre el contenido fenólico de la flor de agave y otras flores comestible. Así mismo, implica que los resultados de *A. inaequidens* son más próximos a la realidad.

También se ha mencionado que las flores comestibles pueden tener mayor concentración de compuestos fenólicos que hortalizas comunes. Como en el caso de verduras crucíferas

que reportaron menor contenido de compuestos fenólicos que la flor de agave como, la col asiática (*Brassica. rapa* var. *chinensis*), repollo (*B. oleracea* var. *capitata*), coliflor (*B. oleracea* var. *botrytis*), brócoli (*B. oleracea* var. *italica*) y rábano rojo (*Raphanus sativus*) con un CTF<sub>e</sub> (sin cocción) entre 35 a 106 mg EAG/100g PF (Li et al 2018).

### **8.5.Actividad antioxidante/anti-radical**

Los antioxidantes son sustancias que tienen la capacidad de retrasar o evitar la oxidación de las células y protegerlas. A partir de una dieta rica en compuestos fenólicos se ha demostrado una gran actividad antioxidante, la cual está relacionada con la capacidad de los compuestos fenólicos de eliminar radicales libres, romper reacciones en cadenas de radicales y quelato de metales (Moreno 2021). Razón por la cual se analizó la actividad antioxidante/anti-radical de la flor comestible *A. inaequidens* por medio de tres métodos con diferente mecanismo: CAET, DPPH y hemólisis inducida por el radical AAPH. Según los resultados obtenidos se observa una evidente relación entre la concentración de fenoles y flavonoides y la actividad antioxidante, ya que, al aumentar la concentración de estos compuestos por medio del método de extracción, aumenta también la actividad antioxidante.

Los resultados de los cuatro extractos analizados se observan en la tabla 9. Para el método CAET se obtuvo un rango de actividad de 19 a 42  $\mu\text{M}/\text{mg}$  de extracto, donde el EFE de mayor concentración es el de mayor actividad con 42  $\mu\text{M}/\text{mg}$ , una vez digerido disminuye considerablemente a 8  $\mu\text{M}/\text{mg}$ ; de igual manera, en el método del radical DPPH se obtuvo un rango de  $\text{CI}_{50}$  de 0.93 a 0.43 mg/mL de extracto, así mismo el EFE reporto una mayor actividad por tener la menor  $\text{CI}_{50}$  de 0.43 mg/mL, después de la digestión la  $\text{CI}_{50}$  incrementa a 4.2 mg/mL indicando claramente una disminución de la actividad después de la digestión. En el caso del ensayo de hemólisis inducida por el radical AAPH solamente se analizaron dos extractos, el de mayor concentración (EFE) y el extracto digerido (EFE-D). El EFE obtuvo una  $\text{CI}_{50}$  de 70.43  $\mu\text{g}/\text{mg}$  del extracto y una vez que

pasó por la digestión gastrointestinal *in vitro* incrementó a >100 µg/mg disminuyendo evidentemente la actividad antioxidante, al igual que en los otros ensayos.

De acuerdo con lo observado, el proceso de digestión genera una disminución tanto en la concentración como en la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, comportamiento que coincide con otras investigaciones. Se ha observado que la actividad antioxidante aumenta durante la fase gástrica con un pH ácido, sin embargo, durante la digestión intestinal con pH alcalino se produce una disminución considerable. Se sabe que el cambio de pH en las moléculas puede afectar la racemización creando enantiómeros con diferente reactividad, también se menciona que los compuestos fenólicos al estar expuestos al cambio de pH ácido a alcalino, están propensos a la desprotonación de los grupos hidroxilo (-OH) presentes en los anillos aromáticos, lo que puede alterar la respuesta biológica (Chen et al 2015).

**Tabla 9 Actividad antioxidante/anti-radical de los extractos sin digerir y digeridos de la Flor de Agave por tres métodos diferentes.**

Extracto	CAET [µM/mgExt]	DPPH (CI <sub>50</sub> ) [mg/mL]	AAPH (CI <sub>50</sub> ) [µg/mL]
MeOH	<sup>c</sup> 19.0 ±3.0	<sup>b</sup> 0.93 ±0.1	-
EF	<sup>b</sup> 27.0 ±2.0	<sup>c</sup> 0.61 ±0.07	-
EFE	<sup>a</sup> 42.0 ±7.0	<sup>d</sup> 0.43 ±0.05	<sup>b</sup> 70.43 ±4
EFE-D	<sup>d</sup> 8.0 ±0.6	<sup>a</sup> 4.2 ±0.8	<sup>c</sup> >100
Trolox	-	<sup>e</sup> 0.012±0.01	-
Ác. ascórbico	-	-	<sup>a</sup> 19.37 ±2
PF	5.7 µM/100g	-	-
PFD	*1.9 µM/100g	-	-

Las letras (a-d) representan las diferencias significativas (p<0.5) entre los distintos tratamientos. El asterisco (\*) indica que existe diferencia altamente significativa (p<0.1) entre los resultados expresados en peso fresco. Trolox: control positivo (análogo polar de la Vitamina E). Ácido ascórbico: control positivo. MeOH: Extracto metanólico; EF: Extracto fenólico; EFE: Extracto fenólico enriquecido fraccionado con acetato de etilo; EFE-D: Extracto fenólico enriquecido digerido; Peso fresco (PF); Peso fresco digerido (PFD)

Deng analizó 56 especies vegetales en busca de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante empleando el ensayo CAET y obtuvo un rango de actividad de 5 a 1,900 µM/100g PF. En donde, vegetales como calabaza amarga (7 µM/100 PF) y pepino verde (5 µM/100 PF) (Deng et al 2013), obtuvieron resultados similares a los obtenidos por la flor *A. inaequidens* (5.7 µM/100 PF). De igual forma, Pires analizó los compuestos

fenólicos en flores comestibles y su potencial bioactivo, determinó la actividad antioxidante por el ensayo DPPH de cuatro especies diferentes: rosa (0.18 mg/mL), dalia (0.63 mg/mL), centaurea (0.83 mg/mL) y caléndula (1.37 mg/mL) (Pires et al 2017). En comparación, la flor de agave presentó mayor actividad antioxidante que tres de las flores antes mencionadas. En el caso del método de hemólisis inducida que mide la capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica de glóbulos rojos causada por AAPH, se obtuvo una mayor protección por la flor *A. inaequidens* antes del proceso digestivo con una  $CI_{50}$  de 70.43  $\mu$ g/mL, mientras que en flores comestibles previamente analizadas como manzanilla (*Chamaemelum nobile*) y pennyroyal (*Mentha pulegium*) reportaron valores de  $CI_{50}$  127.48 a 129.52  $\mu$ g/mL (Mustapha Tacherfiout et al 2022). Sin embargo, una vez que la flor de agave es digerida obtiene un valor similar con una  $CI_{50}$  <100  $\mu$ g/mL.

#### **8.6. Actividad inhibitoria de enzimas digestivas $\alpha$ -amilasa, $\alpha$ -glucosidasa y lipasa**

El síndrome metabólico se define por la presencia de tres o más factores de riesgo cardiovascular, tales como obesidad, acumulación de grasa visceral, dislipidemia, hipertensión, hiperglucemia o diabetes tipo II. El tratamiento del síndrome metabólico implica la inhibición de enzimas que participan en el metabolismo de carbohidratos, como  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, así como la inhibición de enzimas lipolíticas como lipasa (Costamagna et al 2016). Para  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa se utilizan inhibidores comerciales acarbose y voglibosa, mientras que para lipasa se utiliza orlistat. Estos medicamentos a menudo tienen efectos secundarios como dolor abdominal, hinchazón, náuseas y vómitos. Por ello, se han investigado inhibidores naturales como alternativa (Rincon et al 2019). Se ha mencionado que los compuestos fenólicos tienen la capacidad de inactivar la  $\alpha$ -amilasa,  $\alpha$ -glucosidasa y lipasa mediante la unión no específica a las enzimas (Tan et al 2017). Motivo por el cual se ha analizado la actividad inhibitoria sobre enzimas digestivas por parte de la flor comestible *A. inaequidens* antes y después de ser digerida. Los resultados sobre la inhibición de las enzimas digestivas antes mencionadas se observan en la tabla 10. Donde se puede observar como el método de extracción influye en la obtención de metabolitos inhibitorios, ya que los extractos MeOH y EF presentaron

una menor actividad sobre las enzimas, mientras que en el EFE se puede observar el inicio de la actividad inhibitoria.

**Tabla 10 Concentración inhibitoria media de los extractos sin digerir y digeridos de la Flor de Agave sobre tres enzimas digestivas.**

Extracto	$\alpha$ -Amilasa (CI <sub>50</sub> ) [mg/mL]	$\alpha$ -Glucosidasa (CI <sub>50</sub> ) [mg/mL]	Lipasa (CI <sub>50</sub> ) [mg/mL]
MeOH	> 3.0	> 3.0	> 3.0
EF	> 3.0	1.2 ± 0.1 <sup>c</sup>	> 3.0
EFE	1.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	2.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	> 3.0
EFE-D	2.1 ± 0.4 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.3 <sup>b</sup>	1.4 ± 0.2 <sup>a</sup>
Control*	0.9 ± 0.1 <sup>c</sup>	0.2 ± 0.05 <sup>d</sup>	0.25 ± 0.07 <sup>b</sup>

Las letras (a-d) representan las diferencias significativas ( $p < 0.5$ ) entre los distintos tratamientos. El asterisco (\*) indica que existe se utilizó como control acarbossa para  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, así como orlistat para lipasa. MeOH: Extracto metanólico; EF: Extracto fenólico; EFE: Extracto fenólico enriquecido fraccionado con acetato de etilo; EFE-D: Extracto fenólico enriquecido digerido.

En el caso de la  $\alpha$ -amilasa, el EFE presentó el mismo comportamiento que en la actividad antioxidante la cual depende de la concentración de compuestos fenólicos, ya que el EFE (mayor concentración) presentó una mayor inhibición con una CI<sub>50</sub> de 1.8 mg/mL y al pasar por el proceso de digestión gastrointestinal incrementó la CI<sub>50</sub> a 2.1 mg/mL lo que indica una disminución de la actividad inhibitoria. En contraste, las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y lipasa mostraron un comportamiento contrario, después de la digestión, se generó un aumento de la actividad. En el EFE, la  $\alpha$ -glucosidasa presentó una CI<sub>50</sub> de 2.7 mg/mL, la cual disminuyó a 1.6 mg/mL tras la digestión. Por otro lado, la lipasa en el EFE presentó una CI<sub>50</sub> > 3 mg/mL, la cual disminuyó después de la digestión a 1.4 mg/mL. Y a menor CI<sub>50</sub> indica una mayor actividad por parte de los compuestos fenólicos sobre las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y lipasa.

En investigaciones previas se ha mencionado que los compuestos fenólicos se pueden encontrar en forma de glucósidos en los alimentos de origen vegetal, la mayoría de estos compuestos glucósidos no resisten las condiciones del proceso de la digestión gastrointestinal, como la hidrólisis ácida generada por enzimas digestivas, por lo que, dichas enzimas pueden llegar a transformar a los compuestos fenólicos glucósidos a agliconas (Barrios & Bravo 2020). Las agliconas en comparación con los glucósidos han



exhibido bioactividades más fuertes, como antioxidante y antidiabética (Guo et al 2020). De igual manera se ha mencionado que las agliconas tienen mayor inhibición sobre algunas enzimas digestivas, ya que los glucósidos tienen mayor tamaño molecular y polaridad, además de que la presencia del glucósido puede generar la obstaculización estérica, lo que debilita la unión entre los compuestos fenólicos y las enzimas (Xiao 2017). Por lo que se ha explicado anteriormente, se puede concluir que el proceso de digestión transforma los compuestos fenólicos de la flor *A. inaequidens* de glucósidos a agliconas, lo que genera un incremento sobre la actividad de inhibición de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y lipasa.

Anteriormente se ha reportado la inhibición sobre la enzima  $\alpha$ -amilasa por compuestos fenólicos por otras especies de flores comestibles como *Passiflora tripartita* con 1.72 mg/mL, al igual que en leguminosas como *Phaseolus vulgaris* con 2.69 mg/mL y *Glycine max* con 2.25 mg/mL (Coral et al 2020, Tan et al 2017). Mientras que la inhibición sobre la enzima  $\alpha$ -glucosidasa se ha reportado para especies de flores comestibles como *Hylocereus megalanthus* con  $CI_{50}$  8.69 mg/mL, *Dregea volubilis* con  $CI_{50}$  3.78 mg/mL, *Cosmos sulphureus* con  $CI_{50}$  5.62 mg/mL y *Bougainvillea glabra* con  $CI_{50}$  5.21 mg/mL (Coral et al 2020, Das et al 2017, Kaisoon et al 2012). Las flores *C. sulphureus* y *B. glabra* también presentaron inhibición sobre la enzima lipasa con  $CI_{50}$  de 4.6 y 5.14 mg/mL (Kaisoon et al 2012). La flor *A. inaequidens* demostró una mayor inhibición de las enzimas digestivas antes y después de la digestión, en comparación con otras flores comestibles.

## 9. CONCLUSIONES

- La flor *A. inaequidens* es un alimento rico en fibra (7.52 % BS), bajo valor energético y bajo en grasas (43.54 kcal).
- Con el proceso digestivo se disminuyó la concentración de fenoles (138-21 mg/100 g PF) y flavonoides (8-4.6 mg/100 g PF) con bioaccesibilidad de 16.49% y 57.71%.
- La actividad antioxidante de los ensayos CAET (5.7-1.9  $\mu$ M /100 g), DPPH (CI<sub>50</sub> 0.43-4.2 mg/mL) y hemólisis inducida por AAPH (CI<sub>50</sub> 70.43- >100  $\mu$ g/mL) disminuyó con el proceso de digestión.
- La actividad inhibitoria sobre la enzima amilasa (CI<sub>50</sub> 1.8-2.1 mg/mL) disminuyó con el proceso digestión, mientras que el efecto sobre las enzimas glucosidasa (CI<sub>50</sub> 2.7-1.6 mg/mL) y lipasa (CI<sub>50</sub> >3 -1.4 mg/mL) se incrementó.

En base a los resultados obtenidos en esta investigación se sugiere que la flor de *A. inaequidens* es una alternativa natural de alimento funcional.

## **10. PERSPECTIVAS**

En base a los estudios y conclusiones presentados en este trabajo, se podrían identificar los compuestos fenólicos presentes en la flor de agave por medio de perfiles químicos y, al mismo tiempo, determinar la bioaccesibilidad de cada uno de ellos por medio de un sistema de digestión *in vitro*.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

- Albán M, Echavarría A, Domínguez L. 2018. Composición nutricional y propiedades funcionales de flores comestibles. *Saber* 30: 498-507
- Alfaro G, Legaria J, Rodríguez J. 2007. Diversidad genética en poblaciones de agaves pulqueros (*Agave* spp.) del nororiente del estado de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 30: 1-12
- Almaraz N, Delgado E, Ávila J, Uribe J, González L. 2013. The Phenols of the Genus *Agave* (Agavaceae). *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* 04: 9-16
- Almaraz N, Delgado E, Hernández V, Ortega M, Orea G, et al. 2009. Profiling of Phenolic Compounds of Somatic and Reproductive Tissues of *Agave Durangensis* Gentry (Agavaceae). *American Journal of Applied Sciences* 6: 1076-85
- Alongi M, Anese M. 2021. Re-thinking functional food development through a holistic approach. *Journal of Functional Foods* 81: 104466
- Alvídrez A, González B, Jiménez Z. 2002. Tendencias En La Producción De Alimentos: Alimentos Funcionales. *Revista De Salud Publica y Nutrición* 3
- Aman S, Moin S, Owais M, Siddiqui M. 2013. Antioxidant activity of thymol, protective role in AAPH-induced hemolysis in diabetic erythrocytes. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention* 2: 55-60
- Amrouche TA, Xuan Y, Çapanoğlu GE, Weisu H, Qi C, et al. 2022. Contribution of edible flowers to the Mediterranean diet: Phytonutrients, bioactivity evaluation and applications. *Food Frontiers*
- Andrés A. 2019. *Desarrollo De Un Sistema De Digestión In Vitro Para La Determinación De La Bioaccesibilidad De Componentes Bioactivos*. Universidad Politècnica De València. 40 pp.
- Avellaneda I. 2013. *Evaluación De La Actividad Inhibitoria De La A- Glucosidasa (A-Glc) In Vitro Por Extractos Vegetales*. Universidad Tecnológica de Pereira. 126 pp.

- Barriada L, Almaraz N, Delgado E, Gallardo T, Ávila J, et al. 2013. Flavonoid composition and antioxidant capacity of the edible flowers of *Agave durangensis* (Agavaceae). *CyTA - Journal of Food* 12: 105-14
- Barrios I, Bravo J. 2020. *Biodisponibilidad Y Bioaccesibilidad De Polifenoles Y Flavonoides*. TALCA Universidad Chile 87 pp.
- Beltrán M. 2016. Nutrición: Alimentos Funcionales *Farmacia Profesional* 30: 12-14
- Bohorquez R. 2016. *Determinación De Actividad Antioxidante De Extractos De Hojas De *Diplostephium phyllicoides* (Kunth) Wedd.* UNIVERSIDAD DE CIENCIAS APLICADAS Y AMBIENTALES UDCA. 86 pp.
- Briones V, Venegas G, Ortiz S, Chacana M, Maureira H. 2011. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility, as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. *Food Chem* 128: 520-29
- Burgos A, Jimenez F, Thomas S, Schmeda G, Theoduloz C. 2017. Qualitative and quantitative changes in polyphenol composition and bioactivity of *Ribes magellanicum* and *R. punctatum* after in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chem* 237: 1073-82
- Burin V, Grützmann A, Freitas L, Bordignon M. 2011. Determination of Some Phenolic Compounds in Red Wine by RP-HPLC: Method Development and Validation. *Journal of Chromatographic Science* 49: 647-51
- Caballero A, López E, Medina E. 2009. La flor de cuchunuc (*gliricidia sepium*) en la alimentación de la población zoque de Tuxtla, Gutiérrez, Chiapas, México. *REVISTA AVANCES EN SEGURIDAD ALIMENTARIA Y NUTRICIONAL* 1: 9-13
- Carmona J, Taborda G, Gonzalez C. 2021. Folin-Ciocalteu Reaction Alternatives for Higher Polyphenol Quantitation in Colombian Passion Fruits. *International journal of food science* 2021: 8871301
- Carvajal C. 2017. Síndrome metabólico: definiciones, epidemiología, etiología, componentes y tratamiento *Medicina Legal de Costa Rica - Edición Virtual* 34
- Cavaiuolo M, Cocetta G, Ferrante A. 2013. The Antioxidants Changes in Ornamental Flowers during Development and Senescence. *Antioxidants* 2: 132-55
- Conabio. 2006. *Agave: Mezcales y diversidad*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad

- Coral E, Calixto M, Soberón M. 2020. ACTIVIDAD INHIBITORIA in vitro DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LOS FRUTOS DE *Hylocereus megalanthus* Y *Passiflora tripartita* var. *mollissima* SOBRE LAS ENZIMAS  $\alpha$ -AMILASA Y  $\alpha$ -GLUCOSIDASA. *Rev Soc Quím Perú*. Vol. 86: 93-104
- Cortés E, Osorio P, Jiménez A, Bautista S. 2013. Contenido Nutricional, Propiedades Funcionales Y Conservación De Flores Comestibles. Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 63: 197-207
- Costamagna M, Zampini I, Alberto M, Cuello S, Torres S, et al. 2016. Polyphenols rich fraction from *Geoffroea decorticans* fruits flour affects key enzymes involved in metabolic syndrome, oxidative stress and inflammatory process. *Food Chem* 190: 392-402
- Cruz J. 2012. *Relación flavonoides totales-actividad antidiabética (in vitro por difusión de glucosa) en extractos de Colubrina elliptica*. Universidad Tecnológica de la Mixteca. 69 pp.
- Chen G-L, Chen S-G, Xie Y-Q, Chen F, Zhao Y-Y, et al. 2015. Total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of 23 edible flowers subjected to in vitro digestion. *Journal of Functional Foods* 17: 243-59
- D.O.U.E. 2006. Reglamento (CE) N° 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. ed. DODIU Europea. Europa: Diario Oficial de la Unión Europea
- Das B, De A, Das M, Das S, Samanta A. 2017. A new exploration of *Dregea volubilis* flowers: Focusing on antioxidant and antidiabetic properties. *South African Journal of Botany* 109: 16-24
- De Lima F, Rodrigues M, Fernando H, Farias J, Martins L. 2019. Composición química de pétalos de flores de rosa, girasol y caléndula para su uso en la alimentación humana. *Cienc Tecnol Agropecuaria, Mosquera (Colombia)* 20: 149-58
- Delgado E, Avila J, Torres R, Naranjo N, Chaidez A, Almaraz N. 2021. Caracterización Fitoquímica De *Agave shrevei* Gentry. *ecucba* 8: 56-59
- Deng G-F, Lin X, Xu X-R, Gao L-L, Xie J-F, Li H-B. 2013. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables. *Journal of Functional Foods* 5: 260-66

- Díaz D, Mancini J, Méndez W, Vidal A. 2015. Comparación de las propiedades antioxidantes y contenido de polifenoles de extractos acuosos de las algas marinas *Bryothamnion triquetrum* y *Halimeda opuntia*. *Ars Pharm* 56: 89-99
- Fernandes L, Casal S, Pereira J, Saraiva J, Ramalhosa E. 2017. Edible flowers: A review of the nutritional, antioxidant, antimicrobial properties and effects on human health. *Journal of Food Composition and Analysis* 60: 38-50
- Fernandes L, Pereira JA, Saraiva JA, Ramalhosa E, Casal S. 2019. Phytochemical characterization of *Borago officinalis* L. and *Centaurea cyanus* L. during flower development. *Food research international* 123: 771-78
- Figueredo C. 2020. Los gualumbos: deleite gastronómico del estado de Hidalgo *Herreriana* 2: 26-29
- Figueredo C, Álvarez G, Cortés L. 2022. Edible flowers commercialized in local markets of Pachuca de Soto, Hidalgo, Mexico. *Botanical Sciences* 100: 120-38
- Forkman G. 1990. Flavonoids as Flower Pigments: The Formation of the Natural Spectrum and its Extension by Genetic Engineering. *Plant Breeding* 106: 1-26
- Fu M, He Z, Zhao Y, Yang J, Mao L. 2009. Antioxidant properties and involved compounds of daylily flowers in relation to maturity. *Food Chemistry* 114: 1192-97
- Galindo D, López P, Tejacal I. 2021. Florifagia. In *Revista de Divulgación Científico-Tecnológica del Gobierno del Estado de Morelos*, ed. HYPATIA.
- García A. 2007. Los agaves de México. *Cinecias* 87: 14-23
- García J. 2015. *Determinación De La Capacidad Antioxidante De Alquil Ésteres Del Ácido 3-4 Dihidroxihidrocinámico Por El Método Orac Lipofílico Y Efecto De Su Dosificación En Aceite De Palma Comercial*. Universidad Industrial de Santander
- Garrido A. 2009. Actividad enzimática de la amilasa. pp. 1-5
- Gilham D, Lehner R. 2005. Techniques to measure lipase and esterase activity in vitro. *Methods* 36: 139-47
- Gimeno E. 2004. Compuestos fenólicos, un análisis de sus beneficios para la salud *Ámbito Farmacéutico Nutrición OFFARM* 23: 80-84
- González M, Galván R, López I, Reséndiz L, González M. 2009. Agaves - magueyes, lechuguillas y noas - del Estado de Durango y sus alrededores. *CIIDIR*

- Gostin A, Waisundara V. 2019. Edible flowers as functional food: A review on artichoke (*Cynara cardunculus* L.). *Trends in Food Science & Technology* 86: 381-91
- Granito M, Guinand J, Pérez D, Pérez S. 2009. Valor nutricional y propiedades funcionales de *Phaseolus vulgaris* procesada: un ingrediente potencial para alimentos. *Interciencia* 34: 64-70
- Guo N, Zhu Y-W, Jiang Y-W, Li H-K, Liu Z-M, et al. 2020. Improvement of flavonoid aglycone and biological activity of mulberry leaves by solid-state fermentation. *Industrial Crops and Products* 148: 112287
- Hamid H, Thakur A, Thakur N. 2021. Role of functional food components in COVID-19 pandemic: A review. *Annals of Phytomedicine: An International Journal* 10: 240-50
- Hernandez AG. 2010. Frutas y productos derivados In *Tratado de nutrición. Composición y calidd nutritiva de los alimentos* ed. MD Ruiz López, B García-Villanoza Ruiz, P Abellán Ballesta. Editorial Médica Panamericana S.A.
- Hernández G, Ortega E, Ortega I. 2021. Composición nutricional y compuestos fitoquímicos de la piña (*Ananas comosus*) y su potencial emergente para el desarrollo de alimentos funcionales. *Publicación semestral, Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP* 7: 24-28
- Huet C. 2017. *Métodos Analíticos para la Determinación de Antioxidantes en Muestras Biológicas*. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. 20 pp.
- Hur S, Lim B, Decker E, McClements D. 2011. In vitro human digestion models for food applications. *Food Chemistry* 125: 1-12
- Jakubczyk K, Koprowska K, Gottschling A, Janda-Milczarek K. 2022. Edible Flowers as a Source of Dietary Fibre (Total, Insoluble and Soluble) as a Potential Athlete's Dietary Supplement. *Nutrients* 14
- Jakubczyk K, Łukomska A, Gutowska I, Kochman J, Janiń J, Janda K. 2021. Edible Flowers Extracts as a Source of Bioactive Compounds with Antioxidant Properties—In Vitro Studies. *Applied Sciences* 11: 2120
- Janarny G, Gunathilake K, Ranaweera K. 2021. Nutraceutical potential of dietary phytochemicals in edible flowers-A review. *Journal of food biochemistry* 45: e13642



- Jiménez-Aspee F, Theoduloz C, Vieira M, Rodríguez M, Schmalfuss E, et al. 2016. Phenolics from the Patagonian currants *Ribes* spp.: Isolation, characterization and cytoprotective effect in human AGS cells. *Journal of Functional Foods* 26: 11-26
- Jimenez-Aspee F, Thomas S, Schulz A, Ladio A, Theoduloz C, Schmeda G. 2015. Antioxidant activity and phenolic profiles of the wild currant *Ribes magellanicum* from Chilean and Argentinean Patagonia. *Food science & nutrition* 4: 595-610
- Kaisoon O, Konczak I, Siriamornpun S. 2012. Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. *Food research international* 46: 563-71
- Kandyli P. 2022. Phytochemicals and Antioxidant Properties of Edible Flowers. *Applied Sciences* 12: 9937
- Kaur S, Das M. 2011. Functional foods: An overview. *Food Science and Biotechnology* 20: 861-75
- Khalaf HAA, Abood MK, Kurji HA. 2022. Herbal phenolic acids: A review on their antioxidant effects, biochemical. Properties and their clinical and experimental effects. *Kerbala journal of pharmacy and pharmaceutical science* 75-100
- Kishimoto S, Maoka T, Sumitomo K, Ohmiya A. 2005. Analysis of Carotenoid Composition in Petals of *Calendula* (*Calendula officinalis* L.). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69: 2122–28
- Ko F, Hsiao G, Kuo Y. 1996. Protection Of Oxidative Hemolysis By Demethyldiisoeugenol In Normal And B-Thalassemic Red Blood Cells. *Elsevier Science Inc.* 22: 215–22
- Kritsi E, Tsiaka T, Ioannou A, Mantanika V, Strati I, et al. 2022. In Vitro and In Silico Studies to Assess Edible Flowers' Antioxidant Activities. *Applied Sciences* 12: 7331
- Kumar S, P. Singh S. 2021. *Bioprospecting of Plant Biodiversity for Industrial Molecules*. John Wiley & Sons Ltd. 1-11, 54, 92 pp.
- Kumari P, Ujala, Bhargava B. 2021. Phytochemicals from edible flowers: Opening a new arena for healthy lifestyle. *Journal of Functional Foods* 78: 104375
- Kwon J, Oh H, Lee D, In S, Seo K, et al. 2019. Pharmacological activity and quantitative analysis of flavonoids isolated from the flowers of *Begonia semperflorens* Link et Otto. *Applied Biological Chemistry* 62

- Li A-N, Li S, Li H-B, Xu D-P, Xu X-R, Chen F. 2013. Total phenolic contents and antioxidant capacities of 51 edible and wild flowers. *Journal of Functional Foods* 6: 319-30
- Li Z, Lee HW, Liang X, Liang D, Wang Q, et al. 2018. Profiling of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of 12 Cruciferous Vegetables. *Molecules* 23
- López E. 2020. *Caracterización de bacterias aisladas de la laguna negra en la provincia de chimborazo*. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. 78 pp.
- Lu B, Li M, Yin R. 2015. Phytochemical Content, Health Benefits, and Toxicology of Common Edible Flowers: A Review (2000-2015). *Critical reviews in food science and nutrition* 56 Suppl 1: S130-48
- Lucio C, Euán E, Sauri E, Lizama G, Moo V, Estrada I. *XVI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería 2015*.
- Martinez A, Díaz Á, De La Rosa L, Bustos I, Vazquez A, Alvarez E. 2019. Inhibición de lipasa pancreática por flavonoides: importancia del doble enlace C2=C3 y la estructura plana del anillo C. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud-Biotecnia* 2: 50-60
- Matínez-Valverde I, Periago MJ, Ros G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenolicos de la dieta. *ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN* 50
- McDougall J, Kulkarni N, Stewart D. 2009. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity in vitro. *Food Chemistry* 115: 193-99
- Miglio C, Chiavaro E, Visconti A, Fogliano V, Pellegrini N. 2008. Effects of Different Cooking Methods on Nutritional and Physicochemical Characteristics of Selected Vegetables. *Agricultural and Food Chemistry* 56: 139-47
- Mishra K, Ojha H, Chaudhury N. 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry* 130: 1036-43
- Mlcek J, Plaskova A, Jurikova T, Sochor J, Baron M, Ercisli S. 2021. Chemical, Nutritional and Sensory Characteristics of Six Ornamental Edible Flowers Species. *Foods* 10
- Mlcek J, Rop O. 2011. Fresh Edible Flowers Of Ornamental Plants – A New Source Of Nutraceutical Foods. *Trends in Food Science & Technology* 22: 561-69

- Moliner A. 2018. *Caracterización de la actividad biológica de flores comestibles*. Universidad San Jorge, REPOSITORIOUSJ. 263 pp.
- Monroy I, Carranza I, Carranza P, Oyón M, García I, et al. 2021. Phenolic profiles and biological activities of extracts from edible wild fruits *Ehretia tinifolia* and *Sideroxylon lanuginosum*. *Foods* 10: 1-16
- Montagna M, Riesco G, Villarroel A, Cos A, Vázquez C. 2005. Alimentos funcionales In *Alimentación y Nutrición: Manual teórico-práctico*, ed. C Vázquez, A Cos, C López, pp. 151-53. Díaz de Santos
- Morais J, Sant'Ana A, Dantas A, Silva B, Lima M, et al. 2020. Antioxidant activity and bioaccessibility of phenolic compounds in white, red, blue, purple, yellow and orange edible flowers through a simulated intestinal barrier. *Food research international* 131: 109046
- Moreno M. 2021. *Nuevas técnicas electroquímicas para la determinación de la capacidad antioxidante en extractos alimentarios basadas en el método CUPRAC*. Universidad D Córdoba. 241 pp.
- Mulík S, Ozuna C. 2020. Mexican edible flowers: Cultural background, traditional culinary uses, and potential health benefits. *International Journal of Gastronomy and Food Science* 21: 100235
- Mustapha Tacherfiout M, Kherbachi S, Kheniche M, Mattonai M, Degano I, et al. 2022. HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS-MS profiles of hydroalcoholic extracts of *Chamaemelum nobile* and *Mentha pulegium*, and study of their antihemolytic activity against AAPH-induced hemolysis. *South African Journal of Botany* 150: 678-90
- Navarro-Cortez RO, Tovar-Jimenez X, Mora-Rochín S, Rochín-Medina JJ, Aguayo-Rojas J. 2022. Compuestos fenólicos, minerales, capacidad antioxidante y antihipertensiva de pingüica (*Arctostaphylos pungens*). *Acta Universitaria Multidisciplinary Scientific Journal* 32: 1-15
- Navarro-González I, González-Barrio R, García-Valverde V, Bautista-Ortín AB, Periago MJ. 2015. Nutritional composition and antioxidant capacity in edible flowers: characterisation of phenolic compounds by HPLC-DAD-ESI/MSn. *International journal of molecular sciences* 16: 805-22

- Navarro I, Periago M, García F. 2017. Estimación de la ingesta diaria de compuestos fenólicos en la población española. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética* 21: 320
- NOM-051. 2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria., ed. EU Mexicanos. Secretaria de Economía
- Ohmiya A. 2011. Diversity of Carotenoid Composition in Flower Petals. *JARQ* 45: 163 – 71
- Orqueda M, Rivas M, Zampini I, Alberto M, Torres S, et al. 2016. Chemical and functional characterization of seed, pulp and skin powder from chilto (*Solanum betaceum*), an Argentine native fruit. Phenolic fractions affect key enzymes involved in metabolic syndrome and oxidative stress. *Food Chem* 216: 70-9
- Othman Z, Zakaria Z, Suleiman J, Ghazali W, Mohamed M. 2021. Anti-Atherogenic Effects of Orlistat on Obesity-Induced Vascular Oxidative Stress Rat Model. *Antioxidants* 10
- Pacheco S, Cruz I, Castro J, Ramos M, Mulík S, et al. 2021. Consumo de flores comestibles mexicanas en el estado de Guanajuato: un estudio preliminar *JÓVENES EN LA CIENCIA* 10
- Paredes F, Roja J. 2002. Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. *OFFARM* 21: 96-100
- Peñarrieta J, Tejeda L, Mollinedo P, Vila J, Bravo J. 2014. Phenolic Compounds In Food. *Revista Boliviana de Química* 31: 68-81
- Pinakin D, Kumar V, Suri S, Sharma R, Kaushal M. 2019. Nutraceutical potential of tree flowers: A comprehensive review on biochemical profile, health benefits, and utilization. *Food research international* 127
- Pinedo-Espinoza J, Gutierrez-Tlahque J, Santiago-Saenz YO, Aguirre-Mancilla CL, Reyes-Fuentes M, Lopez-Palestina CU. 2020. Nutritional Composition, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Wild Edible Flowers Consumed in Semiarid Regions of Mexico. *Plant foods for human nutrition* 75: 413-19

- Pires EO, Di Gioia F, Roupheal Y, C. F. R. Ferreira I, Caleja C, et al. 2021. The Compositional Aspects of Edible Flowers as an Emerging Horticultural Product. *Molecules* 26
- Pires TCSP, Dias MI, Barros L, Calhella RC, Alves MJ, et al. 2017. Edible flowers as sources of phenolic compounds with bioactive potential. *Food research international* 105: 580-88
- Prabawati B, Nadhila B, Oktavirina V, Palma M, Setyaningsih W. 2021. Edible Flowers: Antioxidant Compounds and Their Functional Properties. *Horticulturae* 7: 66
- Prado I. 2015. *Efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislado de las flores de Agave americana cabuya*. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 53 pp.
- Ramírez K, Ruiz M. 2021. *Estudio Químico Y Actividad Antioxidante De Las Hojas Y Corteza Del Tallo De Carapa guianensis*. Universidad De Guayaquil. 69 pp.
- Rashid A, Anwar F, Qadir R, Sattar R, Akhtar MT, Nisar B. 2023. Characterization and Biological Activities of Essential Oil from Flowers of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Selected from Different Regions of Pakistan. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 26: 95-107
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice C. 1999. Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Elsevier Science Inc.* 26: 1231–37
- Rincon N, Tincon J, Acosta J. 2019. Inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa mediante flavonoides de origen natural como vía de control en el desarrollo de diabetes mellitus. *Biociencias* 14: 162-81
- Rivas E. 2014. *Desarrollo De Un Prototipo Simulador Del Tracto Gastrointestinal Mediante Reactores Químicos Automatizados*. Universidad de Málaga. 231 pp.
- Rivas L, Navarro M, Romero J, Forbes T, Varela A, et al. 2020. Edible flowers as a health promoter: An evidence-based review. *Trends in Food Science & Technology* 117: 46-59
- Rocchetti G, Perez Gregorio R, Lorenzo JM, Barba FJ, García Oliveira P, et al. 2021. Functional implications of bound phenolic compounds and phenolics–food

- interaction: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 21: 811-42
- Rodríguez-Roque MJ, Rojas-Graü MA, Elez-Martínez P, Martín-Belloso O. 2014. In vitro bioaccessibility of health-related compounds from a blended fruit juice–soymilk beverage: Influence of the food matrix. *Journal of Functional Foods* 7: 161-69
- Rodríguez G, Villegas L, Trimiño H, Sandoval M, Syedd R. 2020. Revisiting the fundamentals of p-nitrophenol analysis for its application in the quantification of lipases activity. A graphical update. *Uniciencia* 34: 31-43
- Romero G. 2019. *Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos actividad antioxidante en flores de gasparito (Erythrina americana Miller), calabaza (Cucurbita pepo L.) e izote (Yucca elephantipes Regel)*. Universidad Veracruzana 141 pp.
- Rop O, Mlcek J, Jurikova T, Neugebauerova J, Vabkova J. 2012. Edible Flowers: A New Promising Source Of Mineral Elements In Human Nutrition. *Molecules* 17: 6672-83
- Rouphael Y, Colla G, Pascale D. 2021. Sprouts, microgreens and edible flowers as novel functional foods. *Agronomy* 11
- Salem M, Affes H, Ksouda K, Dhouibi R, Sahnou Z, et al. 2015. Pharmacological Studies of Artichoke Leaf Extract and Their Health Benefits. *Plant foods for human nutrition* 70: 441-53
- Sanchez E, Heredia N, Garcia S. 2005. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of Agave species. *International journal of food microbiology* 98: 271-9
- Santos L, Leal A, Cortes E, Gutierrez J. 2012. Agave (*Agave* spp.) and its Traditional Products as a Source of Bioactive Compounds. *Current Bioactive Compounds* 8: 218-31
- Sevilla O, Dublán O, Gómez L, López L. 2013. Actividad Inhibitoria Sobre  $\alpha$ -Glucosidasa Y  $\alpha$ -Amilasa De Extractos Acuósos De Algunas Especies Utilizadas En La Cocina Mexicana. *CienciaUAT* 8: 42-47
- SIAP. 2018. El qurote y sus flores, las delicias del maguey. Gobierno de México

- Simirgiotis M, Adachi S, To S, Yang H, Reynertson K, et al. 2008. Cytotoxic chalcones and antioxidants from the fruits of a *Syzygium samarangense* (Wax Jambu). *Food Chem* 107: 813-19
- Sirivibulkovit K, Nouanthavong S, Sameenoi Y. 2018. Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *The Japan Society for Analytical Chemistry* 34: 795-800
- Sokkar NM, Rabeh MA, Ghazal G, Slem AM. 2014. Determination of flavonoids in stamen, gynoecium, and petals of *Magnolia grandiflora* L. and their associated antioxidant and hepatoprotection activities. *Química Nova* 37
- Sotelo A, López S, Basurto F. 2007. Content of Nutrient and Antinutrient in Edible Flowers of Wild Plants in Mexico. *Plant foods for human nutrition* Vol 62: 133-38
- Stoenescu AM, Trandafir I, Cosmulescu S. 2022. Determination of Phenolic Compounds Using HPLC-UV Method in Wild Fruit Species. *Horticulturae* 8: 1-10
- Takahashi J, Guilherme F, Fidelis M, Borges L, Sande D. 2020. Edible flowers: Bioactive profile and its potential to be used in food development. *Food research international* 129
- Tan Y, Chang S, Zhang Y. 2017. Comparison of alpha-amylase, alpha-glucosidase and lipase inhibitory activity of the phenolic substances in two black legumes of different genera. *Food Chem* 214: 259-68
- Tarko T, Duda A, Sroka P, Satora P. 2009. Transformations of Phenolic Compounds in an in vitro Model Simulating the Human Alimentary Tract. *Food Technol. Biotechnol.* 47: 456-63
- Tuladhar A. 2021. Eating flowers-The consumption and market of edible flowers. *Mie University, Liberal Arts and Sciences* 6: 25-33
- Uriarte PA, Bergera LM, Alonso PR, Gaspar TV, Moreno ER, et al. 2018. Informe de estado de situación sobre "Frutas y hortalizas: nutrición y salud en la España del S. XXI"
- Valdivia B, Granillo P. 2020. Bioprospección: definición y ejemplos en México In *Biología General: los sistemas vivientes* pp. 122 -23. Grupo Editorial Patria

- Valenzuela P. 2015. *Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de Ugni molinae Turcz.* Universidad de Chile. 83 pp.
- Varela G. 2009. Alimentos funcionales In *Alimentos funcionales y salud en las etapas infantil y juvenil* ed. J Aranceta, Á Gil, pp. 1-16. Medica panamericana
- Viña SZ. 2013. Compuestos Fenólicos In *Productos Naturales Vegetales*, ed. JA Ringuet, pp. 91-150. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencia Agraria y Forestal
- Wilczyńska A, Kukułowicz A, Lewandowska A. 2023. Effect of Packaging on Microbial Quality of Edible Flowers During Refrigerated Storage. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 73: 81-87
- Xiao J. 2017. Dietary flavonoid aglycones and their glycosides: Which show better biological significance? *Critical reviews in food science and nutrition* 57: 1874-905
- Xu K, Zhang M, Fang Z, Wang B. 2021. Degradation and regulation of edible flower pigments under thermal processing: a review. *Critical reviews in food science and nutrition* 61: 1038-48
- Zenil N, Colinas M, Bautista C, Vázquez T, Lozoya H, Martínez M. 2014. Fenoles totales y capacidad antioxidante estimada con los ensayos DDPH/ABTS en rosas en soluciones preservantes. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 1029-1039
- Zheng J, Lu B, Xu B. 2021. An update on the health benefits promoted by edible flowers and involved mechanisms. *Food Chem* 340: 127940
- Zheng J, Meenu M, Xu B. 2019. A systematic investigation on free phenolic acids and flavonoids profiles of commonly consumed edible flowers in China. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 172: 268-77
- Zuin L, Hashim R, Sulaiman S, Coulibaly A, Sulaiman O, et al. 2015. In vitro antioxidant and antidiabetic activities of Gluta torquata. *Industrial Crops and Products* 76: 755-60