

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y SALUD HUMANA

TESIS DOCTORAL

CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA, NUTRICIONAL Y FUNCIONAL DE FLORES CON POTENCIAL EN LA ALIMENTACIÓN Y SALUD

Para obtener el grado de

Doctor en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana

PRESENTA

M. en C. Christian Alfredo Pensamiento Niño

Director

Dr. Javier Añorve Morga

Codirectora

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Comité tutorial

Dra. Esther Ramírez Moreno Dra. Deyanira Ojeda Ramírez

San Agustín Tlaxiaca, Hgo., México., noviembre 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO Instituto de Ciencias de la Salud

Área Académica de Nutrición

ICSa-DCASH-noviembre2022 Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado Directora de Administración Escolar

Por este medio se informa que el comité tutorial asignado al M. en C. Christian Alfredo Pensamiento Niño con número de cuenta 415667, estudiante del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana dio terminación al trabajo de tesis titulado "Caracterización fisicoquímica, nutricional y funcional de flores con potencial en la alimentación y salud", y por lo tanto se autoriza la impresión del documento de tesis en extenso propuesto por el/la estudiante.

Lo anterior, en función de que, el estudiante realizó todas las correcciones, adiciones y/o modificaciones sugeridas por el comité en la revisión previa con fecha 15 de noviembre 2022. Por tal motivo, solicito a usted tenga a bien permitir al doctorando dar continuidad al proceso necesario que conlleve a la obtención del grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana.

DR. JAVIER AÑORVE MORGA Director de tesis

DRA. ALMA DELIA HERNÁNDEZ FUENTES

DRA. ESTHER RAMÍREZ MORENO

DRA. DEYANIRA OJEDA RAMÍREZ

ATENTAMENTE

Pachuca, Hidalgo, 7 de diciembre del 2022

"Amor, Orden y Progreso"

Dra. Rebeca Ma. Elena Guzmán Saldaña Director del Instituto de Ciencias de la Salud

Dean

Dra. Guadalupe López Rodríguez Jefa del Área Académica de Nutrición Chair of Academic Area of Nutrition

Dra. Lydia López Pontigo

Coordinadora de Posgrado del ICSa

Director of Graduate Studies of ICSa

Dra. Teresita de Jesús Saucedo Molina Representante del Programa Educativo ICSa

Director of Graduate Studies

AREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN

Agradecimientos

Agradezco a Dios por la vida, su amor, por darme la fortaleza en los momentos más difíciles, la sensatez para tomar decisiones adecuadas y brindarme aprendizajes y experiencias.

A mis padres y hermanos, por el gran amor y apoyo incondicional que me brindaron en cada momento que lo necesité, y por siempre estar conmigo en los momentos de alegría y tristeza. Por cada consejo de vida que me permitieron crecer como persona.

Agradezco al Dr. Javier Añorve Morga, por la confianza, la paciencia, el apoyo académico y moral para no decaer en los momentos adversos, por brindarme su amistad, compartir sus conocimientos y guiarme en todo momento para culminar de la mejor manera esta investigación doctoral.

También agradezco a la Dra. Alma Delia Hernández Fuentes, por brindarme en todo momento la confianza, el apoyo académico y moral, así como brindarme sus conocimientos y los recursos económicos necesarios para la realización de esta investigación doctoral.

A la Dra. Esther Ramírez Moreno y Dra. Deyanira Ojeda Ramírez, les agradezco por compartir sus conocimientos, por apoyarme durante mi etapa como doctorante y siempre contribuir en esta investigación, también por la confianza que me brindaron y por siempre guiarme durante mi formación profesional.

De igual manera mis agradecimientos al Dr. Juan Alberto Ascacio Valdés y al Dr. César Uriel López Palestina, por brindarme su confianza y amistad, también por compartir sus conocimientos y guiarme en los momentos pertinentes en mi formación académica.

Agradezco a todos y cada uno de los Doctores que forman parte del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana, por brindarme el apoyo y contribuir a mi formación académica y personal. Asimismo, agradezco a mis amigos y compañeros que siempre me apoyaron y me dieron palabras de aliento en cada momento de adversidad.

Mis agradecimientos a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, por permitirme continuar con mi formación académica y personal, por contribuir a la generación de conocimientos científicos-tecnológicos, así como diversas habilidades, actitudes y aptitudes.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada con número de apoyo 733096. También por contribuir a la generación de conocimiento científico y a mi formación profesional como investigador.



	Agradecimientos
La sabidamía mambanda ao vena sa antambia sa fulcam sustasa sa de	
La sabiduría resplandece y no se enturbia su fulgor, gustosa se de	eja contemplar por sus
amantes y se deja hallar por los que la bus	

Índice general

		Página
	Índice de tablas	xi
	Índice de figuras	xiii
	Resumen	1
	Capítulo I	4
1.1.	Introducción general	5
1.2.	Objetivos	7
1.2.1.	Objetivo general	7
1.2.2.	Objetivos específicos	7
1.3.	Diagrama metodológico	8
	Capítulo II	10
	Flores comestibles y su relación con la salud humana: Actividades biológicas	11
	Resumen	11
2.1.	Introducción	12
2.2.	Flores como productos alimenticios	13
2.2.1.	Preparación de alimentos	13
2.2.2.	Calidad de la flor en la preparación de alimentos	14
2.2.3.	Propiedades y valor nutricional de flores comestibles	14
2.2.4.	Factores relacionados con la actitud de los consumidores sobre el consumo de flores comestibles	16
2.3.	Flores comestibles como fuente de compuestos bioactivos	17
2.3.1.	Compuestos bioactivos en flores comestibles	17
2.3.2.	Consumo seguro de flores comestibles y beneficios para la salud humana	20
2.3.3.	Riesgos de consumo de flores comestibles	24
2.4.	Conclusiones	26
2.5	Referencies	38

	Capítulo III
	Caracterización de flores comestibles
A)	Caracterización nutricional, funcional y actividad antioxidante de flores de Cactáceas de Hidalgo, México Resumen
3.1.	Introducción
3.2.	Materiales y Métodos
3.2.1.	Material vegetal
3.2.2.	Preparación de la muestra
3.2.3.	Composición nutricional
3.2.4.	Determinación de carotenoides totales
3.2.5.	Determinación de clorofila
3.2.6.	Determinación de ácido ascórbico
3.2.7.	Determinación de fenoles totales
3.2.8.	Determinación de flavonoides totales
3.2.9.	Evaluación de la actividad antioxidante
3.2.10.	Extracción y purificación de compuestos fenólicos
3.2.11.	Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS
3.2.12.	Análisis estadístico
3.3.	Resultados y Discusión
3.3.1.	Composición nutricional
3.3.2.	Contenido de carotenoides totales
3.3.3.	Contenido de clorofila
3.3.4.	Contenido de ácido ascórbico
3.3.5.	Contenido de fenoles totales
3.3.6.	Contenido de flavonoides totales
3.3.7.	Actividad antioxidante
3.3.8.	Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS
3.4.	Conclusiones

3.5.	Referencias
B)	Caracterización nutricional, funcional y actividad antioxidante d flores de Crotalaria longirostrata L.
	Resumen
3.6.1.	Introducción
3.6.2.	Materiales y Métodos
3.6.2.1.	Material vegetal
3.6.2.2.	Preparación de la muestra
3.6.2.3.	Composición nutricional
3.6.2.4	Determinación de carotenoides totales
3.6.2.5.	Determinación de clorofila
3.6.2.6.	Determinación de ácido ascórbico
3.6.2.7.	Determinación de fenoles totales
3.6.2.8.	Determinación de flavonoides totales
3.6.2.9.	Evaluación de la actividad antioxidante
3.6.2.10.	Extracción y purificación de compuestos fenólicos
3.6.2.11.	Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS
3.6.2.12.	Análisis estadístico
3.6.3.	Resultados y Discusión
3.6.3.1.	Composición nutricional
3.6.3.2.	Contenido de carotenoides totales
3.6.3.3.	Contenido de contenido de clorofila
3.6.3.4.	Contenido de ácido ascórbico
3.6.3.5.	Contenido de fenoles totales
3.6.3.6.	Contenido de flavonoides totales
3.6.3.7.	Actividad antioxidante
3.6.3.8.	Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS
3.6.4.	Conclusiones
3.6.5.	Referencias

	Capítulo IV	
	Actividad anti-inflamatoria de extractos hidroalcohólicos de flores comestibles	
A)	Actividad anti-inflamatoria de extractos hidroalcohólicos de flores de Cactáceas en edema de oreja de ratón CD-1 inducido por 12-0-tetradecanoilforbol-13 –acetato (TPA) Resumen	
4.1.	Introducción	
4.2.	Materiales y Métodos	
4.2.1.	Material vegetal	
4.2.1.	Obtención de extractos hidroalcohólicos de flores	
4.2.3.	Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS	
4.2.3.	1	
4.2.4.	Animales de experimentación Modelo de edema inducido en oreja de ratón por 12- <i>O</i> - tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA)	
4.2.6.	Análisis estadístico	
4.3.	Resultados y Discusión	
4.3.1.	Resultados	
4.3.2.	Discusión	
4.4.	Conclusiones	
4.5.	Referencias	
B)	Actividad anti-inflamatoria del extracto hidroalcohólico de Crotalaria longirostrata L. en edema de oreja de ratón CD-1 inducido por 12-0-tetradecanoilforbol-13 –acetato (TPA)	
	Resumen	
4.6.1.	Introducción	
4.6.2.	Materiales y Métodos	
4.6.2.1.	Material vegetal	
4.6.2.2.	Obtención del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín	
4.6.2.3.	Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS	
4.6.2.4.	Animales de experimentación	
4.6.2.5.	Modelo de edema inducido en oreja de ratón por 12- <i>O</i> -tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA)	

4.6.2.6.	Análisis estadístico	99
4.6.3.	Resultados y Discusión	99
4.6.3.1.	Resultados	99
4.6.3.2.	Discusión	102
4.6.4.	Conclusiones	104
4.6.5.	Referencias	105
	Capítulo V	106
	Actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de flores comestibles	
A)	Actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de flores de Cactáceas frente a bacterias de importancia en la salud pública	107
	Resumen	107
5.1.	Introducción	108
5.2.	Materiales y Métodos	109
5.2.1.	Material vegetal	109
5.2.2.	Obtención de extractos hidroalcohólicos	109
5.2.3.	Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC	109
5.2.4.	Actividad antibacteriana	110
5.2.4.1.	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	110
5.2.4.2.	Concentración Mínima Bactericida (CMB)	111
5.2.5	Análisis estadístico	111
5.3.	Resultados y Discusión	111
5.3.1.	Resultados	111
5.3.1.1.	Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC	111
5.3.1.2.	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	112
5.3.1.3.	Concentración Mínima Bactericida (CMB)	113
5.3.1.4.	Relación de la CMB/CMI	114
5.3.2.	Discusión	114
5.4.	Conclusiones	117
5.5.	Referencias	118

B)	Actividad antibacteriana de la flor y de las partes aéreas de chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.) frente a bacterias de importancia en la salud pública
	Resumen
5.6.1.	Introducción
5.6.2.	Materiales y Métodos
5.6.2.1.	Material vegetal
5.6.2.2.	Obtención de extractos hidroalcohólicos
5.6.2.3.	Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS
5.6.2.4.	Actividad antibacteriana
5.6.2.4.1.	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)
5.6.2.4.2.	Concentración Mínima Bactericida (CMB)
5.6.2.5.	Análisis estadístico
5.6.3.	Resultados y Discusión
5.6.3.1.	Resultados
5.6.3.1.2.	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)
5.6.3.1.3.	Concentración Mínima Bactericida (CMB)
5.6.3.1.4.	Relación de la CMB/CMI
5.6.3.2.	Discusiones
5.6.4.	Conclusiones
5.6.5.	Referencias
	Conclusiones generales

Índice de tablas

		Página
	Capítulo II	
Tabla 1.	Los usos más habituales de las flores comestibles en la gastronomía	27
Tabla 2.	Composición nutricional (g/100 g de peso seco) de flores comestibles	29
Tabla 3.	Composición mineral (mg/100 g de peso seco) en algunas flores comestibles	31
Tabla 4.	Principales compuestos bioactivos no fenólicos en flores comestibles	33
Tabla 5.	Ácidos fenólicos en flores comestibles	34
Tabla 6.	Flavonoides encontrados en flores comestibles	35
Tabla 7.	Principales actividades biológicas de las flores comestibles	36
	Capítulo III	
Tabla 8.	Composición nutricional de flores de cactáceas de Hidalgo, México	51
Tabla 9.	Compuestos antioxidantes en flores de cactáceas de Hidalgo, México	53
Tabla 10.	Identificación de compuestos polifenólicos por HPLC/ESI/MS de flores de cactáceas de Hidalgo, México	59
Tabla 11.	Composición nutricional de la flor de chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.)	72
Tabla 12.	Compuestos antioxidantes de la flor de chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.)	74
Tabla 13.	Compuestos polifenólicos identificados por HPLC/ESI/MS en el extracto hidroalcohólico de la flor de chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.)	77

	Capítulo IV
Tabla 14.	Contenido de ácidos fenólicos y flavonoides (µg/g de extracto seco) del extracto hidroalcohólico de la flor de cardón (<i>Cylindropuntia rosea</i>)
Tabla 15.	Compuestos fenolicos identificados en el extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.)
	Capítulo V
Tabla 16.	Contenido de ácidos fenólicos y flavonoides en los extractos hidroalcohólicos de flores de cactáceas (µg/g de extracto).
Tabla 17.	Concentración mínima inhibitoria (CMI) de extractos hidroalcohólicos de flores de cactáceas contra bacterias de importancia en la salud pública
Tabla 18.	Concentración mínima bactericida (CMB) de extractos hidroalcohólicos de flores de cactáceas contra bacterias de importancia en la salud pública
Tabla 19.	Relación de la CMB/CMI de los extractos hidroalcohólicos de flores de cactáceas contra bacterias de importancia en la salud pública
Tabla 20.	Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.) contra bacterias de importancia en la salud pública
Tabla 21.	Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.) contra bacterias de importancia en la salud pública
Tabla 22.	Relación de la CMB/CMI del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.) contra bacterias de importancia en la salud pública

Índice de figuras

	Capítulo II
Figura 1.	Actividad antioxidante (DPPH [●] y ABTS ^{●+}) de flores de cactus
Figura 2.	Perfil cromatográfico de los principales compuestos fenólicos de flores de cactus de Hidalgo, México
Figura 3.	Actividad antioxidante (DPPH• y ABTS•+) de la flor de chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.)
Figura 4.	Perfil cromatográfico de los principales compuestos fenólicos de la flor de chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.)
	Capítulo III
Figura 5.	Inhibición de edema en oreja de ratón CD-1 de extractos hidroalcohólicos de cactáceas inducido por aplicación de TPA (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato)
Figura 6.	Inhibición de edema en oreja de ratón CD-1 del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.)inducido por aplicación de TPA (12-Otetradecanoilforbol-13-acetato)
Figura 7.	Perfil cromatográfico de los principales compuestos fenólicos del chipilín (<i>Crotalaria longirostrata</i> L.). A: flor de chipilín, B: partes aéreas de chipilín

Resumen

En la actualidad, la alimentación de las personas es de manera tradicional; sin embargo, hay una tendencia a incorporar nuevos ingredientes en la elaboración de alimentos beneficios a la salud. Además, proporcionan nuevos aromas, sabores e incrementan el valor nutritivo de la dieta, por consiguiente, la variedad de alimentos que se generan hoy en día incluyen el uso de flores comestibles. El interés por el consumo de flores comestibles en la dieta humana se debe principalmente al aporte nutrimental y efectos benéficos a la salud, sobre todo en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cognitivas y algunos tipos de cáncer, efectos asociados fuertemente a los compuestos bioactivos presentes en la matriz vegetal, esencialmente compuestos fenólicos [Capítulo II].

Por otra parte, las cactáceas (cardón, xoconostle variedad ulapa, xoconostle variedad cuaresmeño rosado y pitaya) son una familia de plantas con alrededor de 2000 especies, clasificadas en 130 géneros, originarias del continente americano donde constituyen primordialmente la vegetación de zonas tropicales, templadas y áridas. En México se encuentra la mayor diversidad de especies donde se estima que existen 669 especies y aproximadamente 518 son endémicas. En la actualidad, diversas investigaciones se han enfocado en estudiar los compuestos presentes en los frutos de las cactáceas, donde se ha reportado que tienen compuestos con actividad biológica y de importancia a nivel nutricional. Sin embargo, la información sobre la composición nutricional y compuestos bioactivos de sus flores son escasos.

Por otra parte, el chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.), es una planta silvestre que forma parte de la dieta nutrimental y básica de comunidades locales del sureste mexicano, al ser un alimento accesible para familias de escasos recursos. Las flores que produce esta planta, en la actualidad, se consumen en algunos platillos tradicionales en las comunidades locales de procedencia. Sin embargo, existe escasa información sobre los compuestos y posibles beneficios nutricionales de estas estructuras vegetales.

Por lo anterior, el objetivo de la investigación fue estudiar las características fisicoquímicas, nutricionales, funcionales y la actividad biológica de extractos hidroalcohólicos de flores (cardón, xoconostle var. ulapa, xoconostle var. cuaresmeño rosado, pitaya y chipilín), mediante técnicas oficiales de análisis, para establecer su posible utilización en la alimentación humana y su impacto en la salud. En la investigación se utilizaron cuatro flores de la familia de las cactáceas y una flor de la familia de las fabáceas, de limitada información científica con respecto a la composición química, propiedades funcionales y beneficios a la salud. Los materiales vegetales fueron la flor de cardón (*C. rosea*), xoconostle var. ulapa (*O. oligacantha*), xoconostle var. cuaresmeño rosado (*O. matudae*), pitaya (*E. cinerascens*) y chipilín (*C. longirostrata* L.) [Capítulo III]. De acuerdo con los resultados obtenidos de la caracterización nutricional y funcional, las flores de cactáceas pueden considerarse fuente alternativa de nutrientes debido a su alto contenido de proteínas, fibra cruda y carbohidratos. Además, la presencia de compuestos antioxidantes como los polifenoles, flavonoides, carotenoides y ácido ascórbico le confieren ser fuente

potencial de compuestos bioactivos con posibles efectos benéficos a la salud. La flor de pitaya presentó la mayor actividad antioxidante en ambos métodos (DPPH• y ABTS•+). Por otro lado, compuestos de importancia biológica fueron detectados mediante HPLC/ESI/MS en las flores de cactáceas, la quercetina y sus derivados fueron los compuestos mayoritarios. Este flavonol posee potenciales efectos farmacológicos contra la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo por su acción antioxidante. La isoramnetina y sus derivados también fueron detectados dentro de los compuestos principales, estos importantes por su efecto protector contra enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y antiinflamatoria. Otros compuestos como los derivados del ácido protocatéquico y apigenina también fueron detectados, a estos se les atribuye efectos antioxidantes, antimicrobianos, anticancerígenos y antiinflamatorios. Por otro lado, las flores de chipilín son fuentes de carbohidratos, proteínas y fibra cruda, comparables con otras flores comestibles populares. Compuestos antioxidantes como la clorofila, fenoles y flavonoides totales fueron detectados principalmente, los carotenoides y ácido ascórbico se detectaron en menores cantidades. En cuanto a la actividad antioxidante, la flor de chipilín mostró mayor actividad antioxidante en el método ABTS^{•+}. Mientras que, el compuesto más abundante identificado por HPLC/ESI/MS fue 3-O-sambumbiósido de delfinidina, una antocianina que tiene efecto antioxidante e hipoglucemiante. Estos resultados pueden coadyuvar a la valorización y aplicación de las flores en el desarrollo de alimentos funcionales o en el desarrollo de productos nutracéuticos.

Además, se evaluó la actividad anti-inflamatoria in vivo de extractos hidroalcohólicos de flores mediante un modelo de edema inducido en oreja de ratón CD-1 por 12-Otetradecanoilforbol-13 -acetato (TPA) como guía para determinar su posible uso como coadyuvante en el proceso inflamatorio. Todos los tratamientos presentaron efectos significativos ($p \le 0.05$) de la inhibición del edema auricular. Sin embargo, para las flores de cactáceas la mayor actividad anti-inflamatoria se logró con la aplicación del extracto hidroalcohólico de la flor de cardón (C. rosea), logrando inhibir el 57.65 % de la inflamación. El efecto encontrado se puede atribuir principalmente a los ácidos fenólicos como el ácido gálico y p-cumárico, y flavonoides como la catequina, kaempferol y quercetina. Por otra parte, el extracto de la flor y de las partes aéreas de chipilín (C. longirostrata L.) presentaron el 20.64 % y 29.78 % de inhibición inflamatoria, respectivamente. Este efecto puede ser atribuido a los principales compuestos como 3-O-sambubiósido de delfinidina, 3hidroxifloretina 2'-O-xilosil-glucósido, 1,2-disinapoil gentiobiosa en la flor, y en las partes aéreas el 4-O-glucósido de ácido cafeico, 3-O-(6"-acetil-galactósido)-7-O-ramnósido de quercetina y 6,8-di-C-glucósido de apigenina [Capítulo IV]. De acuerdo con la literatura, se ha reportado que estos compuestos tienen efectos anti-inflamatorios, debido a que actúan como inhibidores de los mediadores inflamatorios como la ciclooxigenasa, lipoxigenasa y óxido nítrico sintasa.

Finalmente, se evaluó la actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de las flores contra bacterias de importancia en la salud pública. Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida contra bacterias Gram negativas

(Escherichia coli³⁵²¹⁸, Salmonella typhi¹⁴⁰²⁸) y Gram positivas (Staphylococcus aureus⁶⁵³⁸, Listeria monocytogenes¹⁹¹¹³). Todos los extractos hidroalcohólicos presentaron actividad inhibitoria significativa contra Salmonella typhi y Listeria monocytogenes, y actividad bactericidad contra Staphylococcus aureus y Listeria monocytogenes. El extracto hidroalcohólico de cardón y de las partes aéreas de chipilín presentaron mayor actividad antibacteriana donde la CMI y CMB se encontró a menor concentración con el resto de los extractos analizados. Lo anterior, se puede atribuir a la presencia de los principales compuestos encontrados en los extractos, principalmente ácidos fenólicos (p-cumárico, gálico, vainíllico), flavonoides (quercetina, kaempferol y catequina) en la flor de cardón. En cuanto a las partes aéreas de chipilín principalmente ácidos hidroxicinámicos (4-O-glucósido de ácido cafeico), flavonoles (3-O-(6"-acetil-galactósido) 7-O-ramnósido de quercetina) y flavonas (6, 8-di-C-glucósido de apigenina) [Capítulo V].

Capítulo I.

1.1. Introducción general

Durante las últimas décadas, las flores comestibles han tomado mayor importancia formando parte de la dieta humana, principalmente como platillo único o como ingrediente en la elaboración de diversos platillos para mejorar las propiedades organolépticas y valor nutritivo. Actualmente, el cambio en el estilo de vida saludable y el nivel socioeconómico ha favorecido el consumo y demanda de estas estructuras vegetales en la gastronomía a nivel mundial; lo anterior, debido a los beneficios que brindan a la salud como fuentes nutricionales alternativas de carbohidratos, fibra cruda, proteínas y minerales, además, como agentes preventivos contra enfermedades asociadas al estrés oxidativo como las enfermedades crónicas degenerativas (cardiovasculares y algunos tipos de cáncer). Los efectos beneficiosos a la salud se atribuyen a compuestos biológicamente activos como los fenólicos, flavonoides y antocianinas, por su acción antioxidante contra el daño de radicales libres que inducen a la generación de diversas enfermedades. Actualmente, algunos estudios han demostrado que las flores comestibles tienen actividades biológicas como agentes antioxidantes, neuroprotectores, hepatoprotectores, gastroprotectores, anticancerígenos, antiinflamatorios y antibacterianos.

Por otra parte, las cactáceas son una familia de plantas con alrededor de 2000 especies, clasificadas en 130 géneros, originarias del continente americano donde constituyen la vegetación de las tierras áridas y semiáridas, en México se encuentra la mayor diversidad de especies donde se estima 669 especies, 518 son endémicas aproximadamente. Algunas especies de cactáceas son importantes comercialmente por sus frutos, utilizadas desde la antigüedad en la medicina popular para el tratamiento de varias enfermedades. Actualmente, consideradas fuentes de compuestos nutricionales y fitoquímicos con efectos benéficos a la salud. Sin embargo, en cuanto a las flores existe escasa información nutricional, propiedades funcionales y compuestos bioactivos. Hoy en día, la búsqueda de fuentes naturales como alternativas para la obtención de compuestos bioactivos que brinden un beneficio a la salud ha tomado mayor importancia, en este sentido, es importante el estudio y la caracterización de estas estructuras vegetales.

Durante siglos, la civilización humana ha empleado diversas plantas medicinales para la curación de algunas enfermedades, los compuestos obtenidos de estas fuentes vegetales constituyen la mayor parte de los fármacos de uso clínico. Estos compuestos utilizados principalmente para aliviar enfermedades relacionadas con el proceso inflamatorio. La inflamación es un proceso biológico que se activa tras una alteración de las estructuras de los tejidos como resultado de estímulos físicos, químicos y biológicos. La respuesta inflamatoria es un componente esencial del sistema inmunológico y se desencadena por infecciones y lesiones tisulares para lograr la regulación homeostática, por lo anterior, se genera una respuesta adaptativa a los diversos estímulos nocivos que frecuentemente entran en contacto con el cuerpo, considerándose de suma importancia para la supervivencia del ser humano. La interacción de las especies reactivas del oxígeno (ROS) y los componentes celulares provocan daño tisular que causa inflamación. Una respuesta excesiva del proceso

inflamatorio desempeña un papel importante en la iniciación y progresión de diversas enfermedades como el cáncer, gota, ateroesclerosis, enfermedades cardiovasculares, envejecimiento y enfermedades respiratorias. A pesar de su probada eficacia, los fármacos antiinflamatorios actualmente disponibles tienen importantes limitaciones relacionadas con los efectos secundarios graves y el alto costo del tratamiento. Los productos naturales brindan alternativas viables a estos medicamentos debido a su diversidad química única, lo que brinda potencial para la identificación de nuevos compuestos con efectos antiinflamatorios.

Por otro lado, la resistencia de microorganismos patógenos a los antibióticos ha generado una búsqueda de nuevas fuentes de agentes antimicrobianos eficaces contra estos microorganismos resistentes. Las tendencias actuales refieren a un incremento en el interés por diversos productos derivados de plantas naturales, entre los que destacan los extractos y aceites de flores comestibles de gran importancia por las propiedades medicinales como agentes antimicrobianos. Lo antes mencionado, se basa en evidencias exhibidas de actividad antimicrobiana de flores en un amplio espectro contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, atribuyendo tales efectos a sus compuestos bioactivos. Por otra parte, es de gran importancia los compuestos naturales antimicrobianos procedentes de plantas o flores, ya que podrían ser muy eficaces contra microorganismos patógenos transmitidos por los alimentos disminuyendo la resistencia a los antibióticos o actuando como un control contra este tipo de microorganismos aplicándolos en una matriz alimentaria, evitando de esta manera las enfermedades infecciosas que en la mayoría de las veces causan graves efectos en la salud humana.

El uso de productos naturales para curar proviene de mucho tiempo atrás, casi tan antiguo como la medicina. Se tiene registro de que Hipócrates, conocido como el padre de la medicina, utilizó aproximadamente 400 plantas para uso medicinal. Hoy en día recurrir a los recursos naturales como fuente de compuestos con efectos potenciales en la salud se ha convertido en parte importante ante el desarrollo de nuevos alimentos funcionales o medicamentos para preservar la salud.

Por lo anterior, el objetivo de la investigación fue estudiar las características fisicoquímicas, nutricionales, funcionales y la actividad biológica de extractos de flores (cardón, xoconostle var. ulapa, xoconostle var. cuaresmeño rosado, pitaya y chipilín) mediante técnicas oficiales de análisis, para establecer su posible utilización en la alimentación humana y su impacto en la salud.

1.2. Objetivos

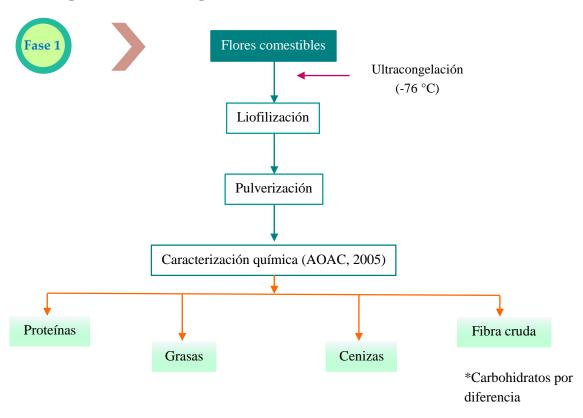
1.2.1. Objetivo general

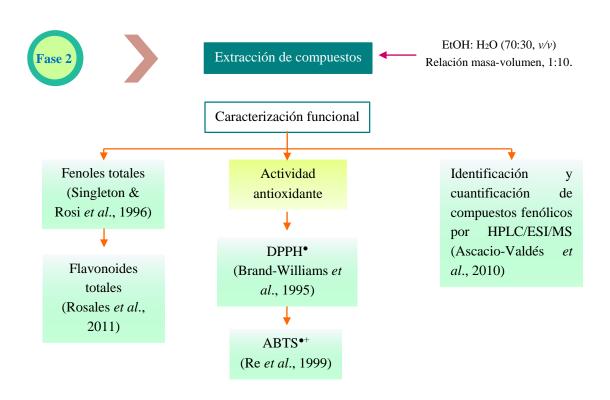
Estudiar las características fisicoquímicas, nutricionales, funcionales y actividad biológica de extractos hidroalcohólicos de flores (cardón, xoconostle var. ulapa, xoconostle var. cuaresmeño rosado, pitaya y chipilín), mediante técnicas oficiales de análisis, para establecer su posible utilización en la alimentación humana y su impacto en la salud.

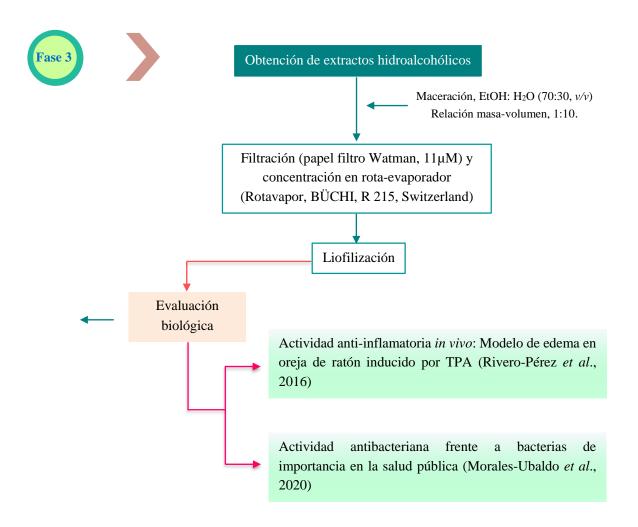
1.2.2. Objetivos específicos

- Determinar las características químicas, nutricionales y funcionales de liofilizados de flores comestibles de cardón, xoconostle var. ulapa, xoconostle var. cuaresmeño rosado, pitaya y chipilín.
- Determinar la capacidad antioxidante mediante el método DPPH• y ABTS•+ de las flores comestibles bajo estudio y establecer la relación mediante la identificación cualitativa y cuantitativa de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS.
- Evaluar la actividad anti-inflamatoria *in vivo* de los extractos hidroalcohólicos de las flores comestibles estudiadas mediante un modelo de edema inducido por TPA (12-*O*-tetradecanoilforbol-13- acetato) en oreja de ratón e identificar los compuestos asociados a la actividad.
- Evaluar la actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de las flores comestibles de interés en el presente estudio a través de la Concentración Mínima Inhibotoria y Concentración Mínima Bactericida, contra bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*⁶⁵³⁸, *Listeria monocytogenes*¹⁹¹¹³) y Gram negativas (*Escherichia coli*³⁵²¹⁸, *Salmonella typhi*¹⁴⁰²⁸) de importancia en la salud pública.

1.3. Diagrama metodológico







Capítulo II.

Flores comestibles y su relación con la salud humana: Actividades biológicas

Resumen

Tradicionalmente, las flores comestibles se han utilizado en la medicina alternativa en varias culturas de todo el mundo. Recientemente, han ganado popularidad como una nueva tendencia en la gastronomía mundial porque se han agregado como ingredientes en alimentos y bebidas ya que tienen importantes propiedades organolépticas y efectos beneficiosos para la salud. De hecho, el consumo de flores comestibles se ha incrementado en los últimos años, y muchos trabajos han demostrado que son fuentes esenciales de macronutrientes, vitaminas y compuestos antioxidantes, que brindan beneficios como prevención contra enfermedades asociadas al estrés oxidativo, algunas enfermedades cardiovasculares y cánceres, entre otros. En la actualidad, los principales estudios sobre flores comestibles se centran en sus propiedades nutricionales, funcionales, antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias. Esta revisión resume información relevante sobre las propiedades y el contenido de compuestos bioactivos de las flores comestibles, así como la aceptación y los riesgos de seguridad de su consumo, destacando la importancia de su incorporación en la nutrición humana y las principales actividades biológicas. De acuerdo con el proceso de revisión, la aceptabilidad de las flores comestibles por parte del consumidor y su inclusión en la dieta humana ha incrementado debido a sus efectos positivos para la salud.

Palabras clave: flores comestibles, compuestos bioactivos, seguridad de consumo, beneficios nutricionales, actividades biológicas.

2.1. Introducción

Las flores se han utilizado para decorar y perfumar espacios y habitaciones desde hace 3000 a. C., y actualmente, se aplican para mejorar el sabor y valor nutricional de los alimentos (Matyjaszczyk & Śmiechowska, 2019; Zhao *et al.*, 2019). Las propiedades medicinales de las estructuras de estas plantas han sido documentadas en todo el mundo (Europa, Asia, y el Medio Oriente), sin embargo, sus propiedades nutracéuticas se han abordado recientemente (Chitrakar *et al.*, 2019; Takahashi *et al.*, 2020).

Las flores comestibles se definen como parte inofensiva y no tóxica de las plantas, las cuales tienen beneficios para la salud a través de la nutrición humana, se consumen de varias formas de recetas en diferentes culturas del mundo (Chitrakar *et al.*, 2019), siendo las culturas europeas pioneras en el uso alimentario en el arte culinario (Newman & O'Connor, 2013). Las flores comestibles se utilizan para preparar pasteles, mermeladas y bebidas calientes (Da Costa *et al.* 2014).

En los últimos años, el cambio de estilo de vida saludable y el nivel socioeconómico han favorecido el consumo de productos naturales, como las flores comestibles, cuya demanda gastronómica se ha incrementado notablemente en las últimas décadas. La Tabla 1 muestra los usos más comunes de las flores comestibles en la gastronomía.

Sus colores, aromas y sabores son propiedades especiales que contribuyen a la apariencia estética de los alimentos. Además, las flores comestibles han formado parte esencial de la nutrición humana en muchas culturas durante cientos de años y brindan beneficios para la salud debido a su potencial fuente de compuestos bioactivos (Fernandes *et al.*, 2017; Mulík & Ozuna, 2020; Pinakin *et al.*, 2020).

Existen varias formas de preparación de alimentos, que permiten el uso de flores comestibles, de hecho, chefs de todo el mundo las utilizan como ingrediente principal para crear nuevas propiedades organolépticas en las comidas gourmet (Navarro-González *et al.*, 2014; Fernandes *et al.*, 2017; Pires *et al.*, 2018). El consumo de flores suele ser más frecuente de lo que se cree; sin embargo, algunos de ellos no son considerados como tales por los consumidores, por ejemplo, las alcaparras, las alcachofas, el brócoli y la coliflor, que se consumen hace miles de años (Nicolau & Gostin, 2016).

Adicionalmente, existe una gran variedad de flores comestibles en todo el mundo, y pertenecen a 97 familias, 100 géneros y 180 especies (Zeng *et al.*, 2014), siendo la mayoría de estas fuentes potenciales de compuestos nutricionales y bioactivos.

Por lo tanto, el objetivo de esta revisión fue resumir información relevante sobre las flores comestibles, tales como: propiedades, contenido de compuestos bioactivos, su consumo aceptable y riesgos de seguridad, con el propósito de resaltar el valor de su inclusión en la nutrición humana.

2.2. Flores como productos alimenticios

Las flores comestibles han sido parte de la nutrición humana durante siglos, las cuales han proporcionado importantes componentes biológicos para el cuerpo humano.

Estas estructuras vegetales se pueden consumir de varias formas; por ejemplo, como plato único, ensaladas, verduras, sopas, bebidas, postres, dulces, gelatinas, infusiones, guarniciones, o ingrediente principal en productos alimenticios como pasteles, mermeladas y yogures por propiedades culinarias, estéticas o beneficiosas para la salud (Zeng *et al.*, 2014; Pires *et al.*, 2018; Takahashi *et al.*, 2020).

2.2.1. Preparación de alimentos

En la antigua Roma, algunas flores se usaban para preparar alimentos, por ejemplo, se emplearon pétalos de especies de rosas (*Rosa* spp.) para hacer tortillas y purés y las flores de caléndula (*Calendula officinalis* L.) se utilizaron en la preparación de ensaladas. Las inflorescencias de azafrán (*Crocus sativus* L.) y el saúco negro (*Sambucus nigra* L.) se consumían con frecuencia en la Francia medieval; mientras que las violetas (*Viola* spp.) fueron empleadas como colorante en azúcares, jarabes, y pociones, además, para la decoración de pasteles y postres durante el siglo XVII; y el diente de león (*Taraxacum officinale* L.) se utilizó para preparar bebidas y ensaladas (Lu, Li, & Yin, 2016; Fernandes *et al.*, 2020).

Otras flores, como la alcachofa (*Cynara* spp.) se utilizaron como cuajo vegetal para la elaboración de queso de oveja en España y Portugal; además, las flores de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) se utilizaron para la preparación de licor de Chartreuse en Francia, y las flores de calabaza como ingrediente principal en varios platos en Italia. Asimismo, en algunos países europeos se preparan infusiones para ofrecer al consumidor bienestar por las propiedades medicinales de cada tipo de flor (Mlcek *et al.*, 2011; Kaisoon *et al.*, 2012; Alasalvar *et al.*, 2013).

En China, las flores se utilizaron como componentes en las formulaciones de medicamentos a base de hierbas (Lu, Li, & Yin, 2016) y las flores de crisantemo se utilizaron en la elaboración del vino.

En la India, los pétalos de rosas se usaban para hacer licores y las flores de calabaza se usaban en varias recetas de cocina. En Sri Lanka, los sesban espinoso (*Sesbania bispinosa*) se utilizaban para preparar una salsa fina a base de coco (Fernandes *et al.*, 2020).

El uso de flores en las diferentes preparaciones de los alimentos juega un papel importante, ya que brinda una combinación única de sensaciones (sabor y aroma) y aumentan el valor nutricional de los platos, aspectos que los consumidores aprecian y son los principales motivos de su consumo, como consecuencia, la venta y el consumo de flores comestibles se han incrementado a nivel mundial (Chen & Wei, 2017). Actualmente, las evidencias implican considerar a las flores comestibles como productos naturales de gran interés en la investigación científica, ya que poseen importantes nutrientes para la salud humana; sin embargo, se requieren más informes de propiedades nutricionales para respaldar

usos y aplicaciones, como nuevos ingredientes en el desarrollo de alimentos funcionales (Pires, Barros, Santos-Buelga, & Ferreira, 2019).

2.2.2. Calidad de la flor en la preparación de alimentos

Las flores comestibles son muy susceptibles a su descomposición, debido a su alta actividad respiratoria unida a su escasez de sustancias de reserva. Esto se evidencia por la susceptibilidad a la abscisión de pétalos, el marchitamiento, la pérdida de color, la deshidratación y el pardeamiento durante los días posteriores a la cosecha, lo que provoca la disminución de la calidad y las propiedades (sensoriales y nutricionales) (Fernandes *et al.*, 2018; Pereira *et al.*, 2020). Por lo tanto, la aplicación de técnicas de conservación de alimentos es fundamental y permite mantener la calidad de las flores (Zhao *et al.*, 2019; Hnin *et al.*, 2021).

Adicionalmente, la calidad de los productos naturales, como las flores comestibles, es muy importante y está relacionada con las características físicas y sensoriales para la aceptación y satisfacción del consumidor, quienes consideran como factores significativos la integridad de la flor, la ausencia de daños en los pétalos y el color de las flores. En consecuencia, una flor comestible puede resultar atractiva para los consumidores, o por el contrario, puede provocar su rechazo e inducirlos a otras alternativas alimenticias.

La calidad de las flores comestibles debe ser considerada desde la planificación durante la etapa de producción, cosecha y métodos postcosecha, así como, en la selección de especies y en la etapa de maduración. Por otro lado, se deben contemplar las estrategias alternativas para el manejo de plagas, ya que la presencia de plagas se considera un indicativo de pérdida de calidad y puede implicar pérdida de estética visual, valor nutricional y contenido de compuestos bioactivos. De hecho, el control de plaga es una tarea complicada durante la producción de estas estructuras vegetales, debido a que muchas veces no se tiene registro del manejo de pesticidas, insecticidas y herbicidas (Pereira *et al.*, 2020; Hnin *et al.*, 2021); aunque, la demanda de productos orgánicos se ha incrementado fuertemente.

Por lo tanto, los productores pueden considerar cultivar flores comestibles utilizando métodos certificados o empleando técnicas de postcosecha, como deshidratación, cristalización, adición de conservantes (vinagre, alcohol o aceite), y refrigeración para mantener la calidad y extender el tiempo de comercialización (Pereira *et al.*, 2020). Por lo general, se debe implementar un conjunto de pautas de seguridad e higiene de los alimentos, aplicando protocolos adecuados de almacenamiento, distribución y comercialización.

2.2.3. Propiedades y valor nutricional de las flores comestibles

Las flores comestibles son consideradas como fuentes nutricionales alternativas, con alto contenido de agua, diferentes carbohidratos y contenido de minerales, contenido medio de fibra cruda y proteínas, y bajo contenido de grasa; de hecho, muestran un valor nutricional similar al de las verduras (Oyeyemi *et al.*, 2017; Chensom *et al.*, 2019; Fernandes *et al.*,

2020; Pinedo-Espinosa *et al.*, 2020). La Tabla 2 muestra la composición nutricional (en base seca) de las flores comestibles.

Según estos valores, los carbohidratos son los macronutrientes más abundantes, seguido de las proteínas y fibra cruda. Las cenizas y las grasas son los macronutrientes minoritarios. La variabilidad en la composición nutricional de las flores comestibles puede atribuirse a la especie, el origen, la madurez fisiológica, las condiciones de cultivo y el tipo de procesamiento.

Las sustancias nutritivas se encuentran en las diferentes partes de la planta. El polen es portador de proteínas, lípidos (saturados e insaturados), carbohidratos, carotenoides y flavonoides (Mlcek & Rop, 2011; Acikgoz, 2017). El néctar es la fuente de compuestos fenólicos, terpenoides, alcaloides, iones orgánicos, ácidos orgánicos, azúcares libres, lípidos, aminoácidos y proteínas (Mlcek & Rop, 2011). Los pétalos se distinguen por ser fuente de compuestos antioxidantes, vitaminas y minerales (Rop *et al.*, 2012; Navarro-González *et al.*, 2015; Araujo *et al.*, 2019).

Por otro lado, los ácidos grasos esenciales (linoleico y α-linolénico), aminoácidos (fenilalanina, leucina y valina), vitaminas hidrosolubles (vitamina C, niacina y riboflavina) y liposolubles (α-tocoferoles) se han detectado principalmente en la mayoría de las flores comestibles (Rivas-García *et al.*, 2020). Los pigmentos naturales como antocianinas, antoxantinas, betalaínas, licopeno, xantofilas (caroteno y luteína) también están presentes en flores comestibles (Purohit *et al.*, 2021).

Además, las flores comestibles presentan una gran variabilidad de contenido de minerales (Tabla 3), de hecho, destacan por su mayor concentración en macroelementos (K y P) y microelementos (Zn y Fe). Las diferencias de concentración de minerales en las flores pueden deberse principalmente a la especie, las condiciones de cultivo, el suelo, el origen y las metodologías de cuantificación. La ingesta de macro y microelementos de las flores comestibles es otro parámetro importante a tener en cuenta en la nutrición humana, especialmente, el potasio, el fósforo, el calcio, el magnesio y el sodio, que se encuentran en estos tejidos vegetales. En este sentido, el potasio el potasio se ha encontrado en alta concentración en las flores comestibles, y se ha atribuido a este macroelemento un papel importante en la enfermedad cardiovascular (Rop *et al.*, 2012; Fernandes *et al.*, 2017; González-Barrio *et al.*, 2018).

La presencia de compuestos esenciales en la nutrición humana es clave en el uso y consumo de flores comestibles como ingredientes o complementos alimenticios (Fernandes *et al.*, 2020). Todos los estudios realizados hasta la fecha avalan el aporte nutricional que ofrecen estos recursos vegetales, promoviendo el consumo de flores comestibles (comunes y silvestres). Varios investigadores han realizado caracterizaciones nutracéuticas y funcionales de cierta parte de las flores comestibles en el mundo, generando a través de los hallazgos un valor agregado.

Actualmente, las flores comestibles han sido reconocidas como valiosas fuentes de nutrientes y compuestos bioactivos con efectos potencialmente beneficiosos para la salud (Skrajda-Brdak; Dabrowski, & Konopka, 2020). Hay pocos estudios centrados en la

bioaccesibilidad *in vitro* e *in vivo* de los nutrientes en las flores comestibles. Basándose en las pruebas, las flores comestibles pueden utilizarse como ingredientes o suplementos nutricionales en la elaboración de productos funcionales.

La mayor parte del tiempo, los investigadores se han centrado ampliamente en la realización de estudios de flores comestibles comunes, y las flores silvestres no han sido consideradas como prioritarias; aunque, tradicionalmente se han utilizado en las regiones locales y algunas forman parte de la dieta de los pueblos indígenas. De hecho, los estudios de caracterización nutricional de este tipo de flores podrían ampliar la lista de flores comestibles.

Se ha demostrado el valor nutricional de muchas flores comestibles comunes; sin embargo, hay otras variedades de flores (especialmente las silvestres) que están escasamente estudiadas, y el análisis toxicológico debe llevarse a cabo para garantizar el consumo seguro de estas estructuras vegetales.

2.2.4. Factores relacionados con la actitud de los consumidores sobre el consumo de flores comestibles

Los productos alimenticios son una importante fuente de nutrientes, también, como parte de un vínculo comercial y cultural entre naciones. Los patrones y reglas de consumo de alimentos pueden variar según la cultura de los consumidores, entonces, la aceptación de un alimento novedoso está relacionada con las percepciones culturales y los patrones de consumo (Rodrigues *et al.*, 2017).

Hoy en día, las variedades de productos alimenticios naturales novedosos incluyen el uso de flores comestibles, las cuales, atraen a los consumidores por su apariencia, sabor, aroma y color. Asimismo, la preocupación por los efectos adversos para la salud del consumo de ingredientes sintéticos ha provocado que el consumidor se centre en productos alimenticios elaborados con ingredientes naturales (Matyjaszczyk & Smiechowska, 2019).

Los alimentos preparados con flores comestibles son novedosos y captan la atención del consumidor. Normalmente, los consumidores asocian intuitivamente la variedad de colores como estrategia para elegir alimentos saludables, lo que genera un mayor interés en estos alimentos y una actitud positiva hacia el consumo (da Silva *et al.*, 2020). De hecho, la estimulación olfativa activa los estados cognitivos humanos que afectan el comportamiento del consumidor, y el olor es un aspecto importante en la actitud hacia la decisión de compra y consumo de flores comestibles (Chen & Wei, 2017).

El aroma floral influye indirectamente en la compra a través de la anticipación del sabor, el placer esperado y el placer del sabor, que desencadenan cierta curiosidad específica y actitud positiva para el consumidor de flores comestibles (Moore, 2014).

El estilo de vida es otro factor importante para la incorporación de flores comestibles en la dieta, porque la elección de alimentos está fuertemente correlacionada con el estilo de vida de cada persona. Comúnmente, la elección de alimentos que aportan beneficios para la salud es realizada por personas con un estilo de vida saludable. Además, la conciencia y la

preocupación por mantener una buena salud son factores que pueden influir en la actitud de los consumidores hacia el consumo de flores comestibles.

Por otro lado, la curiosidad específica y el aroma de las flores son otros factores que influyen en las actitudes de las personas con respecto al consumo de flores comestibles (Chen & Wei, 2017), ya que el aroma induce una respuesta emocional inmediata, despertando la cuirosidad del consumidor. Además, las características individuales del consumidor (como las enfermedades crónicas, la etnia, las creencias religiosas y las condiciones psicológicas) también impactan en el consumo de flores comestibles (Pires, Barros, Santos-Buelga, & Ferreira, 2019; Günes & Özkan, 2018).

Principalmente, el aroma de las flores y la conciencia de mantener una buena salud provocan actitudes positivas hacia el consumo de flores comestibles. Los alimentos elaborados a partir de flores comestibles con efectos beneficiosos para la salud tienen un importante potencial en la industria alimentaria. Además, las características sensoriales de las flores comestibles, las especies de flores, las características del empaque y el precio son aspectos importantes para incluir flores en la alimentación humana (Rodrigues *et al.*, 2017).

El consumo de flores comestibles por razones de salud puede producir decepción del consumidor después de experimentar el sabor de las flores, en comparación con aquellos que eligen las flores comestibles por el aroma o la simple curiosidad. Hoy en día, el consumo de flores comestibles es una tendencia que sigue aumentando, ya que las flores se han convertido en una parte importante de la gastronomía en todo el mundo y forman parte de un complemento nutricional en la dieta humana.

2.3. Flores comestibles como fuente de compuestos bioactivos

Las flores comestibles son una fuente potencial de compuestos beneficiosos para la salud, principalmente antioxidantes (Wang *et al.*, 2016; Yang & Shin, 2017; Barros *et al.*, 2020), como compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas que confieren una fuerte actividad antioxidante contra la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo (Grzeszczuk, Stefaniak, & Pachlowska, 2016; Benvenuti, Bortolotti, & Maggini, 2016; González-Barrio, *et al.*, 2018; Zheng, Yu, Maninder, & Xu, 2018). Por lo general, las flores con alto contenido de compuestos bioactivos son más consumidas, por ejemplo, el diente de león es muy utilizado y se caracteriza por ser fuente de vitaminas (A y C), y su alto contenido de fósforo y carotenoides (Qureshi, Adil, El-Hack, Alagawany y Farag, 2017). En esta sección se muestran las flores comestibles utilizadas en todo el mundo, en las cuales se discute su contenido de compuestos bioactivos, consumo seguro y beneficios para la salud humana. Asimismo, se revisa el riesgo de consumo de flores comestibles.

2.3.1. Compuestos bioactivos en flores comestibles

Varios compuestos orgánicos están contenidos en las flores comestibles, los cuales se han aislado e identificado en varias clases de plantas, siendo alrededor de doscientas mil sustancias, divididas en dos grupos: metabolitos primarios y secundarios, y algunos de ellos brindan beneficios para la salud. Los tocoferoles, los carotenoides, los ácidos orgánicos (no fenólicos y fenólicos) y los flavonoides son los grupos de compuestos más importantes que se encuentran en las flores comestibles. Cabe destacar que los contenidos de estos compuestos están influenciados por varios factores, tales como: propiedades de la sustancia (polaridad, termoestabilidad o estabilidad a la luz), condiciones de extracción (polaridad del extractante o solvente, temperatura, tiempo, uso de ultrasonido, principalmente), y en especial, especie de flor comestible.

De hecho, diversos estudios han demostrado que el poder antioxidante de las flores comestibles es mayor que el de las frutas y verduras, debido a sus altas concentraciones de compuestos bioactivos (Benvenuti, Bortolotti, & Maggini, 2016; Mikolajczak, Sobiechowska, & Tánska, 2020; Kumari, Ujala, & Bhargava, 2021).

La Tabla 4 muestra los contenidos de compuestos no fenólicos en flores comestibles. Los tocoferoles (α , β , γ , γ δ) se han determinado en *Malva sylvestris* (Barros *et al.*, 2010), utilizando una solución de butilhidroxitolueno en hexano, que es un extractante no polar, debido a que los tocoferoles son sustancias no polares. Los tocoferoles muestran actividad antioxidante, especialmente en la peroxidación lipídica, debido a su carácter.

Los carotenoides son otro grupo de compuestos bioactivos que se encuentran en varias flores comestibles, como el pensamiento de campo (*Viola x wittrockiana*), boca de dragón (*Antirrhinum majus* L.), capuchina roja y naranja (*Tropaeolum majus* L.), flor de estrella (*Borago officinalis* L.) y aciano (*Centaurea cyanus* L.). Estos compuestos se han extraído utilizando una mezcla de acetona:hexano (4:6 o 1:1) y etanol acidificado (80 % EtOH, 19 % H₂O y TFA al 0.1 %). La polaridad de la mezcla ha permitido extraer carotenoides de estas flores comestibles, entre los que se encuentran la violaxantina, la luteína, la zeaxantina y el β-caroteno (el más abundante). Aunque no hay suficientes datos para comparar, los contenidos de carotenoides reportados en varias flores comestibles dependen más de la especie y no de las condiciones de extracción.

Otros componentes valiosos de las flores comestibles son los ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos no fenólicos otorgan importantes propiedades a estos materiales vegetales, en especial el sabor ácido, entre estos ácidos se encuentran el ácido cítrico, levulínico, fumárico, succínico, málico, malónico y tartárico (Tabla 4), los cuales se utilizan en la industria alimentaria como potenciadores del sabor. Asimismo, otros ácidos no fenólicos con características significativas son los ácidos quínico y ascórbico.

El ácido quínico ha mostrado varias actividades biológicas, como antioxidantes (Soht *et al.*, 2003), antifúngica (Muthamil *et al.*, 2018) o hepatoprotectora (Xiang *et al.*, 2001), principalmente. Mientras que el ácido ascórbico es ampliamente conocido por ser un agente reductor.

Aunque estos ácidos orgánicos tienen atributos relevantes, solo se han determinado en unas pocas flores comestibles, como la malva común (*Malva sylvestris* L.), la flor de estrella (*Borago officinalis* L.), el aciano (*Centaurea cyanus* L.), la capuchina roja y naranja (*Tropaeolum majus* L.), planta del dolor de muelas (*Spilanthes oleracea* L.) y amaranto (*Amanthus hypochondriacus* L.). La flor de estrella y el aciano se pueden considerar como

una buena fuente de ácido orgánico, debido a que sus contenidos en estos compuestos son altos (Fernandes *et al.*, 2019).

Los compuestos fenólicos son los metabolitos secundarios más ampliamente distribuidos en las plantas, constituyen un grupo diverso de fitoquímicos con más de 10000 componentes, incluyendo diferentes familias de metabolitos secundarios aromáticos, muchos de los cuales tienen efectos antioxidantes contra el daño celular oxidativo (Chen *et al.*, 2018; Vuolo, Lima, & Junior, 2019), y dentro de ellos destacan los ácidos y flavonoides.

En la Tabla 5 se muestran los principales ácidos fenólicos que se encuentran en las flores comestibles, siendo el ácido p-cumárico, gálico, protocatecuico, clorogénico y cafeico los de mayor distribuición. Muchos estudios han atribuido a este grupo de compuestos actividades antioxidantes, y su contenido depende de la especie de la flor, alcanzando valores cercanos a los 10^4 µg por gramo de flor comestible.

Recientemente se han reportado varias actividades biológicas del ácido clorogénico, en las que incluyen: agente anti-inflamatorio, antiangiogénico, antidepresivo, antibacteriano, antioxidante, hepatoprotector, antifúngico, entre otras (Kim & Park, 2019). Este ácido fenólico se ha encontrado en altas concentraciones en flor de madreselva (*Flos lonicerae*) y flor de durazno (*Prunus persica* L.), las cuales son de 1.6x10⁴ y 6.5x10³ µg/g, respectivamente.

El ácido protocatecuico es otro ácido fenólico que ha sido objeto de estudio en los últimos años. Este compuesto bioactivo tiene una amplia gama de actividades biológicas (antioxidante, anti-inflamatoria, neuroprotectora, antibacteriana, antiviral, anticancerígena, antiosteoporótica, analgésia, antienvejecimiento), además es un agente protector del síndrome metabólico; y preservación del hígado, los riñones y las funciones reproductivas (Song *et al.*, 2020). El olivo fragante (*Osmanthus fragans* L.) y la rosa (*Rosa x hybrida*) presentan los mayores contenidos en ácido protocatecuico, siendo 7.1x10³ y 5.9x10³ μg/g, respectivamente.

Hay ácidos fenólicos que se han encontrado en algunas flores comestibles, por ejemplo, trans-ferúlico, 4-*O*-cafeoilquínico y ácido rosmarínico, que se han informado en flores de tuna (*Opuntia ficus indica* L.). Los flavonoides son el grupo más importante de compuestos fenólicos que se encuentran en muchas flores comestibles (Tabla 6). Incluyen flavonas (apigenina, luteolina, miricetina y quercetina), flavanoles (catequina y epicatequina), flavonoles (isoramnetina, kaempferol y rutina), flavanonas (naringina) y antocianinas (cianidina-3-glucósido). Estudios previos han demostrado que los flavonoides tienen propiedades antioxidantes, las cuales están relacionadas con otras actividades biológicas como antitumoral, antinociceptiva, anti-inflamatoria y antimutagénica (Benvenuti, Bortolotti, & Maggini, 2016; Pires *et al.*, 2017; Chensom *et al.*, 2019).

Los principales flavonoides que se encuentran en varias flores comestibles son: catequina, epicatequina, kaempferol, quercetinas y rutina. La baya del sauco (Sambucus nigra L.), la madre selva francesa (Hedysarum coronarium), la garra de tigre (Erythrina variegata L.), la rosa (Rosa x hybrida), y la flor de durazno (Prunus persica L.) contienen

estos flavonoides en las concentraciones más altas, específicamente, quercetina, rutina, catequina, epicatequina y kaempferol.

Debido a que las flores comestibles son fuentes de muchos compuestos bioactivos, su consumo puede brindar beneficios para la salud, ya que varios estudios han demostrado que previenen enfermedades, ya que su actividad antioxidante puede actuar contra los radicales libres, evitando el daño (Song *et al.*, 2011; Yang & Shin, 2017; Huang *et al.*, 2017).

Otros componentes de las flores que se han identificado son minerales, vitaminas, como A, C y E (Mlcek & Rop, 2011), ciclótidos (péptidos nutricionales vegetales), antocianinas, y aceites esenciales (Hellinger *et al.*, 2014; Chitrakar *et al.*, 2019; Kumari, Ujala, & Bhargava, 2021).

2.3.2. Consumo seguro de flores comestibles y beneficios para la salud humana

Se han descrito muchos beneficios potenciales de las flores comestibles para la salud humana, sin embargo, su consumo representa una decisión difícil para algunas personas, debido a que tienen renuencia a consumir y probar un alimento nuevo, como una especie de neofobia (Chitrakar *et al.*, 2019).En efecto, el consumo de flores comestibles forma parte de un complejo proceso de decisión en la elección de alimentos, en el que se han detectado tres componentes principales: curso de la vida, influencias en la elección de alimentos y sistemas personales.

El curso de la vida está relacionado con la integración de las ideas personales, recursos e influencias sociales con los entornos sociales, culturales y físicos en los que se basan las elecciones alimentarias, porque los escenarios impactan directamente en los sistemas personales de elección. Los investigadores centran la atención en las elecciones y consumo de alimentos, debido a que informan sobre cuestiones de marketing (Chen & Wei, 2017).

Por otro lado, factores adicionales pueden influir en la elección de los alimentos, tales como: estado anímico, convivencia, atractivo sensorial, precio, familiaridad y preocupaciones éticas; sin embargo, los principales son los beneficios àra la salud, el contenido natural y el control de peso (Chen & Wei, 2017). El orden de prioridad de estos factores está asociado a la población estudiada, ya que, los pueblos orientales tradicionales buscan alimentos nutritivos y sus propiedades medicinales, siendo la salud humana un elemento importante que influye en la decisión de elección de alimentos (Pereira *et al.*, 2020).

Las flores comestibles se promueven como alimentos saludables y funcionales en algunos países, por ejemplo, la fundación de Tailandia "Seguridad alimentaria: flores comestibles" fomenta la incorporación de flores en la dieta y motiva a los agricultores a cultivar flores orgánicas (Fernandes *et al.*, 2017).

Existen pocos estudios sobre las preferencias del consumidor relacionadas con las flores comestibles, sin embargo, la combinación de colores de las flores, precios y tamaños son las características más importantes para el consumidor (Kelley *et al.*, 2001). De hecho, los atributos sensoriales de las flores comestibles son valorados por los consumidores, algunos

estudios han encontrado que las personas prefieren consumir flores amarillas, anaranjadas y azules, además, aprecian otras características como aroma, sabor, textura y apariencia.

La mayoría de las veces, las flores comestibles se consumen en cocteles, bebidas destiladas, enlatadas o deshidratadas, debido a que la comercialización de flores frescas es un trabajo complicado debido a su corta vida útil (Newman & O'Connor, 2013). En la actualidad, los hábitos de consumo alimentario se han diversificado y dirigido hacia opciones alimentarias más sostenibles y funcionales (Falguera, Aliguer, & Falguera, 2012), por lo quese ha fomentado el consumo de flores comestibles mendiante la venta de complementos alimenticios, ingredientes funcionales y aditivos alimentarios, que tienen una vida útil más larga a través de tecnologías de procesamiento (Rop *et al.*, 2012, Loizzo *et al.*, 2016). De acuerdo con investigaciones previas, el consumo de varios tipos de flores comestibles brinda beneficios para la salud del consumidor (Cunningham, 2015; Lu, Li, & Yin, 2016; Anantharaju *et al.*, 2016; Gutierrez-Grijalva *et al.*, 2016), que se relacionan con la presencia de muchos compuestos bioactivos.

Muchos estudios han demostrado que las flores tienen actividades farmacológicas notables, como anti-inflamatorias (Lee *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019; Meurer *et al.*, 2019), neuroprotectoras (Xiong *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2019; Kwon *et al.*, 2019), hepatoprotector (Tian *et al.*, 2019), hipoglucemiante (Loizzo *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2018), antihipertensivo (Acharya, Karak, & De, 2016; Chiou *et al.*, 2017), y efecto preventivo frente a algunas enfermedades degenerativas y algún tipo de cáncer (Lin *et al.*, 2015; Alam *et al.*, 2018; Nanda, 2019; Kim *et al.*, 2019; Nguyen *et al.*, 2019).

Se han demostrado numerosas actividades biológicas de las flores comestibles mediante ensayos in vitro, in vivo o clínicos, algunas de ellas se muestran en la Tabla 7. Se ha explorado la actividad antienvejecimiento del crisantemo blanco (*Chrysanthemum x morifolium*) y la rosa china (*Rosa chinensis*). Esta actividad ha sido evaluada usando productos finales de glicaciób sérica en mujeres (ingesta de tabletas: dosis alta y dosis baja) y BSA-Glucosa (Yagi *et al.*, 2012), y por ensayo de inhibición de elastasa (Li *et al.*,2021). La actividad antienvejecimiento se ha relacionado con quercetina, isoquercetina, ácido urónico no metilado, fenoles conjugados, quercitrina, 2-feniletil 1-*O*-β-D-(6'-*O*-galoil)-glucopiranósido, galato de etilo (Yagi *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2021).

La flor de naranja agria (*Citrus x aurantium* L.) y la calendula (*Tagetes erecta*) han demostrado tener actividad antiamnésica en modelos como el deterioro de la memoria inducido por escopolamina en ratas Wistar (Rahnama *et al.*, 2014) y crónico inducido por cloruro de alumnio en ratones (Raju & Srilakshmi, 2018). Esta actividad se ha atribuido a los ácidos fenólicos (cafeico, siríngico y gálico), flavanonas (naringina), flavanoles (rutina, quercetina, kaempferol), terpenoides (β-amirina, eritrodiol), esteroides (β-sitosterol, estigmasterol), carotenoides (luteína, zeaxantina), tocoferoles (α y β-tocoferol), probablemente debido a la inhibición de la enzima colinesterasa implicada en la enfermedad de Alzheimer (Rahnama *et al.*, 2014; Raju and Srilakshmi, 2018).

La actividad anticancerígena o antiproliferativa de varias flores comestibles ha sido ampliamente evaluada (Tabla 7), debido a que es la principal causa de muerte a nivel

mundial. Esta actividad ha sido evaluada para calendula (*Calendula officinalis* L.), aciano (*Centaurea cyanus* L.), dalia (*Dahlia mignon*), rosa damascena (*Rose x damascena*), cempasúchil (*Tagetes erecta*) y margarita (*Bellis perennis* L.).

Las flores comestibles han demostrado tener efectos citotóxicos propios contra diferentes líneas celulares (Tabla 7), los cuales se han asociados a compuestos como: polifenoles, flavanoles, procianidinas poliméricas, rutina, vicenina-2, apigenina, Rugosaflavonoide A y B, luteolina y derivados glucosídicos, bioflavonoide japoflavona D, quercitrina, isoquercitrina, kaempferol-3-*O*-rutinósido, apigenina-7-*O*-glucósido, triterpenoides (α y β-amirina, lupeol y faradiol), ácidos fenólicos y derivados (cafeico, clorogénico, protocatecuico,gálico, gentísico, salicílico, sinápico, *p*-cumárico), ácido ascórbico y derivados, carotenoides, fenilpropanoides, Hib-éster y Hib-carbaldehído, antocianinas, principalmente.

Se ha estudiado la actividad anticolinérgica de la margarita común (*Bellis perennis* L.), la malva (*Malva* L.), y el colibrí vegetal (*Sesbania grandiflora* L.), que han mostrado inhibición de AchE y BuChE debido a los carotenoidesm triterpenoides, flavonoides (antocianinas, flavan-3-oles, principalmente), ácidos hidroxicinámicos y taninos (Nowicka *et al.*, 2019).

Hay flores comestibles que tienen diferentes actividades biológicas, como el azafrán (*Crocus sativus* L.) que puede actuar como antidepresivo (tratamiento en pacientes con transtornos depresivos) o inmonomodulador (diabetes inducida por estreptozotocina en ratas), y estas actividades se han asociado con crocina (Samarghandian *et al.*, 2017), crocetina, picrocrocina, safranal y flavonoides (Talaei *et al.*, 2015; Ahmadpanah *et al.*, 2019).

Por otro lado, se ha reportado actividad antidiabética en flores de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), orquídea (*Bauhinia variegata*) y madreselva japonesa (*Lonicera japonica*). Estas flores comestibles inhiben la actividad de las enzimas □-amilasa y □-glucosidasa (ensayos *in vitro* e *in vivo*, y modelo diabético inducido por extreptozotocina en ratas), y se ha relacionado con: polisacáridos derivados de D-galactosa, D-glucosa, D-manosa, L-ramnosa y D-xilosa; antocianinas, ácidos fenólicos y flavonoides (Wang *et al.*, 2017; Zulfiqar *et al.*, 2019; Tripathi *et al.*, 2019).

Además, se ha determinado la actividad antihemolítica (en el modelo de glóbulos rojos O+) para la caléndula (*Calendula officinalis* L.) y el aciano (*Centaurea cyanus* L.), y de acuerdo con estudios previos se ha relacionado con varios compuestos fenólicos, especialmente, ácidos fenólicos como: *p*-cumárico, cafeico, ferúlico y elágico (Escher *et al.*, 2018; Bragueto-Escher *et al.*, 2019).

Se ha examinado la actividad antihipertensiva en Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y aciano (*Centaurea cyanus* L.) a través de la actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y la actividad vasorelajante por bloqueo de los canales de Ca²⁺ dependiendo del voltaje. Esta actividad se ha atribuido a varios compuestos, como: ácido de hibisco (Zheoat *et al.*, 2019), ácido arcórbico, ácido neoclorogénico, ácido criptoclorogénico y antocianinas [3-*O*-sambubiósido de delfinidina; 3-*O*-sambubiósido de cianidina] (Al-Anbaki *et al.*, 2021) y ácido clorogénico (Al-Anbaki *et al.*, 2021; Escher *et al.*, 2018).

Al mismo tiempo, se ha estudiado la actividad anti-inflamatoria en flores de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), calendula (*Calendula officinalis* L.) y rosa japonesa (*Rosa rugosa*), utilizando diferentes modelos (Tabla 7), y las investigaciones se han enfocado a la inhibición de la producción de mediadores inflamatorios, producción de óxido nítrico (NO), inhibición de citoquinas proinflamatorias, COX-2 y la síntesis de prostaglandinas. Esta actividad se ha asociado a flavonoides (gosipetina, hibiscetina, sabdaretina e hibiscetrina), polifenoles y ácido ascórbico (Garbi *et al.*, 2017), antocianinas, ácidos fenólicos y ácidos no fenólicos (Apaza-Ticona *et al.*, 2022), terpenos, terpenoides, carotenoides, flavonoides (Silva *et al.*, 2021), polisacáridos, ácido rugósido A, acetato de ácido oleanólico, ácido ursólico (Olech *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2022). La lucha contra la obesidad es una de las actividades biológicas más abordadas, siendo la caléndula (*Calendula officinalis* L.), la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y la capuchina (*Tropaeolum majus* L.) las flores comestibles que la manifiestan (Tabla 7).

Esta actividad se ha atribuido a los glucósidos de cumarina [neoisobaisseósidos] (Olennikov *et al.*, 2017), flavonoides (quercetina, luteolina y derivados de glucósidos), ácidos fenólicos, ácidos fenólicos [clorogénico, *p*-cumárico, cafeico, ferulico y elágico] (Kim *et al.*, 2017; Ojulari *et al.*, 2019; Bragueto-Escher *et al.*, 2019), antocianinas [3-*O*-sambubiósido de delfinidina y 3-*O*-sambubiósido de cianidina] (Ojulari *et al.*, 2019).

Recientemente, la actividad antiviral ha ganado popularidad, y la madreselva japonesa (*Lonicera japonica*) ha sido la flor comestible estudiada contra el virus de la hepatitis B (VHB), el dengue (DENV), el enterovirus (EV71) y el SARS-CoV-2. Esta flor comestible mostró inhibición de las secreciones de HBsAg y HBeAg, y de la replicación del ADN, supresión del ARN, expresión proteica de EV71 y let-7a. Se ha atribuido actividad antiviral a los ácidos cefeoilquínicos, flavonoides, fenilpropanoides y terpenoides (Ge *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2021).

Asimismo, se han probado diversos efectos protectores para las flores comestibles, incluyendo actividades gastroprotectoras, hepatoprotectoras y neuroprotectoras. En este sentido, las flores de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) han sido estudiadas por su actividad gastroprotectora mediante modelo de úlcera gástrica inducida por etanol en ratas. Sus efectos se han conferido a diferentes ácidos fenólicos (gálico, cafeoilquínico, salicílico, derivados quínicos, hidroxibenzoico-*O* hexósido), quercetina y 5, 5, 4-trihidroxi-6, 3, dimetoxiflavona (Jabri *et al.*, 2017).

La Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y el crisantemo resistente (*Chysanthemum x morifolium*) han mostrado actividades hepatoprotectoras y neuroprotectoras (Tabla 7), que se han administrado a compuestos como los flavonoides (Nurkhasanah and Hakim, 2017; Olanrewaju *et al.*, 2017), crisantelignanósido A y B (Yang *et al.*, 2019), polifenoles, sulfhridrilo, NADH y coenizaim Q₁₀ (Shalgum *et al.*, 2019). Además, se ha encontrado actividad hepatoprotectora en el hibisco amarillo (*Abelmoschus manihot* L.) (Tabla 7) y se ha atribuido a compuestos flavonoides (Yan *et al.*, 2015).

La madreselva japonesa (*Lonicera japonica*) también ha exhibido actividad neuroprotectora, que ha sido mediada por la supresión de los niveles de malonaldehído

(MDA) y la producción de NO, así como la inhibición del estrés oxidativo por la regulación de las actividades de superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GSH-Px). Según Su *et al.*, (2017), los polisaáridos (constituidos por arabinosa, manosa, glucosa y galactosa) son responsables de la actividad protectora de la madre selva japonesa.

Muchas de las actividades biológicas de han relacionado con la actividad antioxidante debido a que la mayoría de los compuestos bioactivos actúan como captadores de radicales. Por ejemplo, aciano (Centaurea cyanus L.), caléndula (Calendula officinalis L.), rosa china (Rossa chinensis), madreselva japonesa (Lonicera japonica), capuchina (Tropaeolum majus L.), rosa japonesa (Rosa rugosa), cardón (Cylindropuntia rosea), xoconostle var. ulapa (Opuntia oligacantha), xoconostle var. cuaresmeño rosado (Opuntia matudae) y pitaya (Echinocereus cinerascens), muestran actividad antioxidante por captación de radicales libres, lo que se debe a la presencia de polifenosles y flavonoides (Marian et al., 2017; Escher et al., 2018; Kim et al., 2022). Algunos de estos compuestos que se encuentran en las flores comestibles son: derivados del kaempferol $(3-O-\alpha-L-ramnopiranosil (1\rightarrow6)-(2",3"-O-\alpha-L-ramnopiranosil (1\rightarrow6)-(2",3"-0-\alpha-L-ramnopiranosil (1\rightarrow6)-(2",3"-0-\alpha-L-ramnopiranosil (1\rightarrow6)-(2",3"-0-\alpha-L-ramnopiranosil (1\rightarrow6)-(2",3"-0-\alpha-C-ramnopiranosil (1\rightarrow6)$ digaloil)-β-D -glucopiranosido, 3-O-(6"-O-galoil)-β-D-glucopiranosido, 3-O-(2"-O-galoil)β-D-glucopiranosido, quercetina y derivados (3-O-glucosido, 3-O-α-L-ramnopiranosido o quercitrina, $3-O-\beta$ -D-glucopiranosil $(1\rightarrow 4)-\alpha$ -L-ramnopiranosido, rutina, 2-feniletil-1- $O-\beta$ -D-(6'-O-galoil)-glucopiranosido, galato de etilo (Li et al., 2021), antocianinas (Escher et al., 2018), ácidos fenólicos [p-cumárico, cafeico, ferulico, elagico, sinapico, galico, vaníllico y siríngico, 4-O-glucósido de ácido protocatecuico] (Jurca et al., 2018; Bragueto-Escher et al., 2019; Pensamiento-Niño et al., 2021), polisacáridos (Su et al., 2017; Olech et al., 2019), epicatequina, luteolina, catequina, naringina, quercetina, rutina, miricetina (Jurca et al., 2018), geraldona, isoramnetina y derivados (3-O-glucósido, 3-O-glucósido-7-O-ramnósido), apigenina-6,8-di-O-glucósido, 3-O-xilosil-glucurónido, 3,7-dimetilquercetina (Pensamiento-Niño et al., 2021).

Evidentemente, las actividades biológicas de las flores comestibles se deben a los compuestos bioactivos que se muestran en las Tablas 4, 5 y 6, por lo que el consumo de estas estructuras vegetales resulta más atractivo (Mlcek & Rop, 2011; Lara-Cortés *et al.*, 2013; Fernandes *et al.*, 2017). De hecho, la relación del consumo de flores comestibles con el efecto positivo sobre la salud ha sido documentada desde tiempos pasados, tal y como han puesto de manifiesto revisiones recientes (Lu, Li, & Yin, 2016; Skrajda-Brdak; Dąbrowski, & Konopka, 2020; Takahashi *et al.*, 2020).

2.3.3. Riesgo de consumo de flores comestibles

Hoy en día, los consumidores reclaman ciertos atributos de los alimentos, se preocupan por los aspectos nutricionales, funcionales o de seguridad alimentaria (Huang *et al.*, 2017). La mayoríade los estudios sobre flores comestibles se han centrado en sus propiedades nutricionales y funcionales, o sus beneficios para la salud humana, sin embargo, también es fundamental considerar el riesgo para la salud por el consumo de flores sin su identificación botánica como especies comestibles, o no están destinadas al consumo humano por contener

compuestos tóxicos (químicos o biológicos). De hecho, algunas flores pueden ser portadoras de contaminantes, tanto biológicos (microorganismos patógenos) como químicos (productos agrícolas) que pueden causar un efecto adverso para la salud por ingestión. Un punto clave es definir la comestibilidad de una flor, así como también es vital su adecuada identificación por parámetros químicos y biológicos (Mlcek & Rop, 2011). En este sentido, las flores se clasifican en comestibles y no comestibles, las cuales difieren en su contenido en sustancias químicas, en especial, alcaloides. Estos compuestos forman parte de un sistema de defensa y algunos de ellos mostraron actividades farmacológicas (Nicolau & Gostin, 2016).

Las flores no comestibles contienen alcaloides que pueden ser agentes estimulantes, pueden tener actividad psicotrópica o pueden ser tóxicos (Nicolau & Gostin, 2016), por lo que su consumo podría ocasionar un riesgo para la salud. Los principales riesgos para la salud por el consumo de flores son causados por microorganismos patógenos o presencia de compuestos químicos ajenos a estos tejidos vegetales, en los cuales, la contaminación puede ocurrir durante los procesos de cultivo o cosecha, procesamiento, distribución o preparación de alimentos; adicionalmente, puede ser producido por las condiciones del suelo (Matyjaszczyk & Śmiechowska, 2019). Por otro lado, el consumo de flores de plantas ornamentales puede ser un riesgo, ya que en este tipo de cultivos se utilizan productos agrícolas, como fertilizantes o pesticidas. Egebjerg et al., (2018) evaluaron 23 flores comestibles (silvestres y de cultivo) ofrecidas en restaurantes, con el fin de obtener una lista de plantas y flores aptas para el consumo humano. Estas flores fueron elegidas considerando investigaciones previas sobre compuestos fitquímicos y datos toxicológicos en humanos y animales de experimentación. Los resultados indicaron que 9 flores contenían compuestos potencialmente tóxicos, 2 incluían compuestos tóxicos no identificados y 4 eran flores de plantas con compuestos tóxicos (Egebjerg et al., 2018). En este estudio se analizaron flores que han sido utilizadas en alimentos y hasta el momento no hay reportes de efectos tóxicos tras su ingestión, dentro de estas flores se encuentran: caléndula (Calendula officinalis L.), crisantemo (Chrysanthemum coronarium L.), capuchina (Tropaeolum majus L.) y viola (Viola tricolor L). La ingestión de flores de Viola puede ser perjudicial para cierto grupo de personas, ya que estas flores contienen altos niveles de ácido metil salicílico.

A nivel mundial, el uso de flores comestibles en la gastronomía ha ido creciendo mucho; pero, esto ha generado cierta preocupación, debido a que no existe una regulación legal sobre las flores permitidas para el consumo, así como el manejo del cultivo, postcosecha, almacenamiento y distribución (Matyjaszczyk & Śmiechowska, 2019). No obstante, existen atlas, guías y cuadros de flores comestibles que incluyen sus nombres científicos y principales características, con el fin de ayudar al consumidor a identificar y elegir adecuadamente la flor para su inclusión en la dieta humana, la cual debe estar libre de contaminantes biológicos y químicos, evitando efectos adversos para la salud (Nicolau & Gostin, 2016).

2.4. Conclusiones

El uso de flores en la gastronomía es una nueva tendencia que ha ganado mayor popularidad a nivel mundial, debido a las mejoras en las propiedades organolépticas de los alimentos, mejorando el sabor, el olor, el color, la apariencia estética y valor nutricional. Las flores son recursos naturales catalogados como fuentes naturales de nutrientes y compuestos bioactivos con beneficios a la salud, pero deben estar correctamente identificados (químicos y biológicos) para evitar riesgos para la salud. Las flores comestibles tienen un gran potencial en nutrición y salud debido a que tienen efectos preventivos en algunas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, sin embargo, se requieren más estudios y evidencias que demuestren y confirmen tales efectos beneficiosos para la salud humana.

Las propiedades nutrimentales y funcionales de las flores comestibles dependen de la especie de flor, las condiciones del cultivo, el país de origen y los métodos de extracción de sus compuestos bioactivos. Hoy en día existe un mayor interés en el consumo y aceptación de las flores comestibles, convirtiéndose en una alternativa muy importante para las industrias alimentarias y farmacéuticas.

Tabla 1. Los usos más habituales de las flores comestibles en la gastronomía

Nombre común	Nombre científico	Familia	Usos
Cebollín	Allium schoenoprasum L.	Amaryllidaceae	Ensaladas, verduras cocidas, guisos, queso crema
Boca de dragón	Antirrhinum majus L.	Plantaginaceae	Ensaladas
Begonia tuberosa híbrida	Begonia x tuberhybrida	Begoniaceae	Ensaladas y guarniciones
Girasol	Helianthus L.	Asteraceae	Decoración de alimentos, ensaladas
Alcachofa	Cynara cardunculus L.		Queso típico de ovejas con propiedades organolépticas
Caléndula	Calendula officinalis L.		Decoración de alimentos, ensaladas, sopas, guisos, flores secas
			utilizadas como colorantes en queso
Aciano	Centaurea cyanus L.		Infusiones, colorante alimentario natural
Crisantemo resistente	Chrysanthemum x morifolium		Infusiones, suplementos alimenticios
Flor de calabaza	Cucurbita pepo L.	Cucurbitaceae	Platos, panqueques, papas fritas
Gardenia	Gardenia jasminoides J. Ellis	Rubiaceae	Infusiones y sopas
Hibísco chino	Hibiscus rosa sinensis L.	Malvaceae	Infusions
Jamaica	Hibiscus sabdariffa L.		Bebidas frías y calientes, bebidas fermentadas, vino, mermeladas,
			helados, chocolates, pudínes, pasteles, aromatizantes
Jasmín árabe	Jasminum sambac L.	Oleaceae	Infusiones, gruel de avena
Lavanda	Lavandula dendata L.	Lamiaceae	Decoración de alimentos, postres, helados y bebidas
Magnolia de Yulan	Magnolia denudata	Magnoliaceae	Pasteles, ensaladas, complementos alimenticios
Flor de tuna	Opuntia ficus indica L.	Cactaceae	Vegetales
Orquídea	Orchis L.	Orchidaceae	Decoración de alimentos, postress, helados
Peonía	Paeonia L.	Paeoniaceae	Decoración de alimentos, postres, helados, bebidas y jugos
Rosa china	Rosa chinensis	Rosaceae	Infusiones, mermeladas

Rosa japonesa	Rosa rugosa		Infusiones, pasteles, colorante natural			
Flor de sauco	Sambucus nigra L.	Adoxaceae	Decoración de alimentos, ensaladas, postres, bebidas y jugos			
Flor de capuchina	Tropaeolum majus L.	Tropaeolaceae	Decoración de alimentos, postres, ingredientes alimentarios,			
			ensaladas y bebidas			
Violeta común	Viola odorata L.	Violaceae	Decoración de alimentos, postres, helados y bebidas			
Violeta de pensamiento	Viola tricolor L.		Colorante natural, dulces, ensaladas, sopas, vinagre, bebidas.			
Pensamiento de jardín	Viola x wittrockiana		Ensaladas, guarniciones e infusiones			

Referencias: Lu et al., 2015; Fernandes et al., 2017; Pires et al., 2019

Tabla 2. Composición nutricional (g/100 g de peso seco) de flores comestibles

	Composición nutricional					Composición nutricional							
Nombre científico	PC	EE	FC	Ce	CHOs*	Referencias	Nombre científico	PC	EE	FC	Ce	CHOs*	Referencias
Agave salmiana	16.40	2.80	12.70	5.80	-		Euphorbia radians benth	25.10	4.90	12.60	9.40	-	Sotelo et al., 2007
Aloe vera	16.40	4.20	13.80	8.60	-	Sotelo et al., 2007	Lathyrus odoratus L.	14.40	2.06	-	5.76	77.78	Chensom, Okumura & Mishima, 2019
Antirrhinum majus L.	12.29	3.42	22.88	7.76	53.65	González-Barrio, et al., 2018	Malva sylvestris L.	8.50	2.84	-	10.54	78.12	Barros et al., 2010
	6.77	3.76	-	3.76	85.71	Chensom, Okumura & Mishima, 2019	Petunia x hybrida	10.78	3.92	-	9.80	75.49	Chensom, Okumura
Arbutus xalapensis	11.30	3.90	10.40	6.90	-	Sotelo et al., 2007	Rosa 'Yves Piaget	10.83	5.00	-	4.17	80.00	& Mishima, 2019
Bauhinia variegata L.	10.90	7.00	-	5.03	77.10	Villavicencio <i>et al.</i> , 2018	Rosa x damascena	7.58	2.01	-	4.29	86.12	Pires et al., 2017
Begonia x semperflorens	15.79	10.53	-	7.89	65.79	Chensom, Okumura & Mishima, 2019	Spilanthes oleracea L.	10.10	1.45	-	5.08	47.81	Navarro-González e
Borago officinalis L.	28.98	6.29	-	19.54	-	Fernandes et al., 2020	Tagetes erecta L.	5.12	1.24	-	3.10	54.87	al., 2015
Brassica oleracea L. var. botrytis	18.00	2.87	21.63	13.92	43.57		Torenia fournieri blue	3.53	5.88	-	7.06	83.53	Chensom, Okumura
Brassica oleracea L. var. italica	48.56	5 1.88	25.97	14.30	9.28	Fernandes <i>et al.</i> , 2017	Torenia fournieri violet	4.50	5.41	-	6.31	83.78	& Mishima, 2019
Calendula officinalis L.	13.55	3.55	13.08	7.66	62.15		Tropaeolum majus L.	13.93	3.51	28.79	7.12	46.65	Fernandes <i>et al.</i> , 2017
	6.43	5.33	-	6.93	81.32	Pires et al., 2017		13.63	2.26	-	4.31	48.90	Navarro-González et al., 2015

Camellia japonica L.	9.33 3.80	-	4.54	-	Fernandes et al.,		22.34	4.26	-	8.51	64.89	Chensom, Okumura & Mishima, 2019
Centaurea cyanus L.	8.29 4.15	-	6.22	-	2020	Viola tricolor L.	16.81	5.00	9.30	4.38	64.50	Fernandes <i>et al.</i> , 2017
	5.79 0.14	-	5.68	88.39	Pires et al., 2017	Viola x wittrockiana	13.81	2.88	33.31	7.26	42.74	González-Barrio <i>et al.</i> , 2018
Cosmos sulphureus cav	. 11.76 5.88	-	2.94	79.41	Chensom, Okumura & Mishima, 2019		10.14	1.67	-	7.92	80.27	da Silva <i>et al.</i> , 2020
Cucurbita pepo L.	21.90 5.00	10.50	15.90	-	Sotelo et al., 2007	Viola x wittrockiana red	20.12	9.91	-	13.91	-	
Cynara scolymus L.	14.56 2.77	16.44	5.82	60.40	Fernandes <i>et al.</i> , 2017	Viola x wittrockiana white	41.43	9.18	-	18.78	-	Fernandes <i>et al.</i> , 2020
Dahlia mignon	5.93 2.23	-	5.83	86.02	Pires et al., 2017	Viola x wittrockiana yellow	23.44	14.9	-	12.51	-	
Erythrina americana Mill	26.20 2.30	17.30	9.60	-	Sotelo et al., 2007	Yucca filifera	25.90	2.10	8.50	9.70	-	Sotelo et al., 2007
Erythrina caribaea	27.40 1.50	17.70	10.10	-								

PC: proteína cruda, EE: extracto etéreo, FC: fibra cruda, Ce: cenizas, CHO's: carbohidratos totales (*por diferencia). No determinado (-)

Tabla 3. Composición mineral (mg/100 g de peso seco) en algunas flores comestibles

	Macroe	lemento	S			Microelementos			Referencias		
Nombre científico	K	P	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Mn	Cu	Mo	
Parkia biglobosa L.	1766.00	2.53	615.10	196.20	139.20	17.8	9.1	5.3	3.37	-	Hassan et al., 2011
Antirrhinum majus L.	2269.49	331.18	283.27	136.42	69.58	7.05	3.47	4.54	1.28	0.67	
Begonia boliviensis	1297.61	142.33	245.58	105.30	65.73	3.24	1.87	3.06	1.37	0.44	
Centaurea cyanus L.	3664.03	548.75	252.75	142.19	76.26	7.79	7.07	2.35	0.91	0.50	
Chrysanthemum frutescens	2734.84	447.61	270.17	109.99	93.10	5.74	5.38	8.21	2.30	0.31	
Chrysanthemum parthenium	3651.46	508.41	346.17	197.94	114.92	6.02	5.91	7.43	2.38	0.31	
Dianthus caryophyllus L.	3069.10	460.04	425.88	161.52	98.95	6.21	8.53	6.48	2.49	0.48	Rop et al., 2012
Fuchsia x hybrid	2350.42	257.42	285.66	203.95	150.04	13.68	9.70	4.98	3.23	0.85	
Impatiens walleriana L.	1922.20	259.48	275.00	137.86	63.93	5.91	4.92	4.10	0.89	0.26	
Rosa x odorata	1951.55	223.16	272.70	140.56	75.93	4.51	3.52	3.41	2.26	0.63	
Tagetes patula L.	3934.63	494.06	358.32	211.97	118.10	13.73	9.01	8.12	1.13	0.38	
Tropaeolum majus L.	2176.92	427.07	299.23	132.55	78.54	8.05	5.74	5.19	1.04	0.26	
Viola x wittrockiana	3960.88	514.11	485.95	189.86	131.84	11.51	7.28	7.92	1.95	0.84	
Cynara scolymus L.	-	42.03	83.94	-	60.54	-	-	0.26	-	-	
Brassica oleracea L. var Italica	`	78.28	79.93	-	25.58	-	-	35.08	-	-	
Brassica oleracea var Botrytis	·	57.85	17.46	-	2.52	-	-	0.22	-	-	Fernandes et al., 2017
Viola tricolor L.	-	8.19	30.24	-	0.96	-	-	0.11	-	-	
Calendula officinalis L.	-	10.82	41.37	-	1.22	-	-	0.02	-	-	
Tropaeolum majus L.	-	9.55	28.42	-	0.99	-	-	0.17	-	-	

Viola x wittrockiana	1823.30 539.27 810.86	365.84	464.01	-	-	-	-	-	Caradia Barria
Antirrhinum majus L.	1466.14 247.21 446.42	220.25	37.61	-	-	-	-	-	González- <i>Barrio et</i> al., 2018
Agave salmiana	1600.00 320.00 220.00	120.00	-	46600	-	-	6500	-	
Aloe vera	2160.00 220.00 250.00	150.00	-	6610	-	-	6610	-	Pinedo-Espinoza et
Erythrina americana	2260.00 320.00 620.00	150.00	-	13200	-	-	13200	-	al., 2020
Myrtillocactus geometrizans	2900.00 260.00 210.00	180.00	-	6200	-	-	6200	-	

No determinado (-)

Tabla 4. Principales compuestos bioactivos no fenólicos en flores comestibles

Compuestos	Contenido µg/g	Fuente (flor comestible)	Referencias		
Tocoferoles					
α	140.3	Malva sylvestris L.	Barros et al., 2010		
β	5.7	_			
γ	25.3	_			
δ	2.4	-			
Carotenoides					
Violaxantina	$8.9x10^3$	Viola x wittrockiana, Antirrhinium majus L., Tropaeolum majus L. (r) ^a			
Luteína	6.9-5.1x10 ⁴	Tropaeolum majus L. (n) ^b , Borago officinalis L., Centaurea cyanus L.	. al., 2020; Fernandes et al., 2019		
Zeaxantina	$7.5 \times 10^3 - 3.8 \times 10^4$	_			
β-caroteno	$0.4-4.1x10^4$	_			
Ácidos orgánicos no fenólicos					
Ácido cítrico	$5.2 \times 10^3 - 1.1 \times 10^4$	Malva sylvestris L., Borago officinalis L., Centaurea cyanus L.			
Ácido levulínico	$5.3x10^3$ - $1.6x10^4$	Tropaeolum majus L. (r) ^a , Tropaeolum majus L. (n) ^b , Spilanthes — oleracea L., Amaranthus hypochondriacus L.	s 2010, Barros <i>et al.</i> , 2020		
Ácido fumárico	130-1.3x10 ⁴	– oteracea E., Amaraninas nypochonariacas E.			
Ácido málico	$1.5 \times 10^{4} - 4.7 \times 10^{4}$	-			
Ácido malónico	640-1.1x10 ⁴	_			
Ácido succínico	110-9.7x10 ⁴	_			
Ácido quínico	$1.3 \times 10^3 - 2.4 \times 10^4$	_			
Ácido tartárico	3.6×10^4	_			
Ácido ascórbico	1.1×10^3	_			

^aTropaeolum majus L. roja (r), ^bTropaeolum majus L. naranja (n)

Tabla 5. Ácidos fenólicos en flores comestibles

Compuesto	Contenido μg/g*	Fuente (flor comestible)**	Referencias
Ácido salicilico	190-1.0x10 ³	c, f	Fernandes et al., 2019
Ácido p-cumárico	$1-4.9 \times 10^3$	c, f, j, k, o, q, u, v, x, y, z	Fernandes <i>et al.</i> , 2019; Barros <i>et al.</i> , 2020; Ammar <i>et al.</i> , 2018; Xiong <i>et al.</i> , 2014.
Ácido gálico	$14-7.9 \times 10^3$	$a,d,g,i,j,k,l,\tilde{n},o,p,q,s,t,v$	Li et al., 2014; Xiong et al., 2014
Ácido protocatecúico	$17.8 - 7.1 \times 10^3$	a, e, g, h, k, l, m, n, o, q, r, t, u, w	
Ácido homogentísico	$1.6x10^3 - 9.8x10^3$	m, p, r, w	Li et a., 2014.
Ácido clorogénico	$16.2 - 1.6 \times 10^4$	h, k, l, n, ñ, o, q, s, u, v, x, y, z	Ammar et al., 2018; Barros et al., 2020; Xiong et al., 2014
Ácido cafeico	16.1-342.4	i, j, k, n, o, q, u, v, y, z	Xiong et al., 2014; Karimi et al., 2012; Ammar et al., 2018; Barros et al., 2020.
Ácido p-hidroxibenzoico	$104.7 - 3.2 \times 10^3$	h, j, n, v	Fernandes <i>et al.</i> , 2019; Ammar <i>et al.</i> , 2018; Barros <i>et al.</i> , 2020; Xiong <i>et al.</i> , 2014.
Ácido vaníllico	62.1-356.4	j, k, l, u	Xiong et al., 2014
Ácido ferúlico	$22.7-1.3x10^3$	b, j, s, u, x, y, z	Barros et al., 2020; Xiong et al., 2014
Ácido siríngico	$269.0-1.2x10^3$	i, l, n, s, u	Xiong et al., 2014; Karimi et al., 2012
Ácido trans-ferúlico	164.9	q	Ammar et al., 2018
Ácido 4-O-cafeoilquínico	35		
Ácido rosmarínico	19.6		

*en peso seco. **significado: a: Allamanda cathartica L.; b: Amaranthus hypochondriacus L.; c: Borago officinalis L.; d: Bougainvillea spectabilis; e: Camellia japonica L.; f: Centaurea cyanus L.; g: Chrysanthemum coronarium; h: Chrysanthemum morifolium; i: Citrus x aurantium L.; j: Flos carthami; k: Flos loniraceae; l: Flos rosae rugosae; m: Gerbera jamesonii Bolus; n: Hibiscus sabdariffa L.; ñ: Lavandula pedunculata; o: Lilium brownii var. viridulum; p: Magnolia x soulangeana; q: Opuntia ficus indica L.; r: Osmanthuscfragrans; s: Paeonia suffruticosa; t: Phaseolus vulgaris L.; u: Prunus persica L.; v: Rosa chinensis; w: Rosa x hybrida; x: Spilanthes oleracea L.; y: Tropaeolum majus L.; (naranja); z: Tropaeolum majus L. (rojo).

Tabla 6. Flavonoides encontrados en flores comestibles

Compuestos	Contenido μg/g*	Fuente (flor comestible)**	Referencias
Antocianinas	300.0-5.7x10 ³	e, g ₁	González-Barrio et al., 2018
3-O-glucósido de cianidina	106.8-491.7	s, t	Li et al., 2014
Apigenina	1.5-651.8	ñ	Xiong et al., 2014
Catequina	$38.9 - 1.8 \times 10^3$	c, f, g, l, p, r, w	Li et al., 2014; Barros et al., 2020
Epicatequina	$35.4-8.3x10^3$	$b, c, f, g, i, l, a_1, e_1, f_1$	Li et al., 2014; Barros et al., 2020
3-O-glucósido de isoramnetina	10.5-268.3	v	Ammar et al., 2018
Kaempferol	$36.4-2.8 \times 10^3$	$c, d, q, x, y, d_2, e_1, f_1$	Xiong et al., 2014; Barros et al., 2020; Loizzo et al., 2016
3-O-rutinósido de kaempferol	69.6		A
3-O-arabinósido de kaempferol	21.5	V	Ammar <i>et al.</i> , 2018
3, 7-O-diglucósido de kaempferol	38.7		
Derivados de kaempferol	210.3	a	Barriada-Bernal et al., 2014
3- <i>O</i> -(ramnosil-(1-6)-glucósido) de kaempferol	356.2	u	Barrada Bernar et at., 2011
Luteolina	1.5×10^3	u	Loizzo et al., 2016
Miricetina	$500-3.5 \times 10^3$	$d, h, j, o, u, z, b_1, c_1$	L01220 et at., 2010
Naringina	688.1	k	Karimi et al., 2012
Quercetina	$16.8 - 2.4 \times 10^4$	h, m, n, \tilde{n} , o, q, x, y, c_1	Xiong et al., 2014; Loizzo et al., 2016
3-O-glucosido de quercetina-	26.2-743.7	a	Barriada-Bernal et al., 2014
3-O-ramnósido de quercetina	1341.2	v	Ammar et al., 2018
3-(ramnosil-(1- 6)-galactósido) de quercetina-	22.9	a	Barriada-Bernal et al., 2014
3-O-galactósido dequercetina-	3253.1	v	Ammar et al., 2018
Rutina	147.6-2.8x10 ⁴	c , h , j , k , m , n , \tilde{n} , o , q , s , v , x , y	r, e ₁ , Barros <i>et al.</i> , 2020; Xiong <i>et al.</i> , 2014; Karimi <i>et al.</i> , 2012; Ammar <i>et al.</i> , 2018; Loizzo <i>et al.</i> , 2016

*en peso seco. **Significado: a: Agave durangensis; b: Allamanda cathartica L.; c: Amaranthus hypochondriacus L.; d: Anchusa azurea; e: Antirrhinium majus L.; f: Bougainvillea spectabilis; g: Camellia japonica L.; h: Capparis sponisa L.; i: Chrysanthemum coronarium; j: Cichorium intybus L.; k: Citrus x aurantium L.; l: Erythrina variegata L.; m: Flos carthami; n: Flos lonicerae; ñ: Flos rosae rugosae; o: Hedysarum coronarium; p: Hibiscus rosa-sinensis L.; q: Lavanda pedunculata; r: Lilium brownii; s: Lilium brownii var. viridulum; t: Magnolia x soulangeana; u: Malva sylvestris L.; v: Opuntia ficus indica L.; w: Osmanthus fragrans; x: Paeonia suffruticosa; y: Prunus persica L.; z: Robinia pseudoacacia L.; a: Rosa x hybrida; b: Rosmarinus officinalis L.; c: Sambucus nigra L.; d: Spilanthes oleracea L.; e: Tropaeolum majus L. (naranja); f: Tropaeolum majus L. (rojo); g: Viola x wittrockiana

Tabla 7. Principales actividades biológicas de las flores comestibles

Flores comestibles	Método/modelo	Referencias
Anticancer o antiproliferati	vo	
Caléndula, aciano	Líneas celulares: melanoma murino metastásico	Marian <i>et al.</i> , 2017;
Aciano	Ensayo de citotoxicidad <i>in vitro</i> en células de adenocarcinoma de pulmón, colorectal y hepatohumano	oma Eschert et al., 2018
Aciano, dalia, rosa damas maravilla	scena, Líneas celulares: carcinoma de mama, pulmón de células no pequeñas, cérvico-uterin hepatocelular	o y Pires et al., 2018
Margarita común	Líneas celulares: carcinoma de pulmón humano, adenocarcinoma de colon y fibroblasto de normal, citotoxicidad por ensayo de resazurina	piel Karakas et al., 2016
Madreselva japonesa	Líneas celulares: cáncer de hígado humano, cáncer de colon y en un modelo de xenoinjerto C7	T26. Ge <i>et al.</i> , 2019; Wan <i>et al.</i> , 2019; Li <i>et al.</i> , 2021
Rosa japonesa	Líneas celulares: carcinoma de cuello uterino, carcinoma de mama, fibroblastos de piel hum normal, leucemia promielocítica, carcinoma de pulmón humano, neuroblastoma, cáncer próstata, cáncer de hígado y carcinoma epitelial humano. Cáncer de pulmón y colon humano	de Olech et al., 2019
Maravilla, enredadera de flor de papel	coral, Líneas celulares: adenocarcinoma colorectal, gástrico y vesical	Kaisoon et al., 2012
Árbol de orquídea	Líneas celulares: adenocarcinoma de mama, carcinoma de pulmón de células no pequeñas, cu uterino y carcinoma hepatocelular	ello Villavicencio et al., 2018
Jamaica	Líneas celulares: mieloma múltiple y melanoma humano	Malacrida et al., 2021; Apaza-Ticona et al., 2022
Planta de té	Líneas celulares: cáncer de ovario endotelial humano	Wang et al., 2017
Crisantemo salvaje	Líneas celulares: Leucemia mieloide crónica maligna K-562, cáncer gástrico humano MKN4	5 bin Muhamad <i>et al.</i> , 2021. Liu <i>et al.</i> , 2017
Milenrama	Líneas celulares: tumor pancreático humano MiaPaca-2, cáncer de mama, cuello uterino, puln leucemia mielogénica crónica y epidermoide humano	nón, García-Risco <i>et al.</i> , 2017; Abou Baker, 2020
Antidiabetico		
Jamaica	Actividad inhibidora de la α-glucosidasa in vitro e in vivo	Zulfiqar et al., 2019
Árbol de orquídea	Modelo diabético inducido por estreptozotocina (STZ)	Tripathi et al., 2019
Madreselva japonesa	Inhibición de la α -amilasa y α -glucosidasa en ratas diabéticas inducida por estreptozotocina	Wang et al., 2017
Anti-inflamatorio		

Jamaica	Actividad vasorelajante por bloqueo de los canales de Ca ²⁺ , inhibición de la enzima convertido	ra Zheoat et al., 2019; Al-Anbaki et al.,
	de angiotensina (ECA). Líneas celulares RAW 264.7. Inhibición de α-amilasa, lípido	•
	metabolismo del colesterol, lipasa pancreática y adipogénesis	Ojulari et al., 2019
Aciano	Actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). Estabilización emembrana de HRBC (glóbulos rojos humanos)	de Escher <i>et al.</i> , 2018. Garbi <i>et al.</i> , 2017
Caléndula	Líneas celulares RAW 264.7. Inhibición <i>in vitro</i> de la enzima α-amilasa y α-glucosidasa	Silva et al., 2021. Bragueto-Escher et al., 2019; Olennikov et al., 2017
Rosa japonesa	Ensayo de cribado de inhibidores de COX (ovino/humano). Líneas celulares RAW 264.7	Olech et al., 2019. Kim et al., 2022
Capuchina	Células de adipocitos 3T3-L1	Kim et al., 2017
Anti-obesidad		
Caléndula, jamaica	Inhibición de amilasa, α -glucosidasa, lípidos, metabolismo del colesterol, lipasa pancreática adipogénesis	y Olennikov et al., 2017; Bragueto- Escher et al., 2019; Ojulari et al., 2019
Capuchina	Células de adipocitos 3T3-L1	Kim et al., 2017
Hepatoprotectivo		
Hibiscus amarillo	Daño hepático colestásico inducido por isocianato de α-naftilo en ratas	Yan et al., 2015
Crisantemo resistente	<i>In-vivo</i> (modelo de lesión hepatica inducida por alcohol, acetaminofen (APAP) y tetracloruro carbono (CCl ₄), <i>in vitro</i> (línea celular cancerosa de hígado humano)	de Tian <i>et al.</i> , 2019
Jamaica	Modelos en ratas: modelo de hapatotoxicidad inducida por etanol en ratas; hepatotoxicida inducida por DMBA	ad Olanrewaju <i>et al.</i> , 2017; Nurkhasanah & Hakim, 2017
Neuroprotectivo		
Crisantemo resistente, jamaica	Neurotoxicidad inducida por peróxido de hidrógeno $(H_2 0_2)$ en células de neuroblastoma humar SH - $SY5Y$	no Yang <i>et al.</i> , 2019; Shalgum <i>et al.</i> , 2019
Madreselva japonesa	Daño por isquemia/reperfusion en cerebro de rata	Su <i>et al.</i> , 2017

2.5. Referencias

- 1. Acharya, J., Karak, S., & De, B. (2016). Metabolite Profile and Bioactivity of *Musa X ParadisiacaL*. Flower Extracts. *Journal of Food Biochemistry*, 40(6), 724–730. DOI: 10.1111/jfbc.12263
- 2. Acikgoz, F. (2017). Edible Flowers. *Journal of Experimental Agriculture International*, 17(1), 1–5. DOI: 10.9734/jeai/2017/34564
- Alam, P., Al-Yousef, H. M., Siddiqui, N. A., Alhowiriny, T. A., Alqasoumi, S. I., Amina, M., Hassan, W. H. B., Abdelaziz, S., & Abdalla, R. H. (2018). Anticancer activity and concurrent analysis of ursolic acid, β-sitosterol and lupeol in three different Hibiscus species (aerial parts) by validated HPTLC method. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(7), 1060–1067. DOI: 10.1016/j.jsps.2018.05.015
- Alasalvar, C., Pelvan, E., Özdemir, K. S., Kocadağlı, T., Mogol, B. A., Paslı, A. A., Özcan, N., Özçelik, B., & Gökmen, V. (2013). Compositional, Nutritional, and Functional Characteristics of Instant Teas Produced from Low- and High-Quality Black Teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(31), 7529–7536. DOI: 10.1021/jf4015137
- Ammar, I., Ben Salem, M., Harrabi, B., Mzid, M., Bardaa, S., Sahnoun, Z., Attia, H., & Ennouri, M. (2018). Anti-inflammatory activity and phenolic composition of prickly pear (Opuntia ficus-indica) flowers. *Industrial Crops and Products*, 112, 313–319. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.12.028
- 6. Anantharaju, P. G., Gowda, P. C., Vimalambike, M. G., & Madhunapantula, S. V. (2016). An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. *Nutrition Journal*, *15*(1). DOI: 10.1186/s12937-016-0217-2
- Araújo, S., Matos, C., Correia, E., & Antunes, M. (2019). Evaluation of phytochemicals content, antioxidant activity and mineral composition of selected edible flowers. *Quality Assurance and Safety of Crops &Amp; Foods*, 11(5), 471–478. DOI: 10.3920/qas2018.1497
- Barriada-Bernal, L. G., Almaraz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E. A., Gallardo-Velázquez, T., Ávila-Reyes, J. A., Torres-Morán, M. I., González-Elizondo, M. D. S., & Herrera-Arrieta, Y. (2013). Flavonoid composition and antioxidant capacity of the edible flowers of *Agave durangensis* (Agavaceae). *CyTA Journal of Food*, 12(2), 105–114. DOI: 10.1080/19476337.2013.801037
- 9. Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2010). Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of Malva sylvestris: A comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1466–1472. DOI: 10.1016/j.fct.2010.03.012
- Barros, R. G. C., Andrade, J. K. S., Pereira, U. C., de Oliveira, C. S., Rafaella Ribeiro Santos Rezende, Y., Oliveira Matos Silva, T., Pedreira Nogueira, J., Carvalho Gualberto, N., Caroline Santos Araujo, H., & Narain, N. (2020). Phytochemicals screening, antioxidant capacity and chemometric characterization of four edible flowers from Brazil. *Food Research International*, *130*, 108899. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108899
- 11. Basso, C., Papalia, J. Aceitabilidade de flores comestíveis. R. Assoc.Bras. Nutr., 2014, 6 (2),1391-1392
- 12. Benvenuti, S., Bortolotti, E., & Maggini, R. (2016). Antioxidant power, anthocyanin content and organoleptic performance of edible flowers. *Scientia Horticulturae*, *199*, 170–177. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.12.052
- 13. Chen, G. L., Chen, S. G., Xiao, Y., & Fu, N. L. (2018). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 30 flowers. *Industrial Crops and Products*, 111, 430–445. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.10.051
- 14. Chen, N. H., & Wei, S. (2017). Factors influencing consumers' attitudes towards the consumption of edible flowers. *Food Quality and Preference*, *56*, 93–100. DOI: 10.1016/j.foodqual.2016.10.001
- 15. Chen, Q., Xu, B., Huang, W., Amrouche, A. T., Maurizio, B., Simal-Gandara, J., Tundis, R., Xiao, J., Zou, L., & Lu, B. (2020). Edible flowers as functional raw materials: A review on anti-aging properties. *Trends in Food Science &Amp; Technology*, *106*, 30–47. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.09.023
- 16. Chensom, S., Okumura, H., & Mishima, T. (2019). Primary Screening of Antioxidant Activity, Total Polyphenol Content, Carotenoid Content, and Nutritional Composition of 13 Edible Flowers from Japan. *Preventive Nutrition and Food Science*, 24(2), 171–178. DOI: 10.3746/pnf.2019.24.2.171

- 17. Chiou, S. Y., Sung, J. M., Huang, P. W., & Lin, S. D. (2017). Antioxidant, Antidiabetic, and Antihypertensive Properties of *Echinacea purpurea* Flower Extract and Caffeic Acid Derivatives Using *In Vitro* Models. *Journal of Medicinal Food*, 20(2), 171–179. DOI: 10.1089/jmf.2016.3790
- 18. Chitrakar, B., Zhang, M., & Bhandari, B. (2019). Edible flowers with the common name "marigold": Their therapeutic values and processing. *Trends in Food Science &Amp; Technology*, 89, 76–87. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.05.008
- 19. Cunningham, E. (2015). What Nutritional Contribution Do Edible Flowers Make? *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(5), 856. DOI: 10.1016/j.jand.2015.03.002
- 20. da Silva, L. A., Fischer, S. Z., & Zambiazi, R. C. (2020). Proximal composition, bioactive compounds content and color preference of Viola x Wittrockiana flowers. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100236. DOI: 10.1016/j.ijgfs.2020.100236
- 21. Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). Hibiscus sabdariffa L. A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, *165*, 424–443. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.05.002
- 22. Egebjerg, M. M., Olesen, P. T., Eriksen, F. D., Ravn-Haren, G., Bredsdorff, L., & Pilegaard, K. (2018). Are wild and cultivated flowers served in restaurants or sold by local producers in Denmark safe for the consumer? *Food and Chemical Toxicology*, *120*, 129–142. DOI: 10.1016/j.fct.2018.07.007
- 23. Falguera, V., Aliguer, N., & Falguera, M. (2012). An integrated approach to current trends in food consumption: Moving toward functional and organic products? *Food Control*, 26(2), 274–281. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.01.051
- 24. Fernandes, L., Casal, S., Pereira, J. A., Ramalhosa, E., & Saraiva, J. A. (2017). Effect of High Hydrostatic Pressure (HHP) Treatment on Edible Flowers' Properties. *Food and Bioprocess Technology*, *10*(5), 799–807. DOI: 10.1007/s11947-017-1887-2
- 25. Fernandes, L., Casal, S., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & 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. DOI: 10.1016/j.jfca.2017.03.017
- 26. Fernandes, L., Pereira, J. A., Baptista, P., Saraiva, J. A., Ramalhosa, E., & Casal, S. (2018). Effect of application of edible coating and packaging on the quality of pansies (*Viola* × *wittrockiana*) of different colors and sizes. *Food Science and Technology International*, 24(4), 321–329. DOI: 10.1177/1082013217753229
- 27. Fernandes, L., Pereira, J., Saraiva, J., Ramalhosa, E., & Casal, S. (2019). Phytochemical characterization of Borago officinalis L. and Centaurea cyanus L. during flower development. *Food Research International*, 123, 771–778. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.05.014
- 28. Fernandes, L., Ramalhosa, E., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & Casal, S. (2020). Borage, camellia, centaurea and pansies: Nutritional, fatty acids, free sugars, vitamin E, carotenoids and organic acids characterization. *Food Research International*, *132*, 109070. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109070
- 29. González-Barrio, R., Periago, M. J., Luna-Recio, C., Garcia-Alonso, F. J., & Navarro-González, I. (2018). Chemical composition of the edible flowers, pansy (Viola wittrockiana) and snapdragon (Antirrhinum majus) as new sources of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 252, 373–380. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.102
- 30. Grzeszczuk, M.; Stefaniak, A.; Pachlowska, A. (2016). Biological value of various edible flower species. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus., 15, 109-119.
- 31. Güneş, E., and Özkan, M. (2018). Insects as Food and Feed in The Turkey: Current Behaviours. Int. J. Environ. Pollut. Environ. Model., 1 (1), 10-15.
- 32. Gutiérrez-Grijalva, E.P.; Ambriz-Pere, D.L.; Leyva-Lopez, N.; Castillo-Lopez, R.I.; Heiedia, J.B. (2016). Review: dietary phenolic compounds, health benefits and bioaccessibility. Arch. Latinoam. Nutr., 66 (2), 87-100.
- 33. Hassan, L., Bagudo, B., Aliero, A., Umar, K., & Sani, N. (2011). Evaluation of Nutrient and Anti-nutrient Contents of <i>Parkia biglobosa</i> (L.) Flower. *Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences*, 19(1). DOI: 10.4314/njbas.v19i1.69347

- 34. Hellinger, R., Koehbach, J., Fedchuk, H., Sauer, B., Huber, R., Gruber, C. W., & Gründemann, C. (2014). Immunosuppressive activity of an aqueous Viola tricolor herbal extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(1), 299–306. DOI: 10.1016/j.jep.2013.10.044
- 35. Hnin, K. K., Zhang, M., Ju, R., & Wang, B. (2021). A novel infrared pulse-spouted freeze drying on the drying kinetics, energy consumption and quality of edible rose flowers. *LWT*, *136*, 110318. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110318
- 36. Huang, W., Mao, S., Zhang, L., Lu, B., Zheng, L., Zhou, F., Zhao, Y., & Li, M. (2017a). Phenolic compounds, antioxidant potential and antiproliferative potential of 10 common edible flowers from China assessed using a simulated *in vitro* digestion-dialysis process combined with cellular assays. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(14), 4760–4769. DOI: 10.1002/jsfa.8345
- 37. Huang, W., Mao, S., Zhang, L., Lu, B., Zheng, L., Zhou, F., Zhao, Y., & Li, M. (2017b). Phenolic compounds, antioxidant potential and antiproliferative potential of 10 common edible flowers from China assessed using a simulated *in vitro* digestion-dialysis process combined with cellular assays. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(14), 4760–4769. DOI: 10.1002/jsfa.8345
- 38. Kaisoon, O., Konczak, I., & Siriamornpun, S. (2012). Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. *Food Research International*, 46(2), 563–571. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.06.016
- 39. Karimi, E., Oskoueian, E., Hendra, R., Oskoueian, A., & Jaafar, H. Z. E. (2012). Phenolic Compounds Characterization and Biological Activities of Citrus aurantium Bloom. *Molecules*, *17*(2), 1203–1218. DOI: 10.3390/molecules17021203
- 40. Kelley, K. M., Behe, B. K., Biernbaum, J. A., & Poff, K. L. (2001). Consumer Preference for Edible-flower Color, Container Size, and Price. *HortScience*, *36*(4), 801–804. DOI: 10.21273/hortsci.36.4.801
- 41. Kim, H. G., Oh, H. J., Ko, J. H., Song, H. S., Lee, Y. G., Kang, S. C., Lee, D. Y., & Baek, N. I. (2019). Lanceoleins A–G, hydroxychalcones, from the flowers of Coreopsis lanceolata and their chemopreventive effects against human colon cancer cells. *Bioorganic Chemistry*, 85, 274–281. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.01.003
- 42. Kou, L., Turner, E. R., & Luo, Y. (2012). Extending the Shelf Life of Edible Flowers with Controlled Release of 1-Methylcyclopropene and Modified Atmosphere Packaging. *Journal of Food Science*, 77(5), S188–S193. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2012.02683.x
- 43. Kumari, P., Ujala, & Bhargava, B. (2021). Phytochemicals from edible flowers: Opening a new arena for healthy lifestyle. *Journal of Functional Foods*, 78, 104375. DOI: 10.1016/j.jff.2021.104375
- 44. Kwon, J. H., Oh, H. J., Lee, D. S., In, S. J., Seo, K. H., Jung, J. W., Cha, B. J., Lee, D. Y., & Baek, N. I. (2019). Pharmacological activity and quantitative analysis of flavonoids isolated from the flowers of Begonia semperflorens Link et Otto. *Applied Biological Chemistry*, 62(1). DOI: 10.1186/s13765-019-0416-6
- 45. Lara-Cortés, E.; Osorio-Díaz, P.; Jiménez-Aparicio, A.; Bautista-Bañios, S. (2013). [Nutritional content, functional properties and conservation of edible flowers. Review]. Arch. Latinoam. Nutr., 63 (3), 197-208.
- 46. Lee, M. H., Nam, T. G., Lee, I., Shin, E. J., Han, A. R., Lee, P., Lee, S. Y., & Lim, T. G. (2018). Skin anti-inflammatory activity of rose petal extract (*Rosa gallica*) through reduction of MAPK signaling pathway. *Food Science &Amp; Nutrition*, 6(8), 2560–2567. DOI: 10.1002/fsn3.870
- 47. Li, A. N., Li, S., Li, H. B., Xu, D. P., Xu, X. R., & Chen, F. (2014). Total phenolic contents and antioxidant capacities of 51 edible and wild flowers. *Journal of Functional Foods*, 6, 319–330. DOI: 10.1016/j.jff.2013.10.022
- 48. Li, Y., Hao, Y., Gao, B., Geng, P., Huang, H., Yu, L., Choe, U., Liu, J., Sun, J., Chen, P., Wang, T. T., & Yu, L. L. (2019). Chemical profile and in vitro gut microbiota modulatory, anti-inflammatory and free radical scavenging properties of chrysanthemum morifolium cv. Fubaiju. *Journal of Functional Foods*, 58, 114–122. DOI: 10.1016/j.jff.2019.04.053
- 49. Lin, J. T., Chang, Y. Y., Chen, Y. C., Hu, C. C., Chang, Y. P., Hsu, S. H., & Yang, D. J. (2015). Induction of apoptotic death of human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells by ethanolic extract from litchi

- (Litchi chinensis Sonn.) flower. *Journal of Functional Foods*, 19, 100–109. DOI: 10.1016/j.jff.2015.08.023
- 50. Liu, Z., Cheng, Z., He, Q., Lin, B., Gao, P., Li, L., Liu, Q., & Song, S. (2016). Secondary metabolites from the flower buds of Lonicera japonica and their in vitro anti-diabetic activities. *Fitoterapia*, 110, 44–51. DOI: 10.1016/j.fitote.2016.02.011
- 51. Loizzo, M. R., Pugliese, A., Bonesi, M., Tenuta, M. C., Menichini, F., Xiao, J., & Tundis, R. (2015). Edible Flowers: A Rich Source of Phytochemicals with Antioxidant and Hypoglycemic Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(12), 2467–2474. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b03092
- 52. 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(sup1), S130–S148. DOI: 10.1080/10408398.2015.1078276
- 53. Matyjaszczyk, E., & Śmiechowska, M. (2019). Edible flowers. Benefits and risks pertaining to their consumption. *Trends in Food Science &Amp; Technology*, 91, 670–674. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.07.017
- 54. Meurer, M. C., Mees, M., Mariano, L. N. B., Boeing, T., Somensi, L. B., Mariott, M., da Silva, R. D. C. M. V. D. A. F., dos Santos, A. C., Longo, B., Santos França, T. C., Klein-Júnior, L. C., de Souza, P., de Andrade, S. F., & da Silva, L. M. (2019). Hydroalcoholic extract of Tagetes erecta L. flowers, rich in the carotenoid lutein, attenuates inflammatory cytokine secretion and improves the oxidative stress in an animal model of ulcerative colitis. *Nutrition Research*, 66, 95–106. DOI: 10.1016/j.nutres.2019.03.005
- 55. Mikołajczak, N., Sobiechowska, D. A., & Tańska, M. (2020). Edible flowers as a new source of natural antioxidants for oxidative protection of cold-pressed oils rich in omega-3 fatty acids. *Food Research International*, *134*, 109216. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109216
- 56. Mlcek, J., & Rop, O. (2011). Fresh edible flowers of ornamental plants A new source of nutraceutical foods. *Trends in Food Science & Technology*, 22(10), 561–569. DOI: 10.1016/j.tifs.2011.04.006
- 57. Moore, D. J. (2014). Is anticipation delicious? Visceral factors as mediators of the effect of olfactory cues on purchase intentions. *Journal of Business Research*, 67(9), 2045–2051. DOI: 10.1016/j.jbusres.2013.10.005
- 58. 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. DOI: 10.1016/j.ijgfs.2020.100235
- 59. Nanda, B.L. Antioxidant and Anticancer Activity of Edible Flowers. JDDT., 2019, 9, 290-295. DOI: 10.22270/jddt.v9i3-s.2996
- Navarro-González, I., González-Barrio, R., García-Valverde, V., Bautista-Ortín, A., & Periago, M. (2014). Nutritional Composition and Antioxidant Capacity in Edible Flowers: Characterisation of Phenolic Compounds by HPLC-DAD-ESI/MSn. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(1), 805–822. DOI: 10.3390/ijms16010805
- 61. Newman, S.E.; O'Cononor, A.S. (2013). Edible flowers. Colorado State University, Extensión. Fact sheet no.7.237.
- 62. Nguyen, C., Baskaran, K., Pupulin, A., Ruvinov, I., Zaitoon, O., Grewal, S., Scaria, B., Mehaidli, A., Vegh, C., & Pandey, S. (2019). Hibiscus flower extract selectively induces apoptosis in breast cancer cells and positively interacts with common chemotherapeutics. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1). DOI: 10.1186/s12906-019-2505-9
- 63. Nicolau, A.I.; Gostin, A.I. Safety of Edible Flowers. (2016). In Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods, 1st ed.; Praska, V.; Martín-Belloso, O.; Keener, L.; Bethan,-Astley, S.; Braun, S.; McMahon, H.; Lelieveld, H. Waltham, MA: Academic Press, Cambridge Massachusetts, United States, 395-419. DOI: 10.1016/B978-0-12-800605-4.00021-9
- 64. Oyeyemi, S.D., Arowosegbe, S., Famosa, M.A. (2017). Phytochemical constituents and nutritional evaluation of three selected edible flowers in Ado-Ekiti, Nigeria. Chem. Search Journal., 8 (1), 41-48.
- 65. Pereira, A. M., Cruz, R. R. P., Gadelha, T. M., Silva, L. G. F. D., Costa, F. B. D., & Ribeiro, W. S. (2020). Edible flowers: beauty, health and nutrition. *Research, Society and Development*, *9*(7), e336972994. DOI: 10.33448/rsd-v9i7.2994

- Pinakin, D. J., Kumar, V., Suri, S., Sharma, R., & Kaushal, M. (2020). Nutraceutical potential of tree flowers: A comprehensive review on biochemical profile, health benefits, and utilization. *Food Research International*, 127, 108724. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108724
- 67. Pinedo-Espinoza, J. M., Gutiérrez-Tlahque, J., Santiago-Saenz, Y. O., Aguirre-Mancilla, C. L., Reyes-Fuentes, M., & López-Palestina, C. U. (2020). Nutritional Composition, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Wild Edible Flowers Consumed in Semiarid Regions of Mexico. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(3), 413–419. DOI: 10.1007/s11130-020-00822-2
- 68. Pires, T. C. P., Barros, L., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2019). Edible flowers: Emerging components in the diet. *Trends in Food Science &Amp; Technology*, 93, 244–258. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.09.020
- 69. Pires, T. C., Dias, M. I., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2017). Nutritional and chemical characterization of edible petals and corresponding infusions: Valorization as new food ingredients. *Food Chemistry*, 220, 337–343. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.10.026
- Pires, T. C., Dias, M. I., Barros, L., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Oliveira, M. B. P., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2018). Edible flowers as sources of phenolic compounds with bioactive potential. *Food Research International*, 105, 580–588. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.11.014
- 71. Qureshi, S., Adil, S., Abd El-Hack, M., Alagawany, M., & Farag, M. (2017). Beneficial uses of dandelion herb (*Taraxacum officinale*) in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal*, 73(3), 591–602. DOI: 10.1017/s0043933917000459
- Rodrigues, H., Cielo, D., Goméz-Corona, C., Silveira, A., Marchesan, T., Galmarini, M., & Richards, N. (2017). Eating flowers? Exploring attitudes and consumers' representation of edible flowers. *Food Research International*, 100, 227–234. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.08.018
- 73. 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(6), 6672–6683. DOI: 10.3390/molecules17066672
- 74. Skrajda-Brdak, M., Dąbrowski, G., & Konopka, I. (2020). Edible flowers, a source of valuable phytonutrients and their pro-healthy effects A review. *Trends in Food Science &Amp; Technology*, 103, 179–199. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.06.016
- 75. Song, L., Wang, X., Zheng, X., & Huang, D. (2011). Polyphenolic antioxidant profiles of yellow camellia. *Food Chemistry*, *129*(2), 351–357. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.04.083
- 76. Sotelo, A., López-García, S., & Basurto-Peña, F. (2007). Content of Nutrient and Antinutrient in Edible Flowers of Wild Plants in Mexico. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(3), 133–138. DOI: 10.1007/s11130-007-0053-9
- 77. Takahashi, J. A., Rezende, F. A. G. G., Moura, M. A. F., Dominguete, L. C. B., & Sande, D. (2020). Edible flowers: Bioactive profile and its potential to be used in food development. *Food Research International*, 129, 108868. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108868
- 78. Tang, D., Liu, L., Ajiakber, D., Ye, J., Xu, J., Xin, X., & Aisa, H. A. (2018). Anti-diabetic Effect of Punica granatum Flower Polyphenols Extract in Type 2 Diabetic Rats: Activation of Akt/GSK-3β and Inhibition of IRE1α-XBP1 Pathways. *Frontiers in Endocrinology*, 9. DOI: 10.3389/fendo.2018.00586
- 79. Tian, Z., Jia, H., Jin, Y., Wang, M., Kou, J., Wang, C., Rong, X., Xie, X., Han, G., & Pang, X. (2019). Chrysanthemum extract attenuates hepatotoxicity via inhibiting oxidative stress in vivo and in vitro. *Food &Amp; Nutrition Research*, 63(0). DOI: 10.29219/fnr.v63.1667
- 80. Tiwari, B.K., Brunton, N.P., and Brennan, C.S. Sources of Phytochemicals. In Handbook of Plant Food Phytochemicals Source, Stability and Extraction, 1st ed.; Tiwari, B.K., Brunton, N.P., Brennan, C.S., Eds.; Wiley-Blackwell, New Jersey, United States, 2013, 105-137.
- 81. Villavicencio, A. L., Heleno, S. A., Calhelha, R. C., Santos-Buelga, C., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2018). The influence of electron beam radiation in the nutritional value, chemical composition and bioactivities of edible flowers of Bauhinia variegata L. var. candida alba Buch.-Ham from Brazil. *Food Chemistry*, 241, 163–170. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.08.093
- 82. Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2019). Phenolic Compounds. *Bioactive Compounds*, 33–50. DOI: 10.1016/b978-0-12-814774-0.00002-5

- 83. Wang, F., Miao, M., Xia, H., Yang, L. G., Wang, S. K., & Sun, G. J. (2016). Antioxidant activities of aqueous extracts from 12 Chinese edible flowers *in vitro* and *in vivo*. *Food &Amp; Nutrition Research*, 61(1), 1265324. DOI: 10.1080/16546628.2017.1265324
- 84. Xiong, L., Mao, S., Lu, B., Yang, J., Zhou, F., Hu, Y., Jiang, Y., Shen, C., & Zhao, Y. (2016). *Osmanthus fragrans* Flower Extract and Acteoside Protect Against d-Galactose-Induced Aging in an ICR Mouse Model. *Journal of Medicinal Food*, 19(1), 54–61. DOI: 10.1089/jmf.2015.3462
- 85. Xiong, L., Yang, J., Jiang, Y., Lu, B., Hu, Y., Zhou, F., Mao, S., & Shen, C. (2014). Phenolic Compounds and Antioxidant Capacities of 10 Common Edible Flowers from China. *Journal of Food Science*, 79(4), C517–C525. DOI: 10.1111/1750-3841.12404
- 86. Yang, H., & Shin, Y. (2017). Antioxidant compounds and activities of edible roses (Rosa hybrida spp.) from different cultivars grown in Korea. *Applied Biological Chemistry*, 60(2), 129–136. https://doi.org/10.1007/s13765-017-0261-4
- 87. Yang, P. F., Yang, Y. N., Feng, Z. M., Jiang, J. S., & Zhang, P. C. (2019). Six new compounds from the flowers of Chrysanthemum morifolium and their biological activities. *Bioorganic Chemistry*, 82, 139–144. DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.10.007
- 88. Zeng, Y., Deng, M., Lv, Z., & Peng, Y. (2014). Evaluation of antioxidant activities of extracts from 19 Chinese edible flowers. *SpringerPlus*, 3(1). DOI: 10.1186/2193-1801-3-315
- 89. Zhao, L., Fan, H., Zhang, M., Chitrakar, B., Bhandari, B., & Wang, B. (2019). Edible flowers: Review of flower processing and extraction of bioactive compounds by novel technologies. *Food Research International*, 126, 108660. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108660
- 90. Zheng, J., Yu, X., Maninder, M., & Xu, B. (2018). Total phenolics and antioxidants profiles of commonly consumed edible flowers in China. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1524–1540. DOI: 10.1080/10942912.2018.1494195

Capítulo III.

Caracterización de flores comestibles

A) Caracterización nutricional, funcional y actividad antioxidante de flores de Cactáceas de Hidalgo, México

Resumen

Las flores han sido utilizadas tradicionalmente en la elaboración de diversos platillos para mejorar aspectos sensoriales de los alimentos. El objetivo de la investigación fue evaluar la composición nutrimental, funcional e identificación de los principales metabolitos por HPLC/ESI/MS de flores de cactáceas, como posible fuente de compuestos bioactivos y determinar su posible utilización en la industria alimentaria. Los resultados mostraron que los componentes más abundantes en las flores fueron los carbohidratos, seguido de cenizas y proteínas. La mayor capacidad antioxidante DPPH* y ABTS*+ se observó en *Echinocereus cinerascens* con valores de 255.08 y 392.65 µM Equivalentes Trolox/g de p.s. respectivamente, correlacionado con el contenido de compuestos fenólicos. Se detectaron 44 compuestos en total, de los cuales los principales corresponden a compuestos como la quercetina e isoramnetina, así como sus derivados de ambos compuestos, ácido protocatéquico y apigenina. Este estudio indica que las flores de Cactáceas podrían ser una fuente de nutrientes; además, la diversidad de compuestos y sus buenas propiedades antioxidantes sugieren que deben ser consideradas como nuevas fuentes de compuestos antioxidantes naturales de productos funcionales.

Palabras clave: cactáceas, flores comestibles, composición nutricional, compuestos bioactivos

3.1. Introducción

En los últimos años, se ha generado un gran interés por la incorporación de flores comestibles en la alimentación humana (Matyjaszcyl *et al.*, 2019), desempeñando un papel importante en la preparación de alimentos, frecuentemente utilizadas como guarnición fresca en diversos platillos o como ingrediente principal en mermeladas, pasteles, yogures, postres y helados e incluso consumidas directamente como vegetales (Takahashi *et al.*, 2020), lo anterior, con la intención de mejorar el aspecto visual, color, sabor y valor nutritivo de los alimentos (Fernandes *et al.*, 2017). A través de la historia, se ha documentado el empleo de flores durante siglos en las culturas romanas, chinas, indias y de medio oriente principalmente en la elaboración de alimentos en muchos países del mundo (Fernandes *et al.*, 2017).

El reciente interés por incluir flores comestibles en la dieta humana, se debe principalmente al aporte nutrimental y a los posibles efectos benéficos a la salud en el sistema inmunológico, prevención de algunas enfermedades asociadas al estrés oxidativo como las enfermedades cardiovasculares, cognitivas y algunos tipos de cáncer (Grzeszczuk *et al.*, 2016, Nanda 2019), efectos altamente asociados a compuestos bioactivos como los fenólicos, flavonoides, antocianinas, carotenos, terpenoides, alcaloides, vitaminas, minerales, péptidos y aceites esenciales (Kumari *et al.*, 2021; Zheng *et al.*, 2021). Además, se ha demostrado que las flores poseen actividades biológicas como antioxidantes, antibacterial y antiproliferativos (Pires *et al.*, 2018), antiobesidad, hipoglucemiantes, neuroprotectores, hepatoprotectores, gastroprotectores y antiinflamatorios (Kumari *et al.*, 2021, Pires *et al.*, 2018).

Las cactáceas son plantas originarias de América del Norte, con flores que también se utilizan en la alimentación. Las Cactáceas comprenden alrededor de 1500 especies de las cuales en México se encuentran aproximadamente 700 especies, agrupadas en 68 géneros. Se consideran parte importante de la vegetación de tierras áridas y semiáridas, representando un papel importante en la cultura y las poblaciones humanas, donde los pueblos indígenas utilizan más de 150 especies de cactáceas, siendo 50 de ellas las más cultivadas para diversos fines (Salazar *et al.*, 2020). Entre ellos, se cultivan flores para consumo humano como agave, garambullo y aloe (Pinedo-Espinoza *et al.*, 2020); estos tienen altos contenidos de compuestos fenólicos, ácido ascórbico y carotenoides, a los que se atribuyen buenas capacidades antioxidantes.

De acuerdo a la literatura la importancia etnobotánica de los cactus (penca y frutos) incluyen su uso como alimento, medicina, entre otros. Sin embargo, las flores de cactáceas generalmente son consideradas como un subproducto y no son aprovechadas, en gran parte por que no se dispone de un historial de consumo como un nuevo posible ingrediente alimenticio sin riesgo para la salud, además de los pocos estudios relacionados con los compuestos bioactivos presentes en las flores de cactáceas que promuevan un mejor aprovechamiento de estas especies de flores y considerarlas alternativas como ingredientes o alimentos funcionales.

En México, en el estado de Hidalgo, existe una superficie de zonas áridas del 39 % (Olson *et al.*, 2001), donde prosperan cactáceas como cardón (*Cylindropuntia rosea*), xoconostle variedad ulapa (*Opuntia oligacantha*), xoconostle variedad cuaresmeño rosado (*Opuntia*

matudae), y Pitaya (*Echinocereus cinerascens*) son muy comunes. Estas Cactáceas son comercialmente importantes principalmente por sus frutos, aunque las flores también se utilizan como alimento principalmente en comunidades indígenas en diferentes platillos tradicionales, y consumidas por los animales como forraje (Pérez-Escandón *et al.*, 2003). Sin embargo, en su aporte a la dieta y como beneficio para la salud de quienes los consumen, se desconocen sus propiedades nutracéuticas. Asimismo, el uso de estas flores se ve limitado por la dificultad de su aplicación como posible ingrediente alimentario y la escasa información de su potencial nutricional y funcional. Con ello, no existen datos sobre la identificación de compuestos tóxicos o factores alergénicos y antinutricionales que puedan comprometer la salud del consumidor, o garantizar las cantidades seguras para el consumo. Con el fin de obtenerlos primeros conocimientos sobre las flores de cardón, xoconostle y pitaya como posible fuente de compuestos bioactivos para su uso en la industria alimentaria, el objetivo de la investigación fue evaluar su composición nutricional, funcional y la identificación de sus metabolitos principales por HPLC/ESI/MS.

3.2. Materiales y Métodos

3.2.1. Material vegetal

Se recolectaron flores de cardón (CA) (*Cylindropuntia rosea*), xoconostle var. ulapa (XU) (*Opuntia oligacantha*), xoconostle var. cuaresmeño rosado (XC) (*Opuntia matudae*) y pitaya (PI) (*Echinocereus cinerascens*) en el municipio de Tetepango, Hidalgo, México, el cual se localiza, a una latitud Norte de 20°06'38", longitud Oeste de 99°09'11" y a una altura sobre el nivel del mar de 2100 metros.

Las flores se recolectaron, se almacenaron en un ultracongelador a -76 °C (modelo 703 Thermo-Scientific, Outside, MA, USA), y posteriormente fueron liofilizadas (modelo 79480 LABCONCO, Kansas City, MI, USA), y molidas usando un molino de cuchillas (Knife Mill Grindomix GM 200; Hahn, Germany), las muestras se almacenaron a 5 °C hasta su posterior análisis.

3.2.2. Preparación de la muestra

Para la determinación de compuestos antioxidantes y actividad antioxidante, 0.1 g de muestra liofilizada se mezcló en 10 mL de disolvente etanol: agua (70:30, v/v) y ultrasonicado durante 15 min a una frecuencia de 40 kHz a 25 °C (modelo 32V118A Ultrasonicator bath LSS, China), posteriormente centrifugado a 16500 x g durante 10 min a 5 °C (Centrifuge Thermo-Scientific, ST 16R, Osterode am Harz, Germany). El sobrenadante fue utilizado para los análisis correspondientes.

3.2.3. Composición nutricional

Los métodos oficiales de la AOAC (2005), fueron utilizados para el análisis de humedad (925.09), grasas (983.23), proteínas (950.48), cenizas (930.05) y fibra cruda (985.29,

993.21). Los carbohidratos totales se calcularon por diferencia. La energía se determinó mediante la ecuación descrita por Chahdoura *et al.* (2015).

$$Energia = \frac{kJ}{100 \ g \ peso \ fresco} = \left[(4) \left(g_{proteina} + g_{carbohidratos} \right) + (2) \left(g_{fibra} \right) + (9) \left(g_{grasa} \right) \right] [4.184]$$

3.2.4. Determinación de carotenoides totales

Se evaluaron las fracciones isocromáticas rojas (capsantina y capsorrubina) y amarillas (β-caroteno, β-criptoxantina, zeaxantina) de los carotenoides totales según Hornero-Mendez y Minguez-Mosquera (2001). El solvente usado para la preparación de la muestra fue acetona al 80%. Las absorbancias de las muestras se midieron con un espectrofotómetro a 472 nm y 508 nm, respectivamente. Los valores de las mediciones de carotenoides rojos y amarillos se expresaron como mg/g de peso seco.

3.2.5. Determinación de clorofila

La clorofila a, b y la total fue determinada de acuerdo a la metodología descrita por Witham *et al.* (1971), con ligeras modificaciones. La muestra se preparó utilizando acetona al 80%. La absorbancia se obtuvo usando un espectrofotómetro a 645 y 663 nm (modelo 6715 UV-Vis Jenway spectrophotometer, Staffordshire, USA). Los resultados fueron expresados en mg de clorofila por gramos de peso (mg/g de peso seco).

3.2.6. Determinación de ácido ascórbico

El contenido de ácido ascórbico se evaluó según lo establecido por Dürüst *et al.* (1997) con ligeras modificaciones. Las muestras (0.1 g) fueron preparadas con 10 mL de ácido tricloroacético al 3% (v/v). Las muestras se sometieron a ultrasonicación (modelo 3510 Branson, China) durante 15 min a una frecuencia de 40 kHz. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 10000 x g durante 10 min; luego, se tomaron 2 mL del sobrenadante a los cuales se le agregaron 2 mL de la solución tampón de acetato (pH 4). Enseguida, se agregaron 3 mL de dicloroindofenol y 15 mL de xileno. Las mediciones se realizaron a 520 nm en un espectrofotómetro (modelo 6715 UV-Vis Jenway, Techne Inc., Staffordshire, UK). Los resultados se expresaron como miligramos de ácido ascórbico por gramos de peso seco (mg AA/g peso seco).

3.2.7. Determinación de fenoles totales

El contenido fenólico total se determinó por el método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton y Rossi (1965). El solvente empleado para la preparación de las muestras fue etanol al 80%. Posteriormente, 0.5 mL de la muestra se mezcló con 0.5 mL del reactivo Folin-Ciocalteu al 50% en agua. La mezcla se dejó reposar durante 7 min, después se le agregó 1.5 mL de carbonato de sodio al 7.5% y la mezcla se dejó reaccionar en la oscuridad durante 60 min. La absorbancia se determinó a 725 nm usando un espectrofotómetro (modelo 6715 UV-

Vis Jenway, USA). Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico (mg EAG)/g de peso seco.

3.2.8. Determinación de flavonoides totales

Los flavonoides se determinaron de acuerdo al método descrito por Rosales *et al.* (2011), usando el mismo solvente descrito anteriormente en la preparación de la muestra. Brevemente, 2mL de la muestra se mezcló con 1.5 mL de nitrito de sodio y 2 mL de agua, esta mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 5 min. Se añadió a la mezcla 1.5 mL de tricloruro de aluminio y 1 mL de hidróxido de sodio y se dejó reposar durante otros 20 min. La absorbancia se determinó a 415 nm usando un espectrofotómetro (modelo 6715 UV-Vis Jenway, USA). Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de quercetina (mg EQ)/g de peso seco.

3.2.9. Evaluación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó empleando el método DPPH* (2,2-diphenyl-1-picrylhydraill) y ABTS*+ (2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid). El solvente utilizado para la preparación de la muestra fue etanol al 80 %. Los resultados se expresaron como μM de equivalentes Trolox (μM ET)/g peso seco. El método DPPH* (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) se realizó de acuerdo a lo establecido por Brand-Williams *et al.* (1995). Brevemente, 0.3 mL de muestra se mezcló con 2.7 mL de DPPH* (6 x 10⁻⁵ M). La mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 1 h a 4 °C, la absorbancia se determinó a 517 nm (A₅₁₇).

El método ABTS^{*+} se realizó de acuerdo a lo establecido por Re *et al.* (1999). El radical ABTS^{*+} se produjo mezclando una solución de ABTS^{*+} a 7 mM con 10 mL de persulfato de potasio a 2.45 mM en completa oscuridad durante 16 h con agitación constante. El radical ABTS^{*+} se diluyó en etanol al 80 % para las muestras, hasta alcanzar un valor de absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 734 nm. Se tomaron 3.9 mL de radical ABTS^{*+} diluido y se mezcló con 0.1 mL de muestra, posteriormente se dejó reposar durante 6 min en la oscuridad. La absorbancia de la mezcla se determinó a 734 nm.

3.2.10. Extracción y purificación de compuestos fenólicos

Los extractos fueron obtenidos de acuerdo al procedimiento descrito por Ascacio-Valdés *et al.* (2010). La extracción de los compuestos fenólicos se realizó empleando una mezcla de etanol:agua (70:30, v/v), con relación masa-volumen 1:16 por medio de ultrasonido a 40 kHz (Branson, Mod. 2510, Marsall Scientific, New Hampshire, USA) durante 20 minutos. Los extractos fueron filtrados y posteriormente procesados por cromatografía líquida en columna con Amberlite XAD-16, para recuperar la fracción polifenólica. En primera instancia se realizaron eluciones con agua destilada, enseguida se utilizó etanol para recuperar la fracción fenólica de interés.

3.2.11. Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS

Los compuestos obtenidos después de la cromatografía líquida con Amberlite XAD-16 fueron analizados por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en un sistema Varian HPLC, que incluye un inyector automático (VarianProStar 410, USA), una bomba ternaria (VarianProStar 230I, USA) y un detector de matriz de fotodiodos (PDA) (VarianProStar 330, Palo Alto, CA, USA). Se usó un espectrómetro de masas con trampa de iones de cromatografía líquida (Varian 500-MS IT Mass Spectrometer, CA, USA) equipado con una fuente de iones electrospray. Se inyectaron muestras (5 µL) en una columna Denali C18 (150 mm x 2.1 mm, 3 µm, Grace, USA). La temperatura del horno se mantuvo a 30 °C. Los eluyentes fueron ácido fórmico (0.2 %, v/v; solvente A) y acetonitrilo (solvente B). Se aplicó el siguiente gradiente: inicial 3 % de B; 0-5 min, 9 % B lineal; 5-15 min, 16 % B lineal; 15-45 min; 50 % B lineal. La columna se lavó y reacondicionó. La velocidad de flujo se mantuvo a 0.2 mL/min y la elución de compuestos fenólicos se controló a 245, 280, 320 y 550 nm. Todo el efluente (0.2 mL/min) se inyectó en la fuente del espectrómetro de masas, sin división. Todos los experimentos del espectrómetro de masas se realizaron en modo negativo [M-H]⁻¹. Se utilizó nitrógeno como gas nebulizador y helio como gas de amortiguación. Los parámetros de la fuente de iones fueron: voltaje de pulverización 5.0 kV y, el voltaje y la temperatura capilar fueron 90.0 V y 350 °C, respectivamente. Los datos fueron colectados y procesados utilizando el software MS Workstation (V 6.9).

3.2.12. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el software JMP.5.0.1 (A Business Unit of SAS, Statistics Analysis System, v. 9.0). Los datos se analizaron empleando el análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparaciones múltiples de Tukey con nivel de significancia $p \le 0.05$ para establecer las diferencias significativas entre las muestras. Los valores se expresaron como la media \pm desviación estándar, todos los experimentos se realizaron por triplicado.

3.3. Resultados y Discusión

3.3.1. Composición nutricional

La composición nutricional de las flores se observa en la Tabla 8. Un mayor contenido de humedad se encontró en xoconostle var. cuaresmeño rosado (XC) (6.72 g/100 g de peso seco) y el menor contenido (4.45 g/100 g de peso seco) en flores de cardón (CA).

En general las flores tenían mayor contenido de carbohidratos, seguido de cenizas y proteínas. El contenido de carbohidratos osciló de 55.83 g/100 g p.s. (PI) a 67.44 g/100 g p.s. (CA). Estos valores son superiores a los reportados por Ammar *et al.* (2014) en flores de nopal (*Opuntia ficus-indica* L.) y nopal tunero (*Opuntia stricta*), y por Navarro-González *et al.* (2014) en flores de paracress (*Spilanthes oleracea* L.), capuchina (*Tropaeolum majus* L.) y cempasúchil (*Tagetes erecta* L.). Sin embargo, Fernandes *et al.* (2017) reportaron valores similares en flores comestibles de erythrina (*Erythrina caribaea*) y rosa rugosa (*Rosa*

micrantha). Mientras que Pires *et al.* (2017) en flores de caléndula (*Calendula officinalis* L.), dalia (*Dahlia mignon*), rosa de Damasco (*Rosa x damascena*) y aciano (*Centaurea cyanus* L.) reportaron valores superiores.

El contenido de cenizas osciló de 11.21 g/100 g p.s. (CA) a 17.73 g/100 g p.s. (xoconostle ulapa (XU)). Se encontró un contenido de cenizas relativamente alto en comparación con los valores informados por González-Barrio *et al.* (2018) en flores de pensamiento (*Viola x wittrockiana*) y dragoncillo (*Antirrhinum majus* L.) y Pinedo-Espinoza *et al.* (2020) en flores de agave (*Agave salmiana*), sábila (*Aloe vera*), colorín (*Erythrina americana*) y garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Por otro lado, Fernandes *et al.* (2020) reportaron valores más altos en flores de borraja azul (*Borago officinalis* L.) y en variedades de flores de pensamiento (*Viola x wittrockiana*).

Los resultados del contenido de proteínas y grasas, fueron consistente con lo reportado por Ammar *et al.* (2014) en flores de nopal (*Opuntia ficus-indica* L.) y nopal tunero (*Opuntia stricta*). Por otro lado, Pires *et al.* (2017) reportaron en flores de aciano (*C*entaurea *cyanus* L.), dalia (*Dahlia mignon*), Caléndula (*C*alendula *officinalis* L.), rosa de Damasco (*R*osa *x damascena*) un contenido de proteínas más bajo. Sin embargo, el contenido de grasa fue muy similar a los valores reportados en la Tabla 8.

En otro estudio, reportaron contenidos más altos de proteínas y grasas en flores de capuchina (*Tropaeolum majus* L.), Begonia (*Begonia x semperflorens*) y cosmos amarillo (*Cosmos sulphureus*) (Chensom *et al.*, 2019).

Mientras que los resultados obtenidos para fibra cruda con valores de 8.47 g/100 g p.s. (CA) a 11.52 g/100 g p.s. (XU, PI) fueron inferiores a los reportados por Ammar *et al.* (2014) en flores de nopal (*Opuntia ficus-indica* L.) y nopal tunero (*Opuntia stricta*) y González-Barrio *et al.* (2018) en flores de pensamiento (*Viola x wittrockiana*) y dragoncillo (*Antirrhinum majus* L.). Sin embargo, fueron semejantes a los valores reportados en flores de agave (*Agave salmiana*), sábila (*Aloe vera*), colorín (*Erythrina americana*) y garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) por Pinedo-Espinosa *et al.* (2020).

Tabla 8. Composición nutricional de flores de cactáceas de Hidalgo, México

	Flor								
Componente		Xoconostle	Xoconostle	E. cinerascens					
(g/100 g de peso seco)	C. rosea	'ulapa'	'cuaresmeño'						
		O. oligacantha	O. matudae						
Proteínas	10.93 ± 0.10^{b}	10.50 ± 0.15^{b}	9.52 ± 0.34^{c}	13.64 ± 0.23^{a}					
Grasas	$1.96b \pm 0.15^{b}$	2.94 ± 0.25^a	2.30 ± 0.19^{ab}	2.18 ± 0.08^b					
Carbohidratos	67.44 ± 0.45^{a}	57.31 ± 0.86^{c}	61.20 ± 0.63^{b}	55.83 ± 0.11^{c}					
Fibra cruda	8.47 ± 0.14^b	11.52 ± 0.46^{a}	10.29 ± 0.40^{a}	11.52 ± 0.12^{a}					
Cenizas	11.21 ± 0.04^{c}	17.73 ± 0.10^{a}	16.68 ± 0.04^{b}	16.83 ± 0.35^{b}					
Energía	1456.22 ± 1.45	1338.97 ± 2.59	1356.63 ± 1.54	1341.01 ± 9.06					

Cardón (*Cylindropuntia rosea*), xoconostle var. ulapa (*Opuntia oligacantha*), xoconostle var. cuaresmeño rosado (*Opuntia matudae*), pitaya (*Echinocereus cinerascens*). Los valores representan la media \pm desviación estándar (n=3). Valores con diferentes letras en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ($p \le 0.05$) de acuerdo con la prueba de Tukey de comparación múltiple de medias.

Las flores presentaron altos valores energéticos superior a los 1300 kJ/100 g de peso fresco, lo anterior, se debió al alto contenido de carbohidratos presente en las muestras (superior al 55 %). De acuerdo con los resultados obtenidos, las flores de cactáceas podrían considerarse como una fuente alternativa proteica en la dieta, debido a su alto contenido en comparación con otras flores y vegetales.

En estudios previos se ha demostrado que las flores comestibles son fuente nutricional complementaria, de composición similar a la de otros alimentos vegetales, se caracterizan por bajo contenido de lípidos, contenido medio de proteínas y fibra, y contenidos variables de carbohidratos y minerales (Pires *et al.*, 2017; González-Barrio *et al.*, 2018; Chensom *et al.*, 2019).

3.3.2. Contenido de carotenoides totales

Los contenidos de compuestos antioxidantes de las flores se observan en la Tabla 9. El contenido de carotenoides rojos (capsantina y capsorrubina) y amarillos (β-caroteno, βcriptoxantina y zeaxantina) fueron determinados. Los carotenoides rojos fueron los pigmentos con mayor presencia en las flores, con valores de 0.16 mg/g p.s. (XU) a 0.24 mg/g p.s. (PI), mientras que los carotenoides amarillos únicamente fueron detectados en XC con un contenido mínimo de 0.02 mg/g p.s. Hasta ahora, no se tiene informes del contenido de carotenoides en estas especies de cactáceas, no obstante, existen estudios previos en otras flores comestibles, Chensom et al. (2019) reportaron carotenoides amarillos en flores de cosmos amarillo (Cosmos sulphureus) y primavera (Primula x polyantha). Pinedo-Espinosa et al. (2020) reportó contenidos más altos de carotenoides rojos y amarillos en flores de agave (Agave salmiana), sábila (Aloe vera), colorín (Erythrina americana) y garambullo (Myrtillocactus geometrizans). Los contenidos de carotenoides totales que se observa en la Tabla 9 son similares a los reportados en flores de pensamiento (Viola x wittrockiana) y dragoncillo (Antirrhinum majus L.) (González-Barrio et al., 2018). Sin embargo, en flores de pitito (Tropaeolum pentaphyllum), aciano (Centaurea cyanus L.), saúco (Sambucus nigra L.), manzanilla (Matricaria L.) y vulneraria (Anthyllis vulneraria L.) se encontraron menores contenidos según lo reportado por De Bona et al. (2017) y Nowicka et al. (2019).

Resultados similares han sido obtenidos en otros estudios, con variabilidad de contenido de acuerdo a la especie de la flor en estudio (Kamalambigeswari y Rebeca, 2016). Estos compuestos se encuentran en todas las partes anatómicas de la flor: sépalos, polen, anteras, estambres y pétalos (Britton, 2008). El consumo de alimentos ricos en carotenoides, incluyendo flores comestibles, pueden aliviar los síntomas de retinopatía diabética, mejorar la peroxidación del glutatión y reducir el nivel de colesterol en sangre, en la última instancia, contribuyen a la protección eficiente de las enfermedades crónicas no transmisibles (González-Barrio *et al.*, 2018; Matêjková y Petříková, 2010).

Tabla 9. Compuestos antioxidantes en flores de cactáceas de Hidalgo, México.

Compuestos antioxidantes	Flor			
	C. rosea	Xoconostle 'ulapa'	Xoconostle 'cuaresmeño'	E. cinerascens
		O. oligacantha	O. matudae	
Carotenoides mg/g de ps				
Carotenoides rojos	0.26 ± 0.02^a	0.16 ± 0.01^{c}	0.20 ± 0.02^b	0.24 ± 0.01^{ab}
Carotenoides amarillos	ND	ND	0.02 ± 0.01	ND
Carotenoides totales	0.26 ± 0.02^a	0.16 ± 0.01^{c}	0.22 ± 0.01^{b}	0.24 ± 0.01^{ab}
Clorofila mg/g de ps				
Clorofila a	29.03 ± 1.06^{a}	16.43 ± 0.96^{d}	20.09 ± 1.19^{c}	25.52 ± 0.89^{b}
Clorofila b	36.99 ± 2.15^a	$21.52 \pm 2.25^{\circ}$	29.26 ± 2.35^{b}	32.92 ± 1.97^{ab}
Clorofila total	66.02 ± 3.21^{a}	$37.95 \pm 3.21^{\circ}$	49.35 ± 2.27^{b}	58.43 ± 2.75^{b}
Ácido ascórbico mg AA/g de ps	0.23 ± 0.06^{b}	0.12 ± 0.02^b	0.08 ± 0.02^b	11.41 ± 0.10^{a}
Fenoles totales mg EAG/g de ps	5.29 ± 0.02^{d}	7.01 ± 0.05^{c}	9.43 ± 0.01^{b}	44.63 ± 0.50^{a}
Flavonoides totales mg EQ/g de ps	9.93 ± 0.08^{d}	11.54 ± 0.04^{c}	12.96 ± 0.10^{b}	40.61 ± 0.64^{a}

Cardón ($C.\ rosea$), xoconostle var. ulapa ($O.\ oligacantha$), xoconostle var. cuaresmeño rosado ($O.\ matudae$), pitaya ($E.\ cinerascens$). AA, ácido ascórbico; EAG, equivalentes de ácido gálico; EQ, equivalentes de quercetina. Los valores representan la media \pm desviación estándar (n=3). ND= no detectado. Los valores representan la media \pm desviación estándar (n=3). Valores con diferentes letras en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ($p \le 0.05$) de acuerdo con la prueba de Tukey de comparación múltiple de medias.

3.3.3. Contenido de clorofila

El contenido de clorofila a en las flores osciló de 16.43 mg/g p.s. (XU) a 29.03 mg/g p.s. (CA) (Tabla 9). La clorofila b con valores que van de 21.52 mg/g p.s. (XU) a 36.99 mg/g p.s. (CA). Aunque no existen reportes previos del contenido de clorofila en estas muestras, De Bona *et al.* (2017) reportaron un contenido de clorofila a de 0.51 mg/g p.s. y clorofila b 0.95 mg/g p.s. en flores de pitito (*Tropaeolum pentaphyllum*).

3.3.4. Contenido de ácido ascórbico

Con relación al contenido de ácido ascórbico (Tabla 9), el mayor contenido fue detectado en las flores de PI con 11.41 mg Ácido Ascórbico (AA)/g p.s., mientras que el resto de las flores presentaron mínimas concentraciones. Los resultados en este estudio para flores de CA, XU y XC fueron menores en comparación con lo reportado en flores de capuchina (Tropaeolum majus L.) (Garzón y Wrolstad, 2009); agave (Agave salmiana), sábila (Aloe vera), colorín (Erythrina americana) y garambullo (Myrtillocactus geometrizans) (Pinedo-Espinoza et al., 2020). De manera similar, contenidos más altos de ácido ascórbico se reportaron en otras flores, incluida la bergamota silvestre (Monarda didyma L.), dragoncillo (Antirrhinum majus L.), clavelina china (Dianthus chinensis L.) y lirio de la mañana (Hemerocallis x hybrida) (Stefaniak y Grzeszczuk, 2019). Sin embargo, PI destaca por su alto contenido en ácido ascórbico en comparación con los datos reportados en la literatura en

flores comestibles. En este sentido, el ácido ascórbico se considera un compuesto orgánico natural, con poderosas propiedades antioxidantes y eliminador de radicales libres, biológicamente importante en la prevención de algunas enfermedades (Du *et al.*, 2012).

3.3.5. Contenido de fenoles totales

Se observaron diferencias significativas en el contenido de fenoles en flores de CA, XU y XC (Tabla 9). La mayor concentración de compuestos fenólicos se observó en PI, con un valor hasta ocho veces mayor con respecto a las flores de CA, XU y XC. Estos resultados son congruentes con lo reportado previamente en la literatura, Li et al. (2014) evaluaron 51 flores comestibles y reportó valores del contenido de fenoles de 0.13 a 11.48 mg de Equivalentes de Ácido Gálico (EAG)/g p.s. Por otra parte; Navarro-González et al. (2014) describieron valores entre 6.64 y 26.63 mg EAG/g ps en otras flores comestibles, sin embargo, los valores encontrados en este estudio resultaron ser inferiores a los reportados por Kaisoon et al. (2012), que informó valores de 138.2 a 212.9 mg EAG/g p.s. en flores de Tailandia. Previamente estudios han demostrado que las flores comestibles son fuente alternativa de compuestos fenólicos, y el alto contenido de compuestos fenólicos se ha correlacionado directamente con la actividad antioxidante (González-Barrio et al., 2018; Kaisoon et al., 2011; da Silva et al., 2020). Estos compuestos son ampliamente distribuidos en vegetales, frutas, cereales, y en flores comestibles (Tiwari et al., 2013; Chen et al., 2018), son importantes como compuestos antioxidantes y su capacidad de eliminación de radicales libres, con beneficios a la salud humana (Kumari et al., 2021; Vuolo et al., 2019).

3.3.6. Contenido de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales se observa en la Tabla 9, PI presentó mayor contenido en comparación con las flores de CA, XU y XC, con una diferencia de contenido de hasta 4 veces mayor. Las flores mostraron alta concentración en comparación con lo reportado por da Silva et al. (2020) en 22 tipos de flores de pensamientos (Viola x wittrockiana) y por Pineda-Espinosa et al. (2020) en flores de agave (Agave salmiana) y garambullo (Myrtillocactus geometrizans). Los flavonoides presentes en flores comestibles tienen importancia biológica, principalmente como antioxidantes con efectos protectores contra enfermedades cardiovasculares, actividad antitumoral, antiinflamación entre otras (Nanda, 2019; Kwon et al., 2019). Sin embargo, la actividad antioxidante de los flavonoides depende principalmente de su estructura química, donde juega un papel importante la posición y número de grupos hidroxilo o metoxilo en el anillo (Fan et al., 2012).

3.3.7. Actividad antioxidante

Los valores mediante el ensayo DPPH oscilaron de 11.23 a 255.08 µM de Equivalentes Trolox (ET)/g p.s. y en ABTS de 20.47 a 392.65 µM ET/g p.s. (Figura 1). Las flores de PI exhibieron una alta capacidad antioxidante en ambos métodos, con valores de 10 a 22 veces mayor que las flores de CA, XU y XC. Por otra parte, las flores de XU presentaron los valores

mínimos en ambos métodos. Los resultados del ensayo DPPH* mostraron alta actividad antioxidante en comparación con lo reportado por Zheng et al. (2018) en flores de pepino (Cucumis sativus L.), amaranto globoso (Gomphrena globosa L.) y lirio de día (Hermerocallis citrina). No obstante, fueron inferiores en comparación con lo reportado por Chen et al. (2015) en flores de ciruelo rojo (Prunus mume), amaranto globoso (Gomphrena globosa L.) y clavel (Dianthus caryophyllus L.), así como lo reportado por Barros et al. (2020) en flores de capuchina (Tropaeolum majus L.), paracress (Spilanthes oleracea L.) y amaranto (Amaranthus hypochondriacus L.). Sin embargo, la actividad antioxidante en pétalos de rosa de mayo (Rosa x centifolia), nomeolvides (Myosotis sylvatica) y rosa rugosa (Rosa rugosa) fue mayor que la encontrada en PI (Zheng et al., 2018).

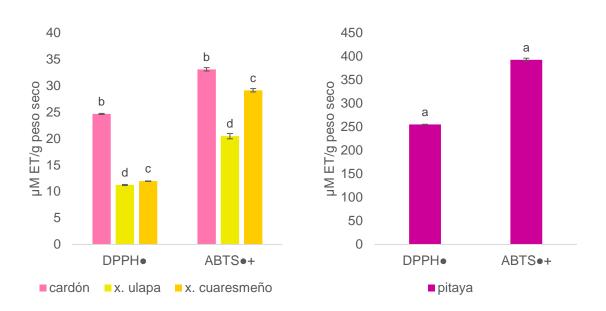


Figura 1. Actividad antioxidante (DPPH• y ABTS•+) de flores de cactus. Cardón: *C. rosea*, xoconostle var. ulapa: *O. oligacantha*, xoconostle var. cuaresmeño rosado: *O. matudae*, pitaya: *E. cinerascens*. Los resultados son expresados en μ M equivalentes de Trolox/g de peso seco. Los valores representan la media \pm desviación estándar (n=3). Los valores con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p \le 0.05$) de acuerdo con la prueba de Tukey.

Los valores obtenidos mediante el método ABTS* resultaron ser más altos en comparación con el método DPPH*, lo anterior, principalmente por la diferencia de sensibilidad entre ambos métodos (Gouveia y Castilho, 2012). La actividad antioxidante de las flores de cactus fue mayor en comparación con flores de azafrán (*Crocus sativus* L.) y amaranto globoso (*Gomphrena globosa* L.) reportado por Zheng *et al.* (2018), pero inferiores a lo reportado por Chen *et al.* (2015) en flores de amaranto globoso (*Gomphrena globosa* L.), caléndula (*Calendula officinalis* L.) y ciruelo rojo (*Prunus mume*) a excepción de PI.

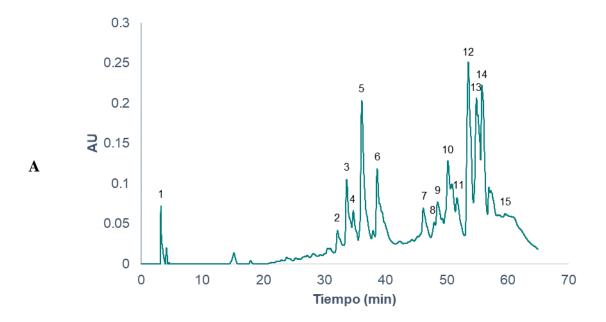
Las flores de PI, CA, XU y XC podrían considerarse fuentes ricas en compuestos antioxidantes con posibles efectos benéficos a la salud. Se ha demostrado que las flores

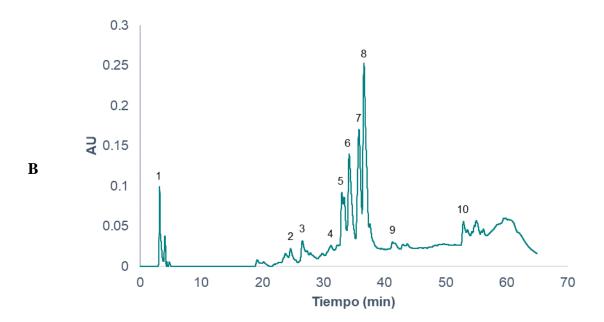
comestibles son ricas fuente de compuestos bioactivos como antocianinas, vitaminas, carotenoides, polifenoles y flavonoides (Kumari et al., 2021).

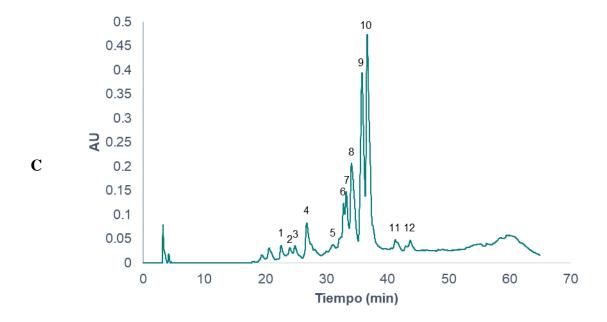
3.3.8. Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS

Los rendimientos de extracción de compuestos bioactivos obtenidos del extracto hidroalcohólico fueron 11.53 % para Cardón, 16.92 % para xoconostle var. ulapa, 12.18% para xoconostle var. cuaresmeño rosado y 27.23 % para pitaya. El perfil polifenólico de las flores se determinó por HPLC-ESI/MS. Para lograr la identificación de los compuestos en las flores, las determinaciones en el espectrómetro de masas (MS) se realizaron en modo de ionización negativa [M-H⁻¹]. Se logró detectar 28 compuestos totales, de los cuales 19 compuestos son únicos. Los principales compuestos identificados son flavonoles, flavonas, antocianinas, catequinas, ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, metoxiflavonas, ácidos metoxicinámicos, ácidos metoxiflavonoles, lignanos y trímeros de proantocianidina. La Tabla 10 muestra la identificación tentativa de compuestos fenólicos, donde los picos separados por HPLC/ESI/MS se identificaron de acuerdo a su peso molecular mediante la base de datos VARIAN Work Station (versión 2.0). En la Figura 2, se presentan los perfiles cromatográficos de compuestos fenólicos separados por HPLC/ESI/MS.

Se detectaron la presencia de 15 compuestos en CA, mientras que se identificaron 10, 12 y 7 compuestos en XU, XC y PI. Todas las eluciones fueron registradas a 280 nm. De acuerdo al cromatograma, los principales compuestos detectados en las flores de CA se identificaron como flavonoles (pico 12, con t_R 54.47 min y m/z 301, identificado como quercetina), seguido de ácidos hidroxibenzoicos (pico 14, con t_R 56.59 min y m/z 315, identificado como el 4-O-glucósido de ácido protocatecuico) y metoxiflavonas (pico 13, con t_R 55.73 y m/z 283, identificado como Geraldona).







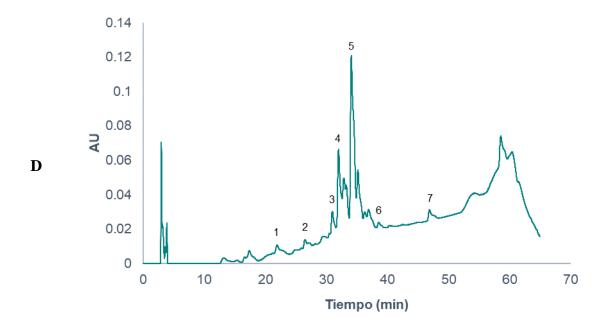


Figura 2. Perfil cromatográfico de los principales compuestos fenólicos de flores de catus de Hidalgo México. Observado a λ 280 nm. **A.** cardón (*C. rosea*), Picos 1, 10 y 15: ácidos hidroxicinámicos, 5: antocianinas, 2, 3, 4, 6 y 12: flavonoles, 7, 11 y 14: ácidos hidroxibenzoicos, 13: metoxiflavonas, 9: trimeros de proantocianidinas. **B.** xoconostle var. ulapa (*O. oligacantha*), Picos 1, 2 y 3: ácidos metoxicinámicos, 4 y 10: metoxiflavonas, 6: flavonoles, 7 y 8: metoxiflavonoles. **C.** xoconostle var. cuaresmeño rosado (*O. matudae*), Picos 1 y 2: ácidos metoxicinámicos, 4: lignanos, 5: metoxiflavonas, 8: flavonoles, 9 y 10: metoxiflavonoles, 12: antocianinas. **D.** pitaya (*E. cinerascens*), Picos 1 y 2: catequinas, 3, 4 y 5: flavanoles, 7: metoxiflavonoles.

Tabla 10. Identificación de compuestos polifenólicos por HPLC/ESI/MS de flores de cactáceas de Hidalgo, México.

2 33.25 710.7 3-O-(6"-malonil-glucósido) 7-O-glucósido de quercetina 3 34.59 608.8 3-O-xilosil-glucurónido de quercetina Flavo 4 35.62 462.8 3-O-glucósido de quercetina Flavo 5 37.08 504.8 3-O-(6"-acetil-glucósido) de peonidina Anto 6 39.53 488.8 3-O-acetil-ramnósido de quercetina Flavo 7 47.33 314.9 4-O-glucoside de ácido protocatecuico Acid hidro 8 48.70 1086.7 Desconocido Trím proa 49.49 894.8 Trímero de prodelfinidina GC-GC-C Trím proa Ácid hidro 51.90 358.8 Ácido rosmarínico Ácid hidro 11 52.46 299 4-O-glucósido de ácido 4- Ácid	oxicinámicos onoles onoles onoles ocianinas onoles dos oxibenzoicos neros intocianidina dos oxicinámicos
2 33.25 710.7 3-O-(6"-malonil-glucósido) 7-O-glucósido de quercetina 3 34.59 608.8 3-O-xilosil-glucurónido de quercetina Flavo 4 35.62 462.8 3-O-glucósido de quercetina Flavo 5 37.08 504.8 3-O-(6"-acetil-glucósido) de peonidina Anto 6 39.53 488.8 3-O-acetil-ramnósido de quercetina Flavo 7 47.33 314.9 4-O-glucoside de ácido protocatecuico Acid hidro 8 48.70 1086.7 Desconocido Trím proa 49.49 894.8 Trímero de prodelfinidina GC-GC-C Trím proa Ácid hidro 51.90 358.8 Ácido rosmarínico Ácid hidro 11 52.46 299 4-O-glucósido de ácido 4- Ácid hidro 11 52.46 299 4-O-glucósido de ácido 4- Ácid	onoles onoles onoles ocianinas onoles los oxibenzoicos neros intocianidina los oxicinámicos
3 34.59 608.8 3- <i>O</i> -xilosil-glucurónido de quercetina 4 35.62 462.8 3- <i>O</i> -glucósido de quercetina 5 37.08 504.8 3- <i>O</i> -(6"-acetil-glucósido) de peonidina 6 39.53 488.8 3- <i>O</i> -acetil-ramnósido de quercetina 7 47.33 314.9 4- <i>O</i> -glucoside de ácido protocatecuico 8 48.70 1086.7 Desconocido Cardón 9 49.49 894.8 Trímero de prodelfinidina GC-GC-C 10 51.90 358.8 Ácido rosmarínico Acid hidro Acid hidro 4- <i>O</i> -glucósido de ácido 4- Ácid	onoles ocianinas onoles los oxibenzoicos neros ntocianidina los oxicinámicos
4 35.62 462.8 3- <i>O</i> -glucósido de quercetina Flave 5 37.08 504.8 3- <i>O</i> -(6"-acetil-glucósido) de peonidina Anto 6 39.53 488.8 3- <i>O</i> -acetil-ramnósido de quercetina Flave 7 47.33 314.9 4- <i>O</i> -glucoside de ácido protocatecuico Acid 8 48.70 1086.7 Desconocido Cardón 9 49.49 894.8 Trímero de prodelfinidina GC-GC-C 10 51.90 358.8 Ácido rosmarínico Ácid hidro 11 52.46 299 4- <i>O</i> -glucósido de ácido 4- Ácid	ocianinas onoles los oxibenzoicos neros ntocianidina los oxicinámicos
5 37.08 504.8 3- <i>O</i> -(6"-acetil-glucósido) de peonidina 6 39.53 488.8 3- <i>O</i> -acetil-ramnósido de quercetina 7 47.33 314.9 4- <i>O</i> -glucoside de ácido protocatecuico 8 48.70 1086.7 Desconocido 9 49.49 894.8 Trímero de prodelfinidina GC-GC-C 10 51.90 358.8 Ácido rosmarínico 11 52.46 299 4- <i>O</i> -glucósido de ácido 4- Ácid	ocianinas onoles los oxibenzoicos neros ntocianidina los oxicinámicos
6 39.53 488.8 3- <i>O</i> -acetil-ramnósido de quercetina 7 47.33 314.9 4- <i>O</i> -glucoside de ácido protocatecuico 8 48.70 1086.7 Desconocido Cardón 9 49.49 894.8 Trímero de prodelfinidina GC-GC-C 10 51.90 358.8 Ácido rosmarínico 11 52.46 299 4- <i>O</i> -glucósido de ácido 4- Ácid	onoles los oxibenzoicos neros ntocianidina los oxicinámicos
7 47.33 314.9 4- <i>O</i> -glucoside de ácido protocatecuico hidro 8 48.70 1086.7 Desconocido Cardón 9 49.49 894.8 Trímero de prodelfinidina GC-GC-C Trím proa heidro formation for formation formation for formation formation for formati	los oxibenzoicos neros ntocianidina los oxicinámicos
Cardón 8	neros ntocianidina los oxicinámicos
9 49.49 894.8 Trimero de prodelfinidina GC-GC-C proat 10 51.90 358.8 Ácido rosmarínico Ácido hidro	ntocianidina los oxicinámicos
hidro	oxicinámicos
11 52.46 200 4-O-glucósido de ácido 4- Ácid	
indioxiociizoico indi	oxibenzoicos
	onoles
	oxiflavonas
13 33.73 263 Geraldolla Melco	
14 56.59 315 4- <i>O</i> -glucosido de acido protocatecuico hidro	oxibenzoicos
15 59.20 358.9 Ácido rosmarínico Ácido hidro	los oxicinámicos
1 3.47 249 Feruloilglicina Ácid hidro	los oxicinámicos
3_(3 /1_dihidrovifenil)_2_	0.1101111111000
2 25.55 238.9 hidroxipropanoato de isopropilo	
Ácid	los
3 - 7/3/3549 - 4-0-glicosido de acido ferilico	oxicinámicos
	hoxyflavones
•	onoles
3.0 glucásido 7.0 rampásido de	
isoramnetina	oxiflavonoles
e	oxiflavonoles
	anos
	oxiflavonas
1 23.39 354.8 4- <i>O</i> -glucósido de ácido ferúlico Ácid	los oxicinámicos
2 24.11 354.8 4-O-glucósido de ácido ferúlico Ácid (isómero) meto	los oxicinámicos
3-(3,4-dihidroxifenil)-2-	
	anos
6	oxiflavonas
rosado 6 33.73 768.8 Desconocido	
9 36.73 622.9 3-O-glucósido 7-O-ramnósido de Meto	onoles oxiflavonoles
isoramnetina	oxiflavonoles

Capítulo III.

	11	42.37	798.7	Derivado de ácido elágico	Ácidos hidroxibenzoicos
	12	44.71	652.8	3,5-O-diglucósido de malvidina	Antocianinas
	1	22.91	288.9	(+)-Catequina	Catequinas
	2	22.07	289	(-)-Epicatequina	Catequinas
Pitaya	3	31.88	771.1	3- <i>O</i> -glucosil-ramnosil-glucósido de quercetina	Flavonoles
	4	32.87	609.1	3-O-xilosil-glucurónido de quercetina	Flavonoles
	5	35.10	593.1	6,8-di-C-glucósido de apigenina	Flavonas
	6	30.03	859	Desconocido	
	7	48.14	329.2	3,7-Dimetilquercetina	Metoxiflavonoles

Cardón (*C. rosea*), xoconostle var. ulapa (*O. oligacantha*), xoconostle var. cuaresmeño rosado (*O. matudae*), pitaya (*E. cinerascens*). t_R=Tiempo de retención, [M-H]^{-(m/z)} = Relación masa-carga. Todos los experimentos se realizaron en modo de ionización negativa, longitud de onda 280 nm.

En las flores de XU y XC los principales compuestos detectados se identificaron como metoxiflavonoles 3-O-glucósido de isoramnetina (pico 8, con t_R 37.63 y m/z 476.9 en XU y pico 10, con t_R 37.67 min y m/z 476.9 en XC), seguido de 3-O-glucósido 7-O-ramnósido de isoramnetina (pico 7, con t_R 36.67 y m/z 622.9 en XU y pico 9, con t_R 37.73 y m/z 622.9 en XC) y flavonoles como el 3-O-glucósido de quercetina (pico 6, con t_R 35.24 y m/z 462.8 en XU y pico 8, con t_R 35.13 min y m/z 462.9 en XC). En flores de PI, el principal compuesto detectado se identificó como flavona 6, 8-di-C-glucósido de apigenina (pico 5, con t_R 35.10 min y m/z 592.1), seguido de flavonoles como el 3-O-xilosil-glucurónido de quercetina (pico 4, con t_R 32.87 y m/z 609.1) y metoxiflavonoles como el 3,7-dimetil quercetina (pico 7, con t_R 48.14 y m/z 329.2).

La quercetina y sus derivados fueron los principales metabolitos secundarios encontrados en las flores analizadas en este estudio; es un flavonoide natural ampliamente distribuido en plantas, frutas y verduras en forma glicosilada. Los glucósidos y rutinósidos mejoran la actividad biológica de la quercetina aglicona, con potenciales efectos farmacológicos como la prevención de enfermedades crónicas y algunos tipos de cáncer debido a su acción antioxidante frente al daño de radicales libres (Lesjak et al., 2018).

En otro estudio, se ha reportado que la isoramnetina y sus derivados presentan potencial actividad antiinflamatoria a través de la supresión de la infiltración celular, inhibiendo la producción de óxido nítrico, la actividad de COX-2 y la secreción de citocinas (Antunes-Ricardo et al., 2015). Otros compuestos de importancia como los derivados del ácido protocatéquico y de la apigenina también fueron detectados.

Estos compuestos también presentan efectos farmacológicos contra algunas enfermedades, el ácido protocatéquico y sus derivados actúan como agentes antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos, anti-cancerígeno, anti-diabetes (Semaming et al., 2015; Krzysztoforska et al., 2019).

Estudios en cultivos celulares y modelos animales han revelado que la apigenina y sus derivados, tienen efectos anticancerígenos al prevenir la proliferación celular en diversos

tumores malignos (hígado, páncreas, sangre, próstata, mama, tiroides, piel), además de sus efectos antioxidantes, antivirales, antidepresivas, antimicrobianos, cardioprotectores, antimutagénicos y antiinflamatorios (Zheng et al., 2014; Madunić et al., 2018). Compuestos de importancia biológica se detectaron en esta investigación, resultando relevante debido a la escasez de estudios previos sobre la identificación de compuestos en estas especies de flores de cactáceas.

3.4. Conclusiones

Las flores de cardón (*Cylindropuntia rosea*), xoconostle var. ulapa (*Opuntia oligacantha*), xoconostle var. cuaresmeño rosado (*Opuntia matudae*) y pitaya (*Echinocereus cinerascens*) presentaron contenidos aceptables de proteínas, cenizas y carbohidratos, con composiciones similares a las flores de caléndula, capuchina y pensamiento. Las flores estudiadas son una fuente prometedora de compuestos antioxidantes, destacando la flor de Pitaya por un mayor contenido de fenoles y flavonoides, lo que favoreció mayores efectos antioxidantes. En el perfil de los compuestos polifenólicos, los principales compuestos encontrados fueron quercetina, 3-*O*-acetil-ramnósido de quercetina, 4-*O*- glucósido de ácido protocatecuico, 3-*O*-glucósido de isoramnetina, 3-*O*-glucósido 7-*O*-ramnósido de isoramnetina, 6,8-di-*C*-glucósido de apigenina y 3-*O*-xilosil-glucurónido de quercetina. De acuerdo a los resultados informados en este estudio, estas flores pueden ser una fuente alternativa de nutrientes en el desarrollo de alimentos funcionales; sin embargo, se recomienda la realización de estudios complementarios, como la identificación de la dosis letal media (DL₅₀), así como los posibles componentes antinutricionales.

3.5. Referencias

- 1. Ammar, I., Ennouri, M., Bali, O., & Attia, H. (2014). Characterization of two prickly pear species flowers growing in Tunisia at four flowering stages. *LWT Food Science and Technology*, *59*(1), 448–454. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.05.002
- Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Uribe, J. A., López-Pacheco, F., Alvarez, M. M., & Serna-Saldívar, S. O. (2015). In vivo anti-inflammatory effects of isorhamnetin glycosides isolated from Opuntia ficus-indica (L.) Mill cladodes. *Industrial Crops and Products*, 76, 803–808. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.05.089
- 3. Ascacio-Valdés, J., Aguilera-Carbó, A., Martínez-Hernández, J., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. (2010). Euphorbia antisyphilitica residues as a new source of ellagic acid. *Chemical Papers*, 64(4). DOI: 10.2478/s11696-010-0034-6
- 4. Association of Official Analytical Chemists International (AOAC). (2005). Official Methods of Analysis, 18th edn. (Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg).
- Barros, R. G. C., Andrade, J. K. S., Pereira, U. C., de Oliveira, C. S., Rafaella Ribeiro Santos Rezende, Y., Oliveira Matos Silva, T., Pedreira Nogueira, J., Carvalho Gualberto, N., Caroline Santos Araujo, H., & Narain, N. (2020). Phytochemicals screening, antioxidant capacity and chemometric characterization of four edible flowers from Brazil. Food Research International, 130, 108899. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108899
- 6. Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. DOI: 10.1016/s0023-6438(95)80008-5
- 7. Britton G. Functions of Intact Carotenoids. In Carotenoids, Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. (eds), vol 4. Birkhäuser Basel. (2008). DOI: 10.1007/978-3-7643-7499-0 10
- 8. Chahdoura, H., Morales, P., Barreira, J. C., Barros, L., Fernández-Ruiz, V., Ferreira, I. C., & Achour, L. (2015). Dietary fiber, mineral elements profile and macronutrients composition in different edible parts of Opuntia microdasys (Lehm.) Pfeiff and Opuntia macrorhiza (Engelm.). *LWT Food Science and Technology*, 64(1), 446–451. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.05.011
- 9. Chen, G. L., Chen, S. G., Xiao, Y., & Fu, N. L. (2018). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 30 flowers. *Industrial Crops and Products*, 111, 430–445. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.10.051
- 10. Chen, G. L., Chen, S. G., Xie, Y. Q., Chen, F., Zhao, Y. Y., Luo, C. X., & Gao, Y. Q. (2015). Total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of 23 edible flowers subjected to in vitro digestion. *Journal of Functional Foods*, 17, 243–259. DOI: 10.1016/j.jff.2015.05.028
- 11. Chensom, S., Okumura, H., & Mishima, T. (2019). Primary Screening of Antioxidant Activity, Total Polyphenol Content, Carotenoid Content, and Nutritional Composition of 13 Edible Flowers from Japan. *Preventive Nutrition and Food Science*, 24(2), 171–178. DOI: 10.3746/pnf.2019.24.2.171
- 12. da Silva, L. A., Fischer, S. Z., & Zambiazi, R. C. (2020). Proximal composition, bioactive compounds content and color preference of Viola x Wittrockiana flowers. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100236. DOI: 10.1016/j.ijgfs.2020.100236
- De Bona, G. S., Boschetti, W., Bortolin, R. C., Vale, M. G. R., Moreira, J. C. F., de Rios, A. O., & Flôres, S. H. (2017). Characterization of dietary constituents and antioxidant capacity of Tropaeolum pentaphyllum Lam. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3587–3597. DOI: 10.1007/s13197-017-2817-z
- 14. Du, J., Cullen, J. J., & Buettner, G. R. (2012). Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) Reviews on Cancer*, 1826(2), 443–457. DOI: 10.1016/j.bbcan.2012.06.003
- 15. Dürüst, N., Sümengen, D., & Dürüst, Y. (1997). Ascorbic Acid and Element Contents of Foods of Trabzon (Turkey). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6), 2085–2087. DOI: 10.1021/jf9606159
- 16. Fan, J., Zhu, W., Kang, H., Ma, H., & Tao, G. (2012). Flavonoid constituents and antioxidant capacity in flowers of different Zhongyuan tree penoy cultivars. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 147–157. DOI: 10.1016/j.jff.2011.09.006

- 17. Fernandes, L., Casal, S., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & 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. DOI: 10.1016/j.jfca.2017.03.017
- 18. Fernandes, L., Ramalhosa, E., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & Casal, S. (2020). Borage, camellia, centaurea and pansies: Nutritional, fatty acids, free sugars, vitamin E, carotenoids and organic acids characterization. *Food Research International*, *132*, 109070. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109070
- 19. Garzón, G., & Wrolstad, R. (2009). Major anthocyanins and antioxidant activity of Nasturtium flowers (Tropaeolum majus). *Food Chemistry*, *114*(1), 44–49. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.09.013
- Gong, G., Guan, Y. Y., Zhang, Z. L., Rahman, K., Wang, S. J., Zhou, S., Luan, X., & Zhang, H. (2020). Isorhamnetin: A review of pharmacological effects. *Biomedicine &Amp; Pharmacotherapy*, 128, 110301. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110301
- 21. González-Barrio, R., Periago, M. J., Luna-Recio, C., Garcia-Alonso, F. J., & Navarro-González, I. (2018). Chemical composition of the edible flowers, pansy (Viola wittrockiana) and snapdragon (Antirrhinum majus) as new sources of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 252, 373–380. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.102
- 22. Gouveia, S. C., & Castilho, P. C. (2012). Phenolic composition and antioxidant capacity of cultivated artichoke, Madeira cardoon and artichoke-based dietary supplements. *Food Research International*, 48(2), 712–724. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.05.029
- 23. Grzeszczuk, M.; Stefaniak, A.; Pachlowska, A. (2016). Biological value of various edible flower species. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus.*, 15, 109-119.
- Hornero-Méndez, D., & Mínguez-Mosquera, M. I. (2001). Rapid Spectrophotometric Determination of Red and Yellow Isochromic Carotenoid Fractions in Paprika and Red Pepper Oleoresins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 3584–3588. DOI: 10.1021/jf0104001
- Ishola, I. O., Osele, M. O., Chijioke, M. C., & Adeyemi, O. O. (2019). Isorhamnetin enhanced cortico-hippocampal learning and memory capability in mice with scopolamine-induced amnesia: Role of antioxidant defense, cholinergic and BDNF signaling. *Brain Research*, 1712, 188–196. DOI: 10.1016/j.brainres.2019.02.017
- 26. Kaisoon, O., Konczak, I., & Siriamornpun, S. (2012). Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. *Food Research International*, 46(2), 563–571. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.06.016
- 27. Kaisoon, O., Siriamornpun, S., Weerapreeyakul, N., & Meeso, N. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *Journal of Functional Foods*, *3*(2), 88–99. DOI: 10.1016/j.jff.2011.03.002
- 28. Kamalambigeswari, R.; and Rebecca, L.J. (2016). Extraction of major carotenoids from flower petals. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 39, 37-39.
- 29. Krzysztoforska, K., Mirowska-Guzel, D., & Widy-Tyszkiewicz, E. (2017). Pharmacological effects of protocatechuic acid and its therapeutic potential in neurodegenerative diseases: Review on the basis of *in vitro* and *in vivo* studies in rodents and humans. *Nutritional Neuroscience*, 22(2), 72–82. DOI: 10.1080/1028415x.2017.1354543
- 30. Kumari, P., Ujala, & Bhargava, B. (2021). Phytochemicals from edible flowers: Opening a new arena for healthy lifestyle. *Journal of Functional Foods*, 78, 104375. DOI: 10.1016/j.jff.2021.104375
- 31. Kwon, J. H., Oh, H. J., Lee, D. S., In, S. J., Seo, K. H., Jung, J. W., Cha, B. J., Lee, D. Y., & Baek, N. I. (2019). Pharmacological activity and quantitative analysis of flavonoids isolated from the flowers of Begonia semperflorens Link et Otto. *Applied Biological Chemistry*, 62(1). DOI: 10.1186/s13765-019-0416-6
- 32. Lesjak, M., Beara, I., Simin, N., Pintać, D., Majkić, T., Bekvalac, K., Orčić, D., & Mimica-Dukić, N. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *Journal of Functional Foods*, 40, 68–75. DOI: 10.1016/j.jff.2017.10.047
- 33. Li, A. N., Li, S., Li, H. B., Xu, D. P., Xu, X. R., & Chen, F. (2014). Total phenolic contents and antioxidant capacities of 51 edible and wild flowers. *Journal of Functional Foods*, 6, 319–330. DOI: 10.1016/j.jff.2013.10.022

- 34. Madunić, J., Madunić, I. V., Gajski, G., Popić, J., & Garaj-Vrhovac, V. (2018). Apigenin: A dietary flavonoid with diverse anticancer properties. *Cancer Letters*, 413, 11–22. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.10.041
- 35. Matějková, J.; and Petříková, K. (2010). Variation in content of carotenoids and vitamin C in carrots. *Notulae Scientia Biologicae.*, 2(4), 88-91. DOI: 10.15835/nsb.2.4.5108
- 36. Matyjaszczyk, E., & Śmiechowska, M. (2019). Edible flowers. Benefits and risks pertaining to their consumption. *Trends in Food Science &Amp; Technology*, 91, 670–674. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.07.017
- 37. Nanda, B.L. (2019). Antioxidant and Anticancer Activity of Edible Flowers. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics.*, 9, 290-295. DOI: 10.22270/jddt.v9i3-s.2996
- 38. Navarro-González, I., González-Barrio, R., García-Valverde, V., Bautista-Ortín, A., & Periago, M. (2014). Nutritional Composition and Antioxidant Capacity in Edible Flowers: Characterisation of Phenolic Compounds by HPLC-DAD-ESI/MSn. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(1), 805–822. DOI: 10.3390/ijms16010805
- 39. Nowicka, P., & Wojdyło, A. (2019). Anti-Hyperglycemic and Anticholinergic Effects of Natural Antioxidant Contents in Edible Flowers. *Antioxidants*, 8(8), 308. DOI: 10.3390/antiox8080308
- 40. Olson, D.M.; Dinerstein, E.; Wikramanayake, E.D.; Burgess, N.D.; Powell, G.V.; Underwood, E.C.; y Kassem, K.R. (2001). Ecorregiones terrestres del mundo: un nuevo mapa de la vida en la Tierra Un nuevo mapa global de ecorregiones terrestres proporciona una herramienta innovadora para conservar la biodiversidad. *BioScience.*, 51 (11), 933-938. DOI: 10.1641/0006-3568
- 41. Pérez-Escandón, B.E.; Villacencio-Nieto, M.A.; Ramírez-Aguirre, A. (2003). Lista de las plantas útiles del estado de Hidalgo, Primera edn. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo., https://books.google.com.mx/books/about/Lista_de_las_plantas_% C3%

 BAtiles del Estado.html?id=m5L3tqHwGn8C&redir esc=y
- 42. Pinedo-Espinoza, J. M., Gutiérrez-Tlahque, J., Santiago-Saenz, Y. O., Aguirre-Mancilla, C. L., Reyes-Fuentes, M., & López-Palestina, C. U. (2020). Nutritional Composition, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Wild Edible Flowers Consumed in Semiarid Regions of Mexico. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(3), 413–419. DOI: 10.1007/s11130-020-00822-2
- 43. Pires, T. C., Dias, M. I., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2017). Nutritional and chemical characterization of edible petals and corresponding infusions: Valorization as new food ingredients. *Food Chemistry*, 220, 337–343. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.10.026
- 44. Pires, T. C., Dias, M. I., Barros, L., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Oliveira, M. B. P., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2018). Edible flowers as sources of phenolic compounds with bioactive potential. *Food Research International*, 105, 580–588. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.11.014
- 45. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3
- 46. Rosales, M. A., Cervilla, L. M., Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M. D. M., Blasco, B., Ríos, J. J., Soriano, T., Castilla, N., Romero, L., & Ruiz, J. M. (2010). The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: evaluation of two experimental Mediterranean greenhouses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1), 152–162. DOI: 10.1002/jsfa.4166
- 47. Rosales, M.A.; Cervilla, L.M.; Sánchez-Rodríguez, E.; Rubio-Wilhelmi, M.D.M.; Blasco, B.; Ríos, J.J.; and Ruiz, J.M. (2011). The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: evaluation of two experimental Mediterranean greenhouses. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 91(1), 152-162. DOI: 10.1002/jsfa.4166
- 48. Salazar, J. R., Loza-Mejía, M. A., & Soto-Cabrera, D. (2020). Chemistry, Biological Activities and In Silico Bioprospection of Sterols and Triterpenes from Mexican Columnar Cactaceae. *Molecules*, 25(7), 1649. DOI: 10.3390/molecules25071649
- 49. Semaming, Y., Pannengpetch, P., Chattipakorn, S. C., & Chattipakorn, N. (2015). Pharmacological Properties of Protocatechuic Acid and Its Potential Roles as Complementary Medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1–11. DOI: 10.1155/2015/593902

- 50. Singleton, V.L.; and Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- 51. STEFANIAK, A., & GRZESZCZUK, M. E. (2018). Nutritional and Biological Value of Five Edible Flower Species. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(1), 128–134. DOI: 10.15835/nbha47111136
- 52. Takahashi, J. A., Rezende, F. A. G. G., Moura, M. A. F., Dominguete, L. C. B., & Sande, D. (2020). Edible flowers: Bioactive profile and its potential to be used in food development. *Food Research International*, 129, 108868. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108868
- 53. Tiwari, B.K., Brunton, N.P., and Brennan, C.S. (2013). Sources of Phytochemicals. In Handbook of Plant Food Phytochemicals Source, Stability and Extraction, 1st ed.; Tiwari, B.K., Brunton, N.P., Brennan, C.S., Eds.; Wiley-Blackwell, New Jersey, United States, 105-137.
- 54. Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2019). Phenolic Compounds. *Bioactive Compounds*, 33–50. DOI: 10.1016/b978-0-12-814774-0.00002-5
- 55. Witham, F.F.; Blaydes, D.F.; Devlin, R.M. *Experiments in Plant Physiology* 1971, (Van Nostrand Rteinhold Company, New York).
- 56. Zheng, J., Lu, B., & Xu, B. (2021). An update on the health benefits promoted by edible flowers and involved mechanisms. *Food Chemistry*, *340*, 127940. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127940
- 57. Zheng, J., Yu, X., Maninder, M., & Xu, B. (2018). Total phenolics and antioxidants profiles of commonly consumed edible flowers in China. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1524–1540. DOI: 10.1080/10942912.2018.1494195
- 58. Zheng, X., Yu, L., Yang, J., Yao, X., Yan, W., Bo, S., Liu, Y., Wei, Y., Wu, Z., & Wang, G. (2014). Synthesis and Anti-cancer Activities of Apigenin Derivatives. *Medicinal Chemistry*, *10*(7), 747–752. DOI: 10.2174/1573406410666140307152557

B) Caracterización nutricional, funcional y actividad antioxidante de flores de Crotalaria longirostrata L.

Resumen

Las plantas silvestres comestibles durante cientos de años han formado parte de la alimentación básica o complementaria de las comunidades indígenas. En este trabajo, se evaluó la composición química y funcional de flores de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.). También se identificaron los principales metabolitos mediante HPLC/SI/MS. Los componentes más abundantes de las flores de chipilín fueron los carbohidratos, proteínas y fibra cruda, con valores de 47.27 %, 27.53 % y 16.87 %, respectivamente. También presentaron contenidos aceptables de compuestos antioxidantes, favoreciendo el potencial antioxidante con valores de inhibición de los radicales DPPH• y ABTS•+ de 24.67 y 33.10 μΜ equivalentes Trolox/ g de peso seco, respectivamente. El perfil polifenólico por HPLC/ESI/MS detectó la presencia de 12 compuestos. El compuesto principal fue el 3-*O*-sambubiósido de delfinidina (antocianina), seguido de 2΄-*O*-xilosil-glucósido de 3-hidroxifloretina (dihidrochalcona). Este estudio, sugiere que las flores de chipilín son una fuente valiosa de nutrientes y compuestos antioxidantes, con posibles efectos benéficos a la salud humana, además, de sus posibles usos en el desarrollo de ingredientes funcionales.

Palabras clave: plantas silvestres, flores comestibles, Crotalaria longirostrata L., composición nutricional, compuestos bioactivos

3.6.1. Introducción

La naturaleza y diversidad en flora provee al ser humano de plantas silvestres comestibles, estas durante mucho tiempo han sido base de una alimentación saludable y nutritiva, de gran importancia principalmente en comunidades indígenas donde el acceso a otras fuentes de alimentos es muy limitado. Ese tipo de recursos alimenticios naturales son fuentes de carbohidratos, fibra, macro y micro minerales y, compuestos fenólicos; que brindan ciertos beneficios a la salud del consumidor; además, aligeran el hambre de las personas de escasos recursos económicos en regiones marginadas (Díaz-José *et al.*, 2019; Mateos-Maces *et al.*, 2020).

En México, el consumo de plantas silvestres data desde hace cientos de años, como alimentos básicos o complementarios para satisfacer las necesidades nutritivas y de alimentación. Actualmente, la dieta nutrimental de muchas personas se basa en este tipo de alimentos; sin embargo, muchas de las plantas no tienen un valor agregado o se desconocen sus propiedades nutritivas (Sotelo *et al.*, 2007). El conocimiento de las personas nativas en el área de producción de la especie vegetal, la diversidad y sus componentes/propiedades son factores importantes para considerar a una planta comestible. Además, la recolección, el transporte y el procesamiento también son importantes (Mateos-Maces *et al.*, 2020). Estudios previos, han informado la importancia de estas especies vegetales en diversos sectores sociales, donde los patrones de uso y consumo, están fuertemente ligados a la cultura, principalmente en comunidades indígenas (Díaz-José *et al.*, 2019).

El género *Crotalaria* (Fabaceae) con alrededor de 600 a 700 especies, se considera de los principales géneros de las leguminosas. Este género se distribuye en regiones tropicales y subtropicales de África, Asia, India y América, son anuales o perennes. Su clasificación se basa en la morfología de sus flores, hojas simples, trifoliada, alternas, obovadas y lanceoladas, generalmente de color amarillo, blanco, violáceo o azulado (Samaila *et al.*, 2019). Los principales compuestos de estas plantas son los flavonoides, saponinas y alcaloides, y se les atribuye actividades antioxidantes, anticancerígenas, antimicrobianas y anti-inflamatorias (Scupinari *et al.*, 2020).

En regiones tropicales de Veracruz, Oaxaca y Chiapas, México; se producen plantas comestibles silvestres de importancia en la alimentación de las poblaciones locales, dentro de estas podemos hacer mención de la planta de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.) perteneciente al genero antes mencionado, originaria del sur de México y Centroamérica. Utilizada como alimento en diferentes preparaciones tradicionales, recolectadas principalmente por personas nativas y utilizadas en diversos caldos, sopas, guisos y en los típicos tamales. También tienen propiedades etnobotánicas como narcóticos e hipnóticos (Jiménez-Aguilar y Grusak, 2015). La planta mide de 1 a 1.5 m de altura aproximadamente, sus ramas se componen de tres hojas ovaladas y sus flores amarillas con forma de mariposa, forman una espiga en la parte superior de la planta. En la actualidad, las flores de chipilín suelen ser consumidas por algunas personas como ingredientes en la elaboración de platillos tradicionales. Sin embargo, hasta el momento no se le ha dado la importancia de su valor nutritivo y en ocasiones suele desaprovecharse.

También estas especies del género *Crotalaria* en el sector agrícola son muy útiles en el control de nemátodos. Lo anterior, debido a los alcaloides conocidos como pirrolizidina que tienen actividades biológicas y tienen un papel fundamental como nematicidas y ovicidas, una alternativa muy importante para evitar el uso de agentes químicos en la protección de cultivos (Scupinari *et al.*, 2020).

Dentro de los hábitos de consumo de hierbas o plantas comestibles, el chipilín es una fuente importante en la alimentación de las personas en regiones del sureste mexicano y sus flores son un complemento en la nutrición. Sin embargo, a pesar de formar parte de la dieta base o como complemento, aún se desconocen sus características nutricionales y sus propiedades. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la composición química, funcional, e identificar los principales metabolitos por HPLC/ESI/MS de las flores de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.).

3.6.2. Materiales y Métodos

3.6.2.1. Material vegetal

Flores de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.) fueron recolectadas en el municipio de Acacoyagua, Chiapas; México, ubicada a una latitud norte de 15°20'24", longitud oeste de 92°40'27" y a una altura sobre el nivel del mar de 86 metros.

Las muestras fueron almacenadas en un ultracongelador a -76 °C (Thermo-Scientific, 703, Outside, EE. UU.), y posteriormente fueron liofilizadas (Labconco, 7948000, Missouri, EE. UU.), y molidas en un molino de cuchillas (Knife Mill Grindomix GM 200; Hahn, Germany), las muestras se almacenaron hasta su uso.

3.6.2.2. Preparación de la muestra

Para la determinación de compuestos antioxidantes y actividad antioxidante, 0.1 g de muestra liofilizada se mezcló en 10 mL de una mezcla etanol: agua (70:30, v/v) y fue ultrasonicado durante 15 min a una frecuencia de 40 kHz a 25 °C (Ultrasonicator LSS, 32V118A, China), posteriormente centrifugado a 16500 x g durante 10 min a 5 °C (Centrifuge Thermo-Scientific, ST 16R, Germany). El sobrenadante fue utilizado para los análisis correspondientes.

3.6.2.3. Composición nutricional

Para el análisis de humedad (925.09), grasas (983.23), proteínas (950.48), cenizas (930.05) y fibra cruda (985.29, 993.21) se utilizaron los métodos oficiales de la AOAC (2005). Los carbohidratos totales se calcularon por diferencia. La energía se determinó mediante la ecuación descrita por Chahdoura *et al.* (2015).

$$Energía = \frac{kJ}{100 \ g \ peso \ fresco} = \left[(4) \left(g_{proteína} + g_{carbohidratos} \right) + (2) \left(g_{fibra} \right) + (9) (g_{grasa}) \right] [4.184]$$

3.6.2.4. Determinación de carotenoides totales

Las fracciones isocromáticas rojas (capsantina y capsorrubina) y amarillas (β -caroteno, β -criptoxantina, zeaxantina) de los carotenoides totales fueron determinadas de acuerdo con Hornero-Mendez y Minguez-Mosquera (2001). La muestra (0.1 g) fue preparada con acetona (10 mL). Las absorbancias de las muestras se midieron con un espectrofotómetro a λ 472 y 508 nm, respectivamente. Los resultados se expresaron como mg/g de peso seco.

3.6.2.5. Determinación de clorofila

La clorofila a, b y la total fue determinada de acuerdo con la metodología descrita por Witham *et al.* (1971), con ligeras modificaciones. La preparación de la muestra (0.1 g) se realizó con acetona al 80 % (10 mL). Las mediciones de absorbancia se realizaron a λ 645 y 663 nm respectivamente, mediante un espectrofotómetro (UV-Vis Jenway spectrophotometer, 6715, USA). Los resultados fueron expresados en mg de clorofila por gramos de peso (mg/g de peso seco).

3.6.2.6. Determinación de ácido ascórbico

El contenido de ácido ascórbico se evaluó según lo establecido por Dürüst *et al.* (1997) con ligeras modificaciones. Las muestras (0.1 g) fueron preparadas con 10 mL de ácido tricloroacético al 3 % (v/v). Las muestras se sometieron a ultrasonicación (modelo 3510 Branson, China) durante 15 min a una frecuencia de 40 kHz. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 10000 x g durante 10 min; luego, se tomaron 2 mL del sobrenadante a los cuales se le agregaron 2 mL de la solución tampón de acetato (pH 4). Enseguida, se agregaron 3 mL de dicloroindofenol y 15 mL de xileno. Las mediciones se realizaron a 520 nm en un espectrofotómetro (modelo 6715 UV-Vis Jenway, Techne Inc., Staffordshire, UK). Los resultados se expresaron como miligramos de ácido ascórbico por gramos de peso seco (mg AA/g peso seco).

3.6.2.7. Determinación de fenoles totales

Se determinó por el método de Folin-Ciocalteu el contenido de fenoles totales según Singleton y Rossi (1965). La muestra (0.1 g) fue preparada con etanol al 80 %. Brevemente, 0.5 mL de la muestra se mezcló con 0.5 mL del reactivo Folin-Ciocalteu al 50 % en agua. La mezcla se dejó reposar durante 7 min, posteriormente se le agregó 1.5 mL de carbonato de sodio al 7.5 % y se dejó reaccionar en la oscuridad durante 60 min. La medición de absorbancia se realizó a λ 725 nm mediante un espectrofotómetro UV-Vis (Jenway, 6715, USA). Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico (mg EAG)/g de peso seco.

3.6.2.8. Determinación de flavonoides totales

Los flavonoides se determinaron de acuerdo con el método descrito por Rosales *et al*. (2011), el solvente utilizado en la preparación de la muestra (0.1 g) fue etanol al 80 %.

Enseguida, 2 mL de la muestra se mezcló con 1.5 mL de nitrito de sodio y 2 mL de agua, se dejó reposar durante 5 min en total oscuridad. A continuación, se añadió a la mezcla 1.5 mL de tricloruro de aluminio y 1 mL de hidróxido de sodio y se dejó reposar durante otros 20 min. La medición se realizó a λ 415 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Jenway, 6715, US). Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de quercetina (mg EQ)/g de peso seco.

3.6.2.9. Evaluación de la actividad antioxidante

Se emplearon los métodos de DPPH* y ABTS*+ para evaluar la actividad antioxidante. Para ello, la muestra (0.1 g) fue preparada en solución etanólica al 80 %. Los resultados se expresaron como μ M de equivalentes Trolox (μ M ET)/g peso seco. La actividad captadora del radical DPPH* (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) fue realizada de acuerdo con lo establecido por Brand-Williams *et al.* (1995). Enseguida, 0.3 mL de muestra se mezclaron con 2.7 mL de DPPH* (6 x 10^{-5} M). La mezcla se dejó reposar en completa oscuridad durante 1 h a 4 °C, la lectura de la absorbancia fue a λ 517 nm (Λ ₅₁₇).

En cuanto a la actividad inhibidora del radical ABTS* (ácido 2, 2´-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) se realizó de acuerdo con Re *et al.* (1999). Se llevó a cabo una reacción de oxidación del ABTS* a 7 mM con 10 mL de persulfato de potasio 2.45 mM, en ausencia de luz durante 16 h con agitación constante para generar el radical. Para agregar a la muestra, previamente el radical ABTS se diluyó en solución etanólica al 80 %, hasta obtener un valor de absorbancia de 0.7 ± 0.02 a λ 734 nm (A₇₃₄). Se tomaron 3.9 mL de radical ABTS* diluido y se mezclaron con 0.1 mL de muestra, enseguida se dejó reposar durante 6 min en la oscuridad. La absorbancia de la mezcla fue determinada a λ 734 nm (A₇₃₄).

3.6.2.10. Extracción y purificación de compuestos fenólicos

El extracto fue obtenido de acuerdo con las condiciones descritas por Ascacio-Valdés *et al.* (2010). La extracción de los compuestos fenólicos se realizó empleando una mezcla de etanol:agua (70:30, v/v), con relación masa-volumen 1:16 por medio de ultrasonido a 40 kHz (Branson, Mod. 2510, Marsall Scientific, NH, USA) durante 20 minutos. El extracto fue filtrado y posteriormente procesado por cromatografía líquida en columna, utilizando como fase estacionaria Amberlite XAD-16 y como fase móvil agua y etanol, para recuperar la fracción polifenólica. La elusión inició con agua destilada (400 mL), enseguida se utilizó etanol (600 mL).

3.6.2.11. Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS

Las fracciones obtenidas después de la cromatografía líquida con Amberlite XAD-16 fueron analizados por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en un sistema Varian HPLC, que incluye un inyector automático (VarianProStar 410, USA), una bomba ternaria (VarianProStar 230I, USA) y un detector de matriz de fotodiodos (PDA) (VarianProStar 330, USA). Se usó un espectrómetro de masas con trampa de iones de cromatografía líquida

(Espectrómetro de masas Varian 500-MS IT, USA) equipado con una fuente de iones electrospray. Se inyectaron muestras (5 μL) en una columna Denali C18 (150 mm x 2.1 mm, 3 μm, Grace, USA). La temperatura del horno se mantuvo a 30 °C. Los eluyentes fueron ácido fórmico (0.2 %, *v/v*; solvente A) y acetonitrilo (solvente B). Se aplicó el siguiente gradiente: inicial 3 % de B; 0-5 min, 9 % B lineal; 5-15 min, 16 % B lineal; 15-45 min; 50 % B lineal. La columna se lavó y reacondicionó. La velocidad de flujo se mantuvo a 0.2 mL/min y la elución de compuestos fenólicos se monitoreó a λ 245, 280, 320 y 550 nm. Todo el efluente (0.2 mL/min) se inyectó en la fuente del espectrómetro de masas, sin división. El experimento del espectrómetro de masas se realizó en modo negativo [M-H]⁻¹. Se utilizó nitrógeno como gas nebulizador y helio como gas de amortiguación. Los parámetros de la fuente de iones fueron: voltaje de pulverización 5.0 kV y, el voltaje y la temperatura capilar fueron 90.0 V y 350 °C, respectivamente. Los datos fueron colectados y procesados utilizando el software MS Workstation (V 6.9).

3.6.2.12. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el software JMP.5.0.1 (A Business Unit of SAS, Statistics Analysis System, v. 9.0). Los datos se analizaron empleando el análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparaciones múltiples de Tukey con nivel de significancia $p \le 0.05$ para establecer las diferencias significativas entre las muestras. Los valores se expresaron como la media \pm desviación estándar, todos los experimentos se realizaron por triplicado.

3.6.3. Resultados y Discusión

3.6.3.1. Composición nutricional

La composición nutricional de la flor de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.) se observa en la Tabla 11. El contenido de humedad fue de 7.76 %. Los carbohidratos fueron los componentes más abundantes. Estos valores fueron similares a lo reportado en otras flores comestibles como *Erytrhina americana* (44.5 %), *Cucurbita pepo* L. (47.1 %) y *Tropaeolum majus* L. (48.1 %); sin embargo, mayores contenidos se han reportado para las flores de *Calendula officinalis* (62.1 %), *Tagetes erecta* (85.2 %), *Rosa micrantha* (90.2 %) (Fernandes *et al.*, 2017) y *Viola wittrockiana* (80.27 %) (da Silva *et al.*, 2020).

En cuanto a las proteínas, estas flores tienen mayor contenido en comparación con los valores reportados en flores comestibles mexicanas como *Agave salmiana* (16.4 %), *Cucurbita pepo* L. (21.9 %), *Tagetes erecta* (7.9 %), *Erythina americana* (26.2 %), entre otras (Mulík y Ozuna, 2020). Por otra parte, el contenido de fibra cruda reportado en otros estudios para flores de *Dhalia campanulata*, *Erythrina caribae*, *Agave salmiana*, *Aloe vera*, *Erythrina americana y Myrtillocactus geometrizans* son valores inferiores en comparación con lo encontrado en esta investigación (Mulik y Ozuna, 2020; Pinedo-Espinoza *et al.*, 2020).

Tabla 11. Composición nutricional de la flor de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.)

Common anto (~/100 ~ do ~~~~)	Flor		
Componente (g/100 g de peso seco)	Crotalaria longirostrata L.		
Proteínas	27.53 ± 0.29		
Grasas	2.02 ± 0.08		
Fibra cruda	16.87 ± 0.07		
Cenizas	6.31 ± 0.06		
Carbohidratos	47.27 ± 0.35		
Energía	1469 ± 2.59		

Los valores representan la media ± desviación estándar (n=3).

Los valores encontrados del contenido de cenizas y grasas fueron bajos en las flores de chipilín, valores semejantes a lo reportado en otras flores comestibles (Pires et al., 2017; da Silva et al., 2020). Los valores nutritivos de la flor de chipilín fueron semejantes o aproximados a otras flores comestibles populares como Borago officinalis, Camellia japonica, Centaurea cyanus, Calendula officinalis, Rosa spp, Hibiscus rosa-sinensis, Tagetes erecta, Tropaeolum majus (Fernandes et al., 2020; Kumari et al., 2021).

3.6.3.2. Contenido de carotenoides totales

Se detectó únicamente la presencia de carotenoides amarillos en las flores de chipilín (Tabla 12). No se tiene información de reportes de carotenoides en estas flores; sin embargo, cantidades similares de carotenoides se han reportado en flores de *Sambucus nigra* L., *Primula* L., *Malvae arboreae* L. y *Lamium álbum* L., y menor contenido en comparación con flores de *Arnica* L., *Lavandula* L. y *Calendula officinalis* (Nowicka y Wojdyło, 2019). La ingesta recomendada de betacarotenos de forma segura es de hasta 15 mg, por lo que el valor encontrado representaría un 3.13 % (Eggersdorfer y Wyss, 2018). Los carotenoides son pigmentos naturales que están presentes en las fuentes vegetales, y el consumo de dietas ricas en carotenoides y el efecto sinérgico de la combinación de estos compuestos se asocia fuertemente a diversos efectos beneficiosos a la salud humana, principalmente como agentes preventivos contra enfermedades crónicas degenerativas (Berman *et al.*, 2015).

3.6.3.3. Contenido de clorofila

La clorofila a y b fue detectada en las flores de chipilín (Tabla 12). Hasta el momento, no se tienen informes sobre el contenido de clorofila en estas flores. Sin embargo, en otros estudios se ha reportado menor contenido de clorofila total en flores de *Arnica* L., *Bellis perennis* L., *Lavandula* L., *Matricaria* L., *Borago officinalis* L., *Viola tricolor* L., *Tagetes tenuifolia* Cav., entre otras (Grzeszczuk *et al.*, 2016; Nowicka y Wojdyło, 2019).

3.6.3.4. Contenido de ácido ascórbico

Las flores de chipilín presentaron bajo contenido de ácido ascórbico (Tabla 12). Aunque no existen datos reportados en estas flores, el contenido fue inferior a valores reportados en flores de *Mimulus x hybridus* L., *Hemerocallis x hybrida* Hort, *Antirrhinum majus* L, *Dianthus chinensis* L., *Monarda didyma* (Stefaniak y Grzeszczuk, 2019), *Tropaeolum majus*, *Hemerocallis fulva* L. (Fernandes *et al.*, 2017). El ácido ascórbico (Vitamina C) tiene una importancia biológica en el desarrollo y funcionamiento del ser humano, su principal función es actuar como cofactor de enzimas e inhibidor de las especies reactivas de oxígeno. Los efectos beneficiosos del consumo de ácido ascórbico mediante fuentes naturales están relacionados con el efecto preventivo de enfermedades relacionadas al estrés oxidativo (envejecimiento, tipos de cáncer, enfermedades inflamatorias y cardiovasculares) (Cruz-Rus *et al.*, 2012).

3.6.3.5. Contenido de fenoles totales

Se detectó un bajo contenido de fenoles en las flores de chipilín (Tabla 12). Este valor es muy semejante a lo reportado en flores de *Viola wittrockiana* de diferentes colores (da Silva *et al.*, 2020) y, ligeramente superior a lo reportado en flores comestibles como *Verbascum* L., *Centaurea cyanus* L. y *Sambucus nigra*. Sin embargo, flores de *Calendula officinalis*, *Malvae arboreae* L. y *Primula* L. presentaron mayor contenido de estos compuestos (Nowicka y Wojdyło, 2019). Los compuestos fenólicos están presentes en flores, frutas y verduras, principales compuestos fitoquímicos que contribuyen a las características sensoriales y funcionales de los alimentos. Además, tienen propiedades beneficiosas como agentes preventivos contra enfermedades cardiovasculares y crónicas, asociadas al estrés oxidativo (Manousi *et al.*, 2019).

3.6.3.6. Contenido de flavonoides totales

Los valores del contenido de flavonoides en flores de chipilín se presentan en la Tabla 12. El valor obtenido fue ligeramente mayor a lo reportado en flores de *Agave salmiana*. Sin embargo, las flores de *Erythrina americana*, *Aloe vera*, *Myrtillocactus geometrizans* (Pinedo-Espinoza *et al.*, 2020) y *Viola wittrockiana* (da Silva *et al.*, 2020), presentaron mayor contenido en comparación con lo encontrado en esta investigación. Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, estos compuestos son responsables del color en la especie vegetal. La concentración de flavonoides depende de factores como la fuente vegetal, la variedad, área de producción, condiciones y métodos de extracción o cuantificación (Faggio *et al.*, 2017).

Tabla 12. Compuestos antioxidantes de la flor de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.)

Commentes antiquidantes	Flor Crotalaria longirostrata L.		
Compuestos antioxidantes			
Carotenoides mg/g de ps			
Carotenoides rojos	ND		
Carotenoides amarillos	0.47		
Carotenoides totales	0.47 ± 0.00		
Clorofila mg/g de ps			
Clorofila a	5.92 ± 0.22		
Clorofila b	10.27 ± 0.19		
Clorofila total	16.19 ± 0.41		
Ácido ascórbico mg AA/g de ps	0.15 ± 0.03		
Fenoles totales mg EAG/g de ps	3.93 ± 0.04		
Flavonoides totales mg EQ/g de ps	7.65 ± 0.08		

AA, ácido ascórbico; EAG, equivalentes de ácido gálico; EQ, equivalentes de quercetina. Los valores representan la media ± desviación estándar (n=3). ND= no detectado.

3.6.3.7. Actividad antioxidante

El valor de la actividad antioxidante de la flor de chipilín se observa en la Figura 3. La actividad antioxidante por DPPH fue de 13.03 μM de Equivalentes Trolox (ET)/g de peso seco. Estos valores son menores a los reportados para otras flores comestibles, por ejemplo, las de *Agave salmiana* (24.64 μM ET/g p.s.), *Aloe vera* (23.50 μM ET/g p.s.), *Myrtillocactus geometrizans* (675.06 μM ET/g p.s.) *y Erythrina americana* (25.28 μM ET/g p.s.) (Pinedo-Espinoza *et al.*, 2020), *Amaranthus hypochondriacus* (58.74 μM ET/g p.s.), *Tropaeolum majus* (52.87 y 49.38 μM ET/g p.s., color naranja y rojo respectivamente) y *Spilanthes oleracea* L. (53.61 μM ET/g p.s.) (Barros *et al.*, 2020).

Las flores de chipilín presentaron mayor actividad antioxidante mediante ABTS*⁺. Los valores encontrados fueron semejantes a lo reportado en flores de *Cucumis sativus* L., *Gomphrena globosa*, *Malus spectabilis*. Sin embargo, flores como *Magnolia grandiflora*, *Tropaeolum majus* L., *Hibiscus sabdariffa* y *Rosa rugosa* tienen mayor capacidad para estabilizar este radical (Zheng *et al.*, 2018). Finalmente, las flores de chipilín presentaron valores aceptables de compuestos antioxidantes, lo anterior contribuyó a la actividad antioxidante por ambos métodos. Estas flores son fuentes de compuestos bioactivos con efectos antioxidantes, que pueden proveer beneficios contra el daño de radicales libres, lo anterior, a través de la ingesta de estos recursos alimenticios.

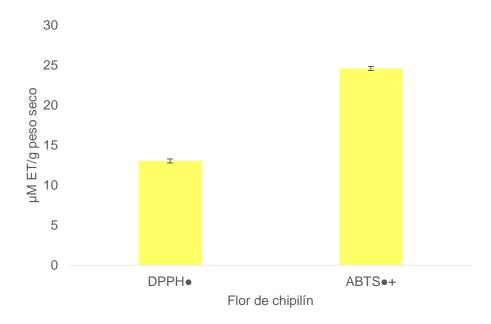


Figura 3. Actividad antioxidante (DPPH $^{\bullet}$ y ABTS $^{\bullet+}$) de la flor de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.). Los resultados son expresados en μ M equivalentes de Trolox/g de peso seco. Los valores representan la media \pm desviación estándar (n=3). Los valores con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p \le 0.05$) de acuerdo con la prueba de Tukey.

3.6.3.8. Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS

El perfil de compuestos fenólicos de las flores se determinó por HPLC/ESI/MS. Las determinaciones se realizaron en modo de ionización negativa [M-H⁻¹].

Se detectaron 12 compuestos, dentro de los que destacan ácidos metoxicinámicos, flavonoles, metoxiflavonoles, antocianinas y dihidrochalconas. En la Tabla 13, se presentan los compuestos identificados para cada uno de los picos observados en el cromatograma de HPLC/ESI/MS (Figura 4) mediante la comparación de sus pesos moleculares con la base de datos VARIAN Work Station (versión 2.0). El compuesto más abundante en el extracto hidroalcohólico de las flores de chipilín fue la antocianina 3-*O*-sambubiósido de delfinidina (pico 11, t_R 51.40 min y 596 m/z), seguida de la dihidrochalcona 3-hidroxifloretina 2´-*O*-xilosil-glucósido (pico 12, t_R 55.44 min y 582.9 m/z) y la metoxiflavona 1,2-disinapoil gentiobiosa (pico 2, t_R 31.65 min y 752.7 m/z).

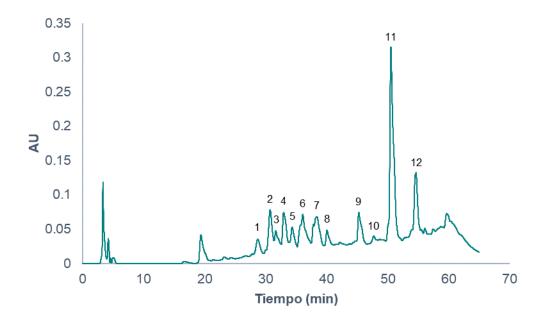


Figura 4. Perfil cromatográfico de los principales compuestos fenólicos de la flor de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.) observado a λ 280 nm. Picos 2 y 3: ácidos metoxicinámicos; 1, 5 y 6: flavonoles, 7: metoxiflavonol, 11: antocianina, 9 y 12: dihidrochalconas.

Los picos 1, 5 y 6 fueron identificados como flavonoles, el pico 1 fue identificado como 3-*O*-xilosil-glucurónido de quercetina, en el tiempo de retención de 29.59 min y m/z 608.8, el pico 5 encontrado en el tiempo de retención de 35.29 min y m/z 650.8 fue 3-*O*-(6´´-acetil-galactósido)-7-*O*-ramnósido de quercetina y el pico 6 se identificó como 3-*O*-galato-7-*O*-glucósido-4´´glucurónido de epigalocatequina en el tiempo de retención 36.69 min y 794 m/z.

Además, se identificaron compuestos de la familia de ácidos metoxicinámicos como 1,2-disinapoil-gentiobiosa ionizados en el tiempo de retención de 32.16 min y 752.7 m/z (pico 3).

El pico 7, con t_R de 38.82 min y 778.7 m/z, se identificó como un metoxiflavonol llamado 3-*O*-glucosil-(1->6)-[apiosil (1->2)]-glucósido de patuletina. También se detectó el ácido hidroxicinámico *p*-Cumaroil tirosina, con t_R 47.68 min y 327 m/z (pico 10). Los picos 4 y 8 no fueron identificados en la base de datos.

Finalmente, se detectaron compuestos de la familia de dihidrochalconas (pico 9) llamado 3-hidroxifloretina 2'-*O*-xilosil-glucósido, con t_R 46.25 min y 581.9 m/z.

En la actualidad, no existen estudios científicos previos sobre la identificación de los compuestos presentes en la flor del chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.). Sin embargo, el principal compuesto encontrado, el 3-*O*-sambubiósido de delfinidina, se ha reportado en otros trabajos, principalmente en *Hibiscus sabdariffa*. De acuerdo con la literatura, los

glucósidos de delfinidina pueden conferir mayor actividad antioxidante que la aglicona, debido a los grupos hidroxilos presentes en la molécula. En un estudio *in vitro* en células HepG2 (carcinoma hepatocelular), se ha reportado que la antocianina 3-*O*-sambubiósido de delfinidina de H*ibiscus sabdariffa* tiene un efecto farmacológico importante ya que actúa como antioxidante e hipoglucemiante. Este compuesto inhibió la generación de especies reactivas de oxígeno y suprimió la peroxidación intracellular inducida por H₂O₂, agotamiento de GSH, además redujo el potencial y peroxidación de la membrana mitochondrial (Xu *et al.*, 2017). También se ha reportado que este compuesto tiene actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina, debido a que compite específicamente con el sitio activo de la enzima (Ojeda *et al.*, 2010).

La identificación de los principales compuestos polifenólicos detectados en la flor del chipilín es de suma importancia, debido a que en un futuro podrían ser fundamentales para la realización de investigaciones con ensayos biodirigidos por sus posibles actividades biológicas.

Tabla 13. Compuestos polifenólicos identificados por HPLC/ESI/MS en el extracto

hidroalcohólico de la flor de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.)

N° de señal	t _R (min)	[M-H] ⁻ (m/z)	Compuesto	Familia
1	29.59	608.8	3- <i>O</i> -xilosil-glucósido de quercetina	Flavonoles
2	31.65	752.7	1,2-disinapoil gentiobiosa	Ácidos metoxicinámicos
3	32.16	752.7	1,2, disinapoil gentiobiosa	Ácidos metoxicinámicos
4	33.97	736.8	No identificado	
5	35.29	650.8	3-O-(6"-acetil-galatósido) 7-O-ramnósido de quercetina	Flavonoles
6	36.69	794	Epigalocatequina 3- <i>O</i> -galato-7- <i>O</i> -glucósido-4″-glucurónido	Flavonoles
7	38.82	778.7	3-O-glucosil-(1-6)-[apiosil (1-2)]-glucósido de patuletina	Metoxiflavonoles
8	41	676.7	No identificado	
9	46.25	581.9	3-hidroxifloretina 2´-O-xilosil-glucósido	Dihidrochalconas
10	47.68	327	<i>p</i> -Coumaroil tirosina	Ácidos hidroxicinámicos
11	51.40	596	3- <i>O</i> -sambubiósido de delfinidina	Antocianinas
12	55.44	582.9	3-hidroxifloretina 2´-O-xilosil-glucósido	Dihidrochalconas

t_R= Tiempo de retención

3.6.4. Conclusiones

Las flores de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.) actualmente se incorporan como nuevos ingredientes en la elaboración de diversos platillos por personas de comunidades locales del lugar de producción. Estas flores estudiadas, revelan que son fuentes naturales de

carbohidratos, proteínas y fibra cruda, valores comparables con otras flores comestibles populares como *Tagetes erecta*, *Tropaeolum majus* y *Calendula officinalis*. También es fuente de compuestos antioxidantes como fenoles, flavonoides y carotenoides, lo que contribuye a una actividad antioxidante aceptable. Por lo antes mencionado, el consumo de estas flores podría ayudar a disminuir y eliminar los radicales libres, principales responsables de diversas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Es importante hacer mención que hasta el momento son los primeros reportes de las propiedades nutricionales y funcionales de la flor de chipilín, así como de sus principales compuestos polifenólicos presentes. Por lo anterior, este estudio sugiere que las flores de chipilín son fuentes valiosas de nutrientes y compuestos antioxidantes, con posibles beneficios a la salud humana. Además, podrían considerarse una alternativa en la elaboración de alimentos funcionales o suplementos nutracéuticos.

3.6.5. Referencias

- Ascacio-Valdés, J., Aguilera-Carbó, A., Martínez-Hernández, J., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. (2010). Euphorbia antisyphilitica residues as a new source of ellagic acid. *Chemical Papers*, 64(4). DOI: 10.2478/s11696-010-0034-6
- 2. Association of Official Analytical Chemists International (AOAC). (2005). Official Methods of Analysis, 18th edn. (Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg).
- 3. Barros, R. G. C., Andrade, J. K. S., Pereira, U. C., de Oliveira, C. S., Rafaella Ribeiro Santos Rezende, Y., Oliveira Matos Silva, T., Pedreira Nogueira, J., Carvalho Gualberto, N., Caroline Santos Araujo, H., & Narain, N. (2020). Phytochemicals screening, antioxidant capacity and chemometric characterization of four edible flowers from Brazil. *Food Research International*, *130*, 108899. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108899
- Berman, J., Zorrilla-López, U., Farré, G., Zhu, C., Sandmann, G., Twyman, R. M., Capell, T., & Christou, P. (2014). Nutritionally important carotenoids as consumer products. *Phytochemistry Reviews*, 14(5), 727–743. DOI: 10.1007/s11101-014-9373-1
- 5. Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. DOI: 10.1016/s0023-6438(95)80008-5
- Chahdoura, H., Morales, P., Barreira, J. C., Barros, L., Fernández-Ruiz, V., Ferreira, I. C., & Achour, L. (2015). Dietary fiber, mineral elements profile and macronutrients composition in different edible parts of Opuntia microdasys (Lehm.) Pfeiff and Opuntia macrorhiza (Engelm.). LWT Food Science and Technology, 64(1), 446–451. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.05.011
- 7. Cruz-Rus, E., Amaya, I., & Valpuesta, V. (2012). The challenge of increasing vitamin C content in plant foods. *Biotechnology Journal*, 7(9), 1110–1121. DOI: 10.1002/biot.201200041
- 8. da Silva, L. A., Fischer, S. Z., & Zambiazi, R. C. (2020). Proximal composition, bioactive compounds content and color preference of Viola x Wittrockiana flowers. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100236. DOI: 10.1016/j.ijgfs.2020.100236
- Díaz-José, J., Guevara-Hernández, F., Morales-Ríos, V., & López-Ayala, J. L. (2019). Traditional Knowledge of Edible Wild Plants Used by Indigenous Communities in Zongolica, Mexico. *Ecology of Food and Nutrition*, 58(5), 511–526. DOI: 10.1080/03670244.2019.1604340
- 10. Dürüst, N., Sümengen, D., & Dürüst, Y. (1997). Ascorbic Acid and Element Contents of Foods of Trabzon (Turkey). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6), 2085–2087. DOI: 10.1021/jf9606159
- 11. Eggersdorfer, M., & Wyss, A. (2018). Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 652, 18–26. DOI: 10.1016/j.abb.2018.06.001
- 12. Faggio, C., Sureda, A., Morabito, S., Sanches-Silva, A., Mocan, A., Nabavi, S. F., & Nabavi, S. M. (2017). Flavonoids and platelet aggregation: A brief review. *European Journal of Pharmacology*, 807, 91–101. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.04.009
- 13. Fernandes, L., Casal, S., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & 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. DOI: 10.1016/j.jfca.2017.03.017
- 14. Fernandes, L., Ramalhosa, E., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & Casal, S. (2020). Borage, camellia, centaurea and pansies: Nutritional, fatty acids, free sugars, vitamin E, carotenoids and organic acids characterization. *Food Research International*, *132*, 109070. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109070
- 15. Grzeszczuk, M.; Stefaniak, A.; Pachlowska, A. (2016). Biological value of various edible flower species. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, *15*(2), 109-119.
- Hornero-Méndez, D., & Mínguez-Mosquera, M. I. (2001). Rapid Spectrophotometric Determination of Red and Yellow Isochromic Carotenoid Fractions in Paprika and Red Pepper Oleoresins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 3584–3588. DOI: 10.1021/jf0104001

- 17. Jiménez-Aguilar, D. M., & Grusak, M. A. (2015). Evaluation of Minerals, Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Mexican, Central American, and African Green Leafy Vegetables. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(4), 357–364. DOI: 10.1007/s11130-015-0512-7
- 18. Kumari, P., Ujala, & Bhargava, B. (2021). Phytochemicals from edible flowers: Opening a new arena for healthy lifestyle. *Journal of Functional Foods*, 78, 104375. DOI: 10.1016/j.jff.2021.104375
- 19. Manousi, N., Sarakatsianos, I., & Samanidou, V. (2019). Extraction Techniques of Phenolic Compounds and Other Bioactive Compounds From Medicinal and Aromatic Plants. *Engineering Tools in the Beverage Industry*, 283–314. DOI: 10.1016/b978-0-12-815258-4.00010-x
- Mateos-Maces, L., Chávez-Servia, J. L., Vera-Guzmán, A. M., Aquino-Bolaños, E. N., Alba-Jiménez, J. E., & Villagómez-González, B. B. (2020). Edible Leafy Plants from Mexico as Sources of Antioxidant Compounds, and Their Nutritional, Nutraceutical and Antimicrobial Potential: A Review. *Antioxidants*, 9(6), 541. DOI: 10.3390/antiox9060541
- 21. 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. DOI: 10.1016/j.ijgfs.2020.100235
- 22. Nowicka, P., & Wojdyło, A. (2019). Anti-Hyperglycemic and Anticholinergic Effects of Natural Antioxidant Contents in Edible Flowers. *Antioxidants*, 8(8), 308. DOI: 10.3390/antiox8080308
- 23. Ojeda, D., Jiménez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., & Alvarez, L. (2010). Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from Hibiscus sabdariffa. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(1), 7–10. DOI: 10.1016/j.jep.2009.09.059
- Pinedo-Espinoza, J. M., Gutiérrez-Tlahque, J., Santiago-Saenz, Y. O., Aguirre-Mancilla, C. L., Reyes-Fuentes, M., & López-Palestina, C. U. (2020). Nutritional Composition, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Wild Edible Flowers Consumed in Semiarid Regions of Mexico. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(3), 413–419. DOI: 10.1007/s11130-020-00822-2
- Pires, T. C., Dias, M. I., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2017). Nutritional and chemical characterization of edible petals and corresponding infusions: Valorization as new food ingredients. *Food Chemistry*, 220, 337–343. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.10.026
- 26. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3
- 27. Rosales, M. A., Cervilla, L. M., Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M. D. M., Blasco, B., Ríos, J. J., Soriano, T., Castilla, N., Romero, L., & Ruiz, J. M. (2010). The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: evaluation of two experimental Mediterranean greenhouses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1), 152–162. DOI: 10.1002/jsfa.4166
- 28. Samaila S Yaradua, Dhafer A. Alzahrani, & Abubakar Bello. (2019). Phylogenetic position of west African species of the genus *Crotalaria* L. (Crotalarieae, Fabaceae) based on the current infrageneric classification. *Pakistan Journal of Botany*. DOI: 10.30848/pjb2019-4(37
- Scupinari, T., Mannochio Russo, H., Sabino Ferrari, A. B., Silva Bolzani, V., Dias, W. P., Oliveira Nunes, E., Hoffmann-Campo, C. B., & Zeraik, M. L. (2020). *Crotalaria spectabilis* as a source of pyrrolizidine alkaloids and phenolic compounds: HPLC-MS/MS dereplication and monocrotaline quantification of seed and leaf extracts. *Phytochemical Analysis*, 31(6), 747–755. DOI: 10.1002/pca.2938
- 30. Singleton, V.L.; Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144-158.
- 31. Sotelo, A., López-García, S., & Basurto-Peña, F. (2007). Content of Nutrient and Antinutrient in Edible Flowers of Wild Plants in Mexico. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(3), 133–138. DOI: 10.1007/s11130-007-0053-9
- 32. STEFANIAK, A., & GRZESZCZUK, M. E. (2018). Nutritional and Biological Value of Five Edible Flower Species. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(1), 128–134. DOI: 10.15835/nbha47111136

- 33. Witham, F.F.; Blaydes, D.F.; Devlin, R.M. Experiments in Plant Physiology, (1971), (Van Nostrand Rteinhold Company, New York).
- 34. Xu, Y., Hu, D., Bao, T., Xie, J., & Chen, W. (2017). A simple and rapid method for the preparation of pure delphinidin-3- O -sambubioside from Roselle and its antioxidant and hypoglycemic activity. *Journal of Functional Foods*, *39*, 9–17. DOI: 10.1016/j.jff.2017.10.002
- 35. Zheng, J., Yu, X., Maninder, M., & Xu, B. (2018). Total phenolics and antioxidants profiles of commonly consumed edible flowers in China. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1524–1540. DOI: 10.1080/10942912.2018.1494195

Capítulo IV.

Actividad anti-inflamatoria de extractos hidroalcohólicos de flores comestibles



Actividad anti-inflamatoria de extractos hidroalcohólicos de flores de Cactáceas en edema de oreja de ratón CD-1 inducido por 12-*O*-tetradecanoilforbol-13 -acetato (TPA)

Resumen

Las propiedades terapéuticas de las flores comestibles hacen que sean ampliamente utilizadas en el mejoramiento de la salud humana. Los compuestos fenólicos presentes en las flores comestibles como los fenoles, flavonoides, entre otros, juegan un papel importante como compuestos antioxidantes efectivos contra enfermedades relacionadas al estrés oxidativo. Estos compuestos exhiben actividades biológicas como anti-ulcerogénica, antimicrobiana, neuroprotectiva, anti-cáncer y anti-inflamatoria.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad anti-inflamatoria de extractos hidroalcohólicos de cuatro flores de cactáceas mediante un modelo de edema inducido en oreja de ratón por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) como guía para la actividad anti-inflamatoria. Todos los extractos hidroalcohólicos de flores presentaron efecto anti-inflamatorio. El mayor efecto de inhibición de edema auricular (57.65 ± 8.88 %) se presentó en el grupo de ratones tratado con el EHCr, a una dosis de 3 mg/oreja. El efecto puede ser atribuido a los compuestos mayoritarios detectados mediante HPLC como el ácido p-cumárico, catequina, kaempferol y quercetina. Lo anterior, debido a que estos compuestos están implicados en la inhibición de mediadores pro-inflamatorios y enzimas como ciclooxigenasas y lipoxigenasas. Los hallazgos indican que la flor de cardón, es una alternativa de tratamiento para procesos inflamatorios.

Palabras clave: efecto anti-inflamatorio, flores de cactáceas, extractos hidroalcohólicos, ácidos fenólicos, flavonoides

4.1. Introducción

La inflamación es un proceso biológico que se activa tras una alteración de las estructuras de los tejidos, es una respuesta fisiológica de protección del organismo ante estímulos físicos, químicos y biológicos. Proceso que se desencadena por lesiones e infecciones tisulares, invasiones microbianas y algunos antígenos, para iniciar la regulación homeostática que involucra diversos mediadores (células y moléculas extracelulares) de suma importancia para la supervivencia del ser humano. El objetivo principal es eliminar el agente dañino e iniciar el proceso de restauración de los tejidos (Tasneem *et al.*, 2019).

Las enfermedades inflamatorias como la gota, aterosclerosis, enfermedades respiratorias, cardiovasculares y cáncer están relacionadas con la producción prolongada de especies reactivas de oxígeno (ROS). Estos metabolitos (oxígenos reducidos) son dañinos para las células en altas concentraciones provocando daño tisular, además de que pueden actuar como moléculas de señalización y mediadores inflamatorios (Mittal *et al.*, 2014).

En la actualidad, los fármacos anti-inflamatorios de origen sintético tienen ciertas limitaciones relacionadas con el costo y efectos secundarios graves. Debido a la gran diversidad química presente en las plantas, estas se han convertido en fuentes alternativas viables en la obtención de compuestos con efectos anti-inflamatorios. Desde hace cientos de años, los productos naturales tienen un papel fundamental en el tratamiento terapéutico de enfermedades, Hipócrates conocido como el padre de la medicina utilizó aproximadamente 400 plantas para aplicaciones medicinales (Nash, 2006).

El beneficio a la salud otorgado por el uso y consumo de flores comestibles y medicinales, se atribuye a la presencia de compuestos antioxidantes que pueden ejercer un efecto preventivo contra enfermedades asociadas al estrés oxidativo (Benvenuti *et al.*, 2016). Tales efectos dependen de la concentración de compuestos aromáticos y/o polihidroxilados como los fenoles, flavonoides y alcaloides (Pires *et al.*, 2019). De acuerdo con la literatura, los principales compuestos naturales presentes en flores con efecto antioxidante son los ácidos fenólicos, flavonoides y sus derivados como la delfinidina, 3-*O*-sambubiósido de delfinidina, rutina, luteína y 3-*O*-ramnósido de quercetina (Wang *et al.*, 2015).

México se caracteriza por una notable riqueza en plantas del género Opuntia con alrededor de 1500 especies, de importancia comercial principalmente por sus frutos, utilizadas desde la antigüedad en la medicina popular para el tratamiento de varias enfermedades y en la actualidad consideradas como fuente de compuestos nutricionales y fitoquímicos con efectos benéficos a la salud (Kaur *et al.*, 2012), y sus flores son de gran interés por la presencia de compuestos bioactivos (Aruwa *et al.*, 2018). En general, las flores se consideran fuente alternativa de compuestos antioxidantes y su consumo provee beneficios a la salud, por sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas, neuroprotectoras, antimicrobianas y anti-inflamatorias (Skrajda-Brdak *et al.*, 2020). Por lo anterior, el objetivo de la investigación fue evaluar el efecto anti-inflamatorio *in vivo* de extractos hidroalcohólicos de cuatro flores de cactáceas mediante un modelo de edema inducido en oreja de ratón CD-1 por 12-*O*-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA), para valorar su posible uso como coadyuvante en el proceso inflamatorio.

4.2. Materiales y Métodos

4.2.1. Material vegetal

Las flores de cardón (*Cylindropuntia rosea*), xoconostle var. ulapa (*Opuntia oligacantha*), xoconostle var. cuaresmeño rosado (*Opuntia matudae*) y pitaya (*Echinocereus cinerascens*) fueron obtenidas en el municipio de Tetepango, Hidalgo, México, localizada a una latitud Norte de 20°06'38", longitud oeste de 99°09'11" y a una altura sobre el nivel del mar de 2100 metros. Enseguida, fueron almacenadas en un ultracongelador a -76 °C (Thermo-Scientific, 703, Outside, EE. UU.), posteriormente se liofilizaron (Labconco, 7948000, Missouri, EE. UU.), y pulverizaron en un molino de cuchillas (Knife Mill Grindomix GM 200; Hahn, Germany), y se almacenaron en refrigeración (4°C) hasta su uso.

4.2.2. Obtención de extractos hidroalcohólicos de flores

15 g de flores secas fueron extraídos por maceración con 250 mL de una mezlca etanol:agua (70:30, v/v) durante una semana. Enseguida, los extractos se filtraron a través de papel filtro (Whatman, 11 μ m).

Para la concentración del extracto hidroalcohólico de cardón (EHCr), extracto hidroalcohólico de xoconostle var. ulapa (EHXU), extracto hidroalcohólico de xoconostle var. cuaresmeño rosado (EHXCu) y extracto hidroalcohólico de pitaya (EHPi), el disolvente fue evaporado a presión reducida (40-50 °C) en un rota-evaporador (Rotavapor, BÜCHI, R-215, Switzerland), posterior a la eliminación del solvente, los extractos secos fueron almacenados en refrigeración (4 °C) y protegidos de la luz hasta su uso.

4.2.3. Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS

Los ácidos fenólicos y flavonoides se cuantificaron mediante cromatografía líquida de alta resolución utilizando un equipo HPLC Agilent 1100, acoplado a un detector de arreglo de diodos (Model 1100 series, Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) de acuerdo con la metodología de Joaquín-Ramos *et al.*, 2020.

Para la identificación y cuantificación de ácidos fenólicos, las muestras (50 mg/mL de etanol) se inyectaron en una columna Nucleosil 100 SA (125 x 4.0 mm, 5 μm, Macherey-Nagel, Düren, Alemania). La fase móvil consistió en H₂O a pH 2.5 con ácido trifluroacético (TFA) como solvente A y acetonitrilo (ACN) como solvente B. El sistema de elusión fue un gradiente como se describe a continuación: 85 % A, 10 min; 65 % A, 20 min; 65 % A, 23 min. El flujo se mantuvo a 1 mL/min a 22 °C y el volumen de inyección fue de 20 μL. La detección de los compuestos se realizó a 280 nm. Los estándares utilizados fueron los ácidos p-hidroxibenzoico, ferúlico, gálico, *p*-cumárico, rosmarínico, vainillico (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). Por otro lado, para la identificación de flavonoides, se utilizó una columna Hypersil ODS (Agilent, 125 x 40 mm, 5 μm). Los eluyentes utilizados fueron los mencionados anteriormente, y se utilizó el siguiente gradiente de elución: 65 % A, 10 min; 65 % A, 20 min; 65 % A, 25 min; y flujo de temperatura a 25 °C.

Catequina, floretina, floritzina, isoramnetina, kaempferol, naringenina y quercetina se utilizaron como estándares (Sigma Aldrich). Para la cuantificación de cada uno de los ácidos fenólicos y flavonoides se realizaron curvas de calibración con los estándares en un rango de concentración de 0.01 a 0.25 mg/mL. Los resultados se expresaron como μg/g de extracto seco.

4.2.4. Animales de experimentación

Se utilizaron ratones de la cepa CD-1, machos de aproximadamente 25-30 g de peso, de 8 a 10 semanas de edad. Éstos se mantuvieron en condiciones estándar de ciclo luz/oscuridad de 12 horas, a 22 °C y con control de humedad relativa del 45%. Se les proporcionó alimento y agua *ad libitum*. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con la Normativa Federal para la Experimentación y Cuidado de Animales (Secretaría de Agricultura, NOM-062-ZOO-1999, México). Los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité Institucional Ético para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, con el número de registro (CICUAL/006/2021). Se empleó el número mínimo de animales y la duración de la observación requerida para obtener datos consistentes.

4.2.5. Modelo de edema inducido en oreja de ratón por 12-O-tetradecanoilforbol-13 - acetato (TPA)

La inflamación fue inducida en la oreja de los ratones con TPA administrado por vía tópica (Rivero-Pérez *et al.*, 2016). Se formaron grupos al azar con 4 ratones cada uno.

Los ratones fueron anestesiados vía intramuscular con Zoletil® (Tiletamina/Zolacepam) a dosis de 100 mg/kg). Posteriormente, se aplicaron 20 μ L de TPA (2.5 μ g disueltos en 20 μ L de acetona) sobre la superficie interna y externa de la oreja izquierda del ratón (10 μ L/lado). Enseguida, se aplicaron los tratamientos con el mismo procedimiento descrito anteriormente (10 μ L/lado). Los extractos fueron administrados a dosis de 3 mg/20 μ L de acetona o etanol para el EHCr, EHXU y EHXCu, y para el EHPi 2 mg/20 μ L de acetona o etanol. El grupo control positivo se trató con indometacina (1 mg en 20 μ L de acetona por oreja); mientras que el grupo control negativo no recibió tratamiento. En la oreja derecha de los ratones únicamente se aplicó el vehículo respectivo.

Seis horas después de la aplicación del agente irritante (TPA), los animales fueron sacrificados. Posteriormente, se cortó un segmento circular de aproximadamente 6 mm de diámetro de las orejas tratadas (t) y no tratadas (nt) y se pesaron. Finalmente, se determinó el % de inhibición de la inflamación ejercido por los extractos mediante la siguiente ecuación:

% de inhibición = (control Δw - tratamiento $\Delta w / \Delta w$) × 100

Donde $\Delta w = wt$ - wnt, siendo wt el peso de la sección de la oreja tratada y wnt el peso de la sección de la oreja no tratada.

4.2.6. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el software JMP.5.0.1 (A Business Unit of SAS, Statistics Analysis System, v. 9.0). Los datos se analizaron empleando el análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparaciones múltiples de Tukey con nivel de significancia $p \le 0.05$ para establecer las diferencias significativas entre las muestras. Los valores se expresaron como la media \pm desviación estándar.

4.3. Resultados y Discusión

4.3.1. Resultados

Extractos de flores de cactáceas fueron evaluados para probar su efecto anti-inflamatorio *in vivo* en un modelo de edema inducido en oreja de ratón CD-1 por TPA (12-O-tetradecanoilforbol-13 -acetato) (Figura 5). Todos los tratamientos presentaron efectos significativos ($p \le 0.05$) de la inhibición del edema auricular con respecto al control positivo (Indometacina).

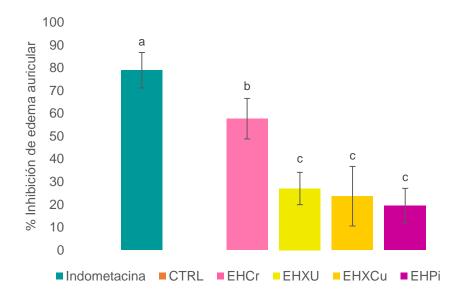


Figura 5. Inhibición de edema en oreja de ratón CD-1 de extractos hidroalcohólicos de flores de cactáceas inducido por aplicación de TPA (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato). EHCr: extracto hidroalcohólico de cardón ($C.\ rosea$), EHU: extracto hidroalcohólico de xoconostle var. ulapa ($O.\ oligacantha$), EHXCu: extracto hidroalcohólico de xoconostle var. cuaresmeño rosado ($O.\ matudae$), EHPi: extracto hidroalcohólico de pitaya ($E.\ cinerascens$). CTRL: control negativo TPA. Los valores representan la media \pm desviación estándar (n=4). Letras diferentes en las barras indican diferencias estadísticamente significativas ($p \le 0.05$) de acuerdo con la comparación múltiple de medias de Tukey.

El mayor porcentaje de inhibición de edema auricular fue de 57.65 ± 8.88 % observado en el grupo tratado con el EHCr (*Cylincropuntia rosea*) a una dosis de 3 mg/oreja, seguido de 27.04 ± 7.07 % en el grupo tratado con el EHXU (*Opuntia oligacantha*) y 23.66 ± 13.09 % obtenido para el EHXCu (*Opuntia matudae*) a la misma dosis (3 mg/oreja). Por otra parte, el grupo tratado con el EHPi (*Echinocereus cinerascens*) presentó 19.53 ± 7.59 % de inhibición del edema auricular; sin embargo, cabe resaltar que se utilizó una dosis menor (2 mg/oreja) en comparación con las anteriores.

En la Tabla 14 se muestra la cuantificación de los principales compuestos fenólicos por HPLC en el EHCr (*Cylindropuntia rosea*), siendo los ácidos *p*-cumárico, gálico y vainíllico los compuestos mayoritarios en concentraciones de 75.13, 2.85 y 1.90 μg/g de extracto seco, respectivamente. Por otra parte, los flavonoides identificados en mayor concentración fueron la quercetina, isoramnetina y catequina con valores de 1.94, 1.65 y 1.44 μg/g de extracto seco, respectivamente.

Tabla 14. Contenido de ácidos fenólicos y flavonoides (μg/g de extracto seco) del extracto hidroalcohólico de la flor de cardón (*Cylindropuntia rosea*)

Compuestos	μg/g de extracto seco	
Ácidos fenólicos		
Ácido 3,5-di-OH-benzoico	0.96 ± 0.03	
Ácido ferúlico	0.40 ± 0.00	
Ácido gálico	2.85 ± 0.24	
Ácido p-cumárico	75.13 ± 0.07	
Ácido rosmarínico	0.91 ± 0.02	
Ácido vainillico	1.90 ± 0.36	
Ácido p-hidroxibenzoico	0.32 ± 0.01	
Flavonoides		
Catequina	1.44 ± 0.11	
Floretina	0.09 ± 0.00	
Floritzina	0.08 ± 0.02	
Isoramnetina	0.97 ± 0.02	
Kaempferol	1.65 ± 0.01	
Naringenina	0.10 ± 0.03	
Quercetina	1.94 ± 0.03	

Los valores representan la media ± desviación estándar (n=3).

4.3.2. Discusión

La inflamación es un proceso de respuesta inmune, donde se activa la liberación secuencial de citocinas pro-inflamatorias como respuesta a una infección, irritación, lesión y agentes extraños en el cuerpo humano. Enfermedades como la artritis, ateroesclerosis, alergias y diversos tipos de cáncer, se correlacionan fuertemente con una inflamación crónica (Zhu, Du, & Xu, 2018).

Los fármacos usados frecuentemente como antiinflamatorios son asociados a diversos efectos adversos para la salud (vómitos, úlceras gástricas, problemas cardiovasculares, etc.), aún con la alta eficacia que estos presentan para aliviar el padecimiento (Veloso, Cardoso, & Vitorino 2021). En este aspecto, las plantas son fuentes importantes de productos naturales o compuestos fitoquímicos con interesantes actividades terapéuticas en pro de la salud como, por ejemplo, exhibir efectos antiinflamatorios. Debido a lo anterior, las plantas se han convertido en fuentes alternativas en la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos antiinflamatorios, para el desarrollo de nuevos fármacos con la eficacia y potencia suficiente para aliviar o prevenir el proceso inflamatorio (Nunes et al., 2020). Por lo anterior, estructuras vegetales como las flores de cactáceas de cardón (C. rosea), xoconostles var. ulapa (O. oligacantha, xoconostle var. cuaresmeño (O. matudae) y pitaya (E. cinerascens), pueden constituir una importante fuente de metabolitos secundarios de gran interés para la obtención de agentes antiinflamatorios. Recientemente, nuestro grupo de investigación evalúo la capacidad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de las flores antes mencionadas (Pensamiento-Niño et al., 2021) e identificó mediante HPLC/ESI/MS a un conjunto de fenoles y flavonoides como componentes principales en los extractos; sin embargo, éstos no se habían cuantificado hasta ahora.

En otro orden de ideas, la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas en la medicina avanzada conlleva a experimentar en modelos adecuados y eficaces para encontrar la mejor aplicación de los metabolitos de interés (Patil *et al.*, 2019). Los principales modelos *in vivo* utilizados actualmente en las evaluaciones de actividad anti-inflamatoria (fase aguda) son los siguientes: edema plantar inducido por carragenina, bradicinina, dextrano, histamina/5-HT y lipopolisacárido (LPS); edema auricular inducido por oxazolona, aceite de crotón y 12-*O*-tetradecanoilforbol-13 -acetato (TPA); permeabilidad vascular inducida por ácido acético/compuestos 48/80 y el modelo de pleuresía (Patil *et al.*, 2019). De acuerdo con la literatura, los principales modelos para evaluar la actividad anti-inflamatoria de extractos de flores comestibles son mediante evaluaciones en cultivos celulares (activación de macrófagos Raw 264.7 inducida por LPS) y modelos *in vivo* (edema en oreja de ratón inducida por aceite de croton, dimetilbenceno y TPA, edema en pata de ratón inducida por carragenina y granuloma inducida por gránulos de algodón) (Skrajda-Brdak *et al.*, 2020; Zheng *et al.*, 2021).

La aplicación de 12-*O*-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) en la oreja de ratón tiene un efecto inflamatorio, provocando la formación de edema y la activación de neutrófilos, células de defensa ante lesiones tisulares. Este agente irritante es utilizado en modelos animales *in vivo* para evaluar compuestos bioactivos (naturales y sintéticos) con efectos anti-inflamatorios en la fase aguda. El mecanismo por el cual genera la inflamación es a través de la activación de la proteína quinasa C, la cual desencadena la activación de la fosfolipasa A₂, prostaglandinas y leucotrienos (Patil *et al.*, 2019; Castro *et al.*, 2019).

Los hallazgos encontrados en nuestro experimento demostraron que los extractos hidroalcohólicos tienen actividad anti-inflamatoria, en la cual, el extracto de cardón fue el más activo en comparación con el resto de los extractos, mientras que el extracto de pitaya fue el menos activo.

Existen escasos estudios de la actividad anti-inflamatoria de extractos de flores comestibles probados en modelos tópicos inducidos por TPA. Sin embargo, Lee *et al.*, 2009 evaluaron la actividad anti-inflamatoria del extracto hidroalcohólico de la flor de Crisantemo (*Chrysanthemum indicum* L.) sobre el edema auricular en oreja de ratón. El extracto de crisantemo fue obtenido por el método de reflujo con etanol al 70 %, este presentó efecto anti-inflamatorio al disminuir el grosor y peso de la oreja por efecto del TPA, lo anterior, similar al efecto de indometacina que redujo significativamente la dermatitis en las orejas de ratones. La actividad anti-inflamatoria fue atribuida a la presencia de flavonas (acacetina, apigenina y derivados), que actuaron mediante la inhibición de los mediadores proinflamatorios como interleucina 1β (IL- 1β) y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) a concentraciones de 5 mg/kg, por lo que en la fase de inflamación prolongada estos compuestos presentaron el 76 % de inhibición de la inflamación. Un efecto inhibitorio también fue encontrado en esta investigación para el EHCr, EHXU, EHXCu y EHPi, al disminuir considerablemente la inflamación en la fase aguda.

Por otra parte, Yasukawa *et al.*, (2010) evaluaron el efecto inhibidor de acetatos de triterpenos obtenidos de la fracción activa del extracto metanólico de flores de alcachofa (*Cynara cardunculus*) sobre la inflamación inducida por TPA en oreja de ratón. El método de obtención del extracto de alcachofa fue por maceración, posteriormente, se realizaron fracciones donde se identificaron cuatro triterpenos (α y β -amirina, taraxasterol y ψ -taraxasterol) y sus correspondientes acetatos, la dosis utilizada para evaluar el efecto anti-inflamatorio fue de 0.02 a 1 mg de extracto. Con lo anterior, se obtuvo la inhibición del 50 % del edema auricular, por acción de α -amirina a una concentración de 1 mgl/oreja, el resultado fue semejante al efecto encontrado en este estudio para el EHCr (*C. rosea*), el cual inhibió el 57.65 % de la inflamación inducida por TPA a una dosis de 3 mg/oreja; sin embargo, es importante mencionar que en nuestra investigación se aplicó el extracto íntegro.

En otro estudio, Li *et al.*, (2020) evaluaron el efecto anti-inflamatorio de un extracto etanólico (95 % v/v) de la flor de Jazmín (*Jasminum grandiflorum* L.) sobre el edema auricular inducido por TPA en ratones, el cual inhibió el 28.93 % de la inflamación a una dosis de 2 mg/oreja, este efecto fue similar a lo encontrado en este trabajo para el EHXU y EHXCu que disminuyeron la inflamación en un 27.04 y 23.66 %, respectivamente, a una dosis de 3 mg de extracto/oreja.

En cuanto al EHPi, se utilizó una dosis de 2 mg de extracto/oreja y se observó que inhibió el 19.53 % de la inflamación auricular, efecto ligeramente cercano al reportado para el extracto de *J. grandiflorum* a una dosis de 2 mg/oreja (Li *et al.*, 2020).

Debido a que el mayor efecto anti-inflamatorio para las flores de cactáceas en este estudio se obtuvo para el extracto de flor de cardón (Figura1), se realizó la determinación del contenido de ácidos orgánicos y flavonoides presentes por HPLC.

Los ácidos fenólicos son compuestos biológicamente activos que se encuentran en diferentes partes de la fuente vegetal como frutas, verduras, cereales, también presentes en bebidas y jugos. Estos compuestos tienen la función de proteger a la planta contra daños externos y enfermedades; sin embargo, son de importancia en el sector salud debido a sus

propiedades farmacológicas como antioxidantes, antimicrobianos, anticancerígenos, antidiabéticos y anti-inflamatorios (Rashmi & Negi 2020).

El ácido p-cumárico es un compuesto fenólico que está presente en frutas, vegetales y cereales de forma libre o conjugada, se le atribuyen propiedades antioxidantes, antidiabéticas, antivirales, antifúngicas, antimelanogénicos, y anti-inflamatorias (Lee et al., 2018). Con respecto al efecto anti-inflamatorio, se ha reportado que el ácido p-cumárico (10-40 mg/mL) es capaz de inhibir mediadores inflamatorios, citocinas (ciclooxigenasa 2 (COX-2), óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) e IL-1β), enzimas como metaloproteínasas (MMP1, MMP3 y MMP13) y agrecanasas (ADAMTS4 y ADAMTS5) y especies reactivas de oxígeno (Huang et al., 2020). Además de inhibir la expresión del gen NF-κB, la actividad del TNF-α y la síntesis de prostaglandinas (PGE2) (Pragasam et al., 2013). Mientras que, ácido gálico también está presente en nueces, vegetales y frutas, se le ha relacionado con efectos antioxidantes, antimicrobianos, antidiabéticos y anti-inflamatorios (Bai et al., 2021). El ácido gálico (50-100 mg/kg) es capaz de inhibir la activación del factor nuclear κB (NF-κB), que a su vez activa mediadores inflamatorios como IL-1β, TNF-α, COX2 y iNOS. Además, inhibe la expresión de mediadores pro-inflamatorios como el óxido nítrico (NO), prostaglandina E2 (PGE2) e interleucina 6 (IL-6), sin embargo, no ejerce un efecto significativo sobre COX-2 (Bai et al., 2021; Ojeaburu & Oriakhi, 2021).

En cuanto al ácido vainíllico, se ha informado que la presencia de este compuesto en algunas plantas vegetales tiene diversas propiedades farmacológicas como actividad sedativa, antidepresiva, antinociceptiva, antihipertensiva, antiulcerativa, anticancerígena, hepatoprotectiva, antifúngica y antioxidante. Ziadlou *et al.*, 2020 evaluaron el efecto anti-inflamatorio del ácido vainíllico en un modelo de inflamación de microtejidos de condrocitos humanos osteoartríticos, para inhibir las vías de señalización de la osteoartritis. El mecanismo de acción anti-inflamatorio encontrado fue mediante la inhibición de las vías de señalización del factor nuclear de la cadena ligera kappa de las células B activadas (NF-κB), en consecuencia, por la atenuación de la fosforilación del factor nuclear del gen del polipéptido ligero kappa en las células B inhibidoras alfa (lκBα), a una concentración de 1 μM de ácido vainíllico. Por lo anterior, el ácido vainíllico posee un efecto anti-inflamatorio considerable para ser utilizado en el tratamiento de la osteoartritis.

Otro grupo de compuestos abundantes en la flor de cardón son los flavonoides, estos poseen efectos farmacológicos como antioxidantes, antimicrobianos, antiproliferativos, anticáncer, neuroprotectivos, antiangiogénicos y anti-inflamatorios. Los flavonoides tienen un papel fundamental en el control de mediadores responsables del proceso de inflamación, lo anterior, a través de la inhibición de enzimas reguladoras y factores de transcripción (Maleki, Crespo & Cabanillas, 2019). Los flavonoides mayoritarios presentes en el extracto hidroalcohólico de la flor de cardón fueron los flavonoles quercetina y kaempferol, seguidos del flavanol catequina.

La quercetina tiene propiedades farmacológicas, principalmente anticancerígenas, antiobesidad, neuroprotectivos, antiateroscleróticas y anti-inflamatorias. El efecto anti-inflamatorio que ha mostrado este compuesto es debido a la inhibición de TNF-α y enzimas (ciclooxigenasa, lipoxigenasa y mediadores de inflamación), responsables de la iniciación

del proceso inflamatorio (Gupta *et al.*, 2016). Por otro lado, el efecto antioxidante de la quercetina es fundamental para eliminar especies reactivas de oxígeno (ROS), principales responsables del estrés oxidativo y en consecuencia factor para inducir el proceso de inflamación (Boots *et al.*, 2008). Con respecto al kaempferol como agente anti-inflamatorio, este efecto se debe a diversos mecanismos de acción (celulares y moleculares), como la inhibición de la liberación de mediadores pro-inflamatorios (IL-6, IL-1, IL-18, IL-1β y TNF-α), inhibición del receptor tipo Toll 4 (TLR4), inhibición de la actividad de unión del NF-κB del ADN y del factor de diferenciación mieloide 88. También se sabe que el kaempferol inhibe la actividad del NF-κB, TNF-β, proteína activadora 1 (AP-1) y enzimas involucradas en la inflamación como LOX, COX-2 y iNOS; además, incrementa la expresión de ARNm y proteínas de genes regulados por Nrf2 (Calderón-Montaño *et al.*, 2011; Alam *et al.*, 2020).

Por otra parte, las catequinas son polifenoles que se encuentran en vegetales y plantas, a este grupo pertenecen principalmente las epicatequinas, galato de epicatequina, epigalocatequina, estereoisómero de galocatequina y estereoisómero de galocatequina. Estos compuestos exhiben efectos farmacológicos como agentes antibacterianos, antihipertensivos y anti-inflamatorios. Los mecanismos de acción del efecto antiinflamatorio, son a través de la inhibición de la secreción de IL-8 por efecto de la supresión de la actividad de NF-κB inducida por TNF-α (Zhang *et al.*, 2019).

La actividad anti-inflamatoria se correlaciona fuertemente con los compuestos presentes en las flores comestibles como los ácidos fenólicos y flavonoides (Zheng *et al.*, 2021). La actividad anti-inflamatoria de los extractos de las flores analizadas en esta investigación se puede atribuir a los compuestos encontrados como los ácidos fenólicos (ácido gálico y *p*-cumárico) y flavonoides (catequina, kaempferol y quercetina), los cuales inhiben mediadores inflamatorios como las enzimas ciclooxigenasas, lipoxigenasas y óxido nítrico sintasa.

4.4. Conclusiones

Las flores de cactáceas (*Cylindropuntia rosea*, *Opuntia oligacantha*, *Opuntia matudae*, *Echinocereus cinerascens*) pueden ser fuentes alternativas para la obtención de agentes anti-inflamatorios y ser utilizarlas en el tratamiento terapéutico de algunas enfermedades inflamatorias. Se observó que el EHCr presentó un efecto anti-inflamatorio significativo con respecto al EHXU, EHXCu y EHPi, lo anterior, atribuido a los principales compuestos encontrados como el ácido *p*-cumárico, catequina, kaempferol y quercetina. Con base a lo anterior, se recomienda realizar estudios complementarios que ayuden a entender el mecanismo de acción de la inhibición inflamatoria de los compuestos presentes en el extracto de cardón.

4.5. Referencias

- Alam, W., Khan, H., Shah, M. A., Cauli, O., & Saso, L. (2020). Kaempferol as a Dietary Anti-Inflammatory Agent: Current Therapeutic Standing. *Molecules*, 25(18), 4073. DOI: 10.3390/molecules25184073
- 2. Aruwa, C. E., Amoo, S. O., & Kudanga, T. (2018). Opuntia (Cactaceae) plant compounds, biological activities and prospects A comprehensive review. *Food Research International*, *112*, 328–344. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.06.047
- 3. Bai, J., Zhang, Y., Tang, C., Hou, Y., Ai, X., Chen, X., Zhang, Y., Wang, X., & Meng, X. (2021). Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. *Biomedicine &Amp; Pharmacotherapy*, 133, 110985. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110985
- 4. Benvenuti, S., Bortolotti, E., & Maggini, R. (2016). Antioxidant power, anthocyanin content and organoleptic performance of edible flowers. *Scientia Horticulturae*, 199, 170–177. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.12.052
- 5. Boots, A. W., Haenen, G. R., & Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, 585(2–3), 325–337. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.03.008
- 6. Castro, J., Rivera, D., & Franco, L. A. (2018). Topical anti-inflammatory activity in TPA-induced mouse ear edema model and in vitro antibacterial properties of Cordia alba flowers. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 49(3), 331–336. DOI: 10.1007/s40005-018-00421-z
- 7. Gupta, A., Birhman, K., Raheja, I., Sharma, S. K., & Kar, H. K. (2016). Quercetin: A wonder bioflavonoid with therapeutic potential in disease management. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(3), 248–252. DOI: 10.1016/s2222-1808(15)61024-6
- 8. Huang, X., You, Y., Xi, Y., Ni, B., Chu, X., Zhang, R., & You, H. (2019). p-Coumaric Acid Attenuates IL-1β-Induced Inflammatory Responses and Cellular Senescence in Rat Chondrocytes. *Inflammation*, 43(2), 619–628. DOI: 10.1007/s10753-019-01142-7
- Joaquín-Ramos, A. D. J., López-Palestina, C. U., Pinedo-Espinoza, J. M., Altamirano-Romo, S. E., Santiago-Saenz, Y. O., Aguirre-Mancilla, C. L., & Gutiérrez-Tlahque, J. (2020). Phenolic compounds, antioxidant properties and antifungal activity of jarilla (Barkleyanthus salicifolius ENT#91;KunthENT#93; H. Rob & Dol: Chilean Journal of Agricultural Research, 80(3), 352– 360. DOI: 10.4067/s0718-58392020000300352
- 10. Kaur, M. (2012). Pharmacological actions of Opuntia ficus indica: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. DOI: 10.7324/japs.2012.2703
- 11. Lee, D. Y., Choi, G., Yoon, T., Cheon, M. S., Choo, B. K., & Kim, H. K. (2009). Anti-inflammatory activity of Chrysanthemum indicum extract in acute and chronic cutaneous inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*, 123(1), 149–154. DOI: 10.1016/j.jep.2009.02.009
- Lee, S., Kim, H. B., Hwang, E. S., Kim, E. S., Kim, S. S., Jeon, T. D., Song, M. C., Lee, J. S., Chung, M. C., Maeng, S., & Park, J. H. (2018). Antidepressant-like Effects of p-Coumaric Acid on LPS-induced Depressive and Inflammatory Changes in Rats. *Experimental Neurobiology*, 27(3), 189–199. DOI: 10.5607/en.2018.27.3.189
- 13. Li, D., Tang, X., Liu, C., Li, H., Li, S., Sun, S., Zheng, X., Wu, P., Xu, X., Zhang, K., & Ma, H. (2020). Jasmine (*Jasminum grandiflorum*) Flower Extracts Ameliorate Tetradecanoylphorbol Acetate Induced Ear Edema in Mice. *Natural Product Communications*, 15(4), 1934578X2091749. DOI: 10.1177/1934578x20917498
- 14. M. Calderon-Montano, J., Burgos-Moron, E., Perez-Guerrero, C., & Lopez-Lazaro, M. (2011). A Review on the Dietary Flavonoid Kaempferol. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 11(4), 298–344. DOI: 10.2174/138955711795305335
- 15. Maleki, S. J., Crespo, J. F., & Cabanillas, B. (2019). Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 299, 125124. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125124

- Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014). Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. *Antioxidants & Amp; Redox Signaling*, 20(7), 1126–1167. DOI: 10.1089/ars.2012.5149
- 17. NASH, R. (2006). Satyajit D. Sarker, Zahid Latif, Alexander I Gray (Eds.), Natural Products Isolation, Second edition, Methods in Biotechnology 20. Humana Press, Totawa, New Jersey, 2006, pp. 515, ISBN: 1-58829-447-1, Cost: GBP 79.50 (hardcover). *Phytochemistry*, 67(11), 1160–1160. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.03.002
- Nunes, C. D. R., Barreto Arantes, M., Menezes de Faria Pereira, S., Leandro da Cruz, L., de Souza Passos, M., Pereira de Moraes, L., Vieira, I. J. C., & Barros de Oliveira, D. (2020). Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules*, 25(16), 3726. DOI: 10.3390/molecules25163726
- Ojeaburu, S., & Oriakhi, K. (2021). Hepatoprotective, antioxidant and, anti-inflammatory potentials of gallic acid in carbon tetrachloride-induced hepatic damage in Wistar rats. *Toxicology Reports*, 8, 177–185. DOI: 10.1016/j.toxrep.2021.01.001
- Ojeda-Ramirez, D., Rivero-Perez, N., Ayala-Martinez, M., Zepeda-Bastida, A., & Meneses-Mayo, M. (2016). Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of spent Pleurotus ostreatus substrates in mouse ears treated with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Indian Journal of Pharmacology*, 48(2), 141. DOI: 10.4103/0253-7613.178826
- Patil, K. R., Mahajan, U. B., Unger, B. S., Goyal, S. N., Belemkar, S., Surana, S. J., Ojha, S., & Patil, C. R. (2019). Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4367. DOI: 10.3390/ijms20184367
- Pensamiento-Niño, C. A., Campos-Montiel, R. G., Añorve-Morga, J., Ramírez-Moreno, E., Ascacio-Valdés, J. A., & Hernández-Fuentes, A. D. (2021). Nutritional Characterization of the Functional and Antioxidant Activity of Cactus Flowers from Hidalgo, Mexico. *Applied Sciences*, 11(13), 5965. DOI: 10.3390/app11135965
- 23. Pires, T. C. P., Barros, L., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2019). Edible flowers: Emerging components in the diet. *Trends in Food Science &Amp; Technology*, 93, 244–258. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.09.020
- 24. Pragasam, S. J., Murunikkara, V., Sabina, E. P., & Rasool, M. (2012). Ameliorative effect of p-coumaric acid, a common dietary phenol, on adjuvant-induced arthritis in rats. *Rheumatology International*, *33*(2), 325–334. DOI: 10.1007/s00296-012-2394-4
- 25. Rashmi, H. B., & Negi, P. S. (2020). Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. *Food Research International*, *136*, 109298. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109298
- 26. Skrajda-Brdak, M., Dąbrowski, G., & Konopka, I. (2020). Edible flowers, a source of valuable phytonutrients and their pro-healthy effects A review. *Trends in Food Science &Amp; Technology*, *103*, 179–199. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.06.016
- 27. Tasneem, S., Liu, B., Li, B., Choudhary, M. I., & Wang, W. (2019). Molecular pharmacology of inflammation: Medicinal plants as anti-inflammatory agents. *Pharmacological Research*, *139*, 126–140. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.11.001
- 28. Veloso, C., Cardoso, C., & Vitorino, C. (2021). Topical Fixed-Dose Combinations: A Way of Progress for Pain Management? *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 110(10), 3345–3361. DOI: 10.1016/j.xphs.2021.06.009
- 29. Wang, T., Huang, H., Zhang, Y., Li, X., Li, H., Jiang, Q., & Gao, W. (2015). Role of Effective Composition on Antioxidant, Anti-inflammatory, Sedative-Hypnotic Capacities of 6 Common Edible *Lilium* Varieties. *Journal of Food Science*, 80(4), H857–H868. DOI: 10.1111/1750-3841.12787
- 30. Yasukawa, K., Matsubara, H., & Sano, Y. (2010). Inhibitory effect of the flowers of artichoke (Cynara cardunculus) on TPA-induced inflammation and tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *Journal of Natural Medicines*, 64(3), 388–391. DOI: 10.1007/s11418-010-0403-z
- 31. Zhang, L., Virgous, C., & Si, H. (2019). Synergistic anti-inflammatory effects and mechanisms of combined phytochemicals. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 69, 19–30. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2019.03.009

- 32. Zheng, J., Lu, B., & Xu, B. (2021). An update on the health benefits promoted by edible flowers and involved mechanisms. *Food Chemistry*, *340*, 127940. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127940
- 33. Zhu, F., Du, B., & Xu, B. (2017). Anti-inflammatory effects of phytochemicals from fruits, vegetables, and food legumes: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(8), 1260–1270. DOI: 10.1080/10408398.2016.1251390
- 34. Ziadlou, R., Barbero, A., Martin, I., Wang, X., Qin, L., Alini, M., & Grad, S. (2020). Anti-Inflammatory and Chondroprotective Effects of Vanillic Acid and Epimedin C in Human Osteoarthritic Chondrocytes. *Biomolecules*, *10*(6), 932. DOI: 10.3390/biom10060932

B) Actividad anti-inflamatoria del extracto hidroalcohólico de Crotalaria longirostrata L. en edema de oreja de ratón CD-1 inducido por 12-O-tetradecanoilforbol-13 –acetato (TPA)

Resumen

El objetivo de la investigación fue evaluar la actividad anti-inflamatoria del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de Crotalaria longirostrata L. en el modelo de edema auricular inducido por TPA en ratón. El extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (Crotalaria longirostrata L.) inhibieron el edema auricular en ratones. Las partes aéreas de chipilín presentaron mayor inhibición del edema auricular en comparación con las flores (29.78 ± 11.44 y 20.64 ± 5.15 %, respectivamente). El efecto encontrado puede ser atribuido a los compuestos identificados mediante HPLC/ESI/MS. En el extracto de las flores se detectaron 3-O-sambubiósido de delfinidina, 3-hidroxifloretina 2'-O-xilosil-glucósido, 1,2-disinapoil gentiobiosa como componentes mayoritarios; mientras que en el extracto de las partes aéreas se identificaron 4-O-glucósido de ácido cafeico, 3-O-(6"-acetil-galactósido) 7-O-ramnósido de quercetina y 6, 8-di-C-glucósido de apigenina como componentes más abundantes. Estos compuestos actúan inhibiendo los mediadores proinflamatorios como interleucina 6 (IL-6), proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α). Los extractos presentaron importante actividad anti-inflamatoria y podrían considerarse como fuente alternativa en el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

Palabras clave: actividad anti-inflamatoria, Crotalaria longirostrata L., extractos hidroalcohólicos.

4.6.1. Introducción

México se caracteriza por tener una divesidad cultural y recursos naturales. Con relación a éstos últimos, se encuentran las plantas comestibles (cultivadas y silvestres) en la cual muchas de estas forman parte de la dieta humana. De manera que, en la actualidad la incusión de plantas comestibles en la alimentación humana ha ganado mayor interés, puesto que, son fuentes de compuestos nutricionales (aminoácidos, proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales) (Mateos-Maces *et al.*, 2020).

En el sureste mexicano, la planta de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.) es una de las principales fuentes de alimentación humana (flores y partes aéreas), principalmente como ingrediente en la elaboración de platillos tradicionales como tamales, guisos, caldos, entre otros. Este género (*Crotalaria*), es uno de los principales de las leguminonsas con alrededor de 700 especies y, se distribuye en las regiones tropicales y subtropicales de Africa, Asia, India y América (Samaila *et al.*, 2019). Los flavonoides, alcaloides y saponinas son los principales compuestos en estas plantas, por esta razón, se les atribuye efectos farmacológicos como anticancerígenos, antimicrobianos, antioxidantes y anti-inflamatorios (Scupinari *et al.*, 2020).

Por consiguiente, los productos naturales son alternativas importantes para la búsqueda de compuestos con actividades anti-inflamatorias, por la gran diversidad de estructuras químicas y composición única, debido a que los fármacos existentes causan efectos secundarios graves y el costo de los tratamientos son elevados, lo que se convierte en una importante limitante en el uso de los fármacos anti-inflamatorios (Azab *et al.*, 2016). Por esta situación, el objetivo de la investigación fue evaluar la actividad anti-inflamatoria *in vivo* del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.) en un modelo de edema auricular inducido por TPA en oreja de ratón.

4.6.2. Materiales y Métodos

4.6.2.1. Material vegetal

Se emplearon flores y las partes aéreas de chipilín (*C. longirostrata* L.), la recolección se realizó en el municipio de Acacoyagua, Chiapas; México, localizada a una latitud Norte de 15°24'21", longitud oeste de 92°41'50" y a una altura sobre el nivel del mar de 70 metros. Las muestras se llevaron a un proceso de secado a temperatura ambiente (25 °C) durante 15 días, posteriormente, se pulverizaron en un molino de cuchillas (Knife Mill Grindomix GM 200; Hahn, Germany), y las muestras se conservaron en refrigeración (4 °C) hasta su uso.

4.6.2.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín

El solvente utilizado para la obtención de los extractos fue etanol: agua (70:30, v/v), la relación muestra-disolvente fue de 1:16 (15 g de muestra), la extracción de los compuestos se realizó mediante maceración durante 1 semana. Posteriormente, el extracto hidroalcohólico de la flor (EHCh) y de las partes aéreas de chipilín (EHPACh) fueron

filtrados (Whatman, 11 μ m) y concentrados a presión reducida (40-50 °C) en un rotaevaporador (Rotavapor, BÜCHI, R-215, Switzerland). Los extractos secos fueron almacenados en total ausencia de luz a temperatura de refrigeración (4 °C), hasta su análisis.

4.6.2.3. Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS

Los compuestos fueron analizados por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en un sistema Varian HPLC, que incluye un inyector automático (VarianProStar 410, USA), una bomba ternaria (VarianProStar 230I, USA) y un detector de matriz de fotodiodos (PDA) (VarianProStar 330, USA). Se usó un espectrómetro de masas con trampa de iones de cromatografía líquida (Espectrómetro de masas Varian 500-MS IT, USA) equipado con una fuente de iones electrospray.

Se inyectaron muestras (5 μL) en una columna Denali C18 (150 mm x 2.1 mm, 3 μm, Grace, USA). La temperatura del horno se mantuvo a 30 °C. Los eluyentes fueron ácido fórmico (0.2 %, *v/v*; solvente A) y acetonitrilo (solvente B). Se aplicó el siguiente gradiente: inicial 3 % de B; 0-5 min, 9 % B lineal; 5-15 min, 16 % B lineal; 15-45 min; 50 % B lineal. La columna se lavó y reacondicionó. La velocidad de flujo se mantuvo a 0.2 mL/min y la elución de compuestos fenólicos se controló a 245, 280, 320 y 550 nm. Todo el efluente (0.2 mL/min) se inyectó en la fuente del espectrómetro de masas, sin división. El experimento del espectrómetro de masas se realizó en modo negativo [M-H]⁻¹. Se utilizó nitrógeno como gas nebulizador y helio como gas de amortiguación.

Los parámetros de la fuente de iones fueron: voltaje de pulverización 5.0 kV y, el voltaje y la temperatura capilar fueron 90.0 V y 350 °C, respectivamente. Los datos fueron colectados y procesados utilizando el software MS Workstation (V 6.9).

4.6.2.4. Animales de experimentación

Se emplearon ratones (n= 4) de la cepa CD-1, machos (25-30 g de peso), de 8 a 10 semanas de edad. Las condiciones de adaptación y mantenimiento fueron las siguientes: ciclo luz/oscuridad de 12 horas, a 22 °C y humedad relativa del 45%, con disponibilidad de alimento y agua *ad libitum*. El Comité Institucional Ético para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, aprobó el protocolo experimental con el número de registro (CICUAL/006/2021).

Los experimentos se realizaron de acuerdo con la Normativa Federal para la Experimentación y Cuidado de Animales (Secretaría de Agricultura, NOM-062-ZOO-1999, México). Se empleó el número mínimo de animales y la duración de la observación requerida para obtener datos consistentes.

4.6.2.5. Modelo de edema inducido en oreja de ratón por 12-O-tetradecanoilforbol-13 - acetato (TPA)

Se le indujo la inflamación auricular (vía tópica) a todos los ratones con TPA de acuerdo con Rivero-Pérez *et al.* (2016). Se formaron grupos al azar (n=4).

Para inducir la inflamación se realizaron aplicaciones tópicas con una micropipeta, 20 μ L de TPA (2.5 μ g disueltos en 20 μ L de acetona) sobre la superficie interna y externa de la oreja izquierda del ratón (10 μ L/lado), previamente anesteciados vía intramuscular con Zoletil® (Tiletamina/Zolacepam, 100 mg/kg). Enseguida, los extractos fueron aplicados de forma tópica en la oreja izquierda del ratón (10 μ L/lado). Para observar el efecto anti-inflamatorio se aplicaron los extractos de la flor y de las partes aéreas de chipilín a una dosis por oreja de 3 mg/20 μ L de agua. Como control posotivo se utilizó indometacina (1 mg/20 μ L de acetona). El vehículo respectivo se aplicó unicamente en la oreja derecha.

Los animales fueron sacrificados 6 horas después de la aplicación del TPA, posteriormente, se cortaron segmentos circulares de 6 mm de diámetro de las orejas tratadas (t) y no tratadas (nt), con la ayuda de una pinza de un orificio. Cada segmento de oreja se colocó en un tubo eppendorf previamente tarado y se pesó para determinar el peso de la muestra.

El % de inhibición del edema auricularse se calculó mediante la siguiente ecuación:

% de inhibición = (control Δw - tratamiento $\Delta w / \Delta w$) × 100

Donde $\Delta w = wt$ - wnt, siendo wt el peso de la sección de la oreja tratada y wnt el peso de la sección de la oreja no tratada.

4.6.2.6. Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de significancia $p \le 0.05$ para establecer las diferencias significativas entre las muestras. El sottware utilizado para el análisis estadístico fue JMP.5.0.1 (A Business Unit of SAS, Statistics Analysis System, v. 9.0). Los valores se expresaron como la media \pm desviación estándar.

4.6.3. Resultados y Discusión

4.6.3.1. Resultados

La actividad anti-inflamatoria del EHCh y EHPACh (C. longirostrata L.) fueron evaluadas mediante un modelo de edema inducido en oreja de ratón CD-1 por aplicación tópica de TPA (12-O-tetradecanoilforbol-13 -acetato) (Figura .6). Se observó que los extractos tienen un efecto significativo ($p \le 0.05$) de la inhibición del edema auricular con respecto al control positivo indometacina.

El EHPACh (*C. longirostrata* L.) a una dosis de 3mg/oreja presentó mayor actividad anti-inflamatoria con 29.78 ± 11.44 % de inhibición del edema auricular en comparación con el obtenido para el EHCh (20.64 ± 5.15 %), a la misma dosis.

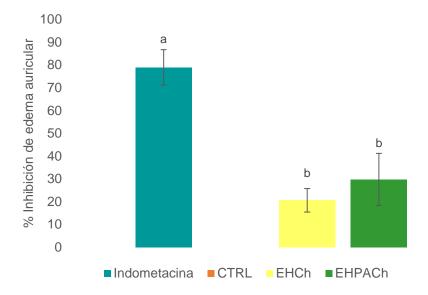
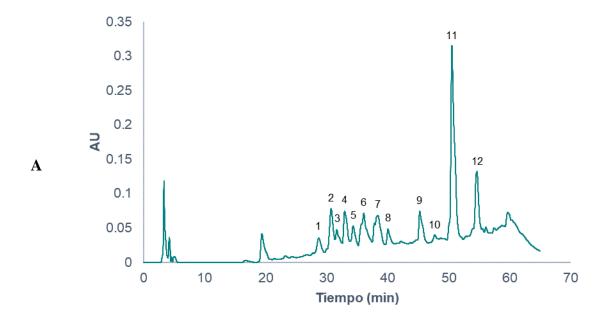


Figura 6. Inhibición de edema en oreja de ratón CD-1 del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (C. longirostrata L.) inducido por aplicación de TPA (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato). EHCh: extracto hidroalcohólico de la flor del chipilín, EHPACh: extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de chipilín. CTRL: control negativo TPA. Los valores representan la media \pm desviación estándar (n=4). Letras diferentes en las barras indican diferencias estadísticamente significativas ($p \le 0.05$) de acuerdo con la comparación múltiple de medias de Tukey.

Los principales compuestos fenólicos en los extractos hidroalcohólicos identificados mediante HPLC/ESI/MS se observan en la Tabla 15.

Se detectó la presencia de 12 compuestos en el EHCh (*C. longirostrata* L.) (Figura 7 A), siendo los principales el 3-*O*-sambubiósido de delfinidina (t_R 51.40 min, 596 m/z), 3-hidroxifloretina 2'-*O*-xilosil-glucósido (t_R 55.44 min, 582.9 m/z) y 1,2-disinapoil gentiobiosa (t_R 31.65 min, 752.7 m/z). Por otra parte, en el EHPACh se identificaron 7 compuestos (Figura 7 B), siendo los mayoritarios: 4-*O*-glucósido de ácido cafeico (t_R 3.30 min, 593.1 m/z), 3-*O*-(6"-acetil-galactósido)-7-*O*-ramnósido de quercetina (t_R 33.92 min, 651.1 m/z) y 6, 8-di-*C*-glucósido de apigenina (t_R 30.30 min, 593.1 m/z).



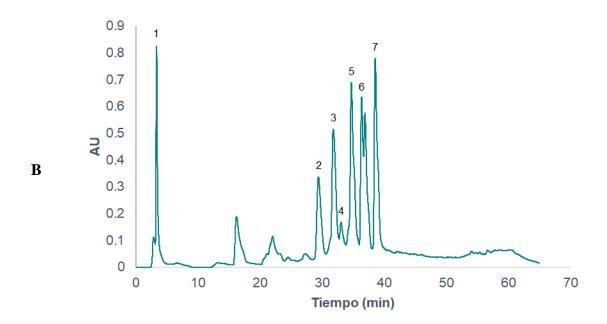


Figura 7. Perfil cromatográfico de los principales compuestos fenólicos del chipilín ($C.\ longirostrata\ L.$). observado a λ 280 nm. **A**: flor de chipilín, Picos 2 y 3: ácidos metoxicinámicos, 1, 5 y 6: flavonoles, 7: metoxiflavonoles, 11: antocianinas, 9 y 12: dihidrochalconas, **B**: partes aéreas de chipilín, Picos 1: ácidos metoxicinámicos, 2: flavonas, 4 y 5: flavonoles, 3, 6 y 7: no identificado.

Tabla 15. Compuestos fenolicos identificados en el extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.)

	N° de señal	t _R (min)	[M-H] ⁻ (m/z)	Compuesto	Familia
	1	29.59	608.8	3-O-xilosil-glucósido de quercetina	Flavonoles
	2	31.65	752.7	1,2-disinapoil gentiobiosa	Ácidos metoxicinámicos
	3	32.16	752.7	1,2, disinapoil gentiobiosa	Ácidos metoxicinámicos
	4	33.97	736.8	Desconocido	
	5	35.29	650.8	3- <i>O</i> -(6´´-acetil-galatósido) 7- <i>O</i> -ramnósido de quercetina	Flavonoles
Flor	6	36.69	794	Epigalocatequina 3- <i>O</i> -galato-7- <i>O</i> -glucósido-4″-glucurónido	Flavonoles
1101	7	38.82	778.7	3- <i>O</i> -glucosil-(1-6)-[apiosil (1-2)]-glucósido de patuletina	Metoxiflavonoles
	8	41	676.7	Desconocido	
	9	46.25	581.9	3-hidroxifloretina 2´-O-xilosil-glucósido	Dihidrochalconas
	10	47.68	327	p-Cumaroil tirosina	Ácidos hidroxicinámicos
	11	51.40	596	3- <i>O</i> -sambubiósido de delfinidina	Antocianinas
	12	55.44	582.9	3-hidroxifloretina 2´-O-xilosil-glucósido	Dihidrochalconas
	1	3.30	341	4- <i>O</i> -glucósido de ácido cafeico	Ácidos hidroxicinámicos
	2	30.30	593.1	6, 8-di-C-glucósido de apigenina	Flavonas
	3	32.66	737.1	No identificado	
Partes aéreas	4	33.92	651.1	3- <i>O</i> -(6"-acetil-galactósido) 7- <i>O</i> -ramnósido de quercetina	Flavonoles
	5	35.56	635.1	3- <i>O</i> -(6"-acetil-galactósido) 7- <i>O</i> -ramnósido de quercetina (isómero)	Flavonoles
	6	37.25	779.1	Desconocido	
	7	39.46	677	Desconocido	

t_R= Tiempo de retención

4.6.3.2. Discusión

La inflamación es un proceso biológico que se activa por alteraciones de los tejidos a consecuencia de lesiones físicas, químicas o biológicas, respuesta adaptativa importante para proteger al huésped de los estímulos que pueden causar algún daño, lo anterior, para lograr la eliminación del agente causante del daño tisular y lograr equilibrar las reacciones proinflamatorias y antinflamatorias a través de las vías de señalización (Olajide & Sarker, 2020).

El uso de 12-*O*-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) ha sido un modelo y herramienta de investigación para evaluar las reacciones inflamatorias en la fase aguda del proceso inflamatorio, debido a que induce a la migración celular y activación de las vías de

señalización (proteína quinasa C, leucotrienos, fosfolipasa A_2 , protaglandinas, proteínas activadas por mitógenos (MAPK) y el factor nuclear κB), además, activa mediadores inflamatorios (interlecuina 1- β (IL-1 β), factor de necrosis tumoral- α TNF- α), quimiocina derivada de queratinocitos (KC), proteína inflamatoria de macrófagos (MIP-2) y prostaglandinas) (Nakamura *et al.*, 2019).

Desde hace cientos de años, se han utilizado los productos naturales con propiedades medicinales para tratar diversas enfermedades, dentro de estas, las enfermedades inflamatorias. Por lo anterior, actualmente los productos naturales se han convertido en una alternativa prometedora en la búsqueda y obtención de compuestos con diversidad estructural y propiedades anti-inflamatorias, para el desarrollo de nuevos fármacos eficaces en el alivio o prevención del proceso inflamatorio, debido a que los fármacos utilizados causan algunas reacciones secundarias graves (Attiq *et al.*, 2018).

Dentro de las fuentes alternativas para la evaluación de compuestos con actividades farmacológicas, se cuenta con una gran diversidad de plantas silvestres y comunes, tal como la planta silvestre de chipilín (*C. longirostrata* L.), que se convierte en una oportunidad para analizar los compuestos y sus posibles actividades farmacológicas. En relación con el modelo de TPA para evaluar actividad anti-inflamatoria *in vivo*, los estudios realizados en flores comestibles son muy escasos. No obstante, Li *et al.*, 2020 evaluaron la actividad anti-inflamatoria del extracto hidroalcohólico de la flor de jazmin (*Jaminum grandiflorum* L.) sobre el edema en oreja de ratón inducido por TPA. El extracto inhibió el 28.93 % del edema auricular, a una dosis de 2 mg/oreja; efecto similar al observado en este trabajo para el EHCh (20.64 % de inhibición); sin embargo, se utilizó una mayor dosis (3 mg/oreja). Por otra parte, el EHPACh 29.78 % del edema auricular a la misma dosis.

El efecto anti-inflamatorio observado en éste trabajo para el EHCh, puede ser atribuido a su componente principal, el 3-*O*-sambubiósido de delfinidina. El cual se ha reportado que tiene actividad anti-inflamatoria, mediante la inhibición de liberación de mediadores pro-inflamatorios como interlecuina 6 (IL-6), proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) en ratones mediante el modelo de edema plantar inducido por lipopolisacáridos (LPS) (Sogo *et al.*, 2015). Además, la actividad antioxidante podría contribuir a la actividad anti-inflamatoria, debido a que este compuesto tiene efectos significativos sobre el estrés oxidativo, al inhibir la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno inducido por H₂O₂ (Xu *et al.*, 2017).

Concerniente a los compuestos detectados en el EHPACh, no se ha encontrado reportes de actividades anti-inflamatorias; sin embargo, los compuestos derivados del ácido cafeico, apigenina y quercetina presentan algunas actividades farmacológicas en modelos *in vivo* e *in vitro*, tales como, antivirales, antidiabéticos, anticancerígenos, cardioprotectores, antibacterianos, antioxidantes y anti-inflamatorios, entre otros (Espíndola *et al.*, 2019; Salehi *et al.*, 2019; Septembre-Melaterre *et al.*, 2022). En tal sentido, los investigadores, las industrias alimentarias y farmacéuticas, se han enfocado en estos compuestos con actividades biológicas, debido a la importancia de los beneficios a la salud humana.

4.6.4. Conclusión

Este estudio contribuyó a los primeros reportes de la identificación y la actividad antiinflamatoria mediante un modelo *in vivo* de los compuestos polifenólicos de la flor y de las
partes aéreas de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L). La actividad anti-inflamatoria del
EHCh y EHPACh se atribuye principalmente a la presencia de los compuestos mayoritarios
3-*O*-sambubiósido de delfinidina y 4-*O*-glucósido de ácido cafeico, respectivamente. Por
tanto, el chipilín representa una opción viable en el tratamiento de enfermedades
inflamatorias, sin embargo, es importante destacar que es necesario aislar estos compuestos
y determinar el mecanismo de acción de la actividad anti-inflamatoria.

.

4.6.5. Referencias

- 1. Attiq, A., Jalil, J., Husain, K., & Ahmad, W. (2018). Raging the War Against Inflammation With Natural Products. *Frontiers in Pharmacology*, 9. DOI: 10.3389/fphar.2018.00976
- 2. Azab, A., Nassar, A., & Azab, A. (2016). Anti-Inflammatory Activity of Natural Products. *Molecules*, 21(10), 1321. DOI: 10.3390/molecules21101321
- 3. Espíndola, K. M. M., Ferreira, R. G., Narvaez, L. E. M., Silva Rosario, A. C. R., da Silva, A. H. M., Silva, A. G. B., Vieira, A. P. O., & Monteiro, M. C. (2019). Chemical and Pharmacological Aspects of Caffeic Acid and Its Activity in Hepatocarcinoma. *Frontiers in Oncology*, 9. DOI: 10.3389/fonc.2019.00541
- Li, D., Tang, X., Liu, C., Li, H., Li, S., Sun, S., Zheng, X., Wu, P., Xu, X., Zhang, K., & Ma, H. (2020).
 Jasmine (*Jasminum grandiflorum*) Flower Extracts Ameliorate Tetradecanoylphorbol Acetate Induced
 Ear Edema in Mice. *Natural Product Communications*, 15(4), 1934578X2091749. DOI: 10.1177/1934578x20917498
- Mateos-Maces, L., Chávez-Servia, J. L., Vera-Guzmán, A. M., Aquino-Bolaños, E. N., Alba-Jiménez, J. E., & Villagómez-González, B. B. (2020). Edible Leafy Plants from Mexico as Sources of Antioxidant Compounds, and Their Nutritional, Nutraceutical and Antimicrobial Potential: A Review. Antioxidants, 9(6), 541. DOI: 10.3390/antiox9060541
- Nakamura, A., Uratsuji, H., Yamada, Y., Hashimoto, K., Nozawa, N., & Matsumoto, T. (2019). Anti-inflammatory effect of lanoconazole on 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate- and 2,4,6-trinitrophenyl chloride-induced skin inflammation in mice. *Mycoses*, 63(2), 189–196. DOI: 10.1111/myc.13034
- Ojeda-Ramirez, D., Rivero-Perez, N., Ayala-Martinez, M., Zepeda-Bastida, A., & Meneses-Mayo, M. (2016). Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of spent Pleurotus ostreatus substrates in mouse ears treated with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Indian Journal of Pharmacology*, 48(2), 141. DOI: 10.4103/0253-7613.178826
- 8. Olajide, O. A., & Sarker, S. D. (2020). Anti-inflammatory natural products. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 153–177. DOI: 10.1016/bs.armc.2020.02.002
- 9. Salehi, B., Venditti, A., Sharifi-Rad, M., Kręgiel, D., Sharifi-Rad, J., Durazzo, A., Lucarini, M., Santini, A., Souto, E., Novellino, E., Antolak, H., Azzini, E., Setzer, W., & Martins, N. (2019). The Therapeutic Potential of Apigenin. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1305. DOI: 10.3390/ijms20061305
- Samaila S Yaradua, Dhafer A. Alzahrani, & Abubakar Bello. (2019). Phylogenetic position of west African species of the genus *Crotalaria* L. (Crotalarieae, Fabaceae) based on the current infrageneric classification. *Pakistan Journal of Botany*. DOI: 10.30848/pjb2019-4(37
- Scupinari, T., Mannochio Russo, H., Sabino Ferrari, A. B., Silva Bolzani, V., Dias, W. P., Oliveira Nunes, E., Hoffmann-Campo, C. B., & Zeraik, M. L. (2020). *Crotalaria spectabilis* as a source of pyrrolizidine alkaloids and phenolic compounds: HPLC-MS/MS dereplication and monocrotaline quantification of seed and leaf extracts. *Phytochemical Analysis*, 31(6), 747–755. DOI: 10.1002/pca.2938
- 12. Septembre-Malaterre, A., Boumendjel, A., Seteyen, A. L. S., Boina, C., Gasque, P., Guiraud, P., & Sélambarom, J. (2022). Focus on the high therapeutic potentials of quercetin and its derivatives. *Phytomedicine Plus*, 2(1), 100220. DOI: 10.1016/j.phyplu.2022.100220
- 13. Sogo, T., Terahara, N., Hisanaga, A., Kumamoto, T., Yamashiro, T., Wu, S., Sakao, K., & Hou, D. X. (2015). Anti-inflammatory activity and molecular mechanism of delphinidin 3-sambubioside, a *Hibiscus* anthocyanin. *BioFactors*, 41(1), 58–65. DOI: 10.1002/biof.1201
- 14. Xu, Y., Hu, D., Bao, T., Xie, J., & Chen, W. (2017). A simple and rapid method for the preparation of pure delphinidin-3- O -sambubioside from Roselle and its antioxidant and hypoglycemic activity. *Journal of Functional Foods*, 39, 9–17. DOI: 10.1016/j.jff.2017.10.002

Capítulo V.

Actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de flores comestibles



Actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de flores de Cactáceas frente a bacterias de importancia en la salud pública

Resumen

El aporte de micronutrientes y compuestos bioactivos de los alimentos vegetales es de impotancia en la dieta humana, asimismo, la inclusión de flores comestibles en la preparación de diversos platillos en la gastronomía ha incrementado durante los últimos años. Por lo anterior, el consumo de flores genera mayor interés debido a que brinda beneficios a la salud como agentes antioxidantes, anticancerígenos, anti-inflamatorios, antimicrobianos, entre otros. Por tal razón, en la actualidad las plantas y flores representan un área de oportunidad para la búsqueda de compuestos con actividades biológicas, entre estos, la actividad antibacteriana, debido a que la resistencia de los microorganismos a los antibióticos hoy en día es un problema grave de salud pública. Por lo consiguiente, el objetivo fue evaluar la actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de flores de cactáceas (cardón, xoconostle var. ulapa, xoconostle var. cuaresmeño rosado, y pitaya) a través de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) contra bacteria gram negativas y gram positivas de importancia en la salud pública. Los resultados indicaron que todos los extractos hidroalcohólicos presentaron actividad inhibitoria principalmente contra Salmonella typhi (6.25-12.5 mg/mL) y Listeria monocytogenes (6.25-12.5 mg/mL), y actividad bactericidad contra Staphylococcus aureus (50-100 mg/mL) y Listeria monocytogenes (50-100 mg/mL). Lo anterior, respalda la actividad antibacteriana de los extractos, sin embargo, el extracto de la flor de cardón descata por su actividad antibacteriana a concentraciones mínimas en comparación con el resto de los extractos. Este efecto puede ser atribuido a su contenido de ácidos fenólicos como pcumárico, gálico y vainíllico, y flavonoides como quercetina, kaempferol y catequina.

Palabras clave: actividad antibacteriana, microorganismos patógenos, flores comestibles, cactáceas

5.1. Introducción

Los alimentos vegetales se caracterizan por ser fuente de micronutrientes y compuestos bioactivos, lo que les confiere un valor nutricional muy importante, un claro ejemplo de ello son las flores comestibles, consumidas tradicionalmente en muchas culturas del mundo durante cientos de años con un rol importante en la nutrición humana, como suministro de diversos nutrientes y compuestos bioactivos (Mlcek y Rop, 2011; Loizzo *et al.*, 2016). Dentro de los principales tipos de flores comestibles de acuerdo a la fuente que se pueden encontrar en la naturaleza son las flores de frutas, flores de vegetales y flores aromáticas medicinales (Zhang *et al.*, 2017), utilizadas principalmente por sus propiedades farmacológicas que proporcionan beneficios a la salud como anticancerígenos, anti-inflamatorios, antidiabéticas, hepatoprotectoras, gastroprotectoras, antihelmínticas, antioxidantes, antibacterianos (Petrova *et al.*, 2016, Lu *et al.*, 2016; Fernandes *et al.*, 2017). Tales efectos se atribuyen a compuestos antioxidantes como los compuestos polifenólicos, flavonoides, antocianinas, carotenoides, entre otros (Benvenuti *et al.*, 2016; Zheng *et al.*, 2018).

Las enfermedades trasmitidas por los alimentos es un problema importante de salud pública, causadas por bacterias patógenas que incluyen Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Salmonella typhi y Escherichia coli, como consecuencia de la ingesta de alimentos contaminados. S. aureus es una bacteria patógena muy cómun a nivel mundial responsable de infecciones como vómitos, diarrea, náuseas, septicemia e intoxicaciones alimentarias (Bianchi & van den Bogaart, 2020). En cuanto a L. monocytogenes, este patógeno es causante de listeriosis, una enfermedad considerada letal en personas inmunodeprimidas, además, de causar gastroenteritis febril (Bianchi & van den Bogaart, 2020). Por otra parte, S. typhi es una de las bacterias patógenas causante de la fiebre tifoidea, enfermedad infecciosa más importante a nivel mundial, que puede provocar perforación del intestino y meningitis si no se tiene un tratamiento eficaz (Brunelle et al., 2017). Finalmente, E. coli es una bacteria patógena que puede causar enfermedades graves y dañar el áera instestinal, dentro de las infecciones principales se encuentran la diarrea severa, colitis hemorrágica y uremia hemolítica, resultado del consumo de alimentos contaminados (Yang et al., 2017). Estas enfermedades infecciosas causadas por bacterias patógenas, conlleva a enfocar las medidas necesarias en relación a la seguridad bacteriana de los alimentos. Al mismo tiempo, la resistencia de microorganismos patógenos a los antimicrobianos ha generado una búsqueda de nuevas fuentes de agentes antibacterianos eficaces contra ellos (Ferri et al., 2015). Por tal motivo, en la actualidad existe mayor interés del sector salud en la búsqueda de alternativas para la obtención de compuestos bioactivos con propiedades antibacterianas. Dentro de estas alternativas se encuentran las flores comestibles, algunas de ellas importantes por sus propiedades medicinales contra bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas, tales efectos están relacionados a la presencia de compuestos polifenólicos (Zhao et al., 2009).

Por otra parte, los compuestos naturales antibacterianos procedentes de plantas o flores son de gran importancia, debido a que estos podrían ser muy eficaces contra microorganismos patógenos transmitidos por los alimentos y utilizarlos en matrices alimentarias, donde muchas de estas bacterias son resistentes a los antibióticos (Voon *et al.*, 2011).

Es importante prevenir enfermedades transmitidas por los alimentos y brindar alimentos seguros al consumidor. Por lo anterior, las flores de Cactáceas como cardón (*Cylindropuntia rosea*), xononostle var. ulapa (*Opuntia oligacantha*), xoconostle var. cuaresmeño rosado (*Opuntia matudae*) y pitaya (*Echinocereus cinerascens*) son alternativas para la búsqueda y obtención de compuestos antibacterinos que ayuden a minimizar las enfermedades transmitidas por bacterias patógenas. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de flores de Cactáceas contra bacterias Gram postivias (*Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes*) y Gram *negativas* (*Salmonella typhi, Escherichia coli*) de importancia en la salud pública.

5.2. Materiales y Métodos

5.2.1. Material vegetal

Las flores de cardón (*C. rosea*), xoconostle var. ulapa (*O. oligacantha*), xoconostle var. cuaresmeño rosado (*O. matudae*) y pitaya (*E. cinerascens*) fueron obtenidas en el municipio de Tetepango, Hidalgo, México, localizado a una latitud Norte de 20°06'38", longitud oeste de 99°09'11" y a una altura sobre el nivel del mar de 2100 metros.

5.2.2. Obtención de extractos hidroalcohólicos

Los extractos fueron obtenidos por maceración. La extracción se realizó empleando una mezcla de etanol:agua (70:30, v/v) y relación masa-volumen 1:16, la extracción se dejó durante una semana. Posteriormente, el extracto hidroalcohólico de cardón (EHCr), extracto hidroalcohólico de xoconostle var. ulapa (EHXU), xoconostle var. cuaresmeño rosado (EHXCu) y extracto hidroalcohólico de pitaya (EHPi) fueron filtrados y concentrados en un rota-evaporador (40-50 °C), inmediatamente disueltos en etanol para su recuperación. Enseguida, los extractos se liofilizaron y almacenaron a 4 °C hasta su posterior uso.

5.2.3. Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC

Los ácidos fenólicos y flavonoides se cuantificaron mediante cromatografía líquida de alta resolución utilizando un equipo HPLC Agilent 1100, acoplado a un detector de arreglo de diodos (Model 1100 series, Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) de acuerdo con la metodología de Joaquín-Ramos *et al.*, 2020.

Para la identificación y cuantificación de ácidos fenólicos, las muestras (50 mg/mL de etanol) se inyectaron en una columna Nucleosil 100 SA (125 x 4.0 mm, 5 μm, Macherey-Nagel, Düren, Alemania). La fase móvil consistió en H₂O a pH 2.5 con ácido trifluroacético (TFA) como solvente A y acetonitrilo (ACN) como solvente B. El sistema de elusión fue un gradiente como se describe a continuación: 85 % A, 10 min; 65 % A, 20 min; 65 % A, 23 min. El flujo se mantuvo a 1 mL/min a 22 °C y el volumen de inyección fue de 20 μL. La

detección de los compuestos se realizó a 280 nm. Los estándares utilizados fueron los ácidos *p*-hidroxibenzoico, ferúlico, gálico, *p*-cumárico, rosmarínico, vainillico (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). Por otro lado, para la identificación de flavonoides, se utilizó una columna Hypersil ODS (Agilent, 125 x 40 mm, 5 μm). Los eluyentes utilizados fueron los mencionados anteriormente, y se utilizó el siguiente gradiente de elución: 65 % A, 10 min; 65 % A, 20 min; 65 % A, 25 min; y flujo de temperatura a 25 °C. Catequina, floretina, floritzina, isoramnetina, kaempferol, naringenina y quercetina se utilizaron como estándares (Sigma Aldrich).

Para la cuantificación de cada uno de los ácidos fenólicos y flavonoides se realizaron curvas de calibración con los estándares en un rango de concentración de 0.01 a 0.25 mg/mL. Los resultados se expresaron como μg/g de extracto seco.

5.2.4. Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana se realizó mediante la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB). Para las pruebas de actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de las flores de Cactáceas se utilizaron cepas bacterianas ATCC, Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, ATCC⁶⁵³⁸, *Listeria monocytogenes*, ATCC¹⁹¹¹³) y Gram negativas (*Salmonella typhi*, ATCC¹⁴⁰²⁸; *Escherichia coli*, ATCC³⁵²¹⁸) [Clinical and Laboratory Standards Institute]. Las bacterias fueron reactivadas en Agar Mueller Hinton (BD bioxon, Germany), la técnica de estría simple fue utilizada para la obtención de colonias aisladas; enseguida, las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. La pureza y morfología de las cepas fue verificada mediante la tinción de Gram, posteriormente, se inocularon individualmente en caldos nutritivos (BD bioxon, Germany) y se incubaron a 37 °C durante 24 h.

5.2.4.1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se determinó de acuerdo con lo establecido por Morales-Ubaldo *et al.*, 2020, con ligeras modificaciones. En placas estériles de 96 pozos, se prepararon diluciones seriadas del extracto hidroalcohólico (200 a 0.39 mg/mL), lo anterior, se realizó por triplicado (100 μL/pozo). Enseguida, se agregó 10 μL de la suspensión de bacterias en cada pozo, ajustadas previamente a un estándar de 0.5 McFarland (Remel, R20421, 1.5 x 10⁶ unidades formadoras de colonia (UFC/mL). Se utilizó caldo nutritivo (DIFCO®), caldo nutritivo más bacterias y DMSO (15 %) como controles negativos y, Kanamicina (32-0.25 μg/mL, AppliChem 4K10421TM) como control positivo. Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 h a 70 rpm. Transcurrido el tiempo de incubación, se agregó a cada pozo 20 μL de solución de *p*-iodonitrotetrazolium (0.04 %, *p/v*) (Sigma-Aldrich 18377, St. Louis, MO, USA), enseguida, se incubaron a 37 °C durante 30 minutos a 70 rpm. La CMI se determinó a partir de la concentración más baja a la que la solución viró a color rosa.

5.2.4.2. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Posterior a la incubación y previo a la adición de *p*-iodonitrotetrazolium, se inocularon 5 μL de cada pocillo en agar Mueller-Hinton (BD bioxon, Germany y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Transcurrido el tiempo de incubación se determinó la CMB, donde es la concentración más baja a la que no se observó crecimiento visible de bacterias en las placas (Morales-Ubaldo *et al.*, 2020).

El efecto bacteriostático o bactericida se determinó mediante la relación CMB/CMI. Un efecto bacteriostático se consideró cuando la relación fue mayor a 4 y bactericida menor o igual a 4 (Morales-Ubaldo *et al.*, 2020).

5.2.5. Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante un diseño completamente al azar mediante un Análisis de Varianza (ANOVA). Se realizó un análisis estadístico de comparación múltiple de Tukey al nivel de significancia p < 0.05 para observar las diferencias entre las medias. Se utilizará el programa SAS, versión 9.0.

5.3. Resultados y Discusión

5.3.1. Resultados

5.3.1.1. Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC

La Tabla 16 muestra el conenido de ácidos fenólicos y flavonoides en los extractos hidoalcohólicos de las flores de cardón, xoconostle var. ulapa, xoconostle var. cuaresmeño rosado y pitaya determinado por HPLC (Tabla 16).

De acuerdo con la Tabla 16, los ácidos gálico (2.41-7.84 μg/g extracto), *p*-cumárico (1.59-75.13 μg/g extracto) y protocatecuico (3.1-25.12 μg/g extracto) fueron los compuestos más detectados. En el EHCr se detectó mayor concetración de ácido *p*-cumárico (75.13 μg/g extracto), gálico (2.85 μg/g extracto) y vainíllico (1.90 μg/g extracto); mientras que en el EHXU el ácido rosmarínico (5.49 μg/g extracto), ácido gálico (4.99 μg/g extracto), β-resorcilico (2.08 μg/g extracto) y *p*-cumárico (1.60 μg/g extracto) fueron los compuestos más abundantes. En el EHPi y EHXU, se detectaron en mayor concentración el ácido protocatecuico (25.12 y 3.1 μg/g extracto), seguido del ácido gálico (7.84 y 2.41 μg/g extracto) y *p*-cumárico (5.60 y 1.59 μg/g extracto); sin embargo, el contenido de éstos fue mayor en el EHPi.

También se detectó la presencia de flavonoides en los extractos. Los principales fueron quercetina (1.94-2.14 μ g/g extracto), kaempferol (1.65-2.61 μ g/g extracto) y catequina (1.44-8.84 μ g/g extracto). La catequina fue detectada principalmente en el EHPi y EHCr, mientras que el kaempferol y quercetina en el EHCr y EHXU. También se detectó la presencia de quercetina en el EHPi.

Tabla 16. Contenido de ácidos fenólicos y flavonoides en los extractos hidroalcohólicos de

flores de cactáceas (µg/g de extracto)

Compuestos	EHCr	EHXU	EHXCu	EHPi
Ácidos fenólicos Ácido 3,5-di-OH- benzoico Ácido clorogénico	0.96 ± 0.03^{b}	$0.89 \pm 0.00^{\circ}$		9.04 ± 0.05^{a} 0.08 ± 0.01
Ácido ferúlico	0.40 ± 0.00^b	0.42 ± 0.00^a		
Ácido gálico	2.85 ± 0.24^{c}	4.99 ± 0.01^{b}	2.41 ± 0.07^{d}	7.84 ± 0.03^a
Ácido p-cumárico	75.13 ± 0.07^{a}	1.60 ± 0.00^{c}	$1.59\pm0.00^{\rm d}$	5.60 ± 0.04^{b}
Ácido protocatecuico Ácido rosmárico	0.91 ± 0.02^{b}	5.49 ± 0.12^{a}	3.1 ± 0.02^b	25.12 ± 0.08^{a}
Ácido sinápico	0.51 ± 0.02	0.95 ± 0.00^{a}	0.94 ± 0.00^{b}	
Ácido vainillico	1.90 ± 0.36	0.70 = 0.00	0.5 . = 0.00	
Ácido β- resorcilico Ácido <i>p</i> - hidroxibenzoico	0.32 ± 0.01^{a}	2.08 ± 0.00^{b}	2.10 ± 0.06^{b} 0.33 ± 0.05^{a}	2.79 ± 0.11^{a}
Flavonoides				
Apigenina		1.98 ± 0.01		
Catequina	1.44 ± 0.11^{b}			8.84 ± 1.53^{a}
Floretina	0.09 ± 0.00^a	0.01 ± 0.00^{b}		
Floritzina	0.08 ± 0.02^a			0.07 ± 0.00^{a}
Isoramnetina	0.97 ± 0.02^a	$0.78\pm0.01^{\text{b}}$		
Kaempferol	1.65 ± 0.01^{b}	2.61 ± 0.01^a		
Miricetina		1.76 ± 0.00		
Naringenina	0.10 ± 0.03^a	0.01 ± 0.01^{b}		
Quercetina	1.94 ± 0.03^{c}	2.14 ± 0.03^a	89.94 ± 0.04	2.02 ± 0.01^b

EHCr: extracto hidroalcohólico de cardón (C. rosea), EHXU: extracto hidroalcohólico de xoconostle var. ulapa (O. oligacantha), EHXCu: extracto hidroalcohólico de xoconostle var. cuaresmeño rosado (O. matudae), EHPi: extracto hidroalcohólico de pitaya (E. cinerascens). Los valores representan la media \pm desviación estándar (n=3). Valores con diferentes letras en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas a $p \le 0.05$ según la prueba de Tukey.

5.3.1.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La CMI de los extractos hidroalcohólicos de las flores de cactáceas se determinó mediante el método de microdilución en caldo (Tabla 17).

Todos los extractos presentaron actividad inhibitoria significativa ($p \le 0.05$) contra bacterias Gram negativas y Gram positivas. El EHCr fue el que presentó mayor efecto inhibitorio sobre las bacterias (L. monocytogenes 6.35 mg/mL, S. typhi 12.5 mg/mL, E. coli y S. aureus 25 mg/mL); seguido del EHPi (L. monocytogenes 6.25 mg/mL, S. typhi 12.5 mg/mL, S. aureus 25 mg/mL, E. coli 50 mg/mL), el EHXU (S. typhi y L. monocytogenes 25 mg/mL, E. coli y S. aureus 50 mg/mL) y el EHXCu (S. typhi 6.25 mg/mL, E. monocytogenes 12.5 mg/mL, E. coli 100 mg/mL). Finalmente, todos los extractos hidroalcohólicos presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la CMI del control Kanamicina.

Tabla 17. Concentración mínima inhibitoria (CMI) de extractos hidroalcohólicos de flores de cactáceas contra bacterias de importancia en la salud pública

	Extractos de flores (mg/mL)				
Bacterias	EHCr	EHXU	EHXCu	ЕНРі	Kn 32 (μg/mL)
Salmonella typhi	12.5 ^{cB}	12.5 ^{cA}	6.2 ^{bA}	12.5 ^{cB}	4 ^{aC}
Escherichia coli	25^{bC}	50^{cB}	100^{dD}	50^{cD}	2^{aB}
Staphylococcus aureus	25^{bC}	50 ^{cB}	25 ^{bC}	25 ^{bC}	1 aA
Listeria monocytogenes	6.25 ^{aA}	12.5 ^{bA}	12.5 ^{bB}	6.25 ^{aA}	6.25 ^{aD}

EHCr: extracto hidroalcohólico de cardón ($C.\ rosea$), EHXU: extracto hidroalcohólico de xoconostle var. ulapa ($O.\ oligacantha$), EHXCu: extracto hidroalcohólico de xoconostle var. cuaresmeño rosado ($O.\ matudae$), EHPi: extracto hidroalcohólico de pitaya ($E.\ cinerascens$). ^aLetras diferentes en las filas indican diferencias estadísticas significativas a $p \le 0.05$ entre los extractos. ^ALetras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas a $p \le 0.05$ entre las bacterias.

5.3.1.3. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Los valores de la Concentración Mínima Bactericida se presentan en la Tabla 18, esta fue determinada a la concentración más baja a la cual se observó ausencia de unidades formadoras de colonias (UFC) en medios sólidos.

Tabla 18. Concentración mínima bactericida (CMB) de extractos hidroalcohólicos de flores de cactáceas contra bacterias de importancia en la salud pública

	Extractos de flores (mg/mL)					
Bacterias	EHCr	EHXU	EHXCu	EHPi	Kn 32 (μg/mL)	
Salmonella typhi	100 ^{bB}	200cB	100 ^{bA}	100 ^{bA}	16 ^{aC}	
Escherichia coli	200^{bC}	200^{bB}	200^{bB}	400^{cB}	8^{aB}	
Staphylococcus aureus	50 ^{bA}	100^{cA}	100 ^{cA}	100 ^{cA}	4^{aA}	
Listeria monocytogenes	50^{bA}	100 ^{cA}	100^{cA}	100 ^{cA}	4^{aA}	

EHCr: extracto hidroalcohólico de cardón ($C.\ rosea$), EHXU: extracto hidroalcohólico de xoconostle var. ulapa ($O.\ oligacantha$), EHXCu: extracto hidroalcohólico de xoconostle var. cuaresmeño rosado ($O.\ matudae$), EHPi: extracto hidroalcohólico de pitaya ($E.\ cinerascens$). ^aLetras diferentes en las filas indican diferencias estadísticas significativas a $p \le 0.05$ entre los extractos. ^ALetras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas a $p \le 0.05$ entre las bacterias

Todos los extractos presentaron actividad antibacteriana significativa ($p \le 0.05$) contra bacaterias Gram negativas y Gram positivas. El EHCr ($C.\ rosea$) fue el más efectivo contra $S.\ aureus$ y $L.\ monocytogenes$ (50 mg/mL), $S.\ typhi$ (100 mg/mL) y $E.\ coli$ (200 mg/mL), seguido del EHXCu ($O.\ matudae$) sobre $S.\ typhi$, $S.\ aureus$ y $L.\ monocytogenes$ (100 mg/mL)

y *E. coli* (200 mg/mL). Por otra parte, el EHXU (*O. oligacantha*) mostró efecto bactericida sobre *S. aureus* y *L. monocytogenes* (100 mg/mL) y *S. typhi* y *E. coli* (200 mg/mL). Finalmente, el EHPi (*E. cinerascens*) fue efectivo sobre *S. typhi*, *S. aureus* y *L. monocytogenes* (100 mg/mL) y *E. coli* (400 mg/mL). Los extractos hidroalcohólicos presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la CMB del control Kanamicina.

5.3.1.4. Relación de la CMB/CMI

El efecto bactericida o bacteriostático se determinó a partir de la relación CMB/CMI. Un efecto bacteriostático se consideró cuando la relación fue mayor a 4 y bactericida menor o igual a 4 (Morales-Ubaldo *et al.*, 2020). En la Tabla 19 se presenta la relación de la CMB/CMI de los extractos hidroalcohólicos de flores de Cactáceas. Los resultados de la CMB/CMI mostraron que todos los extractos presentaron efecto bacteriostático contra *S. typhi y L. monocytogenes*. Asimismo, el EHCr y EHPi solamente mostraron efecto bacteriostático sobre *E. coli*. Por otra parte, se observó que el EHXU y el EHXCu tienen efecto bactericida contra *E. coli*. En cuanto a *S. aureus* solamente el EHCr, EHXCu y EHPi presentaron efecto bactericida sobre esta bacteria.

Tabla 19. Relación de la CMB/CMI de los extractos hidroalcohólicos de flores de cactáceas contra bacterias de importancia en la salud pública

	Extracto de flores (mg/mL)				
Bacterias	EHCr	EHXU	EHXCu	ЕНРі	
Salmonella typhi	Bacteriostático	Bacteriostático	Bacteriostático	Bacteriostático	
Escherichia coli	Bacteriostático	Bactericida	Bactericida	Bacteriostático	
Staphylococcus aureus	Bactericida	Bacteriostático	Bactericida	Bactericida	
Listeria monocytogenes	Bacteriostático	Bacteriostático	Bacteriostático	Bacteriostático	

EHCr: extracto hidroalcohólico de cardón (*C. rosea*), EHXU: extracto hidroalcohólico de xoconostle var. ulapa (*O. oligacantha*), EHXCu: extracto hidroalcohólico de xoconostle var. cuaresmeño rosado (*O. matudae*), EHPi: extracto hidroalcohólico de pitaya (*E. cinerascens*).

5.3.2. Discusión

Durante décadas, la humanidad ha sufrido diversas enfermedades causantes de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, la mayoría de estas causadas por bacterias patógenas. El uso de antimicrobianos para tratamiento de enfermedades infecciosas es primordial; sin embargo, la resistencia de las bacterias a los antimicrobianos es una de las amezadas de salud pública a nivel mundial, donde el uso indebido y excesivo de los antimicrobianos en el tratamiento de enfermedades infecciosas induce al desarrollo de diversos mecanismos y expresión de genes de resistencia de las bacterias a estos compuestos,

hoy en día, lo que representa una preocupación mundial para las organizaciones de la salud pública (McEwen y Collignon, 2018, Abushaheen *et al.*, 2020).

El interés por la búsqueda y obtención de nuevos antibacterianos nos enfoca a explorar nuevas fuentes para tal propósito, dentro de ellas, los productos naturales de las plantas que contienen una diversidad química de compuestos potenciales como posibles agentes antimicrobianos para el tratamiento de enfermedades infecciosas, interesante por los mecanismos de defensa desarrolladas contra microorganismos (Porras *et al.*, 2020). El EHCr, EHXU, EHXCu y EHPi exhibieron mejor actividad antibacteriana contra las bacterias Gram positivas en comparación con las bacterias Gram negativas. Lo anterior, se debe principalmente a la existencia de una membrana fosfolipídica en la estructura de las bacterias Gram negativas, que dificulta que los solutos lipofílicos ingresen en la pared celular, además, las porinas presentes funcionan como una barrera selectiva (González-Alamilla *et al.*, 2020). En la actualidad, no hay literatura que respalden la actividad antibacteriana de las flores analizadas en esta investigación; sin embargo, se puede hacer mención de otras flores con actividades antibacterianas similares a nuestros hallazgos.

Ruban y Gajalakshmi (2012) evaluaron la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto de la flor de *Hibiscus rosa-sinensis* contra bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas. En este estudio fueron evaluados extractos acuosos, metanólicos y etanólicos contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp., a concentraciones de 40 mg/mL. El extracto etanólico presentó un efecto inhibitorio contra las bacterias antes mencionadas; sin embargo, se obervó un mayor halo de inhibición contra *S. aureus* y *Salmonella* sp., lo anterior, se correlacionó con la presencia y acción de compuestos bioactivos como taninos y flavonoides. Por lo anterior, la actividad inhibitoria de los extractos hidroalcohólicos evaluados en esta investigación presentaron mayor efecto a mínimas concentraciones, para *S. typhi* (6.2 a 12.5 mg/mL), *E. coli* (EHCr a 25 mg/mL) y *S. aureus* (EHCr, EHXU y EHXCu a 25 mg/mL).

Por otra parte, Ammar *et al.* (2012) evaluaron la actividad antibacteriana del extracto hexánico de flores de *Opuntia ficus-indica* y *Opuntia stricta* contra *S. aureus* y *E. coli*, la actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en disco a concentraciones de 100 mg/mL. El extracto de *O. ficus-indica* sólo inhibió el crecimiento de *S. aureus*, por el contrario, *O. stricta* presentó marcada actividad inhibitoria contra *E. coli* y *S. aureus*. Tal efecto, fue atribuido a la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, ya que se observó una correlación con la mayor actividad antibacteriana.

De la misma forma, Ammar *et al.* (2015) estudiaron la actividad antibacteriana del extracto metanólico de flores de *O. ficus-indica* contra *E. coli*, *S. aureus* y *L. monocytogenes*. El extracto presentó mayor zona de inhibición sobre *L. monocytogenes*, seguido de *S. aureus* y *E. coli* a concentraciones de 100 mg/mL en un ensayo de difusión en pozos. El efecto encontrado puede ser atribuido a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides.

En otro estudio, Pires *et al.*, 2018 evaluaron la actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de flores comestibles *Dahlia mignon*, *Rosa damascena*, *Calendula officinalis* L. y *Centaurea cyanus* L., contra *E. coli*, *S. aureus* y *L. monocytogenes*. Los valores de la CMI de los extractos oscilaron de 2.5-20 mg/mL para *E. coli*, 1.25-10 mg/ mL

para *S. aureus* y 5-20 mg/mL para *L. monocytogenes*. Con respecto a lo encontrado en esta investigación, la CMI del extracto de cardón sobre *E. coli* (25 mg/mL) fue cercana a lo reportado para *C. officinalis* y *C. cyanus*. Por otra parte, la actividad inhibitoria del EHCr, EHXU y EHXCu fueron más activas para bacterias gram positivas (*L. monocytogenes*) que lo reportado por Pires *et al.* Dicha actividad, podría estar correlacionada con la presencia de los principales compuestos como ácido clorogénico, derivados de ácido cafeoilquínico y *p*-cumárico, y derivados de flavonoides como isoramnetina, kaempferol, quercetina y apigenina reportados por los autores.

Con base a lo anterior, los resultados del efecto inhibitorio de las flores comestibles reportados por Pires *et al.* son similares a lo encontrado en este estudio, sin embargo, en esta investigación se observó que los efectos inhibitorios sobre las bacterias evaluadas se obtuvieron a menores concentraciones de extractos hidroalcohólicos de las flores de Cactáceas. Cabe hacer mención, que en la mayoría de estudios de actividad antibacteriana solamente llegan a reportar la CMI como inidcador de esta actividad, sin embargo, nuestra investigación resalta la importancia de conocer la CMB para las bacterias estudidas, y con lo anterior, contribuir a la importancia en cuanto a posibles aplicaciones en la industria alimentaria de los extractos de flores.

La actividad antibacteriana de los compuestos fenólicos está directamente influenciada por la concentración del ensayo utilizado, cepa bacteriana y la estructura de los compuestos fenólicos. Esta actividad se asocia a la hiperpolarización de la membrana celular, por consecuencia de acción de los compuestos sobre la permeabilidad de la membrana celular bacteriana y disminución del pH citoplasmático. Los ácidos fenólicos como el gálico y pcumárico detectados en el EHCr, EHXU, EHXCu y EHPi, tienen actividad antibacteriana contra bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas; por ejemplo, se ha reportado que ácido gálico modifica la hidrofobocidad, disminuye la carga superficial negativa y provoca la ruptura o formación de poros en las membranas celulares, lo anterior, provoca cambios en la membrana celular causando daños significativos a la bacteria (Borges et al., 2013). Por su parte, el ácido p-cumárico es capaz de dañar a las bacterias a través de mecanismos duales, en primera instancia modifica la permeabilidad de la membrana externa y plasmática bacteriana, además se une al anión fosfato del ADN genónmico bacteriano, disminuyendo la función celular (Lou et al., 2012). Asimismo, se ha reportado que el ácido protocatecuico detectado principalmente en el EHXCu y EHPi tiene efectos inhibitorios sobre las bacterias al generar la lisis de la membrana celular y un desequilibrio en la homesostasis redox las células bacterianas lo que produce macromoléculas oxidadas causando la muerte bacteriana (Ajiboye et al., 2016). En cuanto a los flavonoides, la quercetina (EHCr, EHXU y EHXCu), kaempferol (EHCr) y catequina (EHCr) fueron los principales compuestos detectados. Se ha reportado que el mecanismo de acción de la quercetina y kaempferol contra bacterias es a través del cambio de permeabilidad y destrucción de la pared celular, daña las celulas por interacción directa con la proteína de la membrana, y también inhiben la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, provocando lisis y muerte de las células (Yan et al., 2020, Jan et al., 2022). Mientras que la catequina aumenta el contenido de especies reactivas de oxigeno en la célula bacteriana, causando estrés oxidativo endógeno y daño en estructura celular (Ma *et al.*, 2019).

De esta manera, los resultados respaldan la actividad antibacteriana prometedora del EHCr, EHXU, EHXCu y EHPi, debido a su actividad significativa contra bacterias de importancia en la salud publica, por ser agentes causantes de muchas enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial.

5.4. Conclusiones

Los hallazgos de la actividad antibacteriana del EHCr, EHXU, EHXCu y EHPi, se atribuye a los compuestos mayoritarios como ácidos fenólicos (gálico, p-cumárico, protocatecuico) y flavonoides (quercetina, kaempferol, catequina). Todos los extractos presentaron actividad inhibitoria significativa contra *S. typhi* y *L. monocytogenes*, y actividad bactericidad contra *S. aureus* y *L. monocytogenes*. En general, el EHCr fue el que presentó mayor efecto antibacteriano a concentraciones mínimas, el cual es atribuido a los ácidos fenólicos (*p*-cumárico, gálico, vainíllico) y flavonoides (quercetina, kaempferol y catequina). Cabe resaltar que estos son los primeros reportes de la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de las flores de cactáceas (cardón, xoconostle var. ulapa, xoconostle var. cuaresmeño rosado y pitaya), estos resultados podrían respaldar la aplicación de los extractos de las flores contra las bacterias analizadas en esta investigación, y son opciones viables como agentes antibacterianos.

5.5. Referencias

- Abushaheen, M. A., Muzaheed, Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D. D., Jhugroo, C., Vellappally, S., Khan, A. A., Shaik, J., & Jhugroo, P. (2020). Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66(6), 100971. DOI: 10.1016/j.disamonth.2020.100971
- 2. Ajiboye, T. O., Habibu, R. S., Saidu, K., Haliru, F. Z., Ajiboye, H. O., Aliyu, N. O., Ibitoye, O. B., Uwazie, J. N., Muritala, H. F., Bello, S. A., Yusuf, I. I., & Mohammed, A. O. (2017). Involvement of oxidative stress in protocatechuic acid-mediated bacterial lethality. *MicrobiologyOpen*, 6(4), e00472. DOI: 10.1002/mbo3.472
- 3. Ammar, I., Bardaa, S., Mzid, M., Sahnoun, Z., Rebaii, T., Attia, H., & Ennouri, M. (2015). Antioxidant, antibacterial and in vivo dermal wound healing effects of Opuntia flower extracts. *International Journal of Biological Macromolecules*, 81, 483–490. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.08.039
- 4. Ammar, I., Ennouri, M., Khemakhem, B., Yangui, T., & Attia, H. (2012). Variation in chemical composition and biological activities of two species of Opuntia flowers at four stages of flowering. *Industrial Crops and Products*, *37*(1), 34–40. DOI: 10.1016/j.indcrop.2011.11.027
- 5. Benvenuti, S., Bortolotti, E., & Maggini, R. (2016). Antioxidant power, anthocyanin content and organoleptic performance of edible flowers. *Scientia Horticulturae*, 199, 170–177. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.12.052
- 6. Bianchi, F., & van den Bogaart, G. (2020). Vacuolar escape of foodborne bacterial pathogens. *Journal of Cell Science*, 134(5), jcs247221. DOI: 10.1242/jcs.247221
- Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M. J., & Simões, M. (2013). Antibacterial Activity and Mode of Action of Ferulic and Gallic Acids Against Pathogenic Bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 19(4), 256–265. DOI: 10.1089/mdr.2012.0244
- 8. Brunelle, B. W., Bearson, B. L., & Allen, H. K. (2017). Prevalence, Evolution, and Dissemination of Antibiotic Resistance in *Salmonella*. *Foodborne Pathogens and Antibiotic Resistance*, 331–348. DOI: 10.1002/9781119139188.ch14
- 9. Fernandes, L., Casal, S., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & 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. DOI: 10.1016/j.jfca.2017.03.017
- Ferri, M., Ranucci, E., Romagnoli, P., & Giaccone, V. (2015). Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13), 2857– 2876. DOI: 10.1080/10408398.2015.1077192
- González-Alamilla, E. N., Gonzalez-Cortazar, M., Valladares-Carranza, B., Rivas-Jacobo, M. A., Herrera-Corredor, C. A., Ojeda-Ramírez, D., Zaragoza-Bastida, A., & Rivero-Perez, N. (2019). Chemical Constituents of Salix babylonica L. and Their Antibacterial Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Animal Bacteria. *Molecules*, 24(16), 2992. DOI: 10.3390/molecules24162992
- 12. Jan, R., Khan, M., Asaf, S., Lubna, Asif, S., & Kim, K. M. (2022). Bioactivity and Therapeutic Potential of Kaempferol and Quercetin: New Insights for Plant and Human Health. *Plants*, *11*(19), 2623. DOI: 10.3390/plants11192623
- Joaquín-Ramos, A. D. J., López-Palestina, C. U., Pinedo-Espinoza, J. M., Altamirano-Romo, S. E., Santiago-Saenz, Y. O., Aguirre-Mancilla, C. L., & Gutiérrez-Tlahque, J. (2020). Phenolic compounds, antioxidant properties and antifungal activity of jarilla (Barkleyanthus salicifolius ENT#91;KunthENT#93; H. Rob & Erttell). Chilean Journal of Agricultural Research, 80(3), 352— 360. DOI: 10.4067/s0718-58392020000300352
- 14. Loizzo, M. R., Pugliese, A., Bonesi, M., Tenuta, M. C., Menichini, F., Xiao, J., & Tundis, R. (2015). Edible Flowers: A Rich Source of Phytochemicals with Antioxidant and Hypoglycemic Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(12), 2467–2474. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b03092
- 15. Lou, Z., Wang, H., Rao, S., Sun, J., Ma, C., & Li, J. (2012). p-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food Control*, 25(2), 550–554. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.11.022

- 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(sup1), S130–S148. DOI: 10.1080/10408398.2015.1078276
- 17. Ma, Y., Ding, S., Fei, Y., Liu, G., Jang, H., & Fang, J. (2019). Antimicrobial activity of anthocyanins and catechins against foodborne pathogens Escherichia coli and Salmonella. *Food Control*, *106*, 106712. DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.106712
- 18. McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiology Spectrum*, 6(2). DOI: 10.1128/microbiolspec.arba-0009-2017
- 19. Mlcek, J., & Rop, O. (2011). Fresh edible flowers of ornamental plants A new source of nutraceutical foods. *Trends in Food Science &Amp; Technology*, 22(10), 561–569. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.04.006
- Morales-Ubaldo, A., Hernández-Alvarado, J., Valladares-Carranza, B., Velázquez-Ordoñez, V., Delgadillo-Ruiz, L., Rosenfeld-Miranda, C., & Zaragoza-Bastida (2020). A. Antibacterial activity of the Croton draco hidroalcoholic extract on bacteria of sanitary importance. Abanico Veterinario, 10. DOI: 10.21929/abavet2020.2
- 21. Pires, T. C., Dias, M. I., Barros, L., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Oliveira, M. B. P., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2018). Edible flowers as sources of phenolic compounds with bioactive potential. *Food Research International*, *105*, 580–588. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.11.014
- 22. Porras, G., Chassagne, F., Lyles, J. T., Marquez, L., Dettweiler, M., Salam, A. M., Samarakoon, T., Shabih, S., Farrokhi, D. R., & Quave, C. L. (2020). Ethnobotany and the Role of Plant Natural Products in Antibiotic Drug Discovery. *Chemical Reviews*, 121(6), 3495–3560. DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c00922
- 23. Ruban, P., & Gajalakshmi, K. (2012). In vitro antibacterial activity of Hibiscus rosa–sinensis flower extract against human pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(5), 399–403. DOI: 10.1016/s2221-1691(12)60064-1
- 24. Voon, H. C., Bhat, R., & Rusul, G. (2011). Flower Extracts and Their Essential Oils as Potential Antimicrobial Agents for Food Uses and Pharmaceutical Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(1), 34–55. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2011.00169.x
- 25. Yang, D., Wang, T., Long, M., & Li, P. (2020). Quercetin: Its Main Pharmacological Activity and Potential Application in Clinical Medicine. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–13. DOI: 10.1155/2020/8825387
- 26. Yang, S. C., Lin, C. H., Aljuffali, I. A., & Fang, J. Y. (2017). Current pathogenic Escherichia coli foodborne outbreak cases and therapy development. *Archives of Microbiology*, *199*(6), 811–825. DOI: 10.1007/s00203-017-1393-y
- 27. Zhang, L., Virgous, C., & Si, H. (2019). Synergistic anti-inflammatory effects and mechanisms of combined phytochemicals. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 69, 19–30. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2019.03.009
- 28. Zheng, J., Yu, X., Maninder, M., & Xu, B. (2018). Total phenolics and antioxidants profiles of commonly consumed edible flowers in China. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1524–1540. DOI: 10.1080/10942912.2018.1494195

B) Actividad antibacteriana de la flor y de las partes aéreas de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.) frente a bacteria de importancia en la salud pública

Resumen

El grave problema de la resistencia a los antimicrobianos de bacterias patógenas, es una preocupación a nivel mundial, debido a que son causantes de enfermedades infecciosas con alta morbilidad y mortalidad. Ante esta situación, hoy en día existe la urgencia y necesidad de encontrar nuevos compuestos con actividades antimicrobianas, y las fuentes vegetales representan una gran oportunidad para la obtención de estos compuestos. Dentro de estas fuentes vegetales, se encuentra el chipilín (Crotalaria longirostrata L.), planta silvestre de importancia por sus principales compuestos como flavonoides, saponinas y alcaloides, sin embargo, no se tiene reporte de su actividad antibacteriana. En tal sentido, el objetivo fue evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (Crotalaria longirostrata L.) a través de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) contra bacteria gram negativas y gram positivas de importancia en la salud pública. Los resultados indicaron que el EHCh y EHPACh presentaron actividad inhibitoria principalmente contra Staphylococcus aureus y Listeria monocytogenes, ambos a una concentración de 25 mg/mL, y la actividad bactericidad fue observada principalmente en el EHPACh contra Salmonella typhi y L. monocytogenes ambos a 200 mg/mL, y contra S. aureus a 400 mg/mL. Lo anterior, demuestra la actividad antibacteriana de los extractos; sin embargo, se observó mayor actividad antibacteriana en el EHPACh, efecto atribuido principalmente a la presencia de 4-Oglucósido de ácido cafeico, 3-O-(6"-acetil-galactósido)-7-O-ramnósido de quercetina y 6, 8di-C-glucósido de apigenina.

Palabras clave: actividad antibacteriana, microorganismos patógenos, flores comestibles, Crotalaria.

5.6.1. Introducción

México tienen una gran diversidad de plantas comestibles (silvestres y domesticadas), fuente de macro y micronutrientes importantes en la dieta humana. Dentro de estas plantas, encontramos a los quelites, parte importante en la alimentación del ser humano, de gran importancia en las comunidades y regiones locales de México, donde se estima que existen aproximadamente más de 250 especies de quelites (silvestres, semicultivadas y cultivadas) (Mateos-Maces *et al.*, 2020).

Actualmente, existe un gran interés por antimicrobianos naturales obtenidos de frutas, verduras, hierbas y plantas, debido a que estas brindan compuestos con diversas estructuras químicas y que podrían ser utilizadas en el control de bacterias patógenas, causantes de diversas enfermedades infecciosas en el mundo (Gyawali et al., 2015). Hoy en día, la mayoría de las enfermedades infecciosas trasmitidas por los alimentos son causadas por bacterias patógenas como Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Salmonella typhi y Escherichia coli, consideradas las más comúnes e importantes. El consumo de alimentos contaminados viene acompañado de infecciones como vómitos, diarrea, nauseas, septicemia e intoxicaciones alimentarias, lo anterior causado por la presencia de S. aureus (Bianchi & van den Bogaart, 2020). Con respecto a L. monocytogenes, esta bacteria patógena es causante de la enfermedad llamada listeriosis, enfermedad letal en las personas inmunodeprimidas, también puede causar gastroenteritis febril (Bianchi & van den Bogaart, 2020). Otra de las enfermedades infecciosas transmitidas por el consumo de alimentos contaminados es la fiebre tifoidea, causada por S. typhi, inclusive puede provocar daños en el intestino y causar meningitis si no se cuenta con un tratamiento adecuado (Brunelle et al., 2017). Por último, E. coli es una de las bacterias patógenas implicadas en muchas enfermedades infecciosas transmitidas por alimentos, dentro de ellas diarrea severa, colitis hemorrágica y uremia hemolítica (Yang et al., 2017). Aunado a lo anterior, la resistencia de los microorganismos patógenos a los antimicrobianos es una preocupación a nivel mundial, por lo que ha incrementado un mayor interés por nuevas alternativas para obtener nuevos antimicrobianos eficaces contra estas bacterias patógenas. Debido a esto, se ha encontrado en las fuentes vegetales un área de oportunidad para explorar soluciones potenciales de esta problemática (Chernov et al., 2019). Plantas del género Crotalaria, pueden ser buenas alternativas en la búsqueda de compuestos con actividad antibacteriana, ya que son plantas que contienen principalmente flavonoides, saponinas y alcaloides, y a estos compuestos se les ha relacionado con actividades antioxidantes, anticancerígenas, anti-inflamatorias y antimicroabianas (Scupinari et al., 2020). El chipilín (C. longirostrata L.), planta silvestre originaria del Sur de México y Centroamérica, planta que forma parte de la alimentación de comunidades locales de Veracruz, Oaxaca y Chiapas, principalmente consumidas de diferentes formas, como, caldos, sopas, guisos, y comidas tradicionales. Es necesario resaltar, que hasta el momento se desconocen las propiedes antibacterianas de esta planta. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (C. longirostrata L.) contra bacterias Gram postivias (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) y Gram *negativas* (*Salmonella typhi*, *Escherichia coli*) de importancia en la salud pública.

5.6.2. Materiales y Métodos

5.6.2.1. Material vegetal

Las flores y las partes aéreas de chipilín (*C. longirostrata* L.) se recolectaron en el municipio de Acacoyagua, Chiapas; México, latitud norte 15°20'24" y longitud oeste 92°40'27", a 86 metros sobre el nivel del mar. Las muestras fueron secadas a temperatura ambiente (25 °C) durante 15 días, posteriormente, se pulverizaron en un molino de cuchillas (Knife Mill Grindomix GM 200; Hahn, Germany), y las muestras se preservaron en refrigeración (4 °C) hasta su uso.

5.6.2.2. Obtención de extractos hidroalcohólicos

El extracto hidroalcohólico de la flor (EHCh) y de las partes aéreas (EHPACh) de chipilín se obtuvieron por maceración con etanol:agua (70:30, *ν/ν*; 1:16 *m/ν*) durante una semana. Después, los extractos se filtraron a través de un papel filtro (Whatman, 11 μm) y enseguida fueron concentrados a presión reducida (40-50 °C) en un rota-evaporador (Rotavapor, BÜCHI, R-215, Switzerland), posterior a la eliminación del solvente, los extractos fueron disueltos en etanol para su recuperación. Finalmente, los extractos fueron liofilizados y conservados (4 °C) en total oscuridad hasta su posterior uso.

5.6.2.3. Identificación de compuestos fenólicos por HPLC/ESI/MS

Los compuestos fueron analizados por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en un sistema Varian HPLC, que incluye un inyector automático (VarianProStar 410, USA), una bomba ternaria (VarianProStar 230I, USA) y un detector de matriz de fotodiodos (PDA) (VarianProStar 330, USA). Se usó un espectrómetro de masas con trampa de iones de cromatografía líquida (Espectrómetro de masas Varian 500-MS IT, USA) equipado con una fuente de iones electrospray.

Se inyectaron muestras (5 μL) en una columna Denali C18 (150 mm x 2.1 mm, 3 μm, Grace, USA). La temperatura del horno se mantuvo a 30 °C. Los eluyentes fueron ácido fórmico (0.2 %, *v/v*; solvente A) y acetonitrilo (solvente B). Se aplicó el siguiente gradiente: inicial 3 % de B; 0-5 min, 9 % B lineal; 5-15 min, 16 % B lineal; 15-45 min; 50 % B lineal. La columna se lavó y reacondicionó. La velocidad de flujo se mantuvo a 0.2 mL/min y la elución de compuestos fenólicos se controló a 245, 280, 320 y 550 nm. Todo el efluente (0.2 mL/min) se inyectó en la fuente del espectrómetro de masas, sin división. El experimento del espectrómetro de masas se realizó en modo negativo [M-H]⁻¹. Se utilizó nitrógeno como gas nebulizador y helio como gas de amortiguación.

Los parámetros de la fuente de iones fueron: voltaje de pulverización 5.0 kV y, el voltaje y la temperatura capilar fueron 90.0 V y 350 °C, respectivamente. Los datos fueron colectados y procesados utilizando el software MS Workstation (V 6.9).

5.6.2.4. Actividad antibacteriana

Se realizó mediante la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB). Para las pruebas de actividad antibacteriana del EHCh y EHPACh se utilizaron cepas bacterianas ATCC, Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, ATCC⁶⁵³⁸, *Listeria monocytogenes*, ATCC¹⁹¹¹³) y Gram negativas (*Salmonella typhi*, ATCC¹⁴⁰²⁸; *Escherichia coli*, ATCC³⁵²¹⁸) [Clinical and Laboratory Standards Institute].

La reactivación de las cepas bacterianas se realizó en Agar Mueller Hinton (BD bioxon, Germany), y la técnica de estría simple fue utilizada para la obtención de colonias asiladas, enseguida, las placas se incubaron a 37 °C/24 horas. Posteriormente, mediante la tinción de Gram se corroboró la cepa correspondiente de las bacterias (morfología y pureza). Después de la confirmación de la cepa bacteriana, se inocularon a 37 °C durante 24 h individualmente en caldos nutritivos (BD bioxon, Germany).

5.6.2.4.1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La CMI del EHCh y EHPACh se determinó de acuerdo a lo establecido por Morales-Ubaldo *et al.*, 2020, con ligeras modificaciones. En placas estériles de 96 pozos, se prepararon diluciones seriadas del extracto hidroalcohólico (200 a 0.39 mg/mL), lo anterior, se realizó por triplicado (100 μL/pozo). Enseguida, se agregó 10 μL de la suspensión de bacterias en cada pozo, ajustadas previamente a un estándar de 0.5 McFarland (Remel, R20421, 1.5 x 10⁶ unidades formadoras de colonia (UFC/mL). Se utilizó caldo nutritivo (DIFCO®), caldo nutritivo más bacterias y DMSO (15 %) como controles negativos y, Kanamicina (32-0.25 μg/mL, AppliChem 4K10421TM) como control positivo. Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas a 70 rpm. Transcurrido el tiempo de incubación, se agregarón en cada pozo 20 μL de solución de p-iodonitrotetrazolio (0.04 %, p/v) (Sigma-Aldrich 18377, St. Louis, MO, USA), enseguida, se incubaron a 37 °C durante 30 minutos a 70 rpm. La CMI se determinó a partir de la concentración más baja, a la que la solución viró a color rosa.

5.6.2.4.2. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Posterior a la incubación y la adición previa de p-iodonitrotetrazolium, se inocularon 5 μL de cada pocillo en agar Mueller-Hinton (BD bioxon, Germany y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Transcurrido el tiempo de incubación se determinó la CMB, donde es la concentración más baja a la que no se observó crecimiento visible de bacterias en las placas (Morales-Ubaldo *et al.*, 2020).

El efecto bacteriostático o bactericida se determinó mediante la relación CMB/CMI. Un efecto bactericida se consideró cuando la relación fue mayor a 4 y bactericida menor o igual a 4 (Morales-Ubaldo *et al.*, 2020).

5.6.2.5. Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante un diseño completamente al azar mediante un Análisis de Varianza (ANOVA). Se realizó un análisis estadístico de comparación múltiple de Tukey al nivel de significancia p < 0.05 para observar las diferencias entre las medias. Se utilizará el programa SAS, versión 9.0.

5.6.3. Resultados y Discusión

5.6.3.1. Resultados

5.6.3.1.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La CMI del EHCh y EHPACh se determinó mediante el método de microdilución en caldo (Tabla 20). Los extractos presentaron actividad inhibitoria significativa ($p \le 0.05$) contra bacterias Gram negativas y Gram positivas. El EHPACh presentó mayor efecto inhibitorio sobre las bacterias S. typhi (25 mg/mL) y E. coli (50 mg/mL) con respecto a lo encontrado en el EHCh (50 y 100 mg/mL, respectivamente). Sin embargo, en los extractos no se observó diferencias estadísticamente significativas en la actividad inhibitoria para S. aureus y L. monocytogenes. El EHCh y EHPACh presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la CMI del control Kanamicina.

Tabla 20. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.) contra bacterias de importancia en la salud pública

D	mg	W 22 (/ L)	
Bacterias	EHCh	EHPACh	— Kn 32 (μg/mL)
Salmonella typhi	50 ^{cB} 25 ^{bA}		4 ^{aC}
Escherichia coli	$100^{\rm cC}$	50^{bB}	2^{aB}
Staphylococcus aureus	25 ^{bA}	25^{bA}	1^{aA}
Listeria monocytogenes	25 ^{bA}	25^{bA}	6.25^{aD}

EHCh: extracto hidroalcohólico de la flor de chipilín, EHPACh: extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de chipilín. ^aLetras diferentes en las filas indican diferencias estadísticas significativas a $p \le 0.05$ entre los extractos. ^ALetras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas a $p \le 0.05$ entre las bacterias.

5.6.3.1.3. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

La CMB se observa en la Tabla 21, esta fue determinada a la concentración más baja a la cual se observó ausencia de unidades formadoras de colonias (UFC) en medios sólidos. Los extractos presentaron actividad antibacteriana significativa ($p \le 0.05$) contra bacaterias Gram negativas y Gram positivas. El EHCh y EHPACh eliminaron el 99.9% de la bacteria

S. typhi a una concentración de 200 mg/mL. Por otro lado, para E. coli los extractos no presentaron actividad bactericida. En cuanto a las bacterias S. aureus y L. monocytogenes sólo el EHPACh mostró actividad bacterida a 400 y 200 mg/mL, respectivamente. Los extractos hidroalcohólicos presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la CMB del control Kanamicina.

Tabla 21. Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.) contra bacterias de importancia en la salud pública

	mg	W 22 (/ L)	
Bacterias	EHCh	EHPACh	— Kn 32 (μg/mL)
Salmonella typhi	200 ^{bA}	200 ^{bA}	16 ^{aC}
Escherichia coli	SA	SA	8^{aB}
Staphylococcus aureus	SA	400^{bB}	4^{aA}
Listeria monocytogenes	SA	200^{bA}	4^{aA}

EHCh: extracto hidroalcohólico de la flor de chipilín, EHPACh: extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de chipilín. ^aLetras diferentes en las filas indican diferencias estadísticas significativas a $p \le 0.05$ entre los extractos. ^ALetras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas a $p \le 0.05$ entre las bacterias.

5.6.3.1.4. Relación de la CMB/CMI

El efecto bactericida o bacteriostático se determinó a partir de la relación CMB/CMI. Un efecto bacteriostático se consideró cuando la relación fue mayor a 4 y bactericida menor o igual a 4 (Morales-Ubaldo *et al.*, 2020). En la Tabla 22 se presenta la relación de la CMB/CMI del EHCh y EHPACh. Los extractos presentaron efecto bacteriostático contra todas las bacterias evaluadas, a excepción del EHCh que presentó efecto bactericida contra *S. typhi*.

Tabla 22. Relación de la CMB/CMI del extracto hidroalcohólico de la flor y de las partes aéreas de chipilín (*Crotalaria longirostrata* L.) contra bacterias de importancia en la salud pública

D	mg	mg/mL			
Bacterias	EHCh	EHPACh			
Salmonella typhi	Bactericida	Bacteriostático			
Escherichia coli	Bacteriostático	Bacteriostático			
Staphylococcus aureus	Bacteriostático	Bacteriostático ^{bB}			
Listeria monocytogenes	Bacteriostático	Bacteriostático			

EHCh: extracto hidroalcohólico de la flor de chipilín, EHPACh: extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de chipilín.

5.6.3.2. Discusiones

La variedad de infecciones e intoxicaciones que se generan a través del consumo de alimentos son generadas principalmente por bacterias patógenas, causantes de enfermedades que generan morbilidad y mortalidad alrededor del mundo. Lo anterior, se convierte en una preocupación a nivel mundial, que conlleva a replantear y buscar alternativas en los sistemas de inocuidad y seguridad alimentaria (Fu *et al.*, 2016). Aunado a esto, la eficacia de los antimicrobianos para tratar las enfermedades infeccionas causadas por bacterias patógenas, se ve afectada por la resistencia bacteriana, vinculado a esto, por el uso indebido de los antibióticos que ha generado el desarrollo de nuevos genes de expresión y mecanismos de resistencia en las bacterias (Ferri *et al.*, 2015).

Por ello, la búsqueda de nuevos compuestos antimicroabianos en fuentes vegetales se convierte en una alternativa prometedora, debido a la gran diversidad de estructuras químicas que brindan estos productos naturales, y que podrían ser empleados en la elaboración de nuevos antibacterianos (Porras *et al.*, 2020). En este sentido, la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de la flor y de las partes aéreas del chipilín (*C. longirostrata* L.) resultaron más activa contra bacterias gram positivas. Escasas investigaciones se han reportado de la actividad antibacteriana de plantas del género *Crotalaria*.

Kiruthiga *et al.*, 2014, evaluaron el extracto metanólico de las partes aéreas de *C. pallida* A. contra *E. coli* y *S. aureus* a una concentración de 25 mg/mL y encontraron que *E. coli* fue más suceptible que *S. aureus*. Los autores sugieren que este efecto puede estar relacionado con la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides. Lo reportado para *C. pallida* A. coincide con la actividad inhibitoria encontrada en nuestra investigación para *S. aureus*; sin embargo, *C. longirostrata L.* fue menos activa contra *E. coli*.

Por otra parte, Herizo *et al.*, 2016, evaluaron la actividad antibacteriana de extractos (hexánico, metanólico y acetato de etilo) de las partes aéreas de *C. bernieri* B. contra 17 bacterias, dentro de ellas *E. coli*, *S. aureus* y *L. monocytogenes*, a una concentración de 100 mg/mL. De todos los extractos, el extracto metanólico y hexánico presentaron efectos inhibitorios contra *S. aureus*, la mayor zona de inhibición se observó con el extracto metanólico. Los autores, mencionan que el efecto encontrado puede ser atribuido a la diferencia entre la naturaleza química y la concentración de compuestos fenólicos en los extractos, aunado a esto, podría deberse principalmente a la presencia de polifenoles, taninos, triterpenos, esteroides y flavonoides. Por lo anterior, el extracto de la flor y de las partes aéreas de *C. longirostrata* presentaron mayor actividad antibacteriana contra las bacterias patógenas, debido a que la inhibición se encontró a una menor concentración. Cabe señalar, que la marcada diferencia se debe al tipo de extracto utilizado, así como la variedad de la planta utilizada.

Tambien Miranda-Granados *et al.*, 2018, evaluaron fracciones obtenidas del extracto crudo de las partes aéreas de chipilín (*C. longirostrata* L.) contra bacterias patógenas Gram negativas como *E. coli*, a concentraciones de 200 mg/mL, Sin embargo, el extracto no tuvo actividad inhibitoria contra esta bacteria. En contraste con lo encontrado en nuestra investigación, el EHPACh presentó actividad inhibitoria contra *E. coli*. a concetraciones 4 veces menor que lo reportado por los autores antes mencionados. La actividad antibacteriana

encontrada en el EHCh puede atribuirse a la presencia de 3-*O*-sambubiósido de delfinidina, 3-hidroxifloretina 2´-*O*-xilosil-glucósido y 1,2-disinapoil gentiobiosa, y en EHPACh a compuestos como 4-*O*-glucósido de ácido cafeico, 3-*O*-(6"-acetil-galactósido) 7-*O*-ramnósido de quercetina y 6, 8-di-*C*-glucósido de apigenina.

Es importante mencionar que la diferencia encontrada con otras investigaciones se debe a la variedad de planta utilizada, tipo de extracto y los comopuestos bioactivos presentes en cada extracto. Por consiguiente, los hallazgos de la actividad antibacteriana para *C. longirostrata* son los primeros reportados hasta el momento.

5.6.4. Conclusiones

El EHCh y EHPACh presentaron actividad inhibitoria contra todas las bacterias patógenas, sin embargo, se observó mayor actividad inhibitoria significativa contra *S. aureus* y *L. monocytogenes*. La actividad bactericidad sólo se observó en el EHPACh para todas las bacterias, a excepción de *E. coli*. En síntesis, la mayor actividad antibacteriana se encontró en el EHPACh, lo anterior, posiblemente a la presencia de 4-*O*-glucósido de ácido cafeico, 3-*O*-(6"-acetil-galactósido) 7-*O*-ramnósido de quercetina y 6, 8-di-*C*-glucósido de apigenina Por consiguiente, la planta de chipilín representa un área de oportunidad en la industria alimentaria y farmacéutica por sus propiedades antibacterianas, ante la problemática de enfermedades infeccionas causadas por bacterias patógenas que se ha convertido en un tema de interés a nivel mundial.

5.6.5. Referencias

- 1. Bianchi, F., & van den Bogaart, G. (2020). Vacuolar escape of foodborne bacterial pathogens. *Journal of Cell Science*, 134(5), jcs247221. DOI: 10.1242/jcs.247221
- Brunelle, B. W., Bearson, B. L., & Allen, H. K. (2017). Prevalence, Evolution, and Dissemination of Antibiotic Resistance in Salmonella. Foodborne Pathogens and Antibiotic Resistance, 331–348. DOI: 10.1002/9781119139188.ch14
- 3. Chernov, V. M., Chernova, O. A., Mouzykantov, A. A., Lopukhov, L. L., & Aminov, R. I. (2019). Omics of antimicrobials and antimicrobial resistance. *Expert Opinion on Drug Discovery*, *14*(5), 455–468. DOI: 10.1080/17460441.2019.1588880
- 4. Ferri, M., Ranucci, E., Romagnoli, P., & Giaccone, V. (2015). Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(13), 2857–2876. DOI: 10.1080/10408398.2015.1077192
- 5. Fu, Y., Sarkar, P., Bhunia, A. K., & Yao, Y. (2016). Delivery systems of antimicrobial compounds to food. *Trends in Food Science &Amp; Technology*, 57, 165–177. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.013
- 6. Gyawali, R., Hayek, S., & Ibrahim, S. (2015). Plant extracts as antimicrobials in food products. *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*, 49–68. DOI: 10.1016/b978-1-78242-034-7.00003-7
- Herizo, L. A., Danielle, A. D. R., Thomas, P., Heriniaina, R., Hanitra, R. R., & Victor, L. J. (2016). Antimicrobial activity of extracts from *Crotalaria* bernieri Baill. (Fabaceae). *African Journal of Microbiology Research*, 10(31), 1229–1239. DOI: 10.5897/ajmr2016.8186
- 8. Kiruthiga, R., Rakkimuthu, R., & Aravinthan, K. M. (2014). Antibacterial activity of *Crotalaria* pallida Aiton. (Fabaceae). *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, 2(01), 82–85. DOI: 10.30750/ijpbr.2.1.13
- Mateos-Maces, L., Chávez-Servia, J. L., Vera-Guzmán, A. M., Aquino-Bolaños, E. N., Alba-Jiménez, J. E., & Villagómez-González, B. B. (2020). Edible Leafy Plants from Mexico as Sources of Antioxidant Compounds, and Their Nutritional, Nutraceutical and Antimicrobial Potential: A Review. *Antioxidants*, 9(6), 541. DOI: 10.3390/antiox9060541
- Miranda-Granados, J., Chacón, C., Ruiz-Lau, N., Vargas-Díaz, M., Zepeda, L., Alvarez-Gutiérrez, P., Meza-Gordillo, R., & Lagunas-Rivera, S. (2018). Alternative Use of Extracts of Chipilín Leaves (*Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn) as Antimicrobial. Sustainability, 10(3), 883. DOI: 10.3390/su10030883
- Morales-Ubaldo, A., Hernández-Alvarado, J., Valladares-Carranza, B., Velázquez-Ordoñez, V., Delgadillo-Ruiz, L., Rosenfeld-Miranda, C., & Zaragoza-Bastida, A. (2020). Antibacterial activity of the *Croton draco* hidroalcoholic extract on bacteria of sanitary importance. *Abanico Veterinario*, 10. DOI: 10.21929/abavet2020.2
- Porras, G., Chassagne, F., Lyles, J. T., Marquez, L., Dettweiler, M., Salam, A. M., Samarakoon, T., Shabih, S., Farrokhi, D. R., & Quave, C. L. (2020). Ethnobotany and the Role of Plant Natural Products in Antibiotic Drug Discovery. *Chemical Reviews*, 121(6), 3495–3560. DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c00922
- 13. Scupinari, T., Mannochio Russo, H., Sabino Ferrari, A. B., Silva Bolzani, V., Dias, W. P., Oliveira Nunes, E., Hoffmann-Campo, C. B., & Zeraik, M. L. (2020). *Crotalaria spectabilis* as a source of pyrrolizidine alkaloids and phenolic compounds: HPLC-MS/MS dereplication and monocrotaline quantification of seed and leaf extracts. *Phytochemical Analysis*, 31(6), 747–755. DOI:10.1002/pca.2938
- 14. Yang, S. C., Lin, C. H., Aljuffali, I. A., & Fang, J. Y. (2017). Current pathogenic Escherichia coli foodborne outbreak cases and therapy development. *Archives of Microbiology*, *199*(6), 811–825. <u>DOI</u>: 10.1007/s00203-017-1393-y

Conclusiones generales

La incorporación de las flores comestibles en la gastronomía mejora las propiedades organolépticas de los alimentos (sabor, olor, color, apariencia estética, valor nutricional). Además, estas tienen un potencial en la nutrición y salud, debido a que los compuestos bioactivos presentes tienen efectos preventivos contra enfermedades relacionadas al estrés oxidativo, sin embargo, se requieren de más estudios para confirmar tales efectos beneficiosos a la salud humana. Hoy en día, las flores comestibles representan una alternativa muy importante para las industrias alimentarias y farmacéuticas [Capítulo II].

Los principales componentes en las flores de cardón, xoconostle var. ulapa, xoconostle var. cuaresmeño rosado, pitaya y chipilín fueron los carbohidratos, proteínas, cenizas y fibra cruda. Además, son fuentes prometedoras de compuestos fenólicos con actividad antioxidante, como quercetina y sus derivados, glucósidos de isoramnetina, glucósidos de apigenina y glucósidos de delfinidina. Por lo anterior, estas flores podrían ser consideradas como nuevos ingredientes en la industria alimentaria, para la elaboración de alimentos funcionales. Sin embargo, se recomienda ampliamente relizar estudios complementarios como la identificación de compuestos tóxicos, antinutricionales y, evaluar la dosis letal media (DL₅₀) para una mayor seguridad de consumo [Capítulo III].

Por otra parte, los extractos hidroalcohólicos de las flores analizadas presentaron actividad anti-inflamatoria significativa, en tal sentido, el EHCr presentó mayor inhibición del edema auricular, seguido del EHXU, EXCu, EHCh y EHPi. El mayor efecto anti-inflamatorio encontrado en la flor de cardón se puede relacionar con la presencia de ácidos fenólicos (*p*-cumárico, gálico, vainíllico) y flavonoides (quercetina, kaempferol, catequinas). Cabe considerar que, las flores analizadas en esta investigación pueden ser contempladas en el tratamiento terapéutico de algunas enfermedades inflamatorias relacionadas con el estrés oxidativo, en esta perspectiva, se recomienda ampliar el estudio para comprender los posibles mecanismos de acción de los principales compuestos presentes en los extractos [Capítulo IV].

Finalmente, todos los extractos hidroalcohólicos de las flores evaluadas presentaron actividad antibacteriana. Las flores de Cactus (cardón, xoconostle var. ulapa, xoconostle var. cuaresmeño rosado y pitaya) presentaron más actividad antibacteriana inhibitoria contra *S. typhi* (Gram negativa) y *L. monocytogenes* (Gram positiva) y actividad bactericida contra bacterias Gram positivas (*S. aureus y L. monocytogenes*).

En cuanto al EHCh y EHPACh, estas presentaron mayor actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas (*S. aureus y L. monocytogenes*). La actividad bactericida sólo se observó en el EHPACh. En síntesis, el EHCr y EHPACh, presentaron mayor actividad antibacteriana donde la CMI y CMB se encontró a menor concentración con el resto de los extractos analizados. La actividad antibacteriana puede ser atribuida a los principales compuestos presentes en los extractos, en EHCr principalmente ácidos fenólicos (*p*-cumárico, gálico, vainíllico), flavonoides (quercetina, kaempferol y catequina) y EHPACh

Conclusiones generales.

ácidos hidroxicinámicos (4-*O*-glucósido de ácido cafeico), flavonoles (3-*O*-(6"-acetilgalactósido) 7-*O*-ramnósido de quercetina) y flavonas (6, 8-di-*C*-glucósido de apigenina). Por la actividad antibacteriana que presentaron los extractos evaluados en esta investigación, se convierten en una opción viable como agentes antibacterianos contra estas bacterias patógenas, además, de ser fuentes potenciales de compuestos antibacterianos.