

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE NUTRICIÓN

**“Evaluación de polifenoles totales del kale (*Brassica oleracea*
var. sabellica) como potencial candidato a prebiótico”**

TESIS

PRESENTA

AMÉRICA ISABEL MONTIEL CASTILLO

Para obtener el Grado de:

LICENCIADO EN NUTRICIÓN

Directora de tesis:

Dra. Mayra Yaneth Antúnez Mojica

Asesor interno:

Dra. América Ivette Barrera Molina

Septiembre, 2021

Este proyecto se realizó en el laboratorio 321 del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección de la Dra. Mayra Antúnez Mojica y de la Dra. América Ivette Barrera Molina de la Facultad de Nutrición-UAEM.

La siembra y cosecha del kale fue posible gracias a la colaboración de la Universidad Autónoma de Chapingo con el Dr. Efraín Contreras Magaña Q.E.P.D.



Agradecimientos

A mis padres Francisco † y Hortensia mi más grande motor, por su apoyo, amor, consejos, y su sabiduría, a mis hermanos María Antonia, María Guadalupe, Francisco y Camila gracias por su apoyo y comprensión en mis días difíciles

A Jorge Omar por ser mi bastón cuando flaqueaba y ese sol en mis días nublados.

A la Dra. Mayra Antúnez Mojica por acompañarme y guiarme en cada una de las etapas del proyecto, sin ella este proyecto no sería posible.

A la Dra. Ivette Barrera por su apoyo y enseñanza en este proyecto.

A la M.C Araceli Guerrero por compartirme sus conocimientos y ayudarme en la parte experimental, siendo ella parte importante de este proyecto.

A mis compañeros del laboratorio 321 por acogerme, por su apoyo y sus enseñanzas.

A mis amigas Alejandra López, Natividad Batalla y Rocío Acevedo por su gran apoyo y motivación.

“Pon en manos del señor todas tus obras, y tus proyectos se cumplirán.”

Proverbios 16:3.

Resumen

Brassica oleracea var. *sabellica* (kale o col rizada) es un vegetal crucífero que ha sido de interés científico debido a su contenido nutricional de vitaminas, minerales, fibra, carbohidratos prebióticos, y compuestos fenólicos, brindando beneficios a la salud intestinal.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el contenido de compuestos fenólicos del vegetal kale orgánico sembrado en México y analizar su contenido nutricional para determinar su posible efecto prebiótico. Para esto, a partir de tres extractos metanólicos de kale seco, bagazo, fresco y jugo liofilizado, se determinó la concentración de polifenoles totales utilizando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu obteniendo como resultado una concentración de compuestos fenólicos dentro de un rango de 1364.8 -1068 mg de A.G/100 g E. De acuerdo con los resultados de la cuantificación de polifenoles las cuatro muestras observaron presencia de polifenoles, siendo el extracto metanólico el más alto (1364.8 mg de A.G/100 g E.) variando únicamente un 10, 12 y 22 % respecto a las otras muestras. Por lo tanto, el kale es una buena fuente de compuestos fenólicos, los cuales le brindan muchos beneficios favorables a la salud, principalmente para personas con enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus y estrés oxidativo.

Posteriormente se realizó una búsqueda bibliográfica sobre el contenido nutricional de la col rizada para su posible efecto prebiótico. Se encontró entre más contenido, carbohidratos prebióticos (5.7-8.7 g/100 g) de tipo fructooligosacáridos, oligosacáridos de la familia rafinosa y hemicelulosas las cuales les brindan una gran

capacidad prebiótica. Así mismo se han realizado ensayos *in vitro* demostrando que el kale es capaz de fermentarse en la microbiota intestinal y que estimula el crecimiento de probióticos. Por otra parte, se han asociado que los compuestos fenólicos también ejercen acciones prebióticas.

Finalmente, podemos concluir que el kale es un vegetal con prometedores efectos prebióticos que ayudan al mantenimiento de la microbiota intestinal, además de que contiene una gran concentración de polifenoles y nutrientes, por lo cual se recomienda su consumo en la dieta diaria.

CONTENIDO

| | |
|--|----------|
| Lista de abreviaturas | I |
| 1. Introducción | 1 |
| 2. Antecedentes..... | 3 |
| 2.1 Microbiota Intestinal..... | 3 |
| 2.1.1 Funciones de la Microbiota Intestinal | 4 |
| 2.1.2 Disbiosis intestinal..... | 5 |
| 2.1.3 Modulación de la Microbiota Intestinal | 6 |
| 2.2 Probióticos..... | 7 |
| 2.2.1 Historia y definición | 7 |
| 2.2.2 Clasificación de probióticos | 9 |
| 2.3 Prebióticos..... | 13 |
| 2.3.1 Historia y definición de prebióticos | 13 |
| 2.3.2 Clasificación de prebióticos | 14 |
| 2.3.3 Usos y aplicaciones de prebióticos | 15 |
| 2.4 Compuestos fenólicos | 17 |
| 2.4.1 Clasificación de compuestos fenólicos..... | 17 |
| 2.4.2 Actividades biológicas | 22 |
| 2.4.3 Absorción y metabolismo de los polifenoles..... | 22 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 2.5 | <i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabellica</i> (kale) | 24 |
| 2.5.1 | Morfología | 25 |
| 2.5.2 | Contenido nutricional..... | 27 |
| 2.5.3 | Compuestos fenólicos en kale (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabellica</i>) 29 | |
| 3. | Justificación | 32 |
| 4. | Hipótesis | 33 |
| 4.1 | Hipótesis Nula | 33 |
| 5. | Objetivos..... | 34 |
| 5.1 | Objetivo general | 34 |
| 5.2 | Objetivos específicos..... | 34 |
| 6. | Metodología de la investigación | 35 |
| 6.1 | Colecta del material vegetal | 35 |
| 6.1.1 | Preparación del vegetal..... | 35 |
| 6.1.2 | Extracción del jugo de kale..... | 36 |
| 6.1.3 | Preparación y obtención del extracto metanólico de kale fresco. 36 | |
| 6.1.4 | Preparación y obtención del extracto metanólico del kale seco | 37 |
| 6.2 | Determinación de polifenoles totales..... | 37 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 6.2.1 | Curva de calibración del ácido gálico | 37 |
| 6.2.2 | Preparación de las muestras | 38 |
| 6.3 | Búsqueda bibliográfica de contenido nutricional del kale | 38 |
| 7. | Resultados..... | 39 |
| 7.1 | Obtención del material vegetal | 39 |
| 7.2 | Polifenoles totales | 40 |
| 7.2.1 | Polifenoles totales de extractos MeOH de kale | 40 |
| 7.3 | Análisis bibliográfico del contenido nutricional del kale | 42 |
| 8. | Discusión de resultados..... | 44 |
| 8.1 | Contenido de polifenoles totales en el vegetal kale..... | 44 |
| 8.2 | Compuestos fenólicos y microbiota intestinal..... | 46 |
| 8.3 | Kale como candidato a prebiótico | 47 |
| 9. | Conclusiones..... | 52 |
| 10. | Perspectivas y/o recomendaciones..... | 53 |
| 11. | Bibliografía | 54 |

Lista de siglas, símbolos y abreviaturas.

| | |
|-----------------|---|
| AGCC | Ácidos grasos de cadena corta |
| ATP | Adenosín trifosfato |
| B ₁ | Tiamina |
| B ₂ | Riboflavina |
| B ₃ | Niacina |
| B ₆ | Piridoxina |
| B ₉ | Ácido fólico |
| BAL | Bacterias ácido-lácticas |
| Ca | Calcio |
| Cu | Cobre |
| °C | Grados Celsius |
| cm | Centímetros |
| CH ₄ | Metano |
| CO ₂ | Anhídrido carbónico |
| DME | Diferencia media estándar |
| CP | Compuestos fenólicos |
| FAO | Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura |
| F-C | Folin-Ciocalteu |
| Fe | Hierro |
| FOS | Fructooligosacáridos |
| GOS | Galactooligosacáridos |

| | |
|-------|---|
| HMO | Oligosacáridos de la leche humana |
| IMO | Isomaltooligosacáridos |
| IBD | Enfermedad Inflamatoria Intestinal |
| K | Potasio |
| Kcal | Kilocalorías |
| Kg | Kilogramos |
| KB | Bagazo de kale |
| KF | Kale fresco |
| KJ | Jugo de kale liofilizado |
| KS | Kale seco |
| L | Litros |
| MI | Microbiota Intestinal |
| Mg | Magnesio |
| mg | Miligramos |
| mL | Mililitros |
| N | Nitrógeno |
| NAFLD | Enfermedad del hígado graso no alcohólica |
| NASH | Esteatopatitis no alcohólica |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| P | Fósforo |
| pH | Potencial de hidrógeno |
| ® | Marca registrada |

| | |
|-------|---|
| ROF'S | Oligosacáridos de la familia rafinosa |
| SOS | Oligosacáridos de la soya |
| UFC | Unidades formadoras de colonias |
| USDA | Departamento de Agricultura de los Estados Unidos |
| TCA | Ácidos tricarbóxicos o Ciclo de Krebs |
| XOS | Xilooligosacáridos |

Lista de tablas, ordenadas de acuerdo con su aparición en el cuerpo del texto

| | |
|--|----|
| Tabla 2.1 Criterios de selección de cepas probióticas. | 8 |
| Tabla 2.2 Ejemplos de marcas comerciales y fabricantes de probióticos. | 10 |
| Tabla 2.3 Requisitos para posibles prebióticos. ²³ | 14 |
| Tabla 2.4 Fuentes de fibras prebióticas de la dieta..... | 16 |
| Tabla 2.5 Clasificación de compuestos fenólicos..... | 18 |
| Tabla 2.6 Taxonomía <i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabellica</i> . ³⁸ | 24 |
| Tabla 2.7 Variedades de kale (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabellica</i>) ⁴⁰⁻⁴¹⁻⁴² | 26 |
| Tabla 2.8 Contenido Nutricional de kale | 28 |
| Tabla 2.9 Propiedades fisicoquímicas de hojas frescas de <i>Brassica oleracea</i> <i>sabellica</i> | 29 |
| Tabla 2.10 Propiedades antioxidantes del extracto acuoso de <i>Brassica oleracea</i> <i>sabellica</i> | 29 |
| Tabla 2.11 Concentración de Compuestos fenólicos..... | 31 |
| Tabla 7.1 Rendimiento de extractos y jugo de kale | 39 |
| Tabla 7.2 Concentración de Polifenoles totales en los extractos en mg de ácido gálico..... | 41 |
| Tabla 7.3 Contenido nutricional del kale ⁵² | 42 |
| Tabla 7.4 Contenido nutricional de jugo de kale en 150 mL ⁵³ | 43 |
| Tabla 7.5 Carbohidratos totales en col rizada..... | 43 |

Lista de diagramas, ordenadas de acuerdo con su aparición en el cuerpo del texto.

| | |
|---|----|
| Diagrama 2.1 <i>Phila</i> bacterianos predominantes en la microbiota intestinal humana. | 4 |
| Diagrama 2.2 Clasificación de probióticos..... | 10 |
| Diagrama 2.3 Clasificación de prebióticos..... | 15 |
| Diagrama 2.4 Metabolismo de los compuestos fenólicos dentro..... | 23 |

Lista de figuras, ordenadas de acuerdo con su aparición en el cuerpo del texto.

Figura 2.1 Factores del estilo de vida (dieta y ejercicio) que determinan el equilibrio en la microbiota intestinal 7

Lista de gráficas, ordenadas de acuerdo con su aparición en el cuerpo del texto.

Gráfica 7.1 Curva de Calibración de Calibración del A.G en MeOH de las [100, 75, 50, 25,10, 5] µg/L 40

Gráfica 7.2 Concentración de polifenoles totales en mg A.G/ 100g de tres extractos y jugo de kale. 41

1. INTRODUCCIÓN

La microbiota intestinal (MI) es un conjunto de millones de microorganismos que residen en el tracto gastrointestinal. Hoy en día se conoce que un desequilibrio de la MI conlleva a un estado de disbiosis que desencadena enfermedades tales como diabetes mellitus tipo 2, obesidad, cáncer de colon, síndrome del intestino irritable, autismo entre otras. ¹

Actualmente las investigaciones se centran en la modulación de la microbiota intestinal por medio del uso de probióticos y prebióticos. Los prebióticos son “ingredientes alimentarios no digeribles con efectos beneficiosos al hospedador al estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de uno o un limitado de número de especies bacterianas en el colon, y que por lo tanto mejoran su salud”. Recientemente se ha implementado la triada de las “3 P” (Probióticos, Prebióticos y Polifenoles) para modular la MI. ²

En este sentido los polifenoles son metabolitos secundarios formados por un anillo de benceno unido a uno o más grupos hidroxilos, y se reconocen ampliamente por su actividad antioxidante, los cuales ayudan a enfermedades relacionadas con estrés oxidativo, entre otras. ³

Hoy en día se conoce una amplia variedad de vegetales con efectos prebióticos y con compuestos fenólicos, dentro de estas destacan los vegetales crucíferos pertenecientes a la especie *Brassica oleracea* (brócoli, coliflor, repollo, coles de Bruselas, col rizada, etc.)

Introducción

El kale o col rizada (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) ha incrementado el interés en los investigadores debido a su contenido de vitaminas A, C, E y K, minerales como hierro, calcio y folato, además de su aporte fibra y compuestos fenólicos, que le permiten conferir grandes beneficios a la salud. ⁴

El presente proyecto pretende cuantificar el contenido de compuestos fenólicos en el kale y analizar su contenido nutricional para poder proponerlo como candidato prebiótico, y poder recomendarlo como una fuente viable de prebióticos a la población mexicana.

2. ANTECEDENTES

2.1 Microbiota Intestinal

La microbiota intestinal (MI) consiste en trillones de microorganismos y miles de filotipos bacterianos que se involucran en funciones del metabolismo del huésped. El genoma colectivo de los microbios intestinales denominado “microbioma” contienen >150 veces más genes que nuestro propio genoma ⁵. Se considera que la MI hay del orden de 10 a 15 filos bacterianos, conformada en un 90% por especies de los filos *Bacteroidetes* (50-80%) y *Firmicutes* (25-50%), y en menor número se encuentran bacterias de filos *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* y *Verrucomicrobia* ⁶ **(Diagrama 2.1)**

La microbiota intestinal se conforma a través de la placenta y en las primeras etapas de la vida, la alimentación, el tipo de parto, la higiene y el uso de antibióticos influyen en la formación de la microbiota intestinal; ésta se establece en los primeros 2-3 años de vida como un ecosistema dinámico, predominando las bifidobacterias, la composición aumenta en riqueza y diversidad hasta alcanzar su máxima complejidad en la edad adulta, donde los filos predominantes son *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Actinobacterias*.⁷

Antecedentes

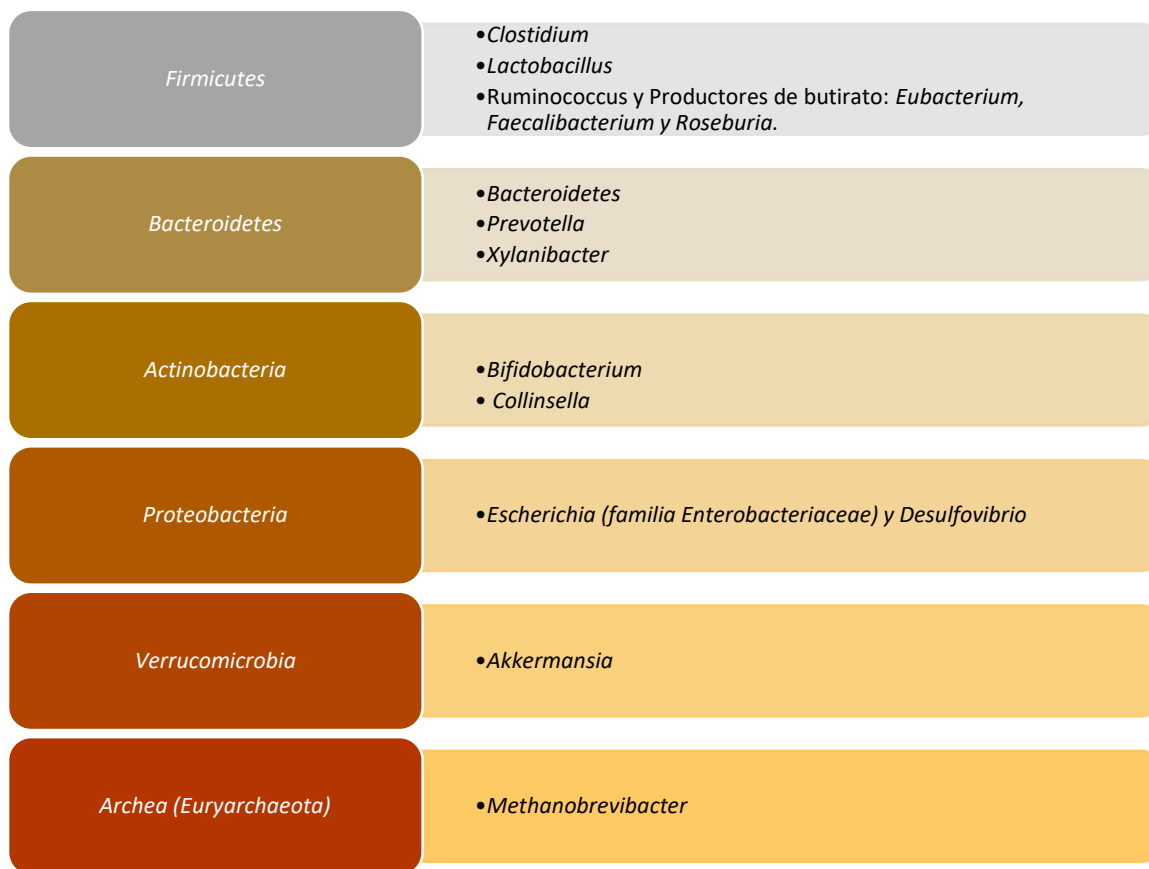


Diagrama 2.1 Filas bacterianas predominantes en la microbiota intestinal humana.

Tomado de: Nutr Hosp 2018;35(N.º Extra. 2):18-26]⁸

2.1.1 Funciones de la Microbiota Intestinal

La MI tiene implicaciones en el metabolismo del ser humano ya que participa en la modulación de la nutrición del huésped y del consumo de energía a través de la síntesis endógenas de vitaminas (K, ácido fólico y B₁₂), absorción de electrolitos y minerales, metabolismo de los ácidos biliares, fermentación de componentes no digeribles de la dieta y producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC).⁹

Además, desempeña un papel muy importante como órgano endocrino, metabólico e inmunológico, produciendo múltiples señalizaciones que actúan

Antecedentes

localmente sobre múltiples sistemas orgánicos, por su interacción con los componentes de la dieta. ¹⁰

2.1.1.1 Transformación de polisacáridos

Los polisacáridos complejos no pueden ser digeridos por las enzimas del intestino delgado, por lo tanto, son metabolizados por la microbiota del colon, estos polisacáridos son degradados, fermentados y convertidos en ácidos grasos de cadena corta: acetato, butirato y propionato y gases tales como hidrogeno (H_2), anhídrido carbónico (CO_2) y metano (CH_4). ⁷

Los ácidos grasos de cadena corta son absorbidos a través de la membrana gastrointestinal y transportados por varios tejidos, a nivel celular los AGCC pueden entrar al ciclo de los ácidos tricarbóxicos o ciclo de Krebs (TCA) para producir Adenosín trifosfato (ATP) que nos proporciona un grupo fosfato que es esencial para activar los procesos fisiológicos que requieren energía. ¹¹

2.1.2 Disbiosis intestinal

La disbiosis se caracteriza por una pérdida de la diversidad microbiana, cambios en la composición, incluyendo un aumento de las poblaciones de bacterias patógenas y la disminución de bacterias potencialmente beneficiosas; o cambios en la función metabólica que conllevan efectos adversos en la salud del anfitrión. ¹²

Cuando la homeostasis microbiana es alterada, se desarrollan infecciones oportunistas que pueden desarrollar en primera instancia un sobrecrecimiento de *Enterobacteriaceae* o *Streptococcaceae* continuando con una inflamación de la

Antecedentes

mucosa intestinal, incrementando la permeabilidad del epitelio intestinal también denominado intestino permeable el cual se refiere a la tasa de flujo de moléculas a través del epitelio lo que conduce a una disbiosis.¹³

El deterioro de la barrera intestinal posibilita el paso de sustancias inclinando el balance inmune para favorecer la inflamación crónica y otros desordenes inmunes. Además permite el paso de antígenos benignos como las macromoléculas de los alimentos, ocasionando respuestas alérgicas.³

El estado de disbiosis de la microbiota tiene implicaciones en la salud humana e incluso conllevan al desarrollo de enfermedades crónicas. Las enfermedades potencialmente relacionadas a la disbiosis son desordenes nutricionales; diabetes tipo 2, obesidad, síndrome metabólico, enfermedades inflamatorias crónicas intestinales; enfermedad Inflamatoria Intestinal (IBD), desordenes funcionales; síndrome del Intestino Irritable (IBS), así como enfermedad del Hígado Graso no Alcohólico (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedades cardiovasculares, atopías y alergias, cáncer colorrectal, trastornos neuropsiquiátricos crónicos; autismo, depresión, y artritis.¹⁴

2.1.3 Modulación de la Microbiota Intestinal

El mantenimiento y restauración de la microbiota intestinal se puede lograr a través de diversos mecanismos conformados por componentes dietéticos principalmente compuestos bioactivos de alimentos vegetales como frutas, verduras y cereales.¹⁵ **(ver figura 2)**

Antecedentes

Otra de las alternativas es a través de los probióticos y prebióticos, ejerciendo cambios favorables en la MI e influyendo en esta para modular la expresión de genes, en el metabolismo y balance energético en el hospedero. ¹⁶



Figura 2.1 Factores del estilo de vida (dieta y ejercicio) que determinan el equilibrio en la microbiota intestinal

Tomado de: Moreno B de L., *Nutr Hosp.* 2019. ⁶

2.2 Probióticos

2.2.1 Historia y definición

Ferdinand Vergin fue quien inventó el término “probiótico” en el año 1954, en un su artículo titulado “Anti-und Probiotika” relacionando los efectos dañinos de antibióticos y otros agentes antibacterianos en la microbiota intestinal con el impacto beneficioso de “Probiotika” de algunas bacterias útiles. Posteriormente en 1965, Lily Stillwell explicó los probióticos como microorganismos que incentivan el crecimiento

Antecedentes

de otros microorganismos. En 1989, Fuller aseguró que los probióticos deben ser microorganismos factibles y deben exhibir un efecto beneficioso en su anfitrión. En 2002, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) en conjunto con la Organización Mundial de la Salud (OMS) consolidaron que los probióticos son cepas vivas de microorganismos estrictamente seleccionados que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud del huésped.¹⁷

Los beneficios reportados de los probióticos incluyen modulación de la respuesta inmune, mantenimiento de la barrera intestinal, antagonismo de adhesión de patógenos en el tejido del huésped y producción de metabolitos como vitaminas, ácidos grasos de cadena y moléculas que actúan como neurotransmisores involucrados con el eje intestino-cerebro.¹⁸ En la **tabla 2.1** se describen los criterios de las cepas probióticas.

Tabla 2.1 Criterios de selección de cepas probióticas.

| Criterios | Propiedades requeridas |
|--------------------|---|
| Seguridad | <ul style="list-style-type: none"> • Ausencia de patogenicidad e infectividad • Factores de virulencia (toxicidad, actividad metabólica y propiedades intrínsecas, i.e., resistencia a antibióticos) |
| Tecnológico | <ul style="list-style-type: none"> • Cepas genéticamente estables • Viabilidad deseada durante el procesamiento y almacenamiento • Buenas propiedades sensoriales • Producción a gran escala • Resistencia a los fagos |

Continúa.....

Antecedentes

| Criterios | <ul style="list-style-type: none"> • Propiedades requeridas |
|--------------------|---|
| Funcional | <ul style="list-style-type: none"> • Tolerancia a ácido gástrico y a ácidos biliares • Adhesión a superficie de la mucosa |
| Fisiológico | <ul style="list-style-type: none"> • Inmunomodulación • Actividad antagonista • Metabolismo de colesterol y lactosa • Antimutagénica y propiedades anticarcinogénicas |

Tomado de: López Cabanillas Lomelí M. (Tesis Dr en Xarxa) [Internet]. 2017¹⁹

2.2.2 Clasificación de probióticos

De acuerdo con la Asociación Científica Internacional para los Probióticos y Prebióticos, los probióticos están disponibles comercialmente en cápsulas o en forma de comprimidos, en sobres de polvo, en forma líquida y en alimentos como yogurt y barras nutritivas (**diagrama 2.2**), además el espectro de los productos y preparaciones que se pueden considerar como probióticos es muy extenso y comprende desde fármacos (p. ej., VSL#3), alimentos de usos médicos especiales con probióticos (p. ej., nutrición enteral con probióticos), alimentos probióticos (p. ej., leches fermentadas con estudios que demuestran un beneficio para la salud), fórmulas infantiles (p. ej., leches en polvo), probióticos de administración no oral (p. ej., vaginales).²⁰ En la **tabla 2.2** se mencionan cepas que utilizan como probióticos además del nombre de la marca comercial y la empresa que lo vende.

Antecedentes

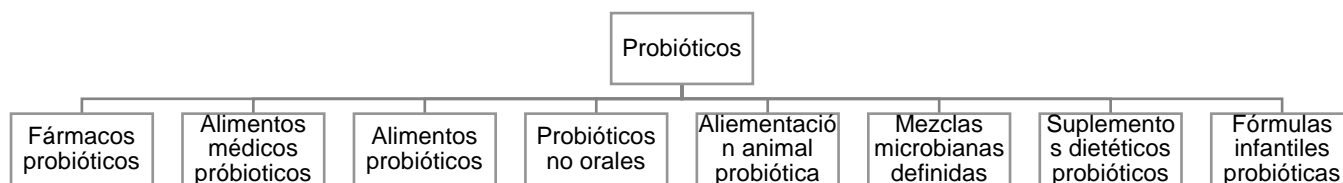


Diagrama 2.2 Clasificación de probióticos

Fuente: Modificado de: Oliveira G, González-Molero I. Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica. *Endocrinol y Nutr* [Internet]. 2016;63(9):482–94.²⁰

Tabla 2.2 Ejemplos de marcas comerciales y fabricantes de probióticos.

| Cepa | Nombre de marca comercial | Fabricante |
|---|---------------------------|-------------------------------------|
| <i>Bifidobacterium animales</i> DN 173 010 <i>Bifidobacterium animalis</i> spp. <i>Lactis</i> Bb-12 | Activia | Danone/Dannon Chrs. Hansen |
| <i>Bifidobacterium breve</i> Yakult | Bifiene | Yakult |
| <i>Bifidobacterium infantis</i> 35624 | Align | Procter y Gamble |
| <i>Bifidobacterium lactis</i> HN019 (DR10) <i>Bifidobacterium longum</i> BB536 | Howaru Bifido | Danisco Moringa milk Industry |
| <i>Enterococcus</i> LAB SF 68 | Bioflorin | Cerbios-Pharma |

Continúa.....

Antecedentes

| Cepa | Nombre de marca comercial | Fabricante |
|---|--|---|
| <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5 <i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM | Mutaflor | Ardeypharm Chr. Hansen Danisco |
| <i>Lactobacillus casei</i> DN-114 001 | Actimel, Dan | Danone/ Danoon |
| <i>Lactobacillus casei</i> CRL431 | | Chr. Hansen |
| <i>Lactobacillus casei</i> F19 | Cultura | Arla Foods |
| <i>Lactobacillus casei</i> Shirota | Yakult | Yakult |
| <i>Lactobacillus johnsonii</i> La1 (Lj1) | LC1 | Nestlé |
| <i>Lactococcus lactis</i> L1A | | Norrmejerier |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> 299V | Good Belly Pro Viva | Next Foods Probi |
| <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730 | Reuteri Protectis | Bio Gaia Biologics |
| <i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938 | Lactobacillus | |
| <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC PTA 6475 | Reuteri Gastrus | |
| <i>Lactobacillus rhammnosus</i> ATCC 53013 (LGG) | Vifit y otros | Valio |
| <i>Lactobacillus rhammnosus</i> LB21 | Verum | Norrmejerier |
| <i>Lactobacillus salivarius</i> UCC118 | | |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (<i>boulardii</i>) lio | Diar safe Ultralevure y otros Bio K+ | WrenLaboratories, Biocodex y otros Bio K+ |

Continúa.....

Antecedentes

| Cepa | Nombre de marca comercial | Fabricante |
|---|----------------------------------|---|
| Mezcla: <i>Lactobacillus acidophilus</i> CL1285 y <i>Lactobacillus casei</i> Lbc80r | Fem Dophilus | International Chr. Hansen |
| Mezcla: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GR-1 y <i>Lactobacillus reuteri</i> RC-14 | | |
| Mezcla: VSL#3 (combinación con cepa de <i>Streptococcus thermophilus</i>, 4 <i>Lactobacillus</i> spp. Y 3 cepas de <i>Bifidobacterium</i> spp) | VSL#3 Vivomixx | Sigma-Tau Pharmaceuticals, Inc. (en España lo comercializa Grifols) |
| Mezcla: <i>Lactobacillus acidophilus</i> CUL60 y <i>Bifidobacterium bifidum</i> CUL20 | A´Biotica y otros | Institut Rosell |
| Mezcla: <i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 y <i>Lactobacillus rhamnosus</i> R0011 | | |
| Mezcla: <i>Bacillus clausii</i> O/C, NR, SIN y T | Enterogermina | Sanofi- Aventis |
| Mezcla: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> + <i>Bifidobacterium longum</i> + <i>Pediococcus pentosaceus</i> | Sanogermina Flora Niños | Sanofi- Aventis AB-BIOTICS, SA |

Tomado de: Olveira G, González-Molero I., *Endocrinol y Nutr [Internet]*. 2016.²⁰

2.3 Prebióticos

2.3.1 Historia y definición de prebióticos

Las primeras investigaciones sobre prebióticos fueron en el año 1980 cuando investigadores japoneses descubrieron, en cultivos *in vitro* usando como inóculo heces humanas, que algunos oligosacáridos no digeribles principalmente fructooligosacáridos (FOS) habían sido fermentados selectivamente por bifidobacterias y que al mismo tiempo estimulaban su crecimiento. Los resultados obtenidos de estas investigaciones fueron confirmados por los investigadores Gibson y Roberfroid quienes propusieron la primera definición de prebiótico en la cual lo describen como: *“un ingrediente alimentario no digerible que afecta beneficiosamente al hospedador al estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de uno o un limitado de número de especies bacterianas en el colon, y que por lo tanto mejoran su salud”*.²¹

En 2004, la definición de prebiótico fue modificada por “ingredientes fermentados selectivamente que permiten cambios específicos en la composición y/o actividad microflora gastrointestinal confiriendo beneficios al bienestar del huésped y salud”.²⁰ Gibson *et al.*, 2017; lo definió como “sustrato que es utilizado selectivamente por microorganismos hospederos que confieren un beneficio a la salud”.

Para que un alimento se considere prebiótico debe cumplir ciertos criterios mencionados en la **tabla 2.3**. Dentro de los más importantes es la estabilidad química durante el calentamiento, la reducción de pH y la reacción de Maillard.²²

Tabla 2.3 Requisitos para posibles prebióticos. ²³

| Criterios de selección de prebióticos | | | | |
|---|--|---|--|--|
| Resistencia a la digestión en la parte superior del tracto digestivo. | Fermentación por la microbiota intestinal. | Efectos beneficios en la salud del huésped. | Estimulación selectiva del crecimiento de probióticos. | Estabilidad en varios procesos de alimentos/condiciones. |

2.3.2 Clasificación de prebióticos

Actualmente en el mercado mundial se están comercializando como prebióticos un gran número de hidratos de carbono, de acuerdo con N. Corzo y Col., 2015, únicamente hay evidencia científica de los fructanos tipo inulina, fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), xilooligosacáridos (XOS), lactulosa, oligosacáridos de la leche humana (HMO)²¹ y además se han propuestos como candidatos a prebióticos a algunos minerales, polifenoles y ácidos grasos poliinsaturados.²⁴ Por otro lado Shumin Wang y col., 2020, los clasifican en inulina, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, oligosacáridos de la leche humana, lactulosa, almidón resistente, xilooligosacáridos, azúcares alcoholes como manosa y sorbitol, lactosucrosa, oligosacáridos de la soya (SOS), isomaltooligosacáridos (IMO) y, pectinooligosacáridos (POS).²⁵ Ver **Diagrama 2.3**

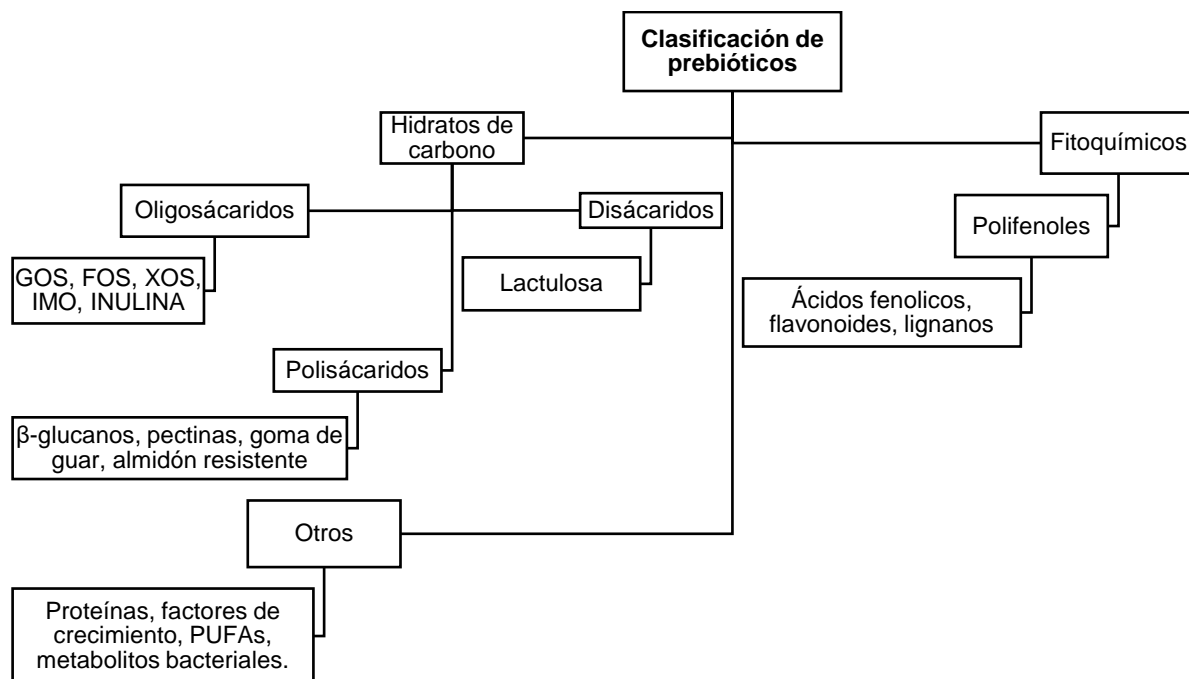


Diagrama 2.3 Clasificación de prebióticos.

GOS, galactooligosacáridos; FOS, fructooligosacáridos; XOS, xiloosacáridos, IMO, isomaltooligosacáridos; PUFAs, ácidos grasos poliinsaturados.

Tomado y modificado de: Gibson GR. (ISAPP). *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017²⁴

2.3.3 Usos y aplicaciones de prebióticos

Los prebióticos exhiben un impacto positivo en la salud a través de mecanismos específicos que estriban en la fermentación de los sustratos en el colon y cambios en la microbiota intestinal relacionados con sus procesos. Los mecanismos importantes son: (i) competición de los microorganismos intestinales por el prebiótico, resultando en la colonización selectiva de bacterias beneficiosas y en la eliminación de patógenos en las células del epitelio intestinal, (ii) producción de ácidos grasos de cadena corta; y (iii) modulación de la respuesta inmune.²⁵

Los prebióticos se usan en diferentes formulaciones alimentarias como bebidas, panadería, carne y lácteos, para aumentar su potencial saludable o para

Antecedentes

perfeccionar sus propiedades tecnológicas. Además, mejoran las características sensoriales como la frescura y confieren una composición nutricional más balanceada ya que estos son usados a menudo como fibra dietética y son agregados como ingredientes de volumen de baja energía. Por ejemplo, los prebióticos se comportan como sustitutos de grasa y azúcar en productos de panadería.²⁵ En la **tabla 2.4** se muestran diferentes tipos de fibra prebiótica y la fuente de alimentos de la que se obtienen.

Tabla 2.4 Fuentes de fibras prebióticas de la dieta.

| Tipo de fibra | Fuente de alimentos |
|--|--|
| Fructooligosacaridos (FOS) <i>Alimentan a Lactobacillus y Bifidobacteria</i> | Raíz de achicoria, agave, plátanos, inulina (cebollas, puerros y ajos), espárragos, trigo, cebada, nueces. |
| Galactooligosacaridos (GOS) <i>Alimentan a Lactobacillus y Bifidobacteria</i> | Alcachofas, frijoles negros, frijoles rojos, habas, raíces de remolacha, brócoli, garbanzos, lentejas. |
| Xilooligosacaridos (XOS) <i>Alimentan a Lactobacillus y Bifidobacteria</i> | Leche, miel, verduras con alto contenido en celulosa (apio, coles de Bruselas, col, col rizada, calabaza y brotes), arroz, salvado, soja, brotes de bambú. |
| Almidón resistente (puede ser fermentado para producir butirato) | Harina de plátano, avena cocida, lentejas, plátano verde, alubias, cebada, chicharos, trigo integral, nueces. |
| Pectina (puede ser fermentada para producir butirato e incrementar la proliferación de células epiteliales) | Manzanas, peras, guayabas, frutas cítricas, ciruela, grosellas. |

Tomado de: Ashman S, Krishnamurthy H. T. *Elsevier Inc.*; 2019.²⁶

2.4 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o polifenoles (CP) son fitoquímicos naturales del metabolismo secundario de las plantas originados por la vía del ácido shikimico y de los fenilpropanoides. Se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal en vegetales, frutas, cereales, leguminosas y bebidas. En las plantas cumplen funciones de protección contra los rayos UV, ataque de patógenos como bacterias, hongos y virus, así como daños físicos, químicos y mecánicos, además los CP son los responsables de los sabores astringentes y amargos de los alimentos.²⁷

El contenido de compuestos fenólicos en las plantas y frutos depende de ciertos factores como: genotipo, especie, condiciones ambientales, grado de madurez, composición del suelo, ubicación geográfica y condiciones de almacenamiento.²⁸

Además, la ingesta de polifenoles a través de la dieta puede llegar a ser hasta de un gramo por día, siendo más alto que otros antioxidantes dietéticos, 10 veces más que la vitamina C y 100 veces más que la vitamina E y carotenoides. En las frutas como la manzana, uvas, pera, cerezas etc., contienen cerca de 200-300 mg de polifenoles por 100 g de peso fresco, así mismo una copa de vino tinto o una taza de té o café contiene aproximadamente 100 mg de polifenoles.²⁹

2.4.1 Clasificación de compuestos fenólicos

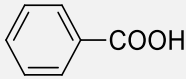
Los compuestos fenólicos contienen en su estructura al menos un anillo aromático fenol unido a uno o más grupos hidroxilos, además pueden estar

Antecedentes

asociados con hidratos de carbono y ácidos orgánicos, así como entre ellos mismos, en consecuencia, existen moléculas fenólicas simples hasta compuestos fenólicos altamente polimerizados. Naturalmente los encontramos conjugados con mono y polisacáridos unidos con uno o más polifenoles.³⁰

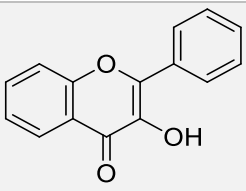
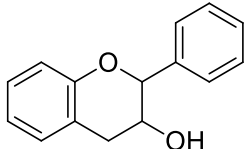
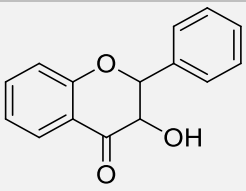
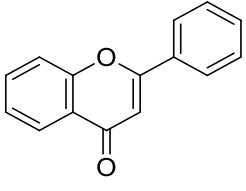
Se han identificado más de 8000 compuestos fenólicos, se pueden clasificar en distintos grupos en función al número de anillos fenol que poseen y de los elementos estructurales que se unen entre sí, por lo tanto, dependiendo de su estructura se clasifican en ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, cumarinas, lignanos y taninos. En la **tabla 2.5** se describe la clase, subclase, los compuestos las fuentes alimentarias y la estructura de los compuestos fenólicos.

Tabla 2.5 Clasificación de compuestos fenólicos.

| Clase | Subclase | Compuestos | Fuentes | Estructura |
|------------------|--------------------------------------|-----------------------|---------------------|---|
| Ácidos fenólicos | Derivados ácidos hidroxibenzoicos | Gallico | Ajo, té verde, vino |  Ácidos benzoicos |
| | | P- hidroxibenzoico | tinto, cacao | |
| | | Vanílico | | |
| | | Siringico | | |
| | | Protocatecuico | | |
| | | Elágico | | |

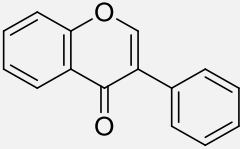
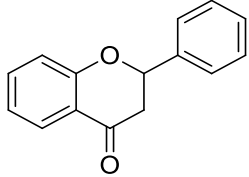
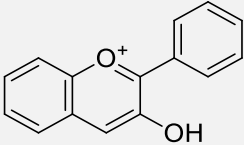
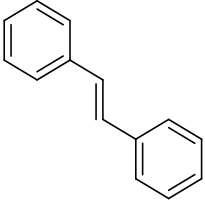
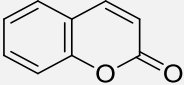
Continúa.....

Antecedentes

| Clase | Subclase | Compuestos | Fuentes | Estructura |
|-------------|--|--|--|--|
| Flavonoides | Flavonoles | Quercetina Kaempferol Isoharmnetin | Cebollas, espinacas, coliflor, uvas, brócoli, manzanas, tomate. |  Flavonoles |
| | Flavanoles (Catequina) Flavan-3-oles | (+)Catequina (+)-Epicatequina (-)-Epicatequina- 3-galato (+)Galocatequina (-) Epigalocatequina (-) Epigalocatequina -3-galato | Cacao, té, vino tinto, uvas, cerveza, albaricoque, manzanas. |  Flavan-3-oles |
| | Dihidroflavonoles | | Uvas, té verde, fresas |  Dihidroflavonoles |
| | Flavonas | Apigenina Crisina Luteolina Rutina | Apio, albahaca, espinaca, piel de algunas frutas cítricas, |  Flavonas |

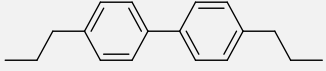
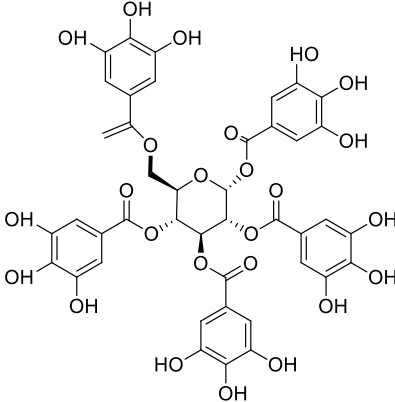
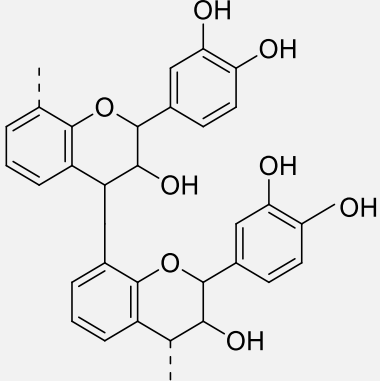
Continúa.....

Antecedentes

| Clase | Subclase | Compuestos | Fuentes | Estructura |
|-------------|--------------|--|--|--|
| Flavonoides | Isoflavonas | Genisteína Daidzeína Gliciteína Formononetina | Soya, alfalfa, cacahuates, garbanzos. |  <p>Isoflavonas</p> |
| | Flavanonas | Eriodictiol Naringenina Morin | Uvas, tomates, naranjas |  <p>Flavanonas</p> |
| | Antocianinas | Cianidina Leucocianidina Delfinidina Prodelfinidina Leucodelfinidina Propelargonidina | Fresas, moras azules, zazamoras, cerezas, arándanos, frambuesas. |  <p>Antocianinas</p> |
| Estilbenos | | Resveratrol | Piel de uvas, vino rojo, cacahuates, arandanos dulces y agrios, sorgo. |  <p>Estilbenos</p> |
| Cumarinas | | | Canela, |  <p>Cumarinas</p> |

Continúa.....

Antecedentes

| Clase | Subclase | Compuestos | Fuentes | Estructura |
|----------|---|--|--|--|
| Lignanos | | | trigo, avena, cebada, lentejas, soya, ajos, espárragos, brócoli. |  <p>Lignanos</p> |
| Taninos | Taninos hidrolizables | Galotaninos Elagitaninos | Fresas, Vino, canela, clavo |  <p>Taninos hidrolizables</p> |
| | Taninos condensados (Proantocianidinas) | Monómeros Dímeros Trímeros 4-6 monómeros 7-10 monómeros Polímeros | Granadas, uvas, café y vino tinto. |  <p>Taninos condensados</p> |

Tomado y adaptado de: Adaptado de Shahidi y Ambigaipalan, 2015 ³¹

2.4.2 Actividades biológicas

Actualmente los compuestos fenólicos son un tema de gran interés debido a sus efectos potencialmente benéficos para la salud los cuales incluyen propiedades anticancerígenas, antioxidantes, antitrombóticos, anticoagulantes, antialérgicos, antiaterogénicas y antiinflamatorias, además están involucrados en la prevención de enfermedades crónicas como enfermedades cardiovasculares, diabetes, obesidad, enfermedades neurodegenerativas entre otras.³²

La propiedad antioxidante que ejercen los polifenoles es mayor o similar a la que ejerce la vitamina E, y está relacionada con su capacidad de quelación de metales y captación de radicales libres, la cual es brindada por la presencia de grupos hidroxilos y a la presencia de los dobles enlaces en el anillo aromático.³³

2.4.3 Absorción y metabolismo de los polifenoles

Los polifenoles tienen una biodisponibilidad relativamente baja en el organismo, indudablemente el 5-10% del consumo de polifenoles se absorbe en el estómago y/o intestino delgado; y el resto alcanza el colon, en donde serán transformados por la microbiota intestinal. Posteriormente después de ser absorbidos sufrirán metabolismo de fase I y II (sulfatación, glucoronidación, metilación y conjugación) en el hígado.³⁴ **Ver diagrama 2.4**

Antecedentes

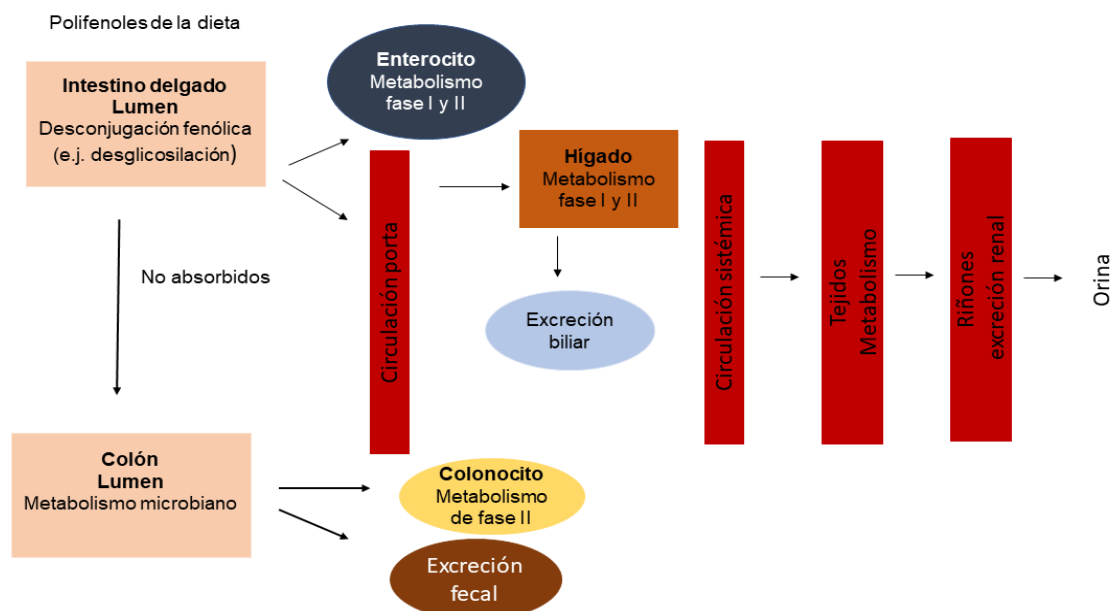


Diagrama 2.4 Metabolismo de los compuestos fenólicos dentro.

En el huésped los polifenoles de la dieta y sus metabolitos microbianos sufren metabolismo fase I y II, absorción en la circulación sistémica, interacción con órganos y excreción en la orina.

Tomado de Cardona, 2013.³⁵

2.4.3.1 Polifenoles y Microbiota Intestinal

El papel de los polifenoles en la salud depende del proceso del metabolismo, la absorción y biodisponibilidad, además este efecto se ve influenciado por la matriz alimentaria y la estructura química del compuesto junto con las diferencias individuales de la composición de la microbiota intestinal ³⁶.

Por otro lado, el efecto de los CP como moduladores de la microbiota intestinal, se ha observado a través de ensayos *in vitro* con MI humana, y en estudios preclínicos *in vivo* en donde los polifenoles modulan la microbiota intestinal y promueven el crecimiento de *Lactobacillus* y *Bifidobacteria*.²

2.5 *Brassica oleracea* var. *sabellica* (kale)

El kale es una hortaliza de hoja verde perteneciente a la familia Brassicaceae, comúnmente conocido como col rizada o berza (**tabla 2.6**), es una verdura crucífera cultivada en el Centro y Norte de Europa y en el Norte de Estados Unidos, el cual se originó por los procesos de domesticación que se dieron en el Mediterráneo y en el Noroeste de Europa. Principalmente usados como cultivos alimentarios desde hace 2000 años, el Kale actualmente ha crecido en todo el mundo. No hay datos estadísticos del área de cultivación de kale de la base de datos de FAOSTAT por sus siglas en inglés Organización de Alimentos y Agricultura de Estados Unidos en por lo que consideran este vegetal junto con las otras especies de *Brassica*.³⁷

El kale ha ganado recientemente un incremento en la atención debido a su alto contenido de fitoquímicos, y altas concentraciones de vitaminas, minerales, fibra dietética, glucosinolatos, y compuestos antioxidantes, que incluyen polifenoles y ácidos fenólicos proporcionando un efecto beneficioso a la salud.

Tabla 2.6 Taxonomía *Brassica oleracea* var. *sabellica*.³⁸




| | |
|--------------------------|--|
| Reino: | Plantae |
| División: | Magnoliophyta |
| Clase: | Magnoliopsida |
| Orden: | Brassicales |
| Familia: | Brassicaceae |
| Género: | <i>Brassica</i> |
| Especie: | <i>Brassica oleracea</i> |
| Nombre trinomial: | <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>sabellica</i> |

2.5.1 Morfología

El kale o col rizada es una hortaliza que se cultiva actualmente en todo el mundo. La planta alcanza una altura de 30-40 cm, sus hojas son firmes, grandes, fibrosas y rizadas, la mejor época para cosechar es en invierno, ya que es resistente a heladas y escarchas invernales, con una temperatura óptima de cultivo entre los 10° y los 20° C. La siembra se puede hacer en semillero o utilizando una maceta; la siembra se puede realizar en agosto y septiembre para tener la producción en invierno. Las plántulas emergen de 4-7 días posterior a sembrarlas, se debe mantener humectado el semillero para el crecimiento correcto de las plántulas, éstas se trasplantarán cuando salga su segundo par de hojas verdaderas o alcanzar una altura de 20 cm. Generalmente es trasplantado en septiembre-octubre en filas con una distancia de 30-50 cm y una distancia entre hileras de 70-100 cm, y finalmente se realiza la cosecha cuando empiezan a salir su quinto par de hojas verdaderas, que es de 2-4 meses de noviembre a marzo y solamente se cosecharán sus hojas externas, ya que eso fomenta el crecimiento de nuevas hojas.³⁹ Existen muchas variedades del kale dependiendo a la región geográfica, podemos observar algunas de estas en la **tabla 2.7**, cabe mencionar que para este proyecto se utilizó la variedad winterbor.



Antecedentes

Tabla 2.7 Variedades de kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*)⁴⁰⁻⁴¹⁻⁴²

| Nombre | Características | Fotografía |
|--|--|---|
| Kale Ruso rojo | Hojas: aplanadas de color rojo, y un tallo color rojo-purpura, su sabor es dulce. Tallos: fibrosos y resistentes. |  |
| Kale Col siberiana | Hojas: Los bordes de las hojas son rizados de un color verde oscuro, nervaduras de la planta color blanquecino. Tallos: fibrosoo. |  |
| Kale lacinato o dinosaurio | Hojas: son alargadas y rugosas, de un color verde azulado oscuro. |  |
| Col rizada azul escocesa rizada | Hojas: rizadas de color verde azulado. |  |
| Kale morado o purpura | Hojas: rizadas de color purpura, su sabor es dulce después de las heladas. |  |
| Kale redbor | Hojas: rizadas de color rojas o moradas oscuras. Tallos: color púrpura. |  |

Continúa.....

Antecedentes

| Nombre | Características | Fotografía |
|------------------------|---|---|
| Kale winterbor | Hojas: rizadas color verde azulado, cultivo en otoño e invierno. |  |
| Kale ornamental | Hojas: color verde, blanco y morado. |  |

2.5.2 Contenido nutricional

El kale es una fuente de fibra; una ración de 100 gramos contiene 49 calorías, y además proporciona; vitamina A, vitamina C, vitamina K, vitamina B6, ácido fólico y manganeso, también es una rica fuente de tiamina, riboflavina, ácido pantoténico, vitamina E, y minerales como hierro, calcio, potasio, cobre, magnesio y fósforo. Ver **(tabla 2.8)**. Debido a su contenido nutricional el kale es considerado un alimento funcional, ya que su consumo brinda muchos beneficios a la salud, aparte de ser una hortaliza con alto contenido antioxidante. ³⁹

Tabla 2.8 Contenido Nutricional de kale

| Nutriente | Cantidad en 100 g kale (USDA) ⁴³ | Cantidad en 100 g de kale ⁴⁴ |
|-----------------------|---|---|
| Agua | 89.63 g | ND |
| Energía | 35 kcal | 49 kcal |
| Proteína | 2.92 g | 4.28 g |
| Lípidos totales | 1.49 g | 0.93 g |
| Cenizas | 1.54 g | ND |
| Carbohidratos | 4.42 g | 8.75 g |
| Fibra dietética total | 4.1 g | 3.6 g |
| Azúcares totales | 0.99 g | 2.26 g |
| Sucrosa | 0.18 g | ND |
| Glucosa (dextrosa) | 0.4 g | ND |
| Fructosa | 0.41 g | ND |
| Calcio | 254 mg | 150 mg |
| Hierro | 1.6 mg | 1.47 mg |

| Nutriente | Cantidad en 100 g kale (USDA) ⁴³ | Cantidad en 100 g de kale ⁴⁴ |
|--------------|---|---|
| Magnesio | 33 mg | ND |
| Fosforo | 55 mg | ND |
| Potasio | 348 mg | 491 mg |
| Sodio | 53 mg | 38 mg |
| Zinc | 0.39 mg | 0.56 mg |
| Manganeso | 0.92 mg | ND |
| Vitamina C | 93.4 mg | 120 mg |
| Tiamina | 0.113 mg | ND |
| Riboflavina | 0.347 mg | ND |
| Niacina | 1.18 mg | ND |
| Vitamina B6 | 0.147 mg | ND |
| Folato total | 62 µg | 141 µg |
| B- caroteno | 2873 µg | ND |
| Vitamina A | 4812 IU | 500 (ER) |
| Vitamina E | 0.66 mg | 1.54 mg |
| Vitamina K | 389.6 µg | 704.8 µg |

Con base en un estudio realizado por Reyes Munguía *et al.*, 2017; en el extracto acuoso de *Brassica oleracea var. sabellica* donde utilizaron hojas de col rizada obtenidas en las tiendas de autoservicio de Ciudad Valles México, el procedimiento consistió en lavar y cortar las hojas para la elaboración de extractos con una proporción de 1:4 hojas-agua. Posteriormente se determinó humedad, pH y sólidos totales, porcentaje de inhibición de radicales libres, flavonoides y radical ABTS.³⁹ Los resultados se presentan en la **tabla 2.9 y 2.10**.

Antecedentes

Tabla 2.9 Propiedades fisicoquímicas de hojas frescas de*Brassica oleracea sabellica*

| Determinaciones | Resultado |
|-----------------|-----------|
| pH | 5.63 |
| Sólidos totales | 8.9° Brix |
| Potencial Redox | 132.6 mV |
| Fibra | 67.17% |

Tabla 2.10 Propiedades antioxidantes del extracto acuosode *Brassica oleracea sabellica*.

| Determinaciones | Resultado |
|--|-----------|
| Fenoles totales | 73% |
| Porcentaje de inhibición de radicales libres | 78.6% |
| Flavonoides | 92% |
| Radical ABTS | 0.55±0.05 |

2.5.3 Compuestos fenólicos en kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*)

Los compuestos fenólicos son un amplio grupo de metabolitos secundarios a los cuales se les ha atribuido diversos beneficios a la salud. Se ha reportado que los polifenoles en sinergia con otros compuestos coadyuvan a la actividad biológica de las plantas *Brassica*. En particular en el kale el nivel de compuestos fenólicos depende de la variedad, etapa de madurez, crecimiento, ubicación y condición ambiental, por lo cual, es complicado comparar los resultados obtenidos por diferentes autores. En este sentido el método más comúnmente utilizado para el contenido de fenoles total es por medio del método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (F-C)⁴⁵

En un estudio Kours; 2011, utilizó hojas de kale frescas, de 2 variedades híbridas holandesas Winterbor F₁ y Redbor F₁, y una variedad polaca, obtenidas del campo experimental al sur de Polonia en las afueras Occidentales de Cracovia de 3 fechas: 10, 14 y 18 semanas durante 2 años, se usó 2 g de hoja de kale con 80%

Antecedentes

de etanol se calentó a reflujo y se realizó la cuantificación de fenoles totales obteniéndose Redbor F₁: YR1; 414 mg/100 g, YR2; 432 mg/100 g, Winterbor F₁: YR1; 315 mg/100 g, YR2; 317 mg/100 g y Polaca: YR1; 349 mg/100 g, YR2; 268 mg/100 g. ⁴⁶

Así mismo, en un estudio publicado por Sikora, 2012; se hizo cuantificación de polifenoles totales de Kale var. Winterbor F. durante 3 años consecutivo, con extractos hidroalcohólicos al 70 % de una mezcla de 3 g de kale crudo y 5 g de kale hervido 4:6, los resultados indicaron Para el 1^{er} año reportaron un contenido de 676.50 mg/100 g de muestra, para el 2^{do} año: 544.86 mg/ 100 g de muestra, y para 3^{er} año: 503.48 mg/100 g de muestra. ⁴⁷

En el caso del estudio de Becerra *et al.*, 2013; utilizaron cultivares de kale (Winterbor y Maribor) productos de La Huerta Frigorizados S.A de C.V en San Francisco de los Romo, Aguascalientes, México, utilizaron 5 g de kale con 20 mL de MeOH, los resultados se expresaron en mg de ácido gálico por Kg de peso fresco de kale y los resultados obtenidos fueron; Winterbor: 610.3 mg/Kg, Maribor: 419.8 mg/Kg. ⁴⁸

Además, Ligor en 2013; utilizó hojas de kale, con ayuda de un extractor de fluidos supercríticos, la metodología utilizada fue la de F-C y obteniendo como resultado 0.285 mg/ g de materia seca. ⁴⁹ **(tabla 2.11)**

Tabla 2.11 Concentración de Compuestos fenólicos.

| Componente | Redbor F1 | | Winterbor F1 | | Polaca | | Referencias |
|--|--|-------|---|-------|--------|-------|---------------|
| | 1 año | 2 año | 1 año | 2 año | 1 año | 2 año | |
| Polifenoles totales en mg/100g Hojas frescas de kale variedades híbridas extracto 80% etanol | 414 | 432 | 315 | 317 | 349 | 268 | Kours, 2011 |
| | Hojas frescas de Kale var. Winterbor F. | | | | | | |
| | | | | | | | |
| Polifenoles totales en mg/100 g d.m. Hojas de kale crudas Winterbor F1 | I | | II | | III | | Sikora, 2012 |
| | 676.5 | | 544.86 | | 503.48 | | |
| | Kale var. Winterbor F. cocido | | Kale var. Winterbor F. crudo | | | | |
| | 1705.9 | | 3890.2 | | | | |
| Polifenoles totales en mg AEG/ g de materia seca Hojas de kale con MeOH (5%) | Kale | | | | | | Ligor, 2013 |
| | 0.285 | | | | | | |
| Polifenoles totales en mg/Kg Hojas frescas de kale (Extracto MeOH) | Winterbor | | Maribor | | | | Barrera, 2013 |
| | 610.3 | | 419.8 | | | | |

3. JUSTIFICACIÓN

Los polifenoles son fitonutrientes presentes en una gran variedad de alimentos (té, cereales, frutas y verduras) y su consumo se ha asociado a la prevención y disminución de diversas enfermedades incluyendo las enfermedades crónicas no transmisibles (diabetes mellitus tipo II, obesidad y enfermedades cardiovasculares). Dentro de las actividades farmacológicas más importantes conferidas a los polifenoles son antioxidantes, antiinflamatoria, antimicrobiana y recientemente se han conocido por su acción prebiótica. En este sentido, se sabe que los prebióticos son de gran utilidad para la modulación de la microbiota intestinal. Por lo que el consumo de estos junto con probióticos y polifenoles se considera indispensables para el tratamiento de disbiosis intestinal.

Dentro de los productos vegetales que se caracterizan por tener un alto contenido de compuestos bioactivos como vitaminas, minerales, polifenoles y/o fibra dietética, se encuentra los vegetales crucíferos. En específico el kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) considerado un super alimento, el cual ha sido muy poco explorado en México en cuanto a su contenido fitoquímico y nutricional.

Por lo antes mencionado, la presente investigación se enfoca en el análisis de los compuestos fenólicos de cuatro muestras de vegetal orgánico kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) cultivadas en México, y a su vez relacionar su contenido nutricional encontrado en la literatura para proponerlo como un candidato a prebiótico, con la finalidad de promover su cultivo y consumo en nuestro país.

Hipótesis

4. HIPÓTESIS

Las cuatro muestras del kale cultivado en México contienen compuestos fenólicos, y sus macro y micronutrientes lo hacen un candidato a prebiótico.

4.1 Hipótesis Nula

Las cuatro muestras del kale sembrado en México no contienen compuestos fenólicos y no es un candidato a prebiótico.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la concentración de fenoles totales en tres extractos orgánicos y jugo del vegetal kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) y proponer a este como posible prebiótico con base a su contenido nutricional.

5.2 Objetivos específicos

1. Sembrar y recolectar el kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*).
2. Obtener los extractos metanólicos a partir del kale seco, fresco y del bagazo y obtener el jugo liofilizado.
3. Determinar el contenido de los polifenoles totales de los extractos y jugo de kale por el método Folin-Ciocalteu.
4. Analizar la composición de macronutrientes y micronutrientes del kale comparándolo a lo reportado en la literatura para poder establecer los criterios del kale como candidato a prebiótico.

6. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

6.1 Colecta del material vegetal

Las semillas de Kale verde (Hydro Enviroment) fueron cultivadas el día 17 de julio de 2019 en colaboración con la Universidad Autónoma de Chapingo en su campo experimental bajo condiciones de invernadero con la supervisión del Dr. Efraín Contreras Magaña. Las condiciones de siembra fueron directas en charolas de poliestireno de 200 cavidades usando como sustrato mezcla de “peat moss” con perlita (75:25 v/v), finalmente al germinar se les agregó una solución nutritiva de N=60 mg/L, P=25 mg/L, K= 80 mg/L, Ca=90 mg/L, Mg= 20mg/L y S=60 mg/L. Las plantas se trasplantaron el 5 de septiembre en bolsas de polietileno negro de 18 L de capacidad, rellenas con arena de tezontle con partículas menores a 4 mm de diámetro; en la etapa de producción de las plantas se regaron con solución nutritiva de N=120 mg/L, P=50 mg/L, K=160 mg/L, Ca=180 mg/L, Mg=40 mg/L y S=120 mg/L. Finalmente se cosechó el kale el 14 de octubre de 2019, a los 40 días del trasplante.

6.1.1 Preparación del vegetal

Se colectaron 17.5 Kg de kale, el cual fue lavado por triplicado y posteriormente se dejó escurrir a temperatura ambiente. Una vez listo se procedió a las extracciones correspondientes como se detalla en las siguientes secciones (6.1.2-6.1.4).

6.1.2 Extracción del jugo de kale

Para la obtención del jugo se utilizó 8 Kg de kale mediante un extractor TURMIX platinum modelo G2, obteniéndose 5.231 Kg de bagazo de kale y 2.1 L de jugo, el bagazo se utilizó para maceración con metanol y el jugo se congeló hasta su utilización para liofilizarse.

6.1.2.1 Obtención del jugo liofilizado

Se descongeló el jugo de kale (2.1 L) a temperatura ambiente, y posteriormente se colocó en tubos de 10 mL y se centrifugó en un equipo Labnet a 2000 rpm durante 20 min, al finalizar el proceso anterior se retiró el sobrenadante y se colocaron 110 mL del jugo centrifugado en frascos de 600 mL procedentes de la liofilizadora LABCONCO, con ayuda de hielo seco y acetona se logró escarchar las paredes del frasco una vez congelado se insertaron en la liofilizadora llevándose a una temperatura de -40 °C en un periodo de 72 horas aproximadamente.

6.1.3 Preparación y obtención del extracto metanólico de kale fresco.

Se utilizaron 2 Kg de hoja de kale fresca los cuales se cortaron en pedazos de aproximadamente 5 cm, y posteriormente se maceró, a la par se llevó a macerar el bagazo obtenido previamente durante la extracción del jugo ambos con metanol al 100% durante 72 horas, posteriormente se eliminó el disolvente mediante el uso

Metodología de la investigación

de un rotaevaporador a presión reducida, realizándose este procedimiento por triplicado.

6.1.4 Preparación y obtención del extracto metanólico del kale seco

Se utilizaron 7.5 Kg de hojas de kale, colocándose encima de papel periódico para secarse a temperatura ambiente, se voltearon las hojas dos veces al día. En la tercera semana se empezó la recolección de las hojas secas. El secado terminó el día 27 de noviembre de 2019, teniendo una duración de 31 días. Las hojas secas se trituraron obteniéndose un peso de 978 g, posteriormente se llevó a macerar con disolvente metanol durante 72 horas por triplicado. Posteriormente se eliminó el disolvente mediante el uso de un rotaevaporador usando presión reducida. Para más información revisar la referencia (*Carlos Espíndola).⁵⁰

6.2 Determinación de polifenoles totales

6.2.1 Curva de calibración del ácido gálico

La determinación de fenoles totales se realizó por medio del método colorimétrico Folin-Ciocalteu siguiendo la metodología de Singleton descrita por Bertha Jurado Teixeira *et al.*, 2016 ⁵¹. Primeramente, se realizó la curva de calibración del ácido gálico. Se preparó una solución stock de 1 mg/mL de ácido gálico y a partir de esa solución se prepararon 6 diluciones con una concentración de [100, 75, 50, 25, 10 y 5 µg/mL] en metanol.

Metodología de la investigación

Posteriormente a 300 μL de cada dilución se adicionó 225 μL del reactivo Folin Ciocalteu 1 N (diluido 1:2 con H_2O) y se dejó reposar durante 5 minutos, luego se agregaron 225 μL de Na_2CO_3 al 20% y 900 μL de H_2O , y se agitó vigorosamente cada vial, se dejó reposar por 30 minutos sin luz y a temperatura ambiente. Finalmente se adicionó 200 μL de cada muestra en una placa de 96 pozos y se leyó $\lambda = 760 \text{ nm}$; la curva de calibración se realizó por triplicado.

6.2.2 Preparación de las muestras

Para la determinación de fenoles totales de los extractos y del jugo liofilizado se realizó lo siguiente: se prepararon las muestras a una concentración de 1 mg/mL de extracto de kale fresco (KF), seco (KS) y bagazo (KB) y del jugo liofilizado (KJ).

Posteriormente se siguió la misma metodología que se usó para la curva de calibración (ver sección 6.2.1).

6.3 Búsqueda bibliográfica de contenido nutricional del kale

Para realizar el análisis de macronutrientes y micronutrientes en el kale se realizó una búsqueda bibliográfica usando los buscadores de acceso libre PUBMED (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) y ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>). Para esto se introdujeron las palabras claves: kale, prebiotic in kale, *Brassica oleracea* var. *sabellica* y nutritional content in kale. Finalmente se seleccionaron los artículos que ayudaron a cumplir con el objetivo 4 de la presente tesis, el cual se desarrolla en sección 7.3 y 8.3.

7. RESULTADOS

7.1 Obtención del material vegetal

El material vegetal *Brassica oleracea* L. var. *sabellica* (kale) se cultivó y cosechó en la Universidad Autónoma de Chapingo en condiciones de invernadero. Se obtuvieron cuatro diferentes muestras de kale: bagazo, hoja fresca y hoja seca extraídos por maceración con MeOH y jugo liofilizado de kale. De manera general se obtuvieron rendimientos de extracción de 2-11.6 % de los cuales el extracto de bagazo (KB) se obtuvo con 4.2%, el extracto la hoja fresca (KF) con 5.8% y el extracto de hoja seca (KS) con 11.7%, así mismo para el jugo liofilizado (KJ) se obtuvo un 2% de rendimiento (**tabla 7.1**). En virtud de los resultados obtenidos, de los extractos macerados en fresco (KB y KF) se obtuvieron en menor rendimiento respecto al extracto macerado en seco (KS) el cual fue el extracto con mayor rendimiento (11.6 %).

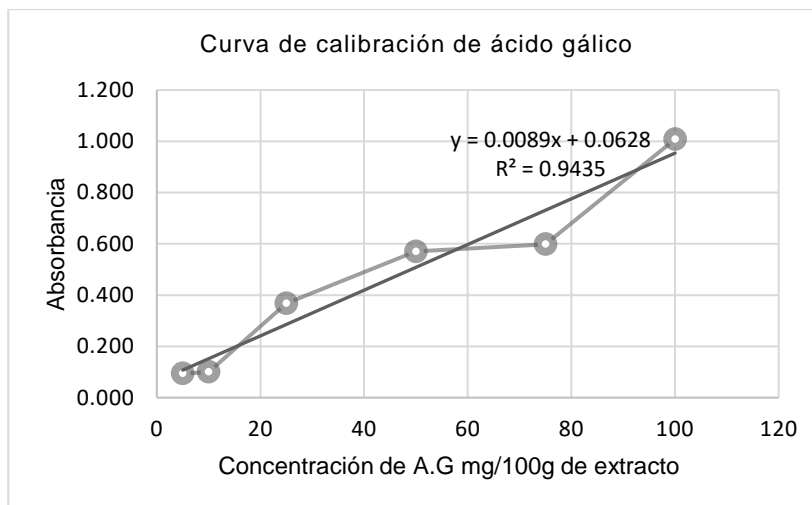
Tabla 7.1 Rendimiento de extractos y jugo de kale

| Materia prima Kale | Cantidad usada | Cantidad de extracto obtenido | % Rendimiento |
|-------------------------------|-----------------------|--|----------------------|
| Jugo (KJ) | 2. 1 L | 0.042 L | 2 |
| Bagazo (KB) | 5.23 Kg | 0.224 | 4.2 |
| Hoja Fresca (KF) | 2 Kg | 0.1174 | 5.87 |
| Seco (KS)* | 7.06 Kg | 0.822 | 11.6 |

7.2 Polifenoles totales

7.2.1 Polifenoles totales de extractos MeOH de kale

El primer paso para determinar el contenido de polifenoles totales por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu fue por medio de una curva de calibración con ácido gálico, la cual se llevó a cabo con seis concentraciones [100, 75, 50, 25, 10, 5] µg/L, en donde se obtuvo una R^2 de 0.9435, y la ecuación de la recta $y = 0.0089x + 0.0628$ (**gráfica 7.1**).



Gráfica 7.1 Curva de Calibración de Calibración del A.G en MeOH de las [100, 75, 50, 25, 10, 5] µg/L

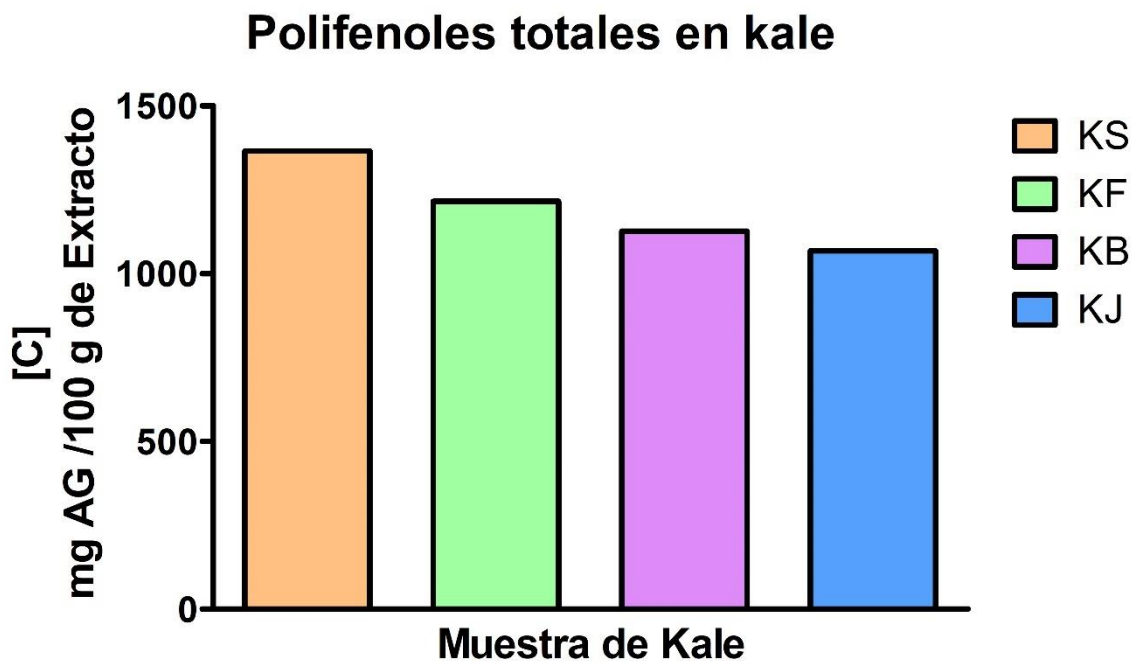
Posteriormente se determinó la concentración de polifenoles totales de los tres extractos metanólicos y del jugo, expresada en mg Ácido Gálico / 100 mg de muestra (mg A.G/100g E). El kale seco (KS) presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos (1364.8 mg A.G/100g E), y con menor concentración el jugo de kale (KJ) (**tabla 7.2 y gráfica 7.2**).

Resultados

Tabla 7.2 Concentración de Polifenoles totales en los extractos en mg de ácido gálico.

| Muestras | Promedio de Absorbancia | mg E.A.G/100g E |
|-------------|-------------------------|-----------------|
| Kale MeOH | | |
| Seco (KS) | 0.367 | 1364.8 ± 0.0077 |
| Fresco (KF) | 0.334 | 1216 ± 0.0120 |
| Bagazo (KB) | 0.314 | 1126.4 ± 0.0021 |
| Jugo (KJ) | 0.301 | 1068 ± 0.0077 |

La concentración de compuestos fenoles totales se expresaron en mg de equivalentes de ácido gálico por gramo de peso de kale. Los resultados obtenidos se llevaron a cabo por triplicado.

**Gráfica 7.2** Concentración de polifenoles totales en mg A.G/ 100g de tres extractos y jugo de kale.

7.3 Análisis bibliográfico del contenido nutricional del kale

De la búsqueda bibliográfica realizada para análisis del kale como prebiótico, se encontraron solo cinco artículos, de los siguientes autores: Thavarajah *et al.*, 2016, Yeong Kim 2017, Michalak *et al.*, 2020, de los cuales dos artículos eran referentes al contenido nutricional del kale (Mineral micronutrient and prebiotic carbohydrate profile of USA-grown kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) y Effect of cover crops on the yield and nutrient concentration of organic kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) y dos eran de estudios *in vitro* realizados con kale (Production of fermented kales juices with lactobacillus strains and nutritional composition y starter culture for curly kale juice fermentation selected using principal component analysis. (tabla 7.3-7.4)

Tabla 7.3 Contenido nutricional del kale⁵²

| Nutriente | Cantidad en 100 g (Thavarajah D) |
|-----------------------|----------------------------------|
| Agua | ND |
| Energía | ND |
| Proteína | 3.7 |
| Lípidos totales | ND |
| Cenizas | ND |
| Carbohidratos | ND |
| Fibra dietética total | ND |
| Azúcares totales | ND |
| Sucrosa | 38 mg |
| Glucosa (dextrosa) | 434 mg |
| Fructosa | 976 mg |
| Calcio | 204 mg |
| Hierro | 1.0 mg |
| Magnesio | ND |

| Nutriente | Cantidad en 100 g (Thavarajah D) |
|--------------|----------------------------------|
| Fosforo | 60 mg |
| Potasio | 241 mg |
| Sodio | ND |
| Zinc | 0.3 mg |
| Manganeso | ND |
| Vitamina C | ND |
| Tiamina | ND |
| Riboflavina | ND |
| Niacina | ND |
| Vitamina B6 | ND |
| Folato total | ND |
| B- caroteno | ND |
| Vitamina A | ND |
| Vitamina E | ND |
| Vitamina K | ND |

Tabla 7.4 Contenido nutricional de jugo de kale en 150 mL⁵³

| Nutrientes | Composición |
|------------------|-------------|
| Proteína (g) | 1.15 |
| Lípidos (g) | 0.3 |
| Fibra total (g) | 0.75 |
| Ca (mg) | 101 |
| Fe (mg) | 0.32 |
| Na (mg) | 74.5 |
| β- caroteno (µg) | 2004 |
| Vitamina B1 (mg) | 0.3 |
| Vitamina B2 (mg) | 0.15 |
| Vitamina C (mg) | 172.5 |
| Folato (µg) | 523.6 |

Tabla 7.5 Carbohidratos totales en col rizada.

| Nutriente | kale orgánico | |
|---|---------------|----------|
| | Rango | Promedio |
| Carbohidratos prebióticos (mg/100g) | | |
| Alcoholes azúcares | | |
| Sorbitol | 1.1-6.6 | 2.2 |
| Manitol | ND-0.4 | 0.1 |
| Azúcares simples | | |
| Manosa | 11 - 46 | 26 |
| RFO y FOS | | |
| Esaquiosa+Rafinosa | 13-169 | 73 |
| Versbascosa+ Kestosa | 0.8-39 | 13 |
| Nistosa | ND-10 | 1 |
| Hemicelulosa | | |
| Arabinosa | ND-763 | 417 |
| Xilosa | ND-77 | 417 |
| Lignina | 0-90 | 19 |
| Carbohidratos prebióticos totales conocidos (g/100g) | 0.7-2.7 | 1.9 |
| Carbohidratos prebióticos desconocidos (g/100g) | 5.0-6.0 | 4.5 |
| Carbohidratos prebióticos totales (g/100g) | 5.7-8.7 | 6.4 |

Tomado de: Thavarajah D, et al., *Sci Rep.* 2019;9(1):1–8.⁵²

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

8.1 Contenido de polifenoles totales en el vegetal kale

Los polifenoles son de importancia nutricional, se sabe que el consumo de alimento y bebidas ricas en compuestos fenólicos se ha asociado a la prevención de diversas enfermedades. Estructuralmente son compuestos orgánicos formado por al menos un fenol unido a otro anillo aromático que puede poseer uno o más grupos hidroxilos y se clasifican en ácidos fenólicos, flavonoides, lignanos, estilbenos y taninos Uno de los métodos más utilizados para su cuantificación es el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, en donde los grupos hidroxilos actúan como agentes reductores del $\text{Mo}^{6+} \rightarrow \text{Mo}^{5+}$ y $\text{W}^{6+} \rightarrow \text{W}^{5+}$ cambiando su coloración de amarillo a azul.

Con base a los resultados obtenidos (**tabla 7.2**) el extracto con mayor contenido de polifenoles fue la de kale seco (KS) con una cantidad de 1364 mg A.G/ 100 g E., seguido del kale fresco (KF) (1216 mg A.G/ 100 g E.), bagazo de kale (KB) (1126 mg A.G/ 100 g E.) y finalmente el jugo de kale con una concentración de 1068 mg A.G/ 100 g E, teniendo alrededor 296 mg menos de concentración, respecto a KS.

Al comparar los métodos de extracción de kale, se puede determinar que el mayor contenido de polifenoles fue para el kale macerado en seco (KS), comparado con los extractos macerados en fresco KF y KB, los cuales disminuyeron 148 y 238 mg A.G/ 100 g E, respecto a la concentración KS. Por otro lado, se encontró una

Discusión de resultados

menor concentración de polifenoles en KJ y debido a su polaridad podrían tratarse de compuestos fenólicos glucosidados.

Un estudio llevado a cabo por Sikora et al., 2012, determinaron el contenido de fenoles totales de kale cultivado en Polonia durante tres años consecutivos; el estudio se hizo a partir de extractos hidroalcohólicos al 70 % (mezcla de 3 g de kale crudo y 5 g de kale hervido 4:6), los resultados para el 1^{er} año hubo un contenido de 676.50 mg/100 g de muestra, para el 2^{do} año 544.86 mg/ 100 g de muestra, y para 3^{er} año 503.48 mg/100 g de muestra ⁴⁷. Por otro lado, Kours et al., detectaron polifenoles totales en diversas variedades híbridas de kale sembradas en Polonia y cuantificaron entre 268 a 432 mg/100g de polifenoles. Finalmente, Becerra et al., reportaron un contenido de polifenoles de 61-41 mg/100 g de los extractos metanólicos de kale fresco cultivado en México.

Por otro lado, algunos compuestos fenólicos han sido identificados en kale por medio de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), como ácidos fenólicos (gálico, protocatechuico, *p*-hidroxibenzoico, vanílico, salicílico, *p*-cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico) ⁵⁴; también se han cuantificado 18 derivados de kaempferol, 13 derivados de quercetina, 4 sinapoil y uno de ácido cafeinolquinico. ⁵⁵

Analizando los valores de cuantificación de polifenoles reportados anteriormente en la literatura, se puede observar alrededor de 50 % menos de concentración comparado con los obtenidos en este proyecto de kale cultivado en México; por lo que este trabajo presenta una fuente importante de polifenoles.

Finalmente cabe mencionar que es la primera vez que se reporta el contenido de polifenoles totales en bagazo, kale seco y jugo, presentando una concentración

importante de los mismos. Este alto contenido de compuestos puede brindar al kale propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antibacterianas y prebióticas.

8.2 Compuestos fenólicos y microbiota intestinal

Los compuestos fenólicos se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas, frutas, vegetales y cereales en una cantidad de 1-3 mg/kg; sin embargo, la absorción en el organismo es baja de un 5-10%; en este sentido los beneficios de los polifenoles a la salud dependen de ciertos factores del proceso del metabolismo, la absorción y biodisponibilidad.

Actualmente se sabe que la microbiota intestinal mejora la actividad biológica de los compuestos fenólicos transformándolos en metabolitos más activos, además hay evidencia de ensayos *in vitro* en animales y estudios en humanos que sugieren que los compuestos fenólicos ejercen actividades prebióticas,⁵⁶ ya que, se ha observado que estos incrementan la población de bacterias beneficiosas como *Bifidobacterias* y *Lactobacillus*.⁵⁷ Además, algunos compuestos fenólicos son fermentados en la microbiota intestinal produciendo ácidos grasos de cadena corta permitiendo así mismo la secreción de moco intestinal, el aumento de pH intestinal y mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal.

En un metaanálisis de Guiling Ma, 2020; donde se evaluó la abundancia de la MI, comparando entre dos grupos, uno con suplementación de polifenoles (fuentes de suplementación de polifenoles, manzana, té, vino, café, soya y otras) con una dosis 6.4-2364 mg/d para el estudio *in vivo*) y el segundo grupo fue placebo,

Discusión de resultados

se reportó que la suplementación con polifenoles modifica los microorganismos intestinales promoviendo la salud. La suplementación con polifenoles aumentó la abundancia de *Lactobacillus* en un 220% (6.90-7.40 log₁₀ UFC/g en heces) y *Bifidobacterium* en un 56% (8.08-8.27 log₁₀ UFC/g de heces) con una $P < 0.05$. la suplementación con polifenoles no tuvo un efecto significativo sobre la presencia de *Eubacterium*. El impacto de la suplementación con polifenoles sobre la abundancia de *Bacteroidetes* no fue consistente. Cuando los datos fueron clasificados por diferentes fuentes de suplementación de polifenoles la influencia en general no fue significativa ($P > 0.05$); sin embargo, cuando los datos fueron evaluados por dosis de suplementos de polifenoles, el suplemento de polifenoles estimulo la abundancia de *Bacteriodos* en un 87% (8.55 a 8.82 log₁₀ UFC/g de heces, diferencia media estándar= DME =0.91 $P=0.04$) en la microbiota intestinal humana.⁵⁸

8.3 Kale como candidato a prebiótico

En este apartado se discuten los estudios que nos proporcionan información detallada acerca del contenido de nutrientes en el kale que lo convierten en un alimento capaz de fermentarse y de ejercer efectos prebióticos. Los criterios de selección para un candidato a prebiótico son: no debe de ser hidrolizado ni digerido en el tracto intestinal superior, debe ser fermentado por la MI y debe promover el crecimiento de probióticos.²³

Primeramente, como parte del último objetivo de esta tesis, se analizó el contenido nutricional del kale. Como se ha mencionado con anterioridad la col rizada

Discusión de resultados

es una verdura crucífera que con base a Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) contiene en 100 g: 35 kcal, 89.63 g de agua, 2.92 g de proteína, 1.49 g de lípidos, 4.42 g de hidratos de carbono, 4.1 g de fibra, 254 mg de calcio, 1.6 mg de hierro, 348 mg de potasio, 93.4 mg de vitamina C, 4810 UI de vitamina A.⁴³

De acuerdo con lo anterior el kale es un alimento que ha sido clasificado como un “súper alimento, este término se refiere a un alimento que contiene de manera natural una alta densidad de nutrientes y compuestos bioactivos en comparación con otros alimentos.⁵⁹ De tal manera que si lo comparamos con el brócoli un vegetal crucífero de su misma especie este nos proporciona en 100 g: 34 kcal, 89.3 g de agua, 2.82 g de proteína, 0.37 g de lípidos, 6.64 g de hidratos de carbono, 2.6 g de fibra, 47 mg de calcio, 0.73 mg de hierro, 316 mg de potasio, 89.2 mg de vitamina C, 623 UI de vitamina A,⁶⁰ podemos analizar que el kale proporciona una mayor densidad de nutrientes que el brócoli, por otra parte si lo comparamos con un alimento rico en fibra como la espinaca esta contiene 2.2 g de fibra en 100 g⁶¹, proporcionando mayor contenido de fibra el kale, haciéndolo una buena opción de consumo de antioxidantes y de fibra.

Por otra parte, como parte del análisis de un prebiótico debe ser capaz de resistir la digestión en el tracto intestinal superior lo cual se debe al contenido de fibra soluble e insoluble (polímeros de carbohidratos) y de compuesto fenólicos. En este sentido, Dil Thavarajah, *et al.*, 2018; reportaron el contenido carbohidratos prebióticos en kale usando cromatografía líquido-líquido de partición, lo resultados

Discusión de resultados

indicaron alrededor de 6.4 g / 100 g, de los cuales 4.5 g de carbohidratos prebióticos aún sin identificar y 1.9 g de carbohidratos prebióticos conocidos totales tales como: azúcares alcoholes tales como sorbitol y manitol, fructooligosacáridos de cadena corta como kestosa y nitosa, oligosacáridos de la familia rafinosa (ROF'S) como rafinosa, estaquiosa y versbascosa, hemicelulosas como arabinosa y xilosa, y lignina, a los cuales son se les ha asociado sus beneficios como moduladores de la microbiota intestinal.⁵²

Por otro lado, se han realizado estudios *in vitro* de fermentación del kale, Yeong Kim, 2017; en Corea realizó la fermentación de jugo de col rizada orgánica con cepas de *Lactobacillus*. Se inoculó en kale con >10 UFC/mL de *Lactobacillus acidophilus* IFO 3025, *Lactobacillus brevis* FBS-1, *Lactobacillus casei* KCTC 12452 y *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104, la presencia de *Lactobacillus* se realizó por el método de conteo en placa en agar MRS de *Lactobacillus*.

Los resultados obtenidos del conteo de cepas mostraron ser mayor a 10^8 UFC/mL, teniendo en cuenta el siguiente orden *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104 (6.7×10^8 UFC/mL) > *Lactobacillus casei* KCTC 12452 (2.6×10^8 UFC/mL) > *Lactobacillus acidophilus* IFO 3025 (1.9×10^8 UFC/mL) > *Lactobacillus brevis* FBS-1 (1.5×10^8 UFC/mL). Los resultados sugieren que la col rizada como materia es adecuado para la producción de probióticos por fermentación de jugo de col rizada utilizando bacterias ácido-lácticas.⁶²

Por otro lado, en nuestro grupo de investigación por Condado, *et al.*, 2021; se realizó un ensayo piloto sobre el efecto del kale como prebiótico en el crecimiento

Discusión de resultados

de Bacterias Ácido-Lácticas (BAL) de muestras de yogurt artesanal de búlgaros de Cuernavaca, Morelos.

En donde se agregó a 25 mL de leche orgánica enriquecida con 1 g de colrizada orgánica en polvo ® (euphoria superfoods) directa sin tratamiento y la segunda muestra no se le agregó Kale, se dejaron incubando a 37 ° C por 24 hrs. Después de centrifugación (10 min, 8000 rpm), se tomaron 500 µg de cada muestra y se adicionó 2 mL de medio selectivo caldo MRS con ácido ascórbico (agente reductor e incrementa la propagación de BAL). Se incubaron e inocularon en agar MRS (DIFCO™) por vertido en placa y se utilizó el método de extensión con perla vidrio. Las colonias obtenidas se caracterizaron por su fenotipo y morfología. Como resultado se obtuvo que las colonias obtenidas del medio sin kale fueron en forma de bacilos y en el medio adicionado con el Kale se obtuvieron colonias en forma de cocos Gram positivos y ambas como catalasa negativa. Se sugiere que el kale aumentó la supervivencia de microorganismos selectivos posiblemente por la disponibilidad de nutrientes que éste ofrece.⁶³

Finalmente, el análisis general de los reportes mencionados anteriormente y de acuerdo con los criterios de selección de prebióticos el kale es capaz de resistir la digestión en el intestino⁵², también es capaz de ser fermentado por la MI⁶³ y estimula el crecimiento de probióticos⁶². Sin embargo aún es necesario realizar más ensayos de modelos de fermentación *in vitro*, modelos de fermentación *in vivo* y finalmente estudios de intervención en humanos²¹ recomendados por la

Discusión de resultados

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) para poder validar la acción prebiótica del kale.

Resumiendo el kale es un alimento que nos proporciona macro y micronutrientes que son esenciales para las funciones vitales de nuestro organismo, y además, nos aporta fibra a la cual se le atribuyen enormes beneficios a la salud, la fibra soluble sirve de sustrato energético a las bacterias colónicas también nos aporta una gran variedad de compuestos prebióticos y una alta concentración de compuestos fenólicos los cuales se han asociado a una mayor abundancia de bacterias beneficiosas en la microbiota intestinal y una inhibición de bacterias patógenas.

9. CONCLUSIONES

En el presente proyecto se trabajó con el vegetal orgánico kale sembrado en México utilizando cuatro muestras: tres extractos metanólicos a partir del kale seco, fresco y del bagazo y jugo liofilizado. Los resultados de contenido de polifenoles totales de esas muestras indicaron la presencia de una gran concentración de compuestos fenólicos con un rango entre 1364.8 y 1068 mg A.G/100g E. Siendo el primer reporte de contenido de polifenoles para el extracto metanólico de kale seco y bagazo.

De acuerdo al análisis bibliográfico del contenido nutricional contiene alta concentración de carbohidratos prebióticos (5.7-8.7 g) y polifenoles, además de su capacidad de fermentación en el intestino y estimula el crecimiento de probióticos, lo cual se han relacionado estrechamente con la modulación de la microbiota intestinal. Este estudio bibliográfico de kale es el primer paso para la selección de este vegetal crucífero como candidato prebiótico, sin embargo, es necesario realizar más estudios *in vitro* para corroborar su actividad prebiótica.

Con base a lo analizado en la presenta tesis, el kale es un alimento con prometedora acción prebiótica, además de ser un alimento con una gran fuente de polifenoles y nutrientes, por lo cual se recomienda su consumo en la dieta diaria.

10. PERSPECTIVAS Y/O RECOMENDACIONES

Como parte de perspectiva es necesario evaluar la actividad antioxidante *in vitro* de los tres extractos y el jugo de kale para relacionarlo con el contenido de polifenoles, además de identificar los compuestos fenólicos presentes en los mismos por medio de HPLC.

En cuanto al kale como candidato a prebiótico se debe concluir con los estudios de fermentación *in vitro* e *in vivo* con diferentes cepas y fermentaciones continuas y discontinuas y con el modelo Gut-Model.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Formiga F, Ferreira Teles CI, Chivite D. Impact of intestinal microbiota in patients with heart failure: A systematic review. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2019;153(10):402–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2019.06.006>
2. Espín JC, González-Sarrías A, Tomás-Barberán FA. The gut microbiota: A key factor in the therapeutic effects of (poly)phenols. *Biochem Pharmacol*. 2017;139:82–93.
3. Zhu M-J. Dietary Polyphenols, Gut Microbiota, and Intestinal Epithelial Health [Internet]. Second Edi. *Nutritional and Therapeutic Interventions for Diabetes and Metabolic Syndrome*. Elsevier Inc.; 2018. 295–314 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812019-4.00024-6>
4. Thavarajah D, Thavarajah P, Abare A, Basnagala S, Lacher C, Smith P, et al. Mineral micronutrient and prebiotic carbohydrate profiles of USA-grown kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). *J Food Compos Anal* [Internet]. 2016;52:9–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2016.07.003>
5. Xifra G, Esteve E, Ricart W, Fernández-Real JM. Influence of Dietary Factors on Gut Microbiota: The Role on Insulin Resistance and Diabetes Mellitus. *Mol Nutr Diabetes A Vol Mol Nutr Ser*. 2016;147–54.
6. Moreno B de L, Soltero RG, Bressa C, Bailén M, Larrosa M. Lifestyle modulation of gut microbiota. *Nutr Hosp*. 2019;36(Ext3):35–9.
7. Cigarran Guldris S, González Parra E, Cases Amenós A. Microbiota intestinal

Bibliografía

- en la enfermedad renal crónica. *Nefrologia*. 2017;37(1):9–19.
8. Gonz E. *Nutrición Hospitalaria*. 2018;
 9. Fontané L, Benaiges D, Goday A, Llauradó G, Pedro-Botet J. Influence of the microbiota and probiotics in obesity. *Clin e Investig en Arterioscler* [Internet]. 2018;30(6):271–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2018.03.004>
 10. García-Ríos A, Camargo Garcia A, Perez-Jimenez F, Perez-Martinez P. Gut microbiota: A new protagonist in the risk of cardiovascular disease? *Clin e Investig en Arterioscler* [Internet]. 2019;31(4):178–85. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2018.11.003>
 11. Sarafian MH, Ding NS, Holmes E, Hart A. Effect on the Host Metabolism [Internet]. *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology: Implications for Human Health, Prebiotics, Probiotics, and Dysbiosis*. Elsevier Inc.; 2017. 249–253 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-804024-9/00028-8>
 12. Martinez KB, Mackert JD, McIntosh MK. Polyphenols and Intestinal Health [Internet]. *Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging*. Elsevier Inc.; 2017. 191–210 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-805376-8.00018-6>
 13. Wells JM, Brummer RJ, Derrien M, MacDonald TT, Troost F, Cani PD, et al. Homeostasis of the gut barrier and potential biomarkers. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*. 2017;312(3):G171–93.
 14. Drago L, Valentina C, Fabio P. Gut microbiota, dysbiosis and colon lavage. *Dig Liver Dis* [Internet]. 2019;51(9):1209–13. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.dld.2019.06.012>

Bibliografía

15. Domínguez-Avila JA, Villa-Rodríguez JA, Montiel-Herrera M, Pacheco-Ordaz R, Roopchand DE, Venema K, et al. Phenolic Compounds Promote Diversity of Gut Microbiota and Maintain Colonic Health. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2020;(46). Available from: <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06676-7>
16. Suarez Dieguez T, Galvan M, López Rodríguez G, Olivo D, Olvera Nájera M. Efecto De La Dieta Sobre La Modulación De La Microbiota En El Desarrollo De La Obesidad. *RESPYN Rev Salud Pública y Nutr.* 2018;17(1).
17. Markowiak P, Ślizewska K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients.* 2017;9(9).
18. Jäger R, Mohr AE, Carpenter KC, Kerksick CM, Purpura M, Moussa A, et al. International Society of Sports Nutrition Position Stand: Probiotics. *J Int Soc Sports Nutr.* 2019;16(1):1–44.
19. López Cabanillas Lomelí M. Incorporación de *Bacillus coagulans* a productos derivados de cereales. TDX (Tesis Dr en Xarxa) [Internet]. 2017; Available from: <http://www.tdx.cat/handle/10803/457965>
20. Oliveira G, González-Molero I. Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica. *Endocrinol y Nutr* [Internet]. 2016;63(9):482–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.endonu.2016.07.006>
21. Corzo N, Alonso JL, Azpiroz F, Calvo MA, Cirici M, Leis R, et al. Prebióticos; Concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutr Hosp.* 2015;31:99–118.
22. Florowska A, Krygier K, Florowski T, Dłuzewska E. Prebiotics as functional food ingredients preventing diet-related diseases. *Food Funct.* 2016;7(5):2147–55.

Bibliografía

23. Hijová E, Bertková I, Štofilov J. Dietary fibre as prebiotics in nutrition. *Cent Eur J Public Health*. 2019;27(3):251–5.
24. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(8):491–502.
25. Hurtado-Romero A, Del Toro-Barbosa M, Garcia-Amezquita LE, García-Cayuela T. Innovative technologies for the production of food ingredients with prebiotic potential: Modifications, applications, and validation methods. *Trends Food Sci Technol*. 2020;104(May):117–31.
26. Ashman S, Krishnamurthy H. The gut microbiome [Internet]. *Effects of Lifestyle on Men's Health*. Elsevier Inc.; 2019. 61–98 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-816665-9.00004-4>
27. Marquez EG. *ÁCIDOS GRASOS : CLASIFICACIÓN E IMPORTANCIA EN LA SALUD HUMANA* Editores : H . Espinosa Andrews . E . Gastélum Martínez . 2017. 145 p.
28. Valencia Avilés E, Figueroa II, Sosa Martínez E, Bartolomé Camacho MC, Martínez Flores HE, García Pérez ME. Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. 2017;15–29.
29. Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2005;45(4):287–306.
30. Vuolo MM, Lima VS, Maróstica Junior MR. Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power [Internet]. *Bioactive Compounds: Health*

Bibliografía

- Benefits and Potential Applications. Elsevier Inc.; 2018. 33–50 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>
31. Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *J Funct Foods* [Internet]. 2015;18:820–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
 32. Ozdal T, Sela DA, Xiao J, Boyacioglu D, Chen F, Capanoglu E. The reciprocal interactions between polyphenols and gut microbiota and effects on bioaccessibility. *Nutrients*. 2016;8(2):1–36.
 33. Tresserra-Rimbau A, Lamuela-Raventos RM, Moreno JJ. Polyphenols, food and pharma. Current knowledge and directions for future research. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2018;156:186–95. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.07.050>
 34. Sandoval V, Sanz-lamora H, Arias G, Marrero PF. Metabolic Impact of Flavonoids Consumption in Obesity : From Central to Peripheral. :1–54.
 35. Cardona F, Andrés-lacueva C, Tulipani S, Tinahones FJ, Queipo-ortuño MI. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *J Nutr Biochem*. 2013;24(8):1415–22.
 36. Alves-Santos AM, Sugizaki CSA, Lima GC, Naves MMV. Prebiotic effect of dietary polyphenols: A systematic review. *J Funct Foods* [Internet]. 2020;74(September):104169. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104169>
 37. Lotti C, Iovieno P, Centomani I, Marcotrigiano AR, Fanelli V, Mimiola G, et al.

Bibliografía

- Genetic, bio-agronomic, and nutritional characterization of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) diversity in Apulia, Southern Italy. *Diversity*. 2018;10(2):1–11.
38. TICONA RH. EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE DOS VARIEDADES DE COL RIZADA (*Brassica oleracea* var. *Sabellica*) BAJO TRES NIVELES DE ABONAMIENTO FOLIAR ORGANICO AEROBICO EN EL CENTRO EXPERIMENTAL DE COTA COTA [Internet]. UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉ; 2017. Available from: <https://repositorio.umsa.bo/xmlui/bitstream/handle/123456789/13658/T-2451.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
39. Reyes Munguía A, Rosas Trejo L, Campos Montiel R, Quintero Lira A, Carrillo Inungaray ML. Propiedades antioxidantes del extracto acuoso de *Brassica oleracea* var. *sabellica*. *Marzo*. 2017;3(7):25–32.
40. Reynoso Verónica. Guía práctica para cultivar kale en casa [Internet]. Vía orgánica. Available from: <https://viaorganica.org/kale-cultiva-una-fuente-de-hierro-en-casa/>
41. Ricardo GA. 6 tipos y variedades de kale más famosas [Internet]. Sembrar 100. Available from: <https://www.sembrar100.com/coles/kale-col-rizada/variedades/>
42. Kale Yeah! Types of Kale and Their Best Uses [Internet]. Xtrema Pure Ceramic Cookware. Available from: <https://xtrema.com/blogs/blog/kale-yeah-types-of-kale-and-their-best-uses>
43. Kale, raw [Internet]. U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE Agricultural

Bibliografía

- Research Service. 2019. Available from: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/168421/nutrients>
44. Tabla Nutricional: Kale, whisky, crudo. [Internet]. todo alimentos. Available from: <http://www.todoalimentos.org/kale-whisky-crudo/>
 45. Šamec D, Urlić B, Salopek-Sondi B. Kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) as a superfood: Review of the scientific evidence behind the statement. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019;59(15):2411–22.
 46. Korus A. Level of vitamin C, polyphenols, and antioxidant and enzymatic activity in three varieties of kale (*Brassica oleracea* L. var. *Acephala*) at different stages of Maturity. *Int J Food Prop*. 2011;14(5):1069–80.
 47. Sikora E, Bodziarczyk I. (*Brassica Oleracea* L. Var. *Acephala*) Raw and Cooked. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. 2012;11(3):239–48.
 48. Becerra-Moreno A, Alanís-Garza PA, Mora-Nieves JL, Mora-Mora JP, Jacobo-Velázquez DA. Kale: An excellent source of vitamin C, pro-vitamin A, lutein and glucosinolates. *CYTA - J Food*. 2014;12(3):298–303.
 49. Ligor M, Trziszka T, Buszewski B. Study of Antioxidant Activity of Biologically Active Compounds Isolated from Green Vegetables by Coupled Analytical Techniques. *Food Anal Methods*. 2013;6(2):630–6.
 50. Carlos Espíndola. Análisis de los polifenoles presentes en el vegetal crucífero de *Brassica oleracea* var. *sabellica* (kale) y su predicción de actividad biológica. Universidad Autónoma del Estado de Morelos; 2021.
 51. Jurado B, Aparcana I, Villarreal L, Ramos E, Calixto M, Hurtado P, et al. Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de

Bibliografía

- los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. *Rev la Soc Química del Perú* [Internet]. 2016;82(3):272–9. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2016000300003&lang=pt%0Ahttp://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v82n3/a03v82n3.pdf
52. Thavarajah D, Siva N, Johnson N, McGee R, Thavarajah P. Effect of cover crops on the yield and nutrient concentration of organic kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). *Sci Rep*. 2019;9(1):1–8.
 53. Kim SY, Yoon S, Kwon SM, Park KS, Lee-Kim YC. Kale Juice improves coronary artery disease risk factors in hypercholesterolemic men. *Biomed Environ Sci*. 2008;21(2):91–7.
 54. Ayaz FA, Hayirlioglu-Ayaz S, Alpay-Karaoglu S, Grúz J, Valentová K, Ulrichová J, et al. Phenolic acid contents of kale (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala* DC.) extracts and their antioxidant and antibacterial activities. *Food Chem*. 2008;107(1):19–25.
 55. Yang I, Jayaprakasha GK, Patil B. In vitro digestion with bile acids enhances the bioaccessibility of kale polyphenols. *Food Funct*. 2018;9(2):1235–44.
 56. Gowd V, Karim N, Shishir MRI, Xie L, Chen W. Dietary polyphenols to combat the metabolic diseases via altering gut microbiota. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2019;93(April):81–93. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.005>
 57. Man AWC, Zhou Y, Xia N. Involvement of Gut Microbiota , Microbial

Bibliografía

- Metabolites and Interaction with Polyphenol in Host Immunometabolism. 2020;
58. Ma G, Chen Y. Polyphenol supplementation benefits human health via gut microbiota: A systematic review via meta-analysis. *J Funct Foods*. 2020;66(November 2019).
 59. Ancos D. Compuestos Funcionales En Productos De Iv Y V Gama. *Rev Iberoam Tecnol Postcosecha*. 2016;17(2):130–48.
 60. Broccoli, raw [Internet]. U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE Agricultural Research Service. 2018. Available from: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/170379/nutrients>
 61. Spinach, raw [Internet]. U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE Agricultural Research Service. 2019. Available from: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/168462/nutrients>
 62. Kim SY. Production of fermented kale juices with lactobacillus strains and nutritional composition. *Prev Nutr Food Sci*. 2017;22(3):231–6.
 63. Huerta MCCC. Evaluación de la capacidad de formación de biopelículas por bacterias ácido lácticas aisladas de alimentos en presencia de prebióticos. Universidad Autónoma del Estado de Morelos; 2021.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



Morelos, a 23 de agosto de 2021.

MCS. JÉSICA LÓPEZ BUCIO FABIÁN
DIRECTORA DE LA FACULTAD DE NUTRICIÓN
PRESENTE

Por este conducto me permito comunicarle que, en mi calidad de jurado para examen de grado de la estudiante de la licenciatura en Nutrición AMÉRICA ISABEL MONTIEL CASTILLO (Mat. 20161007379), he leído y revisado la tesis titulada: **“Evaluación de polifenoles totales del kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) como potencial candidato a prebiótico”**, y considero que ésta cubre con los requisitos señalados en los lineamientos de Titulación de la Universidad para tesis profesional. Por lo tanto, el estudiante puede continuar con los trámites correspondientes para solicitar fecha de examen.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE
DRA. DOLORES AZUCENA SALAZAR PIÑA
PROFESORA INVESTIGADORA DE TIEMPO COMPLETO
FACULTAD DE NUTRICIÓN

C.i.p. – Archivo

Calle Iztaccihuatl Núm. 100 Col. Los Volcanes, Cuernavaca, Mor., C.P. 62350



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

DOLORES AZUCENA SALAZAR PIÑA | Fecha:2021-09-17 13:29:48 | Firmante

WyhaqqHLV58cQ0JGrSMZUWw0GCHo4DqqlUDudm9dsDy5CsKWYEFz6PjkeJU/elRHbAhmMsA4Cue6SYfh2qOsmZ+CegdAf0lfrimZ//eGFftgq1h3zeuwnuPsQ2+jAEhoMQ80GwglnhUeCu5KFHTGrhDYDZq4NluOOCQJYeBq6fdKVdGIFMVR2lhGFrEOtq77xwRoqx2vgRdGxz+hOERggIDKtG5zqZIVvxkzief5D0MVcDt+QFrJ8iZF02KDZDBa0H+6ryjrFgTPQqZWAV4bUCD3XgcUub7aGKrVbvV3/vz6wmRe3UNRM/wtM/n215fbh4ZNY9DGB+a9EEN6kaag==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



o4pBnJ

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/2SR9qluOpHnw70188g1Z5cyE1aoPRwFG>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



Cuernavaca, Morelos a 31 de agosto de 2021

MTRA. JÉSICA LÓPEZ BUCIO FABÍAN
DIRECTORA INTERINA DE LA
FACULTAD DE NUTRICIÓN
P R E S E N T E

Por este conducto me permito comunicarle que, en mi calidad de jurado para examen de grado de la estudiante de la licenciatura en Nutrición **AMÉRICA ISABEL MONTIEL CASTILLO** (Mat. 20161007379), he leído y revisado la tesis titulada: "Evaluación de polifenoles totales del kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) como potencial candidato a prebiótico", y considero que ésta cubre con los requisitos señalados en los lineamientos de Titulación de la Universidad para tesis profesional. Por lo tanto, el estudiante puede continuar con los trámites correspondientes para solicitar fecha de examen.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE

M en C Gabriela Añorve Valdez
Profesora de Tiempo Completo B

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

GABRIELA AÑORVE VALDEZ | Fecha:2021-08-31 18:40:08 | Firmante

wdC66AcFhs17nZzpktE/0srpbsJPkEzmbk/4d+j4W0vsOr/WR6jxUJ/rmO6b1SSlwujBh6aZbx4bduT0oa2F6p/Ebfa8gF6hLy+liVrJA/LbvmsZTVZT+M90+qappyuMIRq7Ua45dnegIZ
Wi+KUADwQwup6LD6FgywMPD4BHWeccszgmIroapDmaxybzRsKXZbIWdpVD8nWN7uLRUFi5bIXX81UTB98n6IMwsxHI0oEfRnw4voOk81EAgVLzBDResYKpr+xix/6N9b8JSnf1
hAXmdYWiCSMyOdhCgdepeaYilyoSBuCjYkGMxwrw6KFp4i0W0a91zlgMN3noalTg8oQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[UC4Ode](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/IBxIJ5MtgbHfAJPrR7G1AY9TLgCYxJ9P>



Cuernavaca, Morelos a 22 de agosto de 2021

MCS. JÉSICA LÓPEZ BUCIO FABIÁN

DIRECTORA DE LA FACULTAD DE NUTRICIÓN DE LA UAEM

Por este medio notificó que de acuerdo con el oficio OFICIO FN/567/21 en el que me designa como sinodal de la alumna **AMÉRICA ISABEL MONTIEL CASTILLO**, con el título de tesis: **“Evaluación de polifenoles totales del kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) como potencial candidato a prebiótico”**, le comunico que me permito emitir mi *voto aprobatorio* al considerar que realizó los cambios sugeridos para continuar con los trámites correspondientes para la defensa de su tesis.

Sin otro particular quedo de usted.

ATENTAMENTE



IBQ. Edén Valfré Saavedra Briones

CC. Lic. Mariela López Martínez


05 Septiembre 2021

MCS. JÉSICA LÓPEZ BUCIO FABIÁN
DIRECTORA DE LA FACULTAD DE NUTRICIÓN
PRESENTE

Por este conducto me permito comunicarle que, en mi calidad de jurado para examen de grado de la estudiante de la licenciatura en Nutrición **AMÉRICA ISABEL MONTIEL CASTILLO** (Mat. 20161007379), he leído y revisado la tesis titulada: "Evaluación de polifenoles totales del kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) como potencial candidato a prebiótico", y considero que ésta cubre con los requisitos señalados en los lineamientos de Titulación de la Universidad para tesis profesional. Por lo tanto, el estudiante puede continuar con los trámites correspondientes para solicitar fecha de examen.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE


Q.I. Vanessa Domínguez Villegas

Técnico(a) Académico de Tiempo Completo Cat D y Profesor(a) de asignatura

No. Control 40729



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



Cuernavaca, Morelos, a 08 de agosto de 2021.
Asunto: Voto aprobatorio.

MCS. JÉSICA LÓPEZ BUCIO FABIÁN
DIRECTORA DE LA FACULTAD DE NUTRICIÓN, UAEM
P R E S E N T E

Por este conducto me permito comunicarle que, en mi calidad de jurado para examen de grado de la estudiante de la Licenciatura en Nutrición **AMÉRICA ISABEL MONTIEL CASTILLO**, he leído y revisado la tesis titulada: **“Evaluación de polifenoles totales del kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) como potencial candidato a prebiótico”**, y considero que ésta cubre los requisitos señalados en los lineamientos de Titulación de la Universidad para tesis profesional. Por lo tanto, el estudiante puede continuar con los trámites correspondientes para solicitar fecha de examen.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE,

Dra. Delia Vanessa López Guerrero
Profesora Investigadora Tiempo Completo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

DELIA VANESSA LOPEZ GUERRERO | Fecha:2021-09-16 22:21:51 | Firmante

2i7u43/J0TYgtqQhCqdO4JQoRQOP6n4xcrJ4KN9kdzpkmlvvlL6XC43RBbDV2hnsJGmGzsjdr/aGhF4Sq2MY91erPGz/DMsIAVQh7w4WoiJWNGNbKQLjcMoiBiLs9f6jzojYL0pIHjC9OzfSfWDmi35yL94c4GHq5U5gG+9OFY2bc9HFRF5O8rdhZXw3QsuYxtS0Qj274jYSweUE2/i88LkbqVv+5RoGjfJ9WNYOkaE4kmygUpHzRVSH2q5Uxi7BumDYddTVML961t0n1Gk6qjo+LISVvMCfqKoGpBJ2feT5QtoiPjqD9oL4heFmuVRGD/X07Lz9zoJ6jGoTwXIA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[U85lks](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/tsWULTY8RAM8InuYKL68WcYdplqJmKcn>

