

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“COMPARACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN HIGO
(*Ficus carica*) FRESCO Y SOMETIDO A ALTAS PRESIONES”**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

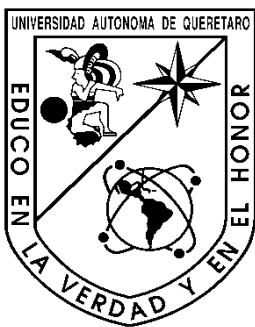
PRESENTA

CAROLINA ABARCA SÁNCHEZ

DIRIGIDA POR

Dra. MA. GUADALUPE FLAVIA LOARCA PIÑA

Santiago de Querétaro, Querétaro, 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“COMPARACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN HIGO
(*Ficus carica*) FRESCO Y SOMETIDO A ALTAS PRESIONES”**

TESIS

PARA OBTENER EL TITULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

CAROLINA ABARCA SÁNCHEZ

DIRIGIDA POR

Dra. MA. GUADALUPE FLAVIA LOARCA PIÑA

SINODALES

Dra. MA. GUADALUPE FLAVIA LOARCA PIÑA
DIRECTOR

Dra. SANDRA O. MENDOZA DÍAZ
SINODAL

Dr. MAMADOU MOUSTAPHA BAH
SINODAL

M. en C. ALMA ROSA LAZCANO PERALTA
SINODAL

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría que estas palabras sirvieran para expresar toda mi gratitud, para aquellas personas que de una forma u otra me ayudaron a cumplir con esta meta en mi vida. Primero que nada, gracias a la Dra. Flavia Loarca, directora de esta investigación, por permitirme ser parte de su equipo de trabajo y confiarme este proyecto, además por su orientación y la disposición de atender siempre mis dudas e inquietudes, agradezco también a la M. en C. Alma Lazcano, no solo por transmitirme sus conocimientos sino también por el tiempo que me dedicó, ya que fue una pieza clave para este trabajo, al Dr. Moustapha y a la Dra. Sandra Mendoza por ser unos excelentes maestros, pues son de los pocos académicos que realmente muestran un interés verdadero, y es por maestros como ustedes que realmente hay estudiantes.

Quiero agradecer y dedicar no solo este trabajo, sino toda mi carrera a los dos pilares de mi vida, a mis padres, por su eterno amor y confianza, porque esto es por y para ustedes, les agradezco enormemente lo que han hecho por mí, ya que el éxito de HOY es el resultado de 23 años. Muchas gracias los amo.

Además gracias a mis hermanos, Oly aunque no hayas pasado tanto tiempo conmigo los últimos años, sé que cuento con contigo y no necesito otra cosa, a Jesús, bueno tú te has llevado la peor parte, pero gracias por estar conmigo este tiempo y darme ánimos siempre.

También quiero agradecerle a Raúl, porque me ha acompañado por un largo camino, y ha estado siempre que lo he necesitado.

Quiero hacer un súper agradecimiento a Sharon, porque ha sido una excelente amiga y compañera, porque a veces el laboratorio fue tormentoso, pero tú lo hiciste más llevadero, me ayudaste muchísimo y esto no hubiera sido posible sin ti.

Finalmente gracias a todos mis amigos, porque durante estos años ustedes han sido mi segunda familia, los quiero mucho y todos los recuerdos que me llevo son un tesoro que guardare toda la vida.

Gracias a TODOS!!!

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|-----|
| ÍNDICE GENERAL | i |
| ÍNDICE DE CUADROS | iii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | iv |
| RESUMEN | |
| | |
| 1. ANTECEDENTES | 1 |
| 1.1. Herbolaria | 1 |
| 1.2. Higo (<i>Ficus carica</i>) | 4 |
| 1.2.1. Generalidades | 4 |
| 1.2.2. Composición química del higo | 6 |
| 1.2.3. El higo (<i>Ficus carica</i>) como alimento nutracéutico | 6 |
| 1.2.4. Propiedades farmacológicas del higo (<i>Ficus carica</i>) | 8 |
| 1.2.5. Compuestos fenólicos en <i>Ficus carica</i> | 10 |
| 1.3. Compuestos fenólicos | 11 |
| 1.4. Capacidad antioxidante | 15 |
| 1.5. Fibra dietaria | 16 |
| 1.6. Altas presiones hidrostáticas | 18 |
| 2. HIPÓTESIS | 21 |
| 3. OBJETIVOS | 21 |
| 3.1. Objetivo general | 21 |
| 3.2. Objetivos específicos | 21 |
| 4. METODOLOGÍA | 22 |
| 4.1. Materiales | 22 |
| 4.1.1. Compuestos químicos | 22 |
| 4.1.2. Material biológico | 22 |
| 4.2. Métodos | 22 |
| 4.2.1. Extracción y cuantificación de compuestos fenólicos en higo. | 22 |
| 4.2.1.1. Extracto metanólico | 22 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4.2.1.2. | Cuantificación de antocianinas | 22 |
| 4.2.1.2.1. | Extracto metanólico acidificado | 22 |
| 4.2.1.2.2. | Cuantificación antocianinas | 23 |
| 4.2.1.3. | Cuantificación de Flavonoides totales | 23 |
| 4.2.1.4. | Cuantificación de Fenoles Totales | 24 |
| 4.2.2. | Capacidad antioxidante | 24 |
| 4.2.2.1. | Ensayo del 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) | 24 |
| 4.2.2.2. | Ensayo del Ácido 3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico (ABTS) | 25 |
| 4.2.2.3. | Ensayo para la evaluación del poder reductor de hierro (FRAP) | 25 |
| 4.2.3. | Fibra total | 26 |
| 4.2.3.1. | Fibra insoluble | 26 |
| 4.2.3.2. | Fibra soluble | 26 |
| 4.2.3.3. | Análisis estadístico | 26 |
| 5. | RESULTADOS | 27 |
| 5.1. | Contenido de compuestos fenólicos en higo (<i>Ficus carica</i>). | 27 |
| 5.2. | Capacidad antioxidante de extractos metanólicos de higo. | 31 |
| | T1= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 20°C). T2= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 40°C). | 33 |
| 5.3. | Fibra dietaria total | 35 |
| 6. | DISCUSIONES | 37 |
| 6.1. | Contenido de compuestos fenólicos de higo (<i>Ficus carica</i>). | 37 |
| 6.2. | Capacidad antioxidante | 43 |
| 6.3. | Fibra total | 47 |
| 7. | CONCLUSIONES | 49 |
| 8. | REFERENCIAS | 50 |
| | ANEXOS | 56 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | Pagina |
|--|--------|
| 1. Compuestos bioactivos agrupados según, mecanismo de acción y naturaleza química. | 3 |
| 2. Taxonomía de la especie: <i>Ficus carica</i> | 4 |
| 3. Composición química de la planta de higo (<i>Ficus carica</i>) | 7 |
| 4. Partes sustituidas de algunas antocianinas | 14 |
| 5. Contenido de compuestos fenólicos en higo (<i>Ficus carica</i>) fresco y sometido a altas presiones hidrostáticas. | 27 |
| 6. Comparación del efecto de la temperatura sobre el contenido de compuestos fenólicos en higo (<i>Ficus carica</i>) fresco y sometido a altas presiones. | 29 |
| 7. Capacidad Antioxidante del extracto metanólico de higo (<i>Ficus carica</i>) fresco y sometido a altas presiones. | 31 |
| 8. Comparación del efecto de la temperatura sobre la Capacidad Antioxidante del extracto metanólico de higo (<i>Ficus carica</i>) fresco y sometido a altas presiones. | 33 |
| 9. Contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble de higo (<i>Ficus carica</i>) fresco y sometido a altas presiones. | 35 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Pagina |
|--|--------|
| 1. Árbol de higo (<i>Ficus carica</i>) | 5 |
| 2. Estructura química de los principales grupos de los ácidos fenólicos | 12 |
| 3. Estructura básica de los flavonoides | 13 |
| 4. Estructura general de las antocianinas | 14 |
| 5. Contenido de compuestos fenólicos en higo (<i>Ficus carica</i>) fresco y sometido a altas presiones hidrostáticas. | 28 |
| 6. Comparación del efecto de la temperatura sobre el contenido de compuestos fenólicos en higo (<i>Ficus carica</i>) fresco y sometido a altas presiones. | 30 |
| 7. Capacidad Antioxidante del extracto metanólico de higo (<i>Ficus carica</i>) fresco y sometido a altas presiones. | 32 |
| 8. Comparación del efecto de la temperatura sobre la Capacidad Antioxidante del extracto metanólico de higo (<i>Ficus carica</i>) fresco y sometido a altas presiones. | 34 |
| 9. Contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble de higo (<i>Ficus carica</i>) fresco y sometido a altas presiones. | 36 |

RESUMEN

Actualmente se sabe que la ingesta de una dieta rica en frutas, verduras, leguminosas y cereales trae altos beneficios sobre la salud, lo cual se ve reflejado en la disminución de contraer enfermedades cardiovasculares y crónico-degenerativas, entre las que se encuentra el sobrepeso, la obesidad, la diabetes mellitus y el cáncer. Estas propiedades benéficas se atribuyen a los fitoquímicos presentes en los alimentos. Actualmente los investigadores han concentrado su atención en los productos vegetales, con el fin de conocer los compuestos bioactivos presentes en ellos. La información obtenida puede ser utilizada para el desarrollo de productos alimentarios con un mayor valor nutritivo o al aislar los compuestos bioactivos que pueden usarse en el desarrollo de alimentos funcionales y/o de nuevos fármacos para el tratamiento de enfermedades. El Higo (*Ficus carica*) es uno de los productos vegetales que contienen una alta concentración de compuestos fenólicos, como las antocianinas, los cuales está demostrado tienen un alto poder antioxidante; sin embargo es un fruto con corta vida útil. Por lo que el objetivo de este trabajo es comparar los compuestos bioactivos presentes en higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.

1. ANTECEDENTES

1.1. Herbolaria

La historia de la medicina a base de plantas es tan antigua como la civilización humana (Ali y Chaudhary, 2011). Los extractos de plantas han sido utilizados como remedios populares contra varios trastornos de la salud (Kumar y col., 2012). Es por ello que en los últimos años se ha incrementado considerablemente el consumo de frutas y hortalizas. Éstas son altamente apreciadas por su potencial nutracéutico y en algunos casos terapéutico, lo cual es atribuido a sus componentes, conocidos como fitoquímicos (compuestos bioactivos), con propiedades como la capacidad antioxidante (Aguilera y col., 2008 y Drago y col., 2006). El consumo de frutas y hortalizas ha sido asociado con una menor incidencia de enfermedades crónico-degenerativas como la obesidad, la diabetes, el cáncer y enfermedades cardiovasculares que generalmente son asociadas con un estado de oxidación. La acción benéfica de frutas y hortalizas se relaciona principalmente con el potencial antioxidante que contienen generalmente compuestos como el ácido ascórbico, carotenoides y compuestos polifenólicos (Aguilera y col., 2008). La dieta mediterránea rica en frutas y vegetales frescos ha sido asociada con una baja incidencia de enfermedades cardiovasculares y cáncer particularmente, debido a que estos productos contienen altas proporciones de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante; por esta razón el incremento en el consumo de antioxidantes ha sido relacionado con una mejora en la salud (Aguilera y col., 2008). Por ello, existe un creciente interés en todo el mundo en la adopción y el estudio del sistema tradicional de medicina y en la explotación de su potencial, mediante la evaluación de plantas con actividad terapéutica, que se lleva a cabo en base a su morfología, fitoquímica, farmacología y varias técnicas instrumentales (Ali y Chaudhary, 2011).

Estudios recientes apoyan la teoría de que algunos alimentos de la dieta modulan varias funciones del cuerpo, las cuales son importantes para la salud, estos alimentos se conocen como nutraceuticos, los que además de sus funciones nutrimentales básicas, presentan beneficios fisiológicos específicos o disminuyen el riesgo de contraer enfermedades crónicas debido a la presencia de compuestos fitoquímicos. Estos compuestos que se encuentran presentes en numerosos alimentos como frutas y leguminosas (Cummings y col, 1996; Willett, 2002) no están involucrados en la actividad normal del metabolismo, pero se consideran promotores de la salud, debido a que funcionan como auxiliares en la prevención de enfermedades (Liu, 2003).

Entre los fitoquímicos más estudiados se encuentran la fibra, compuestos fenólicos (proantocianidinas, isoflavonas, antocianinas, ácidos fenólicos), tocoferoles, calcio, clorofila, tiocianatos, inhibidores de proteasas, entre otros (Stavric, 1994). Pese a que estos compuestos no se consideran nutrientes esenciales, los ácidos fenólicos y polifenoles han demostrado bioactividad, por ejemplo, actividades antioxidante, antiproliferativa, antiinflamatoria y detoxificante (Bravo, 1998), ya que su consumo supone una protección adicional contra la acción nociva de algunas sustancias provenientes de la dieta o del entorno que afectan la salud de la población (Lutz y León, 2009).

Estos compuestos bioactivos pueden clasificarse en 3 grupos, dependiendo de su fuente de origen, del mecanismo de acción por el cual ejerce sus propiedades farmacológicas y de su naturaleza química, la cual se establece en base a la estructura; sin embargo estos grupos no son excluyentes entre sí, ya que un compuesto puede estar clasificado en un subgrupo o en más de un grupo (Cuadro 1).

La búsqueda y caracterización de compuestos bioactivos a partir de productos nutraceuticos así como la investigación de sus propiedades farmacológicas son de crucial importancia en la industria farmacéutica para el desarrollo racional de fármacos inocuos y efectivos para el tratamiento y/o prevención de diversas enfermedades (Drago y col., 2006 y Kumar y col., 2012).

Cuadro 1. Compuestos bioactivos agrupados según su origen, mecanismo de acción y naturaleza química.

| Compuesto | Origen | Mecanismo de acción | Nat. Química |
|---------------------------|---|---|------------------|
| Lycopeno | Vegetal (tomate) | Antioxidante | Isoprenoide |
| β -Glucano | Vegetal (salvado de avena) | Hipolipemiente | Oligosacárido |
| Antocianinas | Vegetal (uvas, vino, frijol...) | Anticancerígeno Antinflamatorio | Fenoles |
| Taninos | Vegetal (leguminosas) | Antioxidante Hipolipemiente | Fenoles |
| Ácido elágico | Vegetal (uvas, fresas, nueces, frambuesas...) | Anticancerígeno Antioxidante | Fenoles |
| Ácido eicosapentanoico | Animal (aceite de pescado) | Antinflamatorio | Ácidos grasos |
| Calcio | Animal/vegetal (leche y derivados, espinacas, arroz...) | Osteogénico Protección de huesos | Mineral |
| Ácido linolénico | Animal (res y lácteos) | Osteogénico Protección de huesos Antioxidante | Ácidos grasos |
| Resveratrol | Vegetal (uvas, vino tinto) | Hipolipemiente | Fenoles |

(Wildman, 2001)

1.2. Higo (*Ficus carica*)

1.2.1. Generalidades

El higo se ha reconocido como un alimento nutraceutico. Su nombre científico es *Ficus carica*, su taxonomía se presenta en el Cuadro 2. Este fruto pertenece al género *Ficus* que es un género pantropical excepcionalmente grande, con más de 700 especies y pertenece a la familia Moraceae (Ali y Chaudhary, 2011). Las especies más comunes de *Ficus* son *F. bengalensis*, *F. elastica*, *F. racemosa* y *Ficus carica* que generalmente se conoce como "higuera común" (Baby y Raj, 2011).

Cuadro 2. Taxonomía de la especie *Ficus carica*

| | | |
|-------------------------|---------------------|-------------------|
| Reino: Plantae | Clase: Magnolipsida | Familia: Moraceae |
| División: Magnoliophyta | Orden: Rosales | Género: Ficus |

Baby y Raj, 2011.

La higuera (*Ficus carica* L.) tiene frutos comestibles de valor comercial muy nutritivo (Marrelli y col., 2012). Es una de las especies de plantas más viejas en China (Chunyan y col., 2009). En la actualidad, se encuentra ampliamente distribuida en Corea del Sur (Young y col., 2009). Se cultiva en la región del Mediterráneo, desde Turquía, el este de España y el oeste de Portugal, al igual que en algunas partes de Estados Unidos y, en menor grado, en la India y Japón (Marrelli y col., 2012). Cabe mencionar que el higo crece mejor y se obtienen frutos de mayor calidad bajo un clima templado (Ercisli y col., 2012).

Según la SAGARPA, en 2011 en México se produjeron 3,333.73 toneladas (t) de higo, producción que tuvo un valor (miles de pesos) de \$24,799.57. Los principales estados del país donde se cultiva el higo son Morelos (2,391 t), Hidalgo (421 t), Veracruz (280 t), el DF (118 t) y en menor proporción los estados de Sinaloa, SLP, Puebla, Durango y BCS.

La higuera es un árbol caducifolio de tamaño pequeño o moderado, de 15 a 30 ft de altura con hojas ovales casi orbiculares, rugoso-pubescentes acorazonadas y pueden presentar de 3 a 5 lóbulos (Marrelli y col., 2012). El fruto es un sicono blando ovoide o elipsoide, carnosos, recubierto con una piel muy fina, en el interior contiene una masa de semillas inmersa en una carne gelatinosa, es de color azulado o verde, negro o morado, mide de 3 a 10 cm de largo y tiene sabor dulce, mucilaginoso (Baby y Raj, 2011). Todas estas características pueden ser apreciadas en la Figura 1.



Figura 1. Árbol de higo (*Ficus carica*)

Sus frutos son deliciosos y pueden ser consumidos por los humanos (Chunyan y col., 2009), las hojas de esta planta se han utilizado como medicina popular en Corea y en China, dado que contienen terpenoides, saponinas y flavonoides (Young y col., 2009). En la medicina tradicional China, los higos son recomendados para mejorar el apetito, el tratamiento de diarreas, así como para hacer gárgaras para el dolor de garganta (Yang y col., 2009). Todas las especies de *Ficus* poseen látex dentro de sus vasculaturas. El látex se compone de un líquido citoplasmático de los tejidos laticíferos que contienen habitualmente los orgánulos de las células vegetales. Este material contiene diversos metabolitos secundarios como terpenoides, compuestos fenólicos y proteínas, por lo que tiene un amplio uso en la medicina tradicional para el tratamiento de la gota, úlceras y verrugas debido a sus efectos proteolíticos y queratinolíticos (Oliveira y col., 2010).

Las concentraciones de los compuestos antes mencionados en los tejidos vegetales son fuertemente dependientes del genotipo (Ercisli y col., 2012) y varían dependiendo de la parte de la planta y la temporada de cultivo. Por lo tanto, la determinación del momento óptimo de cosecha es importante para maximizar el contenido de compuestos activos y evaluar la viabilidad de este cultivo como una planta potencialmente medicinal (Marrelli y col., 2012).

1.2.2. Composición química del higo

Varias partes de la planta como la corteza, hojas, brotes tiernos, frutas, semillas y el látex son medicinalmente importantes debido a la presencia de múltiples compuestos bioactivos (Baby y Raj, 2011), como los que se muestran en el Cuadro 3.

El higo constituye una parte importante de la dieta mediterránea, ya sea fresco o seco (Ercisli y col., 2012); ya que además de contener compuestos fenólicos, los higos son especialmente ricos en fibra, aminoácidos (alanina, aspartina, arginina, cistina, glicina, lisina, lipasa, felinanina) enzimas (esterasa, ficina, fucomarina), azúcares (glucosa, galactosa), vitaminas (β -caroteno, ácido ascórbico), niacina, ácido málico, ácido oleico, pectina y minerales (potasio, fósforo, magnesio, manganeso, cobre, calcio, etc) (Mena, 2005). Algunos otros compuestos bioactivos que se tienen bien identificados son arabinosa, β -amirina, β -carotenoides, glucósidos, β -sitosterol y xantotoxina (Baby y Raj, 2011).

1.2.3. El higo (*Ficus carica*) como alimento nutracéutico

Algunos de los compuestos químicos presentes en este fruto, son productos del metabolismo primario; tal es el caso de los aminoácidos, carbohidratos y proteínas, los cuales son vitales para el mantenimiento de los procesos de la vida. Otros como los alcaloides, compuestos fenólicos, esteroides, terpenoides, son productos del metabolismo secundario y tienen una importancia ecológica, toxicológica y farmacológica (Marrelli y col., 2012). Estudios epidemiológicos han sugerido una asociación positiva entre el consumo de cultivos hortícolas ricos en antioxidantes y la prevención de diversas enfermedades (Aguilera y col., 2008 y Ercisli y col., 2012).

Cuadro No. 3 Composición química de la planta de higo (*Ficus carica*)

| | |
|----------|---|
| Fruto | <p>Humedad 77.5-86.8%, Proteínas 1.2-1.3g/100g, fibra 1.2-2.2g/100g. Azúcares totales 50.63-73.07 g/kg (azúcares dominantes: fructosa 52% y glucosa 46%), ácidos orgánicos 22.14-35.34 g/kg (ácido málico 0.52-0.76 g/kg, ácido cítrico 1.36-1.83 g/kg). Compuestos fenólicos totales 74.9 mg GAE/kg (ácido clorogénico, catequina, epicatequina, kaempferol-3-O-glucósido, luteolina-8-C-glucósido, rutina, quercetina-3-O-glucósido y cianidina-3-O-rutinósido). Vitamina A 20-270 UI, tiamina 0.034-0.06 mg/100g, riboflavina 0.053-0.079 mg/100g y niacina 0.32-0.41 mg/100g.</p> |
| Tallo | <p>Campesterol, hentriacontanol, estigmasterol, euphorbol y taraxerone.</p> |
| Hojas | <p>Humedad 67.6%, 4.3% de proteínas, grasa 1.7%, fibra bruta 4.7%, cenizas 5.3%, extracto libre 16,4% 3.6%, pentosanos, caroteno, bergapteno, estigmasterol, sitosterol, y tirosina. Ficusin, taraxasterol, betasitosterol, rutina, sapogenina, acetato de Calotropenyl, lepeol acetate y ácido oleanólico.</p> |
| Látex | <p>Caucho (2.4%), resina, albúmina, azúcar, ácido málico, renina y enzimas proteolíticas (diastasas, esterases, lipasas, catalasas y peroxidasas).</p> |
| Semillas | <p>Las semillas secas contienen un 30% de un aceite fijo que contiene los ácidos grasos: oleico 18.99%, linoleico 33.72%, linolénico 32.95%, palmítico 5.23%, esteárico 2.18%; araquídico 1.05%.</p> |

Morton, 1987; Baby y Raj, 2011 y Slatnar y col., 2011.

Se ha demostrado que la variedad de las higueras y sus genotipos influyen considerablemente en la capacidad antioxidante total y en aspectos fisicoquímicos, como el color, materia seca, pH, sólidos solubles totales, azúcares, fibras, ácidos y antocianinas (Ercisli y col., 2012). Otro estudio demuestra que la capacidad antioxidante de los higos frescos se correlaciona bien con la cantidad de polifenoles y antocianinas, así como la capacidad antioxidante de las hojas de la higuera determinada por métodos espectrofotométricos presenta una relación con la concentración de fenoles totales y el contenido de flavonoides (Yang y col., 2009).

Otros factores que afectan el contenido de fitoquímicos en el material vegetal son la etapa fenológica, las condiciones eco-fisiológicas y las técnicas de cultivo. Para las frutas en especial, el estado fenológico es un factor muy importante, ya que durante el crecimiento y maduración, ocurre una serie de modificaciones bioquímicas, fisiológicas y estructurales que determinan su calidad compositiva y tiene gran importancia desde los puntos de vista de la dieta, nutricionales y biológicos (Marrelli y col., 2012). Estos parámetros pueden proporcionar información importante para los consumidores en el reconocimiento de un fruto más nutritivo (Ercisli y col., 2012).

Varios efectos terapéuticos de este fruto ya han sido demostrados, como su efecto hipoglucemiante, supresor del cáncer, antihelmíntico, hipolemiante (Rassouli y col., 2010), antioxidante, antiviral y antibacteriano (Baby y Raj, 2011).

1.2.4. Propiedades farmacológicas del higo (*Ficus carica*)

Actividad hepatoprotectora

Se encontraron cambios significativos a nivel bioquímico y funcional en ratas que fueron tratadas con extracto de éter de petróleo luego de inducirles daño hepático con rifampicina. A nivel histológico, el estudio mostró una recuperación de las células dañadas del hígado. Los resultados sugieren que el extracto etéreo de *Ficus carica* presenta una actividad hepatoprotectora prometedora (Gond y Khadabadi, 2008).

Actividad hipoglucemiante

La administración oral o intraperitoneal de un extracto acuoso de hojas de higo provoca un efecto hipoglucémico significativo en ratas luego de inducirles diabetes con estreptozotocina. La pérdida de peso de las ratas diabéticas tratadas fue prevenida y el índice de supervivencia fue significativamente alterado por los niveles de insulina en plasma. Los resultados sugieren que el extracto acuoso de higo (*Ficus carica*) tiene una clara actividad hipoglucemiante y revierte el peso (Baby y Raj, 2011).

Actividad hipolipidémica

La caracterización química del extracto de higo (*Ficus carica*) revela que éste presenta un nivel moderado de flavonoides y un alto contenido de taninos (Rassouli y col., 2010), y a éstos últimos se les han atribuido efectos hipolipidémicos (Park y col., 2002). Rassouli y col. (2010), reportaron que los extractos de las hojas de la higuera reducen los niveles de colesterol en el hígado y el suero en ratas con hiperlipidemia inducida.

Actividad anticarcinogénica

Algunos compuestos bioactivos como el 6-O-acil- β -D-glucosil- β -sitosterol han sido aislados como potentes agentes citotóxicos del higo (*Ficus carica*). Estos compuestos naturales han mostrado efectos inhibitorios sobre la proliferación celular de diversas líneas celulares de cáncer, mediante estudios *in vitro* (Baby y Raj, 2011).

Actividad antibacteriana

A partir de hojas de higo (*Ficus carica*) se obtuvo un extracto metanólico con rendimientos de 0.156 a 0.625 mg/ml, el cual mostró una fuerte actividad contra bacterias orales (*S. gordonii*, *S. anginosus*, *P. intermedia*, *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans*). El efecto de la combinación del extracto con ampicilina y gentamicina fue sinérgico contra las mismas bacterias, lo que sugiere que este extracto posee un agente antibacteriano natural (Jeong y col., 2009).

Actividad antioxidante

Ercisli y col. (2012), con el fin de promover al higo como un fruto nutritivo benéfico para la salud, evaluó los constituyentes químicos de 6 variedades comerciales de higo que difieren en el color (negro, rojo, amarillo y verde). En dicho estudio se determinaron fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidante y perfil de antocianinas. La fracción de antocianinas de la variedad de color oscuro contribuyó con un 36% a la capacidad antioxidante; las antocianinas de la variedad de color rojo contribuyeron con un 28%. Las distintas variedades contenían niveles altos de polifenoles, flavonoides y antocianinas los cuales influyen fuertemente en la capacidad antioxidante del fruto.

1.2.5. Compuestos fenólicos en *Ficus carica*

Se realizaron algunos estudios para evaluar la relación entre el color y las características antioxidantes de algunos genotipos de higo fresco (*Ficus carica*), encontrando que el contenido de fenoles totales de los diferentes genotipos van de 24 a 224 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de peso fresco. El contenido de fenoles totales en los genotipos de piel color negro, morado oscuro y morado fue mayor que en los genotipos de piel de color verde amarillento, verde claro y morado claro. El contenido de fenoles y la composición química de frutas y vegetales dependen de factores genéticos y ambientales así como las condiciones de procesamiento después de la cosecha (Ercisli y col., 2012). Mientras que el contenido de antocianinas varía desde 0 a 299 µg equivalentes de cianidina-3-rutinósido/g de peso fresco. La concentración de estos compuestos es fuertemente influenciada por el genotipo del fruto, pues los higos de piel más oscura son una buena fuente de antocianinas (Solomon y col., 2006; Duenas y col., 2008).

Slatnar y col. (2011), encontraron que la concentración de flavonoides en higo (*Ficus carica*) expresada como mg equivalentes de rutina, se encuentra entre 0.61 y 1.86 mg/100 g de peso fresco.

Por otro lado, Yang y col. (2009), determinaron que la concentración de flavonoides expresados como mg equivalentes de catequina es de 1.84 mg/g de peso seco.

La capacidad antioxidante también es dependiente del genotipo del fruto; ésta puede variar desde 36 hasta 623 μmol equivalente de Trolox/100 g de peso fresco (ensayo de TEAC), o de 4.6 a 18.7 mmol de Fe^{2+} /kg de peso fresco en el método de FRAP. Existe una correlación significativa entre el contenido de fenoles totales y antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto; ésta varía de acuerdo a la etapa de maduración. Ésta característica que es un parámetro importante desde un punto de vista nutritivo porque las higueras son comestibles en su etapa madura y es evidente que son una fuente valiosa de algunos compuestos biológicamente activos, incluyendo antioxidantes (Ercisli y col., 2012).

1.3. Compuestos fenólicos

Son un grupo de micronutrientes que se encuentran en productos vegetales. Son considerados metabolitos secundarios con diferentes estructuras químicas y diversas actividades (Martínez y col., 2000). Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, al cual se unen uno o más sustituyentes hidroxilo, incluyendo sus derivados funcionales (ésteres, metilésteres, glucósidos, etc.) (Bravo, 1998). La estructura de estos compuestos varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados; tal es el caso de los taninos. (Martínez y col., 2000). Estos compuestos son en su mayoría son potentes antioxidantes debido a su estructura química, ya que son excelentes donadores de protones o electrones (García, 2005).

Los compuestos fenólicos se pueden agrupar en diferentes clases, dependiendo de su estructura química básica. Algunos de los compuestos fenólicos de interés nutricional son:

Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos fenilacéticos

Dentro de este grupo los fenoles simples como el fenol, cresol, timol y resorcinol están ampliamente distribuidos entre todas las especies vegetales (Martínez y col., 2000). Los ácidos fenólicos se pueden diferenciar en dos grupos principales: los ácidos benzoicos y ácidos cinámicos (Figura 2). Los ácidos benzoicos o derivados del ácido hidroxibenzoico tienen una estructura básica C₆-C₁; los principales son el ácido gálico, salicílico, *p*-hidroxibenzoico, y vanílico. En general se presentan de forma conjugada, aunque pueden estar en forma libre en algunas frutas o tras su liberación como consecuencia del procesado. Los ácidos cinámicos o derivados del ácido hidroxicinámico, están ampliamente distribuidos como conjugados en los vegetales, siendo los más comunes los ácidos cafeico, ferúlico, sinápico y *p*-cumárico (Manach y col., 2004).

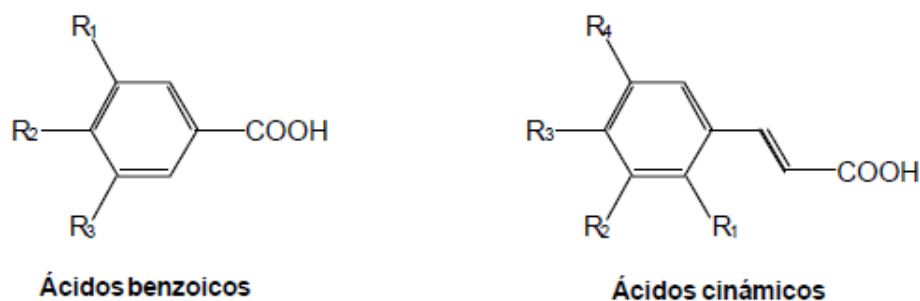


Figura 2. Estructura química de los principales grupos de los ácidos fenólicos (Manach y col., 2004).

Flavonoides

Los flavonoides constituyen un grupo muy grande e importante de compuestos fenólicos y se dividen en varias subclases. Son sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenilpiranos: dos anillos benceno (A y B) unidos a través de un anillo pirona o pirano heterocíclico (C); esta estructura puede apreciarse en la Figura 3 (Manach y col., 2004); esta estructura básica (flaván) presenta o permite una multitud de sustituciones y variaciones en el anillo pirona (Martínez y col., 2000).

La presencia o ausencia de un grupo hidroxilo unido a la posición 3 determina la subdivisión en las dos clases principales de flavonoides; los 3-hidroxi flavonoides (flavanoles, flavonoles, flavanones, flavan-3-4-dioles, antocianidinas, proantocianidinas o taninos condensados) y los flavonoides no hidroxilados en posición 3 (flavonas, isoflavonas, flavanonas) (Martinez y col., 2000; Manach y col., 2004).

La mayoría de los tejidos de la planta pueden sintetizar flavonoides, los cuales se presentan en forma de glicósidos solubles en agua. Las agliconas de los flavonoles y flavonas no se encuentran en el vegetal fresco pero pueden presentarse como consecuencia del procesado. Los azúcares predominantemente se unen al núcleo del flavonoide mediante un enlace β -glicosídico, preferentemente en posición 3, aunque estas uniones se pueden dar en otras posiciones. Los azúcares más comunes son glucosa, galactosa, ramnosa, arabinosa, xilosa y ácido glucurónico (Manach y col., 2004).

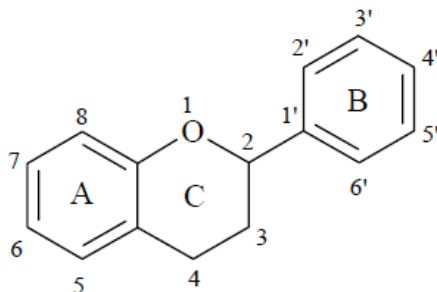


Figura 3 Estructura básica de los flavonoides (Manach y col., 2004).

Antocianinas

Las antocianinas son compuestos fenólicos del grupo de los flavonoides. Constituyen una gran familia de polifenoles en plantas y son responsables de los colores para muchas frutas y flores presentes en la naturaleza (Aguilera y col., 2009). Estos colores pueden ser naranja, azul, rojo, violeta y púrpura (Andersen, 2000). Se encuentran típicamente en frutas tales como arándanos, fresas y uvas.

Investigaciones recientes se han enfocado a los beneficios en la salud de estos pigmentos, especialmente a su actividad antioxidante (Aguilera y col., 2009).

La literatura científica ha reportado que las antocianinas y los extractos de plantas ricos en antocianinas pueden proveer diversos beneficios a la salud, incluyendo protección de DNA, actividad anti-inflamatoria, actividad anticancerígena, actividad antioxidante, actividad antidiabética y prevención de enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Aguilera y col., 2009).

La estructura general de las antocianinas se basa en una estructura aromática, la cianídina (Figura 4). Las antocianinas presentan diferentes sustituyentes (Cuadro 4), que se dan por adición o sustracción de grupos hidroxilo por metilación o glicosidación, dando una amplia variedad de colores (Velez y col., 2008).

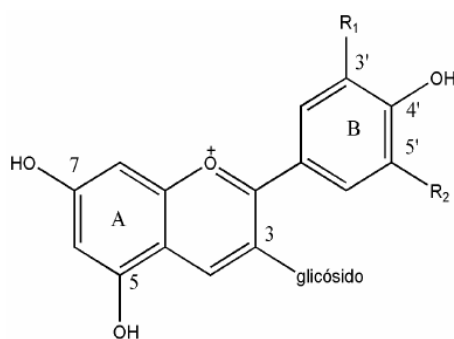


Figura 4. Estructura general de las antocianinas (Wang y col., 1997).

Cuadro 4. Partes sustituidas de algunas antocianinas.

| Aglicona | 3 | 5 | 7 | 3' | 4' | 5' |
|---------------|----|----|----|------------------|----|------------------|
| Delfinidina | OH | OH | OH | OH | OH | OH |
| Cianidina | OH | OH | OH | OH | OH | H |
| Peralgonidina | OH | OH | OH | H | OH | H |
| Malvidina | OH | OH | OH | OCH ₃ | OH | OCH ₃ |
| Peonidina | OH | OH | OH | OCH ₃ | OH | H |

Wang y col., 1997

Las antocianinas se encuentran frecuentemente esterificadas con azúcares en el carbono 3; aunque pueden llegar a encontrarse estructuras más complicadas en las que el azúcar está acilada o se encuentra en un carbono diferente del C3 (García, 2005).

A los compuestos fenólicos se les atribuyen efectos biológicos, los cuales se deben a su estructura, siendo sus principales propiedades la formación de complejos con proteínas, la formación de quelatos con iones metálicos y la capacidad para eliminar radicales libres (capacidad antioxidante), efectos sobre el metabolismo glucídico, lipídico y mineral, efectos sobre la fluidez de la membrana, efecto antiinflamatorio y antihistamínico, efecto cardioprotector, efecto antimicrobiano y efecto antimutagénico (García, 2005).

Los antioxidantes son compuestos que neutralizan los productos químicamente activos del metabolismo. Tal es el caso de los radicales libres, los cuales inducen graves daños celulares (Ercisli y col., 2012). Los radicales libres endógenos y exógenos pueden causar daño oxidativo a biomoléculas diferentes, por ejemplo lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Marrelli y col., 2012).

1.4. Capacidad antioxidante

Los seres vivos producen regularmente un determinado número de especies oxigenadas altamente reactivas como O_2^- , $^{\cdot}OH$, NO^{\cdot} , radicales libres alquilo y peróxidos. Estas especies reactivas causan daños a los lípidos, las proteínas y el DNA. El cuerpo humano posee una amplia colección de defensas fisiológicas antioxidantes que eliminan radicales libres y quelan metales. El consumo en la dieta de polifenoles, junto a otros antioxidantes naturales también contribuyen a esas defensas (García, 2005). La principal fuente de antioxidantes naturales son los compuestos fenólicos que pueden encontrarse en plantas o partes de éstas, como los frutos, verduras, nueces, semillas, hojas, raíces y cortezas. Debido a su potente actividad antioxidante, los fenoles y polifenoles de las plantas juegan un papel importante en la prevención de varias condiciones patológicas (Ercisli y col., 2012).

La capacidad antioxidante es uno de los más importantes mecanismos de prevención o retraso del inicio de la mayoría de enfermedades cardiovasculares y crónicas degenerativas, las cuales se asocian al estrés oxidativo. Se cree que los antioxidantes ejercen su efecto bloqueando procesos oxidativos y radicales libres (Martínez y col., 2000).

Para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante debe cumplir dos condiciones básicas. La primera es que cuando se encuentre en una baja concentración con relación al sustrato que va a ser oxidado pueda retrasar, ralentizar o prevenir la oxidación mediada por un radical libre. La segunda es que el radical formado tras el secuestro sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores.

Es necesario tener en cuenta que las determinaciones de capacidad antioxidante realizadas *in vitro* solamente dan una idea aproximada de lo que puede ocurrir en situaciones complejas *in vivo*. No obstante, la capacidad antioxidante de una mezcla no viene dada por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes, sino que también depende del microambiente en el cual se encuentra el compuesto. Los compuestos interactúan entre sí, pudiendo producirse efectos sinérgicos o inhibitorios (García, 2005).

1.5. Fibra dietaria

American Association of Cereal Chemists (2001) definió a la fibra dietética como la parte comestible de las plantas e hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión (hidrólisis por enzimas digestivas) y absorción en el intestino delgado humano con fermentación parcial o total en el colon. Incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias vegetales asociadas. La fibra dietética promueve efectos fisiológicos benéficos como efectos laxantes, disminución de la colesterolemia y/o de la glucemia.

Tradicionalmente, la fibra dietética se ha clasificado en fibra soluble e insoluble. Esta clasificación se basa en la solubilidad de las sustancias que componen la fibra dietética en una solución tampón a pH determinado.

Según esta solubilidad, se ha extrapolado su posible fermentación por la flora colónica: soluble sería igual a fermentable, e insoluble igual a no fermentable (Mateu, 2004).

La fibra soluble es viscosa y fermentable casi en su totalidad, por acción de la flora bacteriana para producir ácidos grasos volátiles, por el contrario la fibra insoluble no es viscosa y es escasamente fermentable, pues la flora bacteriana solo es capaz de fermentar una fracción y lo demás es excretado por las heces (Park y Floch, 2007). La fibra soluble al estar en contacto con el agua forma un retículo donde es atrapada, originando soluciones de gran viscosidad, esta es responsable de las acciones de la fibra sobre el metabolismo lipídico, hidrocarbonado y en parte de su potencial anticarcinogénico. La fibra insoluble es capaz de retener agua en su matriz estructural; esto produce un aumento en la masa fecal que acelera el tránsito intestinal; contribuyendo en la disminución de la concentración y el tiempo de contacto de potenciales carcinogénicos en la mucosa del colón (Escudero y González, 2006).

La fibra dietaria, especialmente la soluble, disminuye efectivamente el colesterol sérico y las concentraciones de LDL, lo que contribuye a su papel contra enfermedades coronarias (Anderson y col., 1995). Además existen datos experimentales que indican los efectos benéficos de la fibra soluble (carbohidratos no digeribles) sobre la reducción significativa de la incidencia de cáncer de colon en modelos animales. La protección que brinda esta fibra es a través de la inhibición de la activación de carcinógenos, prevención de mutaciones, y efectos antiprogresivos y apoptóticos (Niba, 2003).

La fibra dietaria que no se degrada ni se absorbe a su paso por el tracto gastrointestinal puede ejercer importantes efectos alimenticios como retraso en el vaciamiento gástrico y la asimilación de nutrientes en el intestino delgado. Cuando pasan por el intestino grueso, éstos pueden ser degradados por las enzimas bacterianas y los productos de la degradación se fermentan para producir ácidos grasos de cadena corta (AGCC), así como gases y agua. (Swennen y col., 2006).

Estos AGCC brindan protección contra el desarrollo de cáncer a través de varios mecanismos, tales como la supresión de tumores, apoptosis y proliferación (Emenaker y col., 2001).

Los AGCC que se producen principalmente son el ácido acético, propiónico y butírico. El ácido butírico es un agente protector debido a sus propiedades biológicas, las cuales le confieren un efecto anti-proliferativo sobre células transformadas (Mariadason y col., 1999) también se ha reportado que inhibe la proliferación y guía a un fenotipo altamente diferenciado en líneas celulares de carcinoma de colon humano (Avivi y col., 2002; Hinnebusch y col., 2002). El ácido propiónico es metabolizado en el hígado en donde inhibe la síntesis de colesterol y puede potenciar las propiedades anti-proliferativas de ácido butírico mientras que el ácido acético es absorbido, transferido vía circulación y metabolizado en el músculo, riñón, corazón y tejidos cerebrales (Beyer y col., 2003).

1.6. Altas presiones hidrostáticas

Se entiende por altas presiones (AP) la tecnología con la que se tratan los materiales sólidos o líquidos con o sin empaque a presiones entre los 100 y 1000 Mega-Pascales (MPa). Puesto que el medio utilizado para transmitir la presión suele ser agua, el tratamiento de AP también suele llamarse altas presiones hidrostáticas (APH), (Gómez, 2010). La temperatura de proceso durante el tratamiento puede ser especificada desde menos de 0 °C hasta más de 100 °C y los tiempos de exposición puede ir desde un milisegundo hasta poco más de 20 minutos (Smith y Hui, 2004). Los equipos de APH empleados en el procesado de alimentos están formados, fundamentalmente, por una cámara de presurización, un generador de la presión (sistema de bombeo constituido por una bomba hidráulica y un sistema multiplicador de presión) y un sistema de control de temperatura (Herrero y Romero, 2006). La alta presión hidrostática es un método de conservación de alimentos alternativo más viable desde el punto de vista comercial. Debido a que las APH se utilizan para mejorar la calidad microbiológica y las características fisicoquímicas y sensoriales, se deben seleccionar las condiciones de tratamiento más adecuadas, en función del objetivo prioritario (Gómez, 2010).

En un proceso de AP, el producto alimenticio a tratar se coloca en una cámara de alta presión y el contenedor es cerrado; el producto es sumergido en un líquido que actúa como el medio de transmisión de presión (comúnmente es agua), la presurización posterior se realiza ya sea por medio de bombeo dentro del contenedor o por la reducción del volumen de la cámara de presión. Una vez que la presión deseada es alcanzada, el generador de presión es detenido y las válvulas son cerradas, de modo que la presión es mantenida sin ningún nuevo aporte de energía. Después de que el tiempo de espera requerido ha transcurrido el sistema es despresurizado, el contenedor es abierto y el producto es descargado (Da-Wen, 2005).

El proceso de APH puede ser aplicado en un amplio rango de alimentos, por ejemplo productos cárnicos, pescado, alimentos pre-cocidos, frutas y verduras. Siendo siempre el principal objetivo mejorar la calidad de los alimentos, es decir, mejorar la seguridad y la vida en anaquel de dichos productos (Da-Wen, 2005). Otra importante aplicación de este proceso es su uso en la extracción de compuestos bioactivos de productos vegetales, dichos compuestos pueden sustituir algunos productos químicos y ser usados como aditivos o fármacos en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica (Jun, 2006).

El efecto de las APH puede resumirse en los siguientes puntos: disminución de la síntesis de ADN, aumento de la permeabilidad de las membranas celulares, desnaturalización de biopolímeros y proteínas, incluida inactivación de enzimas, por cambios en la estructura intramolecular (>300 MPa). En cuanto a los efectos en los componentes y características de los alimentos, en las condiciones habituales de procesamiento, no se afectan enlaces covalentes y puede decirse que no se alteran los constituyentes químicos asociados a las cualidades deseables como los aromas, el sabor, el color o el valor nutricional de los alimentos. Sin embargo, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas e intermoleculares pueden verse modificadas o destruidas, de modo que se pueden producir cambios de apariencia y modificaciones en los atributos de textura, aunque los efectos varían de unos alimentos a otros (Da-Wen, 2005; Herrero y Romero, 2006).

Uno de los principales problemas en la industria alimentaria es el pardeamiento enzimático de frutas y vegetales, el cual se cree una de las causas principales del deterioro de la calidad durante la manipulación en la post-cosecha, almacenamiento y procesamiento (Rapeanu y col., 2006). En todas las frutas y vegetales, las enzimas y sustratos (compuestos fenólicos) se encuentran confinados en compartimentos separados, (cloroplastos y vacuolas, respectivamente), cuando los productos son cortados, esta compartimentación es destruida y las enzimas y sustratos se mezclan libremente. Son de particular importancia la pectinmetilesterasa (PME) y la poligalacturonasa (PG), las cuales están involucradas en la ruptura de la pared celular y por lo tanto, causan una reducción en la viscosidad y cambios de color y otras propiedades organolépticas (Da-Wen, 2005). Otras enzimas de interés son la Polifenol oxidasa (PPO) y la peroxidasa (POD), que catalizan la oxidación de compuestos fenólicos, originando productos responsables del cambio de color y las características sensoriales y nutricionales (Hayashi, 2002).

La PPO es una enzima que contiene cobre que cataliza dos reacciones distintas en una ruta bioquímica secuencial, que involucran oxígeno molecular y varios sustratos fenólicos (Falguera, 2012). La primera reacción corresponde a la o-hidroxilación de monofenoles a o-difenoles, en la segunda reacción los o-difenoles sufren una deshidrogenación a o-quinonas, estas a su vez se polimerizan mutuamente o reaccionan con proteínas o aminoácidos originando complejos color marrón. Por otro lado, la POD es una enzima involucrada en una gran variedad de procesos fisiológicos y se le relaciona con la pérdida de sabores y colores de productos alimenticios, además es considerada como una de las enzimas más termoestables en frutas y vegetales. Tiene una baja especificidad por sustratos donadores de hidrogeno y tiene la capacidad de oxidar aminas aromáticas y compuestos fenólicos así como otros compuestos orgánicos, a expensas de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) (Hayashi, 2002).

En general, el efecto de las APH sobre la actividad enzimática parece ser muy variable, ya que la presión afecta enlaces débiles, tal es el caso de las interacciones hidrofóbicas, las cuales son principalmente responsables de mantener la estructura terciaria de las proteínas (enzimas). Por lo tanto, la aplicación de AP podría resultar en un cambio en la estructura conformacional y esto a su vez puede que lleve a la pérdida de la actividad enzimática (Da-Wen, 2005). Sin embargo, las APH pueden ya sea activar o inactivar enzimas, dependiendo no solo de las enzimas y los niveles de presión; sino también de otros parámetros complementarios (pH, temperatura, sustratos y composición del medio) (Hayashi, 2002).

2. HIPÓTESIS

Las presiones hidrostáticas afectan la concentración de compuestos bioactivos de higo (*Ficus carica*).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Comparar los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.

3.2. Objetivos específicos

- Comparar el contenido de compuestos fenólicos de higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.
- Medir la capacidad antioxidante de higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.
- Comparar el contenido de fibra total de higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.

4. METODOLOGÍA

4.1. Materiales

4.1.1. Compuestos químicos

La α -amilasa, proteasa, amiloglucosidasa, rutina, 2-aminoetildifenilborato, ácido gálico, Folin & Ciocalteu's, trolox y 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, ácido 3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico, persulfato de potasio, sulfato ferroso, cloruro férrico, acetato de sodio y 2,4,6-tiripidil-s-triazina fueron adquiridos de la marca Sigma-Aldrich Corporation

Metanol, etanol, ácido clorhídrico, ácido acético, carbonato de sodio anhidro y no especificados, fueron adquiridos de la marca J.T. Baker

4.1.2. Material biológico

Higo fresco (*Ficus carica*) y sometido a altas presiones de la variedad black mission proporcionado por el Instituto Tecnológico de Durango.

4.2. Métodos

4.2.1. Extracción y cuantificación de compuestos fenólicos en higo.

4.2.1.1. Extracto metanólico

Para obtener el extracto metanólico se realizó una adaptación al método descrito por Cardador-Martínez y col. (2002). Este consistió en pesar 0.5 g de muestra (higo fresco o higo tratado) y adicionar 10 mL de metanol, dejando en agitación durante 24 horas protegido de la luz. Centrifugar el extracto a 5000 rpm durante 10 minutos a 4°C y extraer el sobrenadante para hacer las cuantificaciones de compuestos fenólicos y medir la capacidad antioxidante

4.2.1.2. Cuantificación de antocianinas

4.2.1.2.1. Extracto metanólico acidificado

La extracción se llevó a cabo mediante una adaptación al método propuesto por Ercisli y col. (2012). En breve, se pesó 1 g de higo (fresco o tratado) al cual se adicionó 10 mL de metanol acidificado (HCl:metanol:agua, 0.02:8:1.8, v/v/v),

sometiendo a un baño de agua a 50°C en agitación constante durante 1 hora. Al final de la extracción se centrifugó el extracto y se recolectó el sobrenadante, completando el volumen a 25 mL con metanol.

4.2.1.2.2. Cuantificación antocianinas

La cuantificación de antocianinas del fruto se realizó conforme al método desarrollado por Abdel-Aal y Hucl (1999). Se midió la absorbancia del extracto metanólico acidificado a una longitud de onda de 525 nm.

La concentración de antocianinas totales en la muestra se reportó como mg/g de cianidina 3-glucósido, según la siguiente fórmula:

$$C = (A/\epsilon) * (\text{vol}/1000) * \text{PM} * (1/\text{peso de la muestra}) * 10^3$$

donde:

C: concentración de antocianinas totales (mg g⁻¹)

A= Absorbancia máxima

ϵ = Absortividad molar de cianidina 3-glucósido (29,600 cm⁻¹ M⁻¹)

vol = Volumen total del extracto de antocianinas (mL)

PM = Peso molecular de cianidina 3-glucósido (449 g mol⁻¹)

4.2.1.3. Cuantificación de Flavonoides totales

De acuerdo al método de Oomah y col. (2005), para el análisis de la muestra se colocaron 50 µl del extracto metanólico en la microplaca y se adicionaron 180 µl de metanol, seguido de 20 µl de solución metanólica de 2-aminoetildifenilborato al 1%. Las muestras se analizaron a una longitud de onda de 404 nm en un espectrofotómetro (Thermo Electron Corporation, Multiskan Ascent®, Model 51118307). Los resultados se expresaron como µg equivalentes de rutina/g de muestra, para lo que se realizó una curva estándar de rutina con concentraciones de 1, 2.5, 5, 10, 25 y 50 µg/ml.

4.2.1.4. Cuantificación de Fenoles Totales

La determinación de los compuestos fenólicos totales se llevó a cabo mediante una modificación al método de Folin-Ciocalteu. Brevemente se tomaron 60 μL del extracto metanólico, 190 μL de agua destilada y 125 μL del reactivo del Folin 0.2 N. Se sonicó por 10 minutos y al final agregaron 625 μL de Na_2CO_3 al 7%.

Se dejó reaccionar por 2 horas en la oscuridad. Pasado el tiempo, se centrifugó la muestra a 5000 rpm por 10 minutos a 4°C . Se obtuvo el sobrenadante y leyó la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro (Thermo Electron Corporation, Multiskan Ascent®, Model 51118307). La concentración de fenoles totales se reportó como mg equivalente de ácido gálico/g de muestra a partir de una curva estándar de ácido gálico con concentraciones entre 0.002 y 0.020 mg/mL.

4.2.2. Capacidad antioxidante

4.2.2.1. Ensayo del 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

El método original de Brand y col. (1995) adaptado por Fukumoto y Mazza (2000), se adaptó para su uso en microplaca. Brevemente, se colocaron 20 μL de extracto metanólico y 200 μL de solución DPPH 150 μM . Se leyó la placa cada 10 minutos durante 90 minutos a 532 nm en un espectrofotómetro (Thermo Electron Corporation, Multiskan Ascent®, Model 51118307). Los resultados fueron comparados contra una curva estándar de Trolox con concentraciones de 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 y 800 μM . Los resultados se expresaron como % ARA (actividad antiradical) y μmoles equivalentes de Trolox/g de muestra (TEAC).

La actividad antiradical (ARA) se calculó como porcentaje de inhibición de DPPH, mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ ARA} = (A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}} / A_{\text{control}}) * 100$$

donde:

A_{muestra} = la absorbancia de la muestra a 532 nm.

A_{control} = la absorbancia del control (ausencia de antioxidante).

4.2.2.2. Ensayo del Ácido 3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico (ABTS)

Metodología propuesta por Nenadis y col. (2004), adaptada para su uso en microplaca: se colocaron 20 μL de extracto metanólico y posteriormente se agregaron 230 μL de la solución preparada de ABTS (5 mL de una solución acuosa de ABTS 7 mM y 88 μL de una solución de persulfato de potasio a 140 mM para obtener una concentración final de 2.45 mM, la cual se almacenó en obscuridad por 24 horas; la solución con el radical se diluyó en etanol hasta que el valor inicial de absorbancia alcanzado fue de 0.7 - 1 a una longitud de onda de 734 nm). Se leyó la placa a los siguientes tiempos: 0, 6, 10, 30, 60 y 90 a 734 nm en espectrofotómetro. Los resultados fueron comparados contra una curva estándar de Trolox con concentraciones de 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 y 800 μM . Los resultados se expresaron como % ARA y μmoles equivalentes de Trolox/g de muestra (TEAC).

4.2.2.3. Ensayo para la evaluación del poder reductor de hierro (FRAP)

Este método fue propuesto por Firuzi y col., (2000). Brevemente, para obtener el reactivo de FRAP se preparó una mezcla de 10 mL de solución amortiguadora de acetato 300 mM (pH 3.6), 1 mL de FeCl_3 20 mM en agua, 1 mL de 2,4,6-tiripidil-s-triazina (TPTZ) 10 mM en HCl 40 mM.

Se colocaron en una microplaca 25 μL de cada extracto (por cuadruplicado). Se adicionaron a tres pozos 175 μL de la solución FRAP recién preparada y atemperada a 37°C; el mismo volumen de solución amortiguadora de acetato se adicionó al cuarto pozo. El control se preparó con 25 μL de metanol y 175 μL de la solución FRAP. A continuación, se monitoreó la absorbancia a 595 nm a 0, 4, 10, 30, 60 y 90 min. La curva estándar se realizó con sulfato ferroso (FeSO_4) disuelto en metanol en concentraciones de 144, 288, 432, 576, 720, 864 y 1080 μM . Los resultados se reportaron como μmoles equivalentes de FeSO_4 /g de muestra.

4.2.3. Fibra total

4.2.3.1. Fibra insoluble

La metodología a seguir fue la establecida por Shiga y col. (2003). Brevemente, se tomó 1 g de la muestra, se adicionaron 50 mL de buffer de fosfato 0.08 mM a pH 6, se adicionaron 100 μ L de α -amilasa. El frasco fue protegido de la luz, se incubó en baño María a 95°C por 30 min, se agitó cada 5 minutos y se ajustó el pH a 7.5 con la muestra atemperada. Se adicionaron 100 μ L de proteasa (5 mg/mL) y se incubó en baño María a 60°C por 30 min con agitación continua, se ajustó pH a 4 la muestra atemperada. Posteriormente, se adicionaron 300 μ L de amilogucosidasa y se incubó por 30 min a 60°C con agitación continua. Después de incubar se filtró con papel Whatman No. 4 previamente pesado, y se realizaron 2 lavados con 15 mL agua a 60°C, 2 lavados con 15 mL de etanol al 80%. Se llevó a peso constante el filtro a 60°C por 24 horas, finalmente se pesó. La fibra insoluble es lo que quedó en el filtro.

4.2.3.2. Fibra soluble

De la prueba anterior, se conservó el residuo del filtrado, y se adicionaron 3 volúmenes iguales de etanol al 80% y se dejó reposar por 12 horas. Se filtró en papel Whatman No. 42 previamente pesado, se hicieron 2 lavados con 15 mL de etanol al 80% y 2 con 15 mL de acetona. Se dejó secar el papel filtro por 24 horas a 60°C. Se registró el peso.

4.2.3.3. Análisis estadístico

Todos los experimentos fueron realizados por triplicado y los datos en las tablas y figuras representan la media \pm ES. Se realizó un diseño experimental de dos factores completamente aleatorio y un análisis de varianza usando la prueba de Dunnett para hacer la comparación de las muestras con sus respectivos controles. Además, se hizo una comparación usando la prueba de Tukey para evaluar las diferencias entre las muestras tratadas.

El análisis estadístico fue realizado con el programa JMP 5.0.1. El nivel de confianza para la significancia estadística se estableció en un valor de $P < 0.05$.

5. RESULTADOS

5.1. Contenido de compuestos fenólicos en higo (*Ficus carica*).

En el Cuadro 5, se muestra el contenido de flavonoides, antocianinas y fenoles totales en higo fresco a dos temperaturas e higo sometido a altas presiones hidrostáticas a dos temperaturas. La representación gráfica de los datos se muestra en la Figura 5.

Cuadro 5. Contenido de compuestos fenólicos en higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones hidrostáticas.

| | Flavonoides ¹ | Antocianinas ² | Fenoles Totales ³ |
|--------------|--------------------------|---------------------------|------------------------------|
| Control 20°C | 41.48 ± 2.23 | 99.28 ± 2.49 | 536.96 ± 16.72 |
| T 1 | 51.76 ± 3.01* | 124.63 ± 6.20* | 642.39 ± 25.63* |
| Control 40°C | 43.07 ± 2.34 | 87.51 ± 1.50 | 598.23 ± 16.30 |
| T2 | 49.11 ± 1.74 | 131.34 ± 4.24* | 657.75 ± 21.15* |

Los resultados representan la media de tres experimentos independientes por triplicado ± ES

* Indica diferencia significativa con su respectivo control en la prueba de Dunnett's.

¹: µg eq. rutina/g muestra; ²: µg eq. cianidina-3-glucosido/g muestra; ³: µg eq. ácido gálico (EAG)/g muestra.

T1= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 20°C). T2= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 40°C).

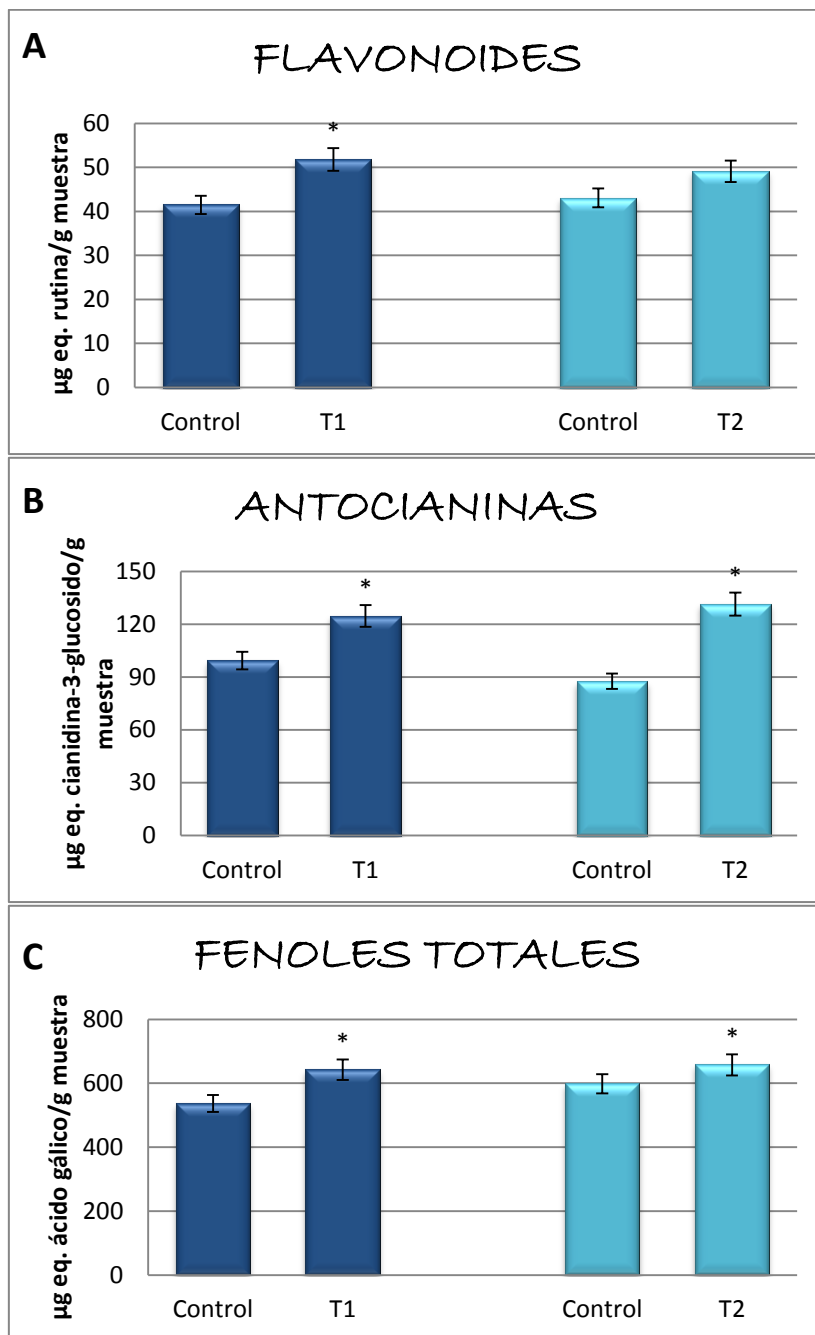


Figura 5. Contenido de compuestos fenólicos en higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones hidrostáticas.

Los resultados representan la media de tres experimentos independientes por triplicado \pm ES.

* Indica diferencia significativa con su respectivo control en la prueba de Dunnett's.

T1= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 20°C). T2= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 40°C).

En el Cuadro 6, se muestra el contenido de flavonoides, antocianinas y fenoles totales en higo fresco a dos temperaturas e higo sometido a altas presiones hidrostáticas a dos temperaturas, así como la comparación del efecto de la temperatura sobre el contenido fenólico entre los controles y entre los tratamientos T1 y T2. La representación gráfica de los datos se muestra en la Figura 6.

Cuadro 6. Comparación del efecto de la temperatura sobre el contenido de compuestos fenólicos en higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.

| | Flavonoides ¹ | Antocianinas ² | Fenoles Totales ³ |
|--------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|
| Control 20°C | 41.48 ± 2.23 ^a | 99.28 ± 2.49 ^a | 536.96 ± 16.72 ^a |
| Control 40°C | 43.07 ± 2.34 ^a | 87.51 ± 1.50 ^b | 598.23 ± 16.30 ^b |
| T1 | 51.76 ± 3.01 ^a | 124.63 ± 6.20 ^a | 642.39 ± 25.63 ^a |
| T2 | 49.11 ± 1.74 ^a | 131.34 ± 4.24 ^a | 657.75 ± 21.15 ^a |

Los resultados representan la media de tres experimentos independientes por triplicado ± ES.

Letras diferentes indican diferencia significativa en la prueba de Tukey.

¹: µg eq. rutina/g muestra; ²: µg eq. cianidina-3-glucosido/g muestra; ³: µg eq. ácido gálico (EAG)/g muestra.

T1= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 20°C). T2= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 40°C).

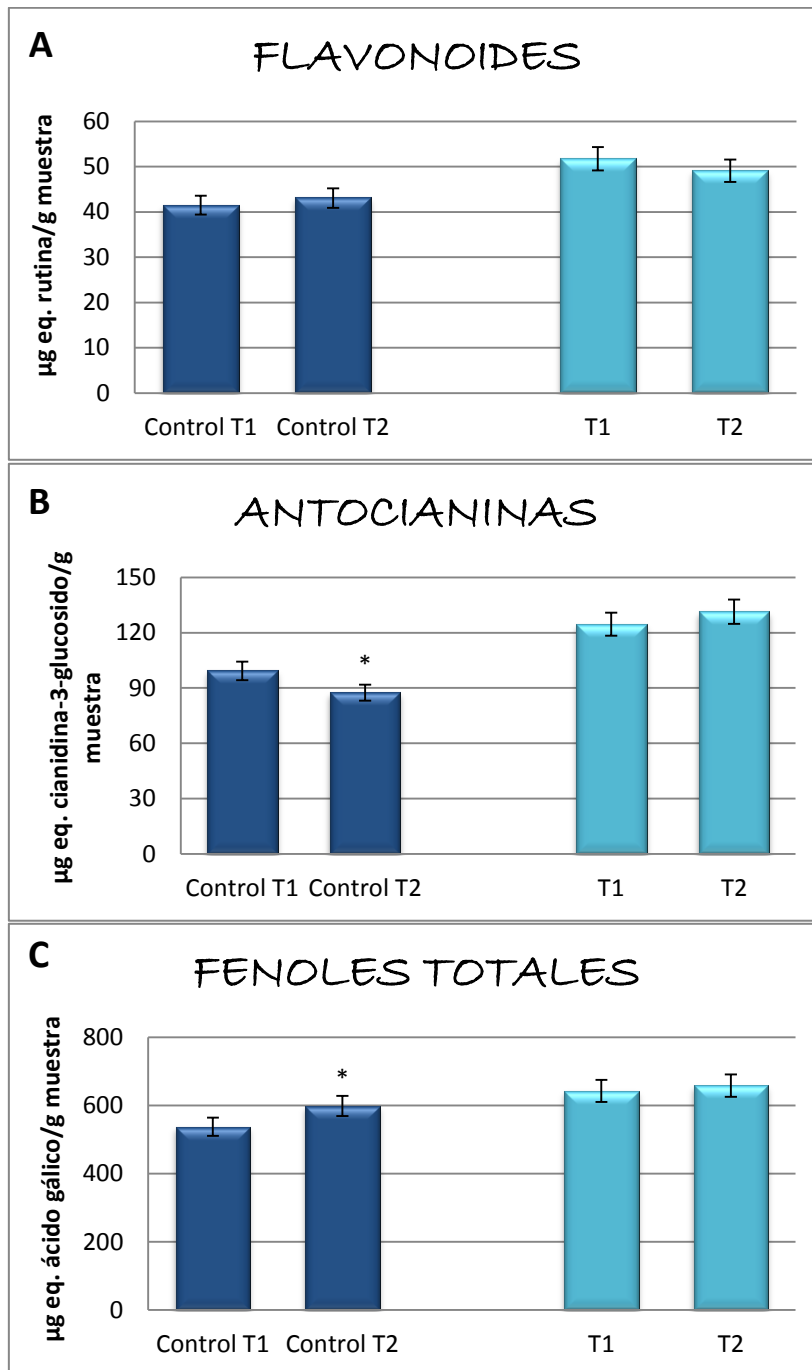


Figura 6. Comparación del efecto de la temperatura sobre el contenido de compuestos fenólicos en higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.

Los resultados representan la media de tres experimentos independientes por triplicado \pm ES.

* Indica diferencia significativa en la prueba de Tukey.

T1= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 20°C). T2= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 40°C).

5.2. Capacidad antioxidante de extractos metanólicos de higo.

La capacidad antioxidante del extracto metanólico de higo fresco a dos temperaturas e higo sometido a altas presiones hidrostáticas a dos temperaturas fue medida por los métodos DPPH, ABTS y FRAP (Cuadro 7). La representación gráfica de los datos se muestra en la Figura 7.

Cuadro 7. Capacidad Antioxidante del extracto metanólico de higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.

| | DPPH | ABTS | FRAP |
|--------------|-----------------|----------------|---------------|
| Control 20°C | 348.23 ± 9.95 | 422.49 ± 21.01 | 16.94 ± 0.35 |
| T1 | 391.89 ± 11.11* | 459.26 ± 22.30 | 19.10 ± 0.43* |
| Control 40°C | 332.29 ± 4.67 | 400.39 ± 18.23 | 16.17 ± 0.20 |
| T2 | 364.13 ± 6.75* | 432.21 ± 22.16 | 18.13 ± 0.35* |

Los resultados representan la media de tres experimentos independientes por triplicado ± ES.

* Indica diferencia significativa con su respectivo control en la prueba de Dunnett's.

DPPH: $\mu\text{mol eq. Trolox}/100\text{ g muestra}$; ABTS; $\mu\text{mol eq. Trolox}/100\text{ g muestra}$ (TEAC); FRAP; $\text{mmol eq. Fe}^{+2}/\text{Kg muestra}$.

T1= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 20°C). T2= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 40°C).

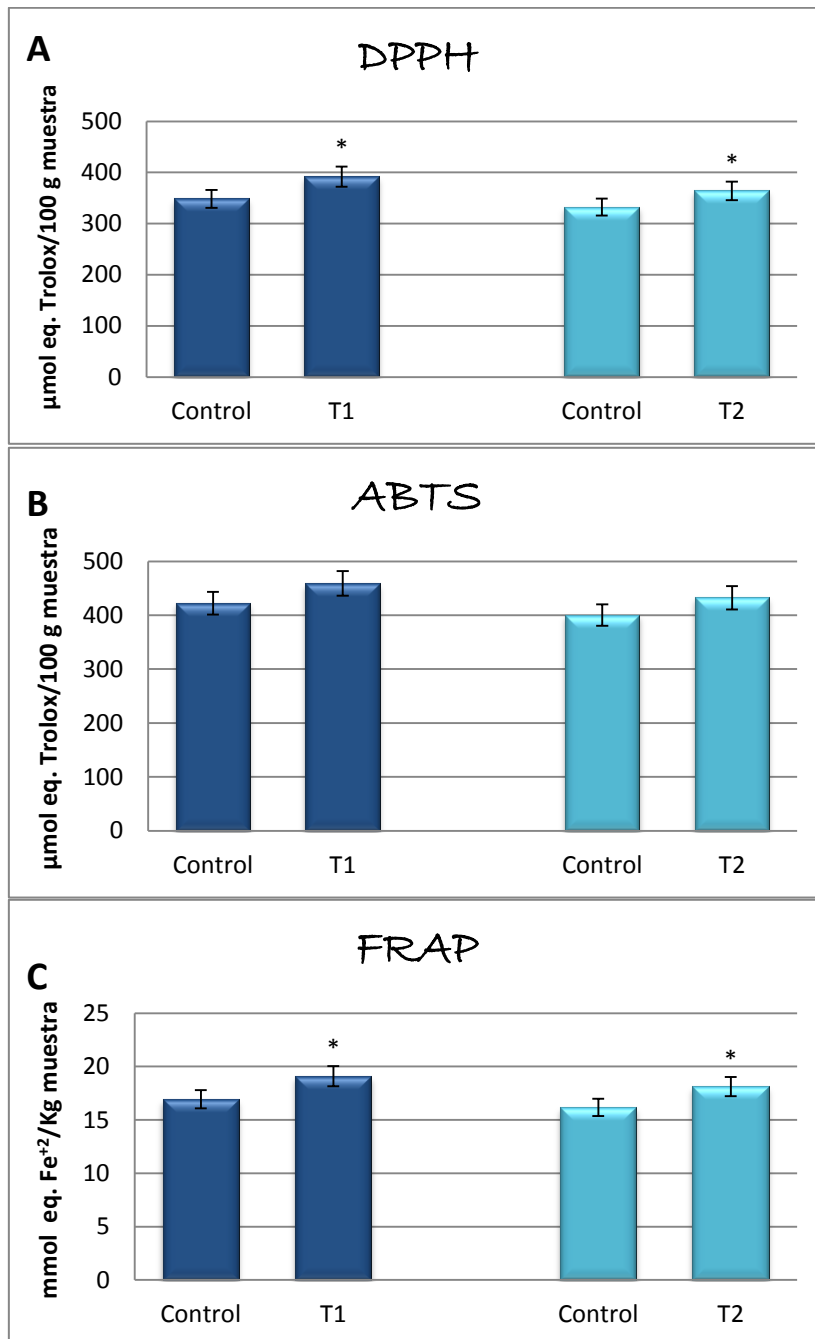


Figura 7. Capacidad Antioxidante del extracto metanólico de higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.

Los resultados representan la media de tres experimentos independientes por triplicado \pm ES.

* Indica diferencia significativa con su respectivo control en la prueba de Dunnett's. T1= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 20°C). T2= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 40°C).

La capacidad antioxidante del extracto metanólico de higo fresco a dos temperaturas e higo sometido a altas presiones hidrostáticas a dos temperaturas fue medida por los métodos DPPH, ABTS y FRAP, además se realizó una comparación del efecto de la temperatura sobre la capacidad antioxidante entre los controles y entre los tratamientos T1 y T2 (Cuadro 8). La representación gráfica de los datos se muestra en la Figura 8.

Cuadro 8. Comparación del efecto de la temperatura sobre la Capacidad Antioxidante del extracto metanólico de higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.

| | DPPH | ABTS | FRAP |
|--------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Control 20°C | 348.23 ± 9.95 ^a | 422.49 ± 21.01 ^a | 16.94 ± 0.35 ^a |
| Control 40°C | 332.29 ± 4.67 ^a | 400.39 ± 18.23 ^a | 16.17 ± 0.20 ^a |
| T1 | 391.89 ± 11.11 ^a | 459.26 ± 22.30 ^a | 19.10 ± 0.43 ^a |
| T2 | 364.13 ± 6.75 ^b | 432.21 ± 22.16 ^a | 18.13 ± 0.35 ^a |

Los resultados representan la media de tres experimentos independientes por triplicado ± ES.

Letras diferentes indican diferencia significativa en la prueba de Tukey.

DPPH: μmol eq. Trolox/100 g muestra; ABTS; μmol eq. Trolox/100 g muestra (TEAC); FRAP; mmol eq. Fe⁺²/Kg muestra.

T1= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 20°C). T2= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 40°C).

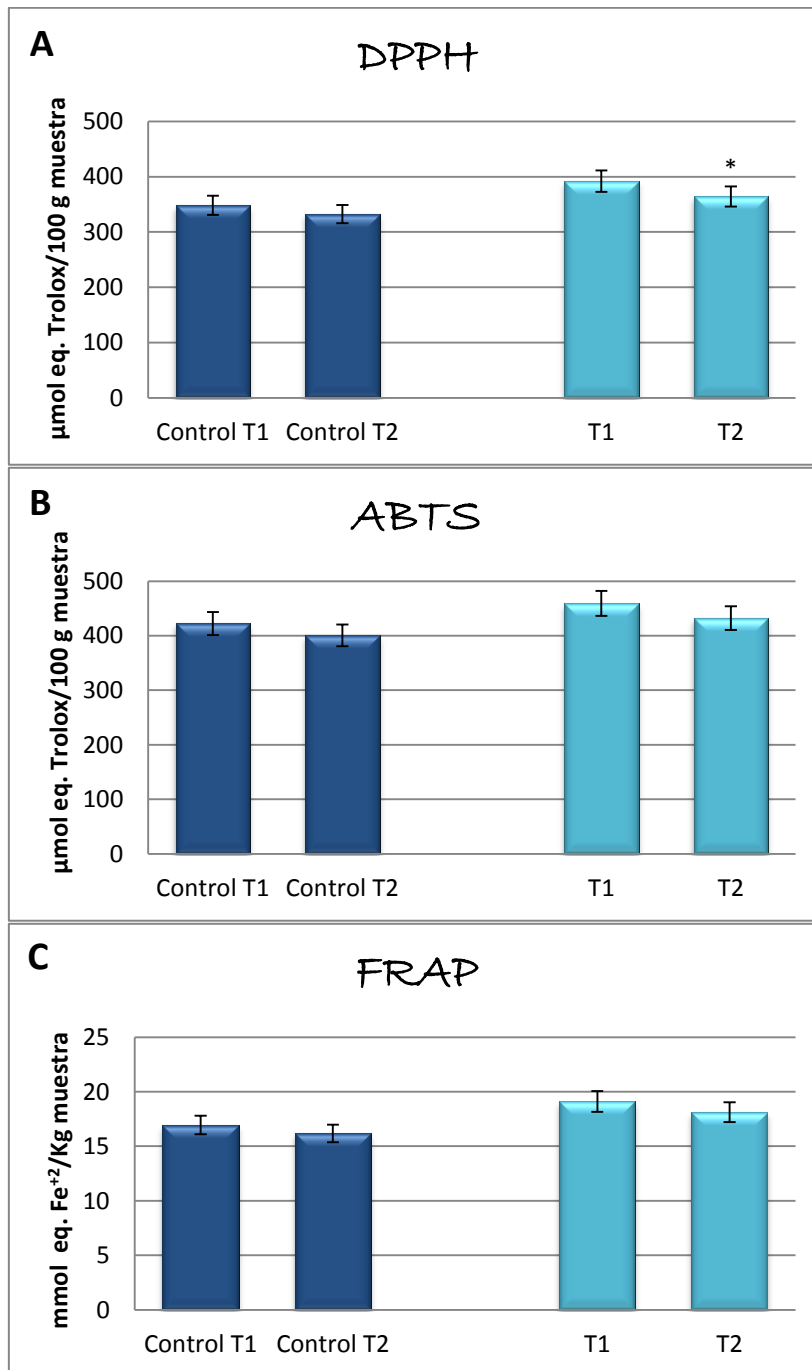


Figura 8. Comparación del efecto de la temperatura sobre la Capacidad Antioxidante del extracto metanólico de higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.

Los resultados representan la media de tres experimentos independientes por triplicado \pm ES.

* Indica diferencia significativa en la prueba de Tukey.

T1= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 20°C). T2= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 40°C).

5.3. Fibra dietaria total

El contenido de fibra dietética total insoluble y soluble no varía por el tratamiento térmico (20 °C y 40 °C), ni por la presión hidrostática aplicada (Cuadro 9 y Figura 9).

Cuadro 9. Contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble de higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.

| | Fibra Dietética Total (%) | Fibra Insoluble (%) | Fibra Soluble (%) |
|--------------|------------------------------|------------------------|----------------------|
| Control 20°C | 11.23 ± 0.10 | 3.55 ± 0.19 | 7.94 ± 0.12 |
| T 1 | 11.16 ± 0.26 | 3.10 ± 0.10 | 7.98 ± 0.16 |
| Control 40°C | 11.99 ± 0.51 | 4.92 ± 0.14 | 7.21 ± 0.40 |
| T2 | 11.92 ± 0.37 | 4.62 ± 0.30 | 7.55 ± 0.07 |

Los resultados representan la media de tres experimentos independientes por duplicado ± ES.

* Indica diferencia significativa con su respectivo control en la prueba de Dunnett's.

T1= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 20°C). T2 = Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 40°C).

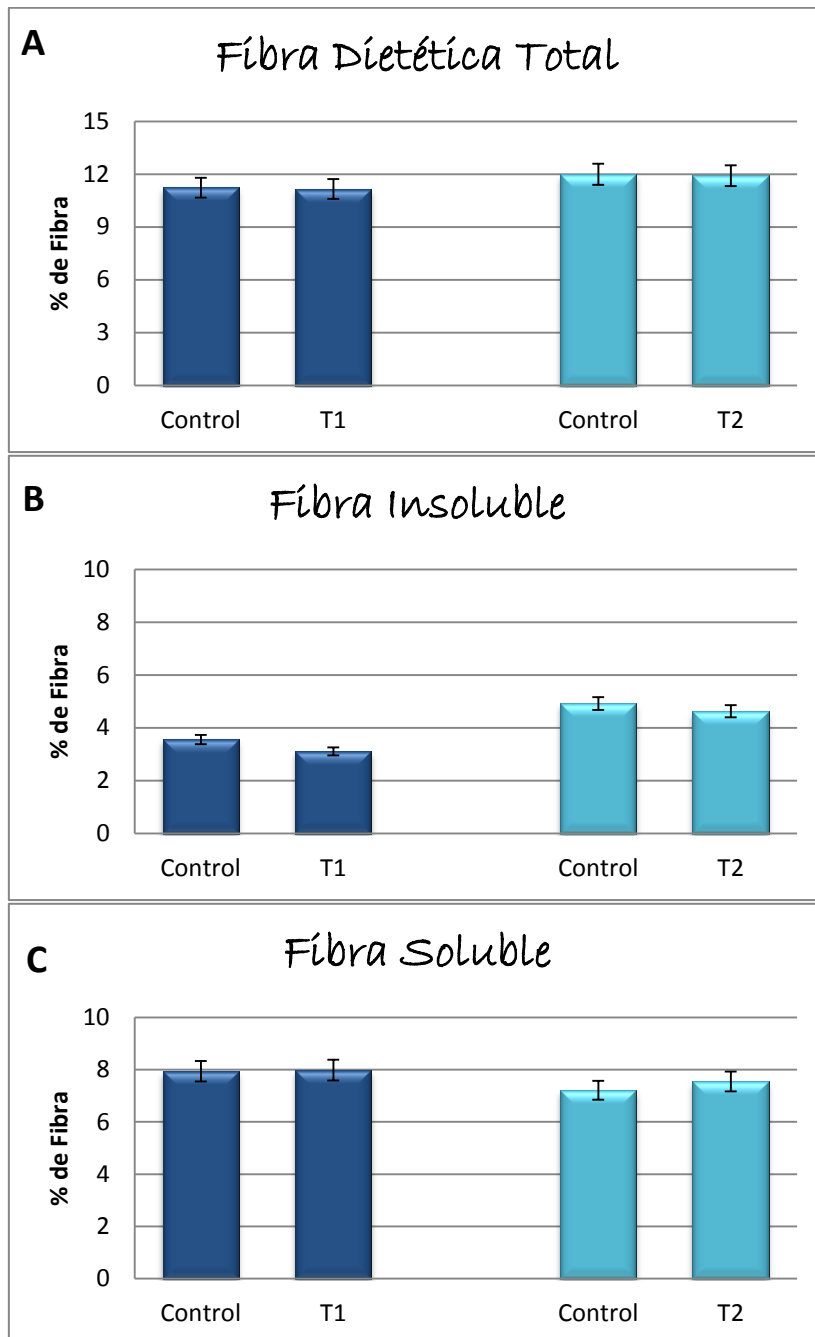


Figura 9. Contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble de higo (*Ficus carica*) fresco y sometido a altas presiones.

Los resultados representan la media de tres experimentos independientes por duplicado \pm ES.

* Indica diferencia significativa con su respectivo control en la prueba de Dunnett's. T1= Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 20°C). T2 = Tratamiento a altas presiones (350 MPa a 40°C).

6. DISCUSIONES

6.1. Contenido de compuestos fenólicos de higo (*Ficus carica*).

Independientemente de si se trataba de los controles o alguno de los tratamientos a los que se sometió a las muestras de higo (T1= Tratamiento a altas presiones: 350 MPa a 20°C, T2= Tratamiento a altas presiones: 350 MPa a 40°C), la concentración de flavonoides se encontró en el intervalo de 41.48 a 51.76 µg eq. rutina/g muestra, entre las muestras analizadas. La muestra T1 es la que presenta una diferencia significativa con su respectivo control, lo que sugiere que el tratamiento de altas presiones aplicado influye de manera positiva sobre el contenido de flavonoides del higo, es decir, que bajo estas condiciones es más fácil extraer y cuantificar este tipo de fenoles (Cuadro 5 y Figura 5). Mientras que en T2 no se presentó una diferencia significativa a pesar del tratamiento. Dado que en la literatura no se ha reportado el contenido de compuestos fenólicos en higo bajo sometido a condiciones similares a las de este trabajo, lo único que es posible comparar son los valores de higo fresco encontrados en otros estudios contra los controles analizados. El contenido de flavonoides obtenido en los controles es más alto que lo reportado por Slatnar y col. (2011), quienes reportan que la cantidad de flavonoides en higo fresco (recolectado a lo largo del verano) oscila entre 6.1 y 18.6 µg eq. rutina/g muestra. Mientras que Del Caro y Piga (2008), reportan que el contenido de flavonoides fue de 527 a 1071 µg eq. rutina/g muestra solo en cascara. No es extraño que existan tantas diferencias entre los datos reportados, pues el contenido fenólico así como la composición en general es dependiente de factores genéticos y ambientales, así como de las condiciones de procesamiento post-cosecha (Ercisli y col., 2012).

El higo en su variedad mission es un fruto púrpura oscuro con un alto contenido de polifenoles, principalmente de antocianinas, estas son responsables del pigmento del fruto. Estudios previos (Aguilera, 2008 y Ercisli y col., 2012) reportan que el contenido total de antocianinas se ve fuertemente influenciado por el color de la piel del fruto así como del genotipo.

La concentración de antocianinas para T1 y T2 fue de 124.63 y 131.34 μg eq. cianidina-3-glucósido/g muestra respectivamente, en ambos casos el valor obtenido presenta diferencia significativa respecto a su control. Ercisli y col. (2012), encontraron que el contenido de antocianinas de algunas variedades y genotipos de higo están entre 0 y 42 μg eq. cianidina-3-glucósido/g muestra, valores que difieren considerablemente de lo que se encontró en este trabajo. Mientras que Caliskas y Polat (2011) informan que el contenido de antocianinas va desde 0 hasta 299 μg eq. cianidina-3-glucósido/g muestra, los valores obtenidos en este trabajo para los controles de T1 y T2 (99.28 y 87.51 μg eq. cianidina-3-glucósido/g muestra) se encuentran dentro del intervalo antes mencionado. Resultados que sugieren que el higo es una fuente importante de antocianinas y que debido a su vida de anaquel tan corta se podrían emplear presiones hidrostáticas para la concentración de este tipo de compuestos bioactivos. Se ha reportado que las antocianinas y los extractos de plantas ricos en antocianinas además de ser considerados excelentes antioxidantes, pueden proveer diversos beneficios a la salud, incluyendo protección de DNA, actividad anti-inflamatoria, actividad anticancerígena, actividad antidiabética y prevención de enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Aguilera y col., 2009).

En cuanto al contenido de fenoles totales en higo para T1 es de 642.39 μg EAG/g muestra y para T2 es de 657.75 μg EAG/g muestra (Cuadro 5 y Figura 5). La misma tendencia estadística que se presentó en el contenido de antocianinas fue obtenida para fenoles totales, ya que el contenido de fenoles totales de T1 y T2 muestra diferencia significativa con su respectivo control. Los valores de los controles de T1 y T2 son de 536.96 y 598.26 μg EAG/g muestra respectivamente.

Saoudi y El-Feki (2011) reportaron un valor bajo de fenoles totales en higo (133 μg EAG/g muestra), pero el extracto a partir del cual realizaron su determinación era un extracto acuoso, de modo que solo se extrajeron los compuestos fenólicos hidrosolubles.

Por otro lado, Ercisli y col. (2012) encontraron que el contenido total de fenoles en diferentes genotipos y variedades de higo va de 24 a 237 μg EAG/g muestra, además reportan que los valores más altos pertenecen a las variedades de higo con cáscara o piel de color negra. A pesar de que este último estudio reporta valores más altos, los valores obtenidos en este trabajo están muy por encima, el único escrito con el que concuerda es el publicado por Galiskas y Polat (2011), quienes reportaron un contenido de fenoles totales con un rango mucho más amplio, el cual va de 194 a 2200 μg EAG/g muestra.

La gran variabilidad que existe entre los resultados obtenidos y los reportados por otros autores puede ser explicada por las condiciones del medio ambiente, debido a que las plantas han desarrollado diversas estrategias de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico. Dichas condiciones se han aprovechado para diseñar estrategias que permiten incrementar la síntesis de estos metabolitos secundarios, ya que las plantas los producen como una respuesta ante el herbivorismo y el ataque de microorganismos (Ávalos y Pérez, 2009).

En general, los ensayos realizados sugieren que el contenido de compuestos fenólicos en las muestras de higo se incrementa después de someter al fruto al tratamiento de altas presiones.

Hasta este punto solo se ha hablado del efecto que tiene la aplicación de APH sobre el contenido de metabolitos secundarios en las muestras de higo, sin tomar en cuenta el efecto que ejerce la temperatura. Ya que ambas muestras T1 y T2 fueron tratadas a las mismas condiciones de presión y tiempo de mantenimiento, pero a diferentes temperaturas (20 °C y 40 °C, respectivamente); el análisis estadístico se realizó de dos maneras distintas, la primera fue un análisis de varianza usando la prueba de Dunnett, en la cual se comparó de manera independiente cada tratamiento con su respectivo control, y la segunda consistió en otro análisis de varianza pero esta vez usando la prueba de Tukey, la cual nos permitió comparar entre sí las muestras sometidas a APH, de forma que es posible definir si la única variable entre ambos tratamientos (temperatura) modifica el contenido de compuestos fenólicos.

Al comparar el contenido de compuestos fenólicos (flavonoides, antocianinas y fenoles totales) de las muestras T1 y T2 (Cuadro 6 y Figura 6), se encontró que en ninguno de los casos había diferencia significativa, con estos resultados es posible inferir que las temperaturas a las que fueron sometidas las muestras de higo, no influyen sobre el contenido de compuesto fenólicos. Barra y col. (2010) reportaron, que al someter una bebida a base de varios vegetales (tomates, pimiento, verde, apio, cebolla, zanahoria, limón y aceite de oliva) a diferentes tratamientos de APH (100 a 400 MPa/2 a 9 min., a temperatura constante de 25 °C), no se observó diferencia estadísticamente significativa en el contenido de compuestos fenólicos en ninguna de las muestras, independientemente de las condiciones de procesamiento; por el contrario, el contenido de carotenoides se vio particularmente afectado (disminuido) en todos los casos de muestras sometidas a APH; a pesar de que las condiciones de procesamiento, en especial la temperatura, son distintas de las que se manejaron en este trabajo, en ambas investigaciones no hay diferencia significativa en el contenido de compuestos fenólicos en muestras tratadas a APH y las no tratadas. Por el contrario, García-Parra y col. (2005) encontraron que al tratar puré de nectarina a 600 MPa/10 min a 10 °C, el contenido de polifenoles aumenta significativamente respecto a las muestras no tratadas, de igual manera ocurre con el contenido de carotenoides, pero a 450 MPa/5 min a 10 °C. Por otro lado, existen reportes (Zabetakis y col., 2000) de la pérdida de antocianinas en fresas a 400 MPa/15 min a temperaturas entre 18-22 °C, así como del mantenimiento del contenido de antocianinas a presiones entre 600 y 800 MPa a las mismas condiciones de tiempo y temperatura. A pesar de que no se encontró información del efecto que tienen diferentes temperatura en la aplicación de APH sobre el contenido de compuestos fenólicos en frutas y vegetales; puede observarse que el contenido de metabolitos secundarios puede variar ampliamente, en función de las condiciones de trabajo (presión, tiempo de mantenimiento y temperatura); dado que la presión y el tiempo son capaces de influir considerablemente sobre el contenido de los compuestos bioactivos de frutos y vegetales es lógico pensar que la temperatura también debería jugar un papel importante.

Como se mencionó anteriormente, no existe diferencia significativa en el contenido de compuestos fenólicos entre T1 y T2, sin embargo, puede observarse un ligero aumento en el contenido de antocianinas y fenoles totales; este puede deberse a la desprotonación de grupos cargados y alteración de enlaces hidrofóbicos, lo cual resulta en cambios conformacionales y desnaturalización de proteínas, haciendo a la membrana celular menos selectiva, de modo que los compuestos son más accesibles a la extracción (Corrales y col., 2009). Lo anterior puede relacionarse con lo reportado por Prasad y col. (2009), quienes encontraron que la extracción de fenoles totales en litchi, es eficiente al aplicar APH bajo las siguientes condiciones, 500 MPa/2.5 min/30 °C, además de que la extracción mejora significativamente al aumentar la temperatura a 70°C bajo las mismas condiciones, probablemente debido a que el aumento de temperatura puede romper los enlaces en las matriz fenólica e influir en la estructura de la membrana de las células vegetales haciéndola menos selectiva, de modo que se facilite la extracción. De forma similar, Corrales y col. (2009) observaron que al ejercer tratamientos de 600 MPa/30 min/70 °C sobre piel de uvas, la extracción de antocianinas fue más alta que a tratamientos a más bajas temperaturas. En vista de los dos últimos trabajos analizados, es posible sugerir que la temperatura es un factor que influye de forma positiva sobre la extracción de compuestos fenólicos, sin embargo en ambos trabajos se encontró que a 90 °C de temperatura la extracción tanto de fenoles totales como de antocianinas se redujo significativamente, tal vez debido a una degradación térmica de los compuestos fenólicos o a reacciones de condensación de antocianinas por la combinación de altas presiones y temperaturas (Corrales y col., 2009). En fin, un aumento considerable en la temperatura de tratamiento puede mejorar significativamente el contenido de compuestos fenólicos, lo cual se sugiere que al incrementar la temperatura, bajo las mismas condiciones de trabajo de este estudio tal vez podrían obtenerse diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos de higos tratados a altas presiones hidrostáticas respecto a sus controles.

En el caso del contenido de flavonoides entre T1 y T2, aun cuando no hay una diferencia significativa se observa una ligera disminución en T2, esta podría deberse al efecto de las APH sobre la actividad enzimática (Da-Wen, 2005). Tal es el caso de lo reportado por Shiferaw y col. (2010), los cuales determinaron que a al someter puré de fresas a un tratamiento combinado de APH y temperatura, se observó un aumento en la actividad de la PPO, cuando las condiciones del proceso fueron de 690 MPa/5 min/24 °C, y ya que la PPO es una enzima capaz de oxidar compuestos fenólicos, puede causar la degradación de antocianinas y otros compuestos fenólicos y conducir a la decoloración y a la pérdida de capacidad antioxidante. Sin embargo, el efecto contrario fue observado cuando la temperatura de proceso fue de 90 °C, logrando una inactivación parcial de la enzima. Por otro lado, a diferencia de la PPO, la actividad enzimática de la POD fue inactivada considerablemente a 690 MPa/5 min/24 °C, y se logró una inactivación casi completa cuando la temperatura fue de 90 °C. En el estudio realizado por Falguera y col. (2012), la actividad de la PPO de jugo de manzana se vio aumentada cuando fue tratado a APH (400, 500 y 600 MPa) en combinación con temperaturas leves (25-60 °C), a diferencia de cuando fue tratado a 80 °C, donde las actividad de la PPO fue sustancialmente disminuida. En el caso de la PPO, su actividad puede verse aumentada cuando es sometida a temperaturas moderadas (a diferentes presiones), debido probablemente a la liberación de PPO unidas a la membrana a causa del tratamiento térmico, o quizás debido a la liberación de PPO's latentes; temperaturas más altas son necesarias para lograr una inactivación enzimática total o parcial, independientemente de la presión de proceso (Hayashi, 2002 y Shiferaw y col., 2010). Por lo tanto, algunos autores (Hayashi, 2002 y Falguera y col., 2012) han concluido que a mayores temperaturas, las otras variables (presión, tiempo, variedad) tienen más efecto sobre la tasa de inactivación tanto de la PPO como la POD, aunque claramente hay un efecto sinérgico entre la aplicación de APH y altas temperaturas.

Además de la comparación que se hizo entre T1 y T2, también fueron comparados entre ellos los controles de ambos tratamientos, encontrando una diferencia significativa en el contenido de antocianinas y fenoles totales.

En el caso del contenido de antocianinas hay una disminución en el control de T2, esta disminución puede ser atribuida a una degradación térmica, la cual puede ser atribuida a la activación de enzimas de degradación de compuestos fenólicos (PPO y POD), las cuales pueden aumentar su actividad cuando los productos vegetales sufren un tratamiento térmico a temperaturas moderadas (40 a 70 °C) (Shiferaw y col., 2010). Al contrario de las antocianinas, la muestra control de T2 muestra un aumento en el contenido de compuestos fenólicos, esto puede deberse al método de cuantificación, pues una de las desventajas del método de Folin-Ciocalteu, es la controversia que se genera respecto a ¿qué es lo que está detectando?, ya que pueden ser solo compuestos fenólicos o compuestos fenólicos + agentes reductores y posibles quelantes metálicos (Prior y col., 2005). Finalmente en el caso de los flavonoides también hay un aumento en el contenido del control de T2, pero este es insignificante.

6.2. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante del extracto metanólico de higo fue determinada por tres métodos distintos: los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP. Estos ensayos aportan información valiosa sobre procesos de adición y sinergia que se producen como consecuencia de las interacciones entre distintas moléculas bioactivas en la matriz de la muestra analizada, dando lugar a una actividad antioxidante total mayor a la correspondiente a la suma de las actividades de los antioxidantes individuales que la componen; esto da una aproximación más real al efecto potencial que podría ejercer *in vivo* un alimento rico en sustancias antioxidantes (Liu, 2003).

Los resultados obtenidos en el ensayo de DPPH (Cuadro 7 y Figura 7) muestran que existe un aumento estadísticamente significativo entre la capacidad antioxidante de las muestras tratadas y sus controles, los valores para T1 y T2 son de 391.89 y 364.13 $\mu\text{mol eq. Trolox}/100\text{ g}$ respectivamente y los valores de los controles de T1 y T2 son de 348.23 y 332.29 $\mu\text{mol eq. Trolox}/100\text{ g}$, este incremento en la capacidad antioxidante se atribuye al aumento de compuestos fenólicos después del

tratamiento de altas presiones al que fueron sometidas las muestras. Aguilera y col. (2008), reportaron valores más bajos de capacidad antioxidante para la misma variedad de higo, estos van desde 0.35 a 24.00 $\mu\text{mol eq. Trolox}/100\text{ g}$. A pesar de que el ensayo de DPPH no utiliza un radical biológico que pueda dar un resultado más próximo al efecto *in vivo* de los antioxidantes analizados, tiene varias ventajas, pues es uno de los pocos radicales orgánicos nitrogenados estables, por ello está disponible comercialmente, lo cual lo hace un método rápido y sencillo que no requiere un equipo sofisticado, únicamente un espectrofotómetro, esto explica que sea un método ampliamente usado en el cribado antioxidante (Prior y col., 2005).

El ensayo de ABTS ésta basado en la captación del radical catión ABTS^+ por los antioxidantes, este radical es generado en un medio de reacción y no se encuentra biológicamente en los mamíferos por ello representa una fuente no fisiológica, a pesar de ello resulta muy útil para proporcionar un orden y clasificación de los antioxidantes, además el ABTS^+ reacciona rápidamente y puede ser utilizado para determinar la capacidad antioxidante de extractos hidrofílicos y lipofílicos. Los resultados se expresan como la capacidad antioxidante equivalente de trolox (TEAC) (Prior y col., 2005). En el ensayo de ABTS, se obtuvieron valores más altos que en el ensayo de DPPH, es probable que los antioxidantes presentes en las muestras tengan estructuras de mayor tamaño, además de que pueden detectar antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos, y esto les confiera una mayor afinidad por el radical ABTS^+ , pues las moléculas de menor tamaño tienen un mayor acceso al radical DPPH y aparentemente una capacidad antioxidante mayor (Prior y col., 2005). Los valores de TEAC obtenidos en T1 y T2 fueron de 459.26 y 432.21 $\mu\text{mol eq. Trolox}/100\text{ g}$ muestra, respectivamente y no se observaron diferencias significativas entre las muestras tratadas y sus controles.

Estudios realizados por Ercisli y col. (2012) reportan que en el ensayo de ABTS, la capacidad antioxidante del extracto metanólico de higo de varios genotipos y variedades cubre un amplio rango, de 36 a 623 $\mu\text{mol eq. Trolox}/100\text{ g}$. Los resultados que se obtuvieron en este trabajo coinciden con lo reportado por Ercisli para higo

fresco, pues los valores de TEAC de los controles de T1 y T2 son de 422.49 y 400.39 $\mu\text{mol eq. Trolox}/100 \text{ g muestra}$.

El último ensayo realizado para evaluar la capacidad antioxidante fue el de FRAP. El poder reductor de los compuestos fenólicos se asocia con el número de grupos $-\text{OH}$ y el grado de conjugación de la moléculas. La diferencia entre el ensayo de FRAP y los anteriores es que este se asemeja más a las condiciones *in vivo*, pues es un método adecuado para evaluar la capacidad de los antioxidantes para modular el potencial redox de células y tejidos, ya que la capacidad de reducir el hierro se considera un índice del poder antioxidante (Prior y col., 2005).

Al igual que en DPPH, los valores obtenidos en el ensayo de FRAP muestran una diferencia estadísticamente significativa entre las muestras tratadas y sus respectivos controles, el poder reductor de las muestras T1 y T2 es de 19.10 y 18.13 $\text{mmol eq. Fe}^{+2}/\text{kg muestra}$. Los valores obtenidos para los controles de T1 y T2 fueron de 16.94 y 16.17 $\text{mmol eq. Fe}^{+2}/\text{kg muestra}$, respectivamente. Caliskan y Polat (2012) reportaron un valor de 10.9 $\text{mmol eq. Fe}^{+2}/\text{kg muestra}$, mientras que Ercisli y col., (2012) encontraron que el poder reductor de los extractos de varios genotipos y variedades de higo va desde 4.6 a 18.7 $\text{mmol eq. Fe}^{+2}/\text{kg muestra}$. Al comparar los valores obtenidos en este trabajo encontramos que estos se encuentran dentro de estos intervalos.

Los resultados obtenidos sobre el contenido de fenoles y la capacidad antioxidante son similares a los de Ercisli y col. (2012), quienes encontraron una correlación positiva entre el contenido de antocianinas y fenoles totales y los resultados de TEAC y FRAP, lo cual indica que el total de antocianinas y fenoles hacen una contribución importante a la capacidad antioxidante en el higo. De modo que al observar una tendencia parecida de los datos es posible sugerir que se tiene un comportamiento similar, es decir, que el contenido de fenoles totales y antocianinas influyen de manera positiva sobre la capacidad antioxidante de los extractos.

Estas observaciones son muy importantes desde el punto de vista nutritivo, ya que al ser el higo un fruto comestible cuando está maduro evidentemente es una fuente valiosa de algunos compuestos bioactivos, tal es el caso de los antioxidantes.

Por otra parte, al igual que en la determinación de compuestos fenólicos, se realizó un segundo análisis estadístico, para evaluar el efecto de la temperatura en el proceso de APH sobre la capacidad antioxidante de extractos de higo fresco y sometido a APH (Cuadro 8 y figura 8). En el caso de los ensayos de FRAP y ABTS, tanto en la comparación de los controles de T1 y T2, como en la comparación de T1 y T2 no se encontró diferencia significativa entre las muestras, pero puede observarse una ligera disminución en T2 respecto a T1, lo cual puede atribuirse a un aumento en la actividad tanto de la POD como de la PPO, que mediante reacciones de oxidación, degradan compuestos fenólicos, lo cual puede verse directamente reflejado en una disminución en la capacidad antioxidante (Da-Wen, 2005), ya que los grupos –OH de los compuestos fenólicos, localizados en los carbonos C3 y C4 sufren oxidación por acción enzimática, para obtener o-quinonas, que a su vez pueden polimerizarse entre sí o reaccionar con proteínas o aminoácidos resultando en la formación de complejos color marrón (Hayashi, 2002); ya que dichos grupos –OH incrementan claramente la capacidad antioxidante de algunos compuestos fenólicos como las antocianinas, al verse involucrados en estas reacciones enzimáticas, esta propiedad antioxidante también se ve afectada. Como se indicó anteriormente, varios autores (Hayashi, 2002; Shiferaw y col., 2010; Falguera y col., 2012) reportan un aumento en la actividad enzimática de la PPO, cuando diferentes frutos han sido expuestos a tratamientos de APH, en los que independientemente de la presión y el tiempo que se hayan determinado como óptimos para cada caso, la temperatura de trabajo fue un factor crítico, ya que en todos los estudios, cuando se utilizaron temperaturas moderadas (entre 25 y 70 °C) se observó un efecto positivo en la activación enzimática, es decir, un aumento en la actividad enzimática, probablemente a causa de cambios conformacionales en la estructura de la enzima, a la liberación de PPO's unidas a la membrana, o a la liberación de PPO's latentes; todos estos sucesos como consecuencia del tratamiento térmico.

Los resultados obtenidos entre el ensayo de ABTS y FRAP están relacionados, ya que el método de inhibición de ABTS, se basa en la capacidad de los antioxidantes de reaccionar o neutralizar el radical libre generado con un sistema de ensayo, mientras que el método de FRAP mide la reducción de Fe^{3+} (hierro férrico) a Fe^{2+} (hierro ferroso) en presencia de antioxidantes. Los valores del método de FRAP expresan la concentración correspondiente de antioxidantes donadores de electrones (Prior y col., 2005).

De forma general, la temperatura es un factor importante en la aplicación de APH, pero las temperaturas utilizadas en este trabajo, se encuentran en un rango muy corto, y para que el efecto que ejerce la temperatura fuera más evidente deberían usarse temperaturas en un rango más amplio.

6.3. Fibra total

Claramente los valores de fibra obtenidos entre las muestras no muestran una diferencia significativa entre ellos, independientemente de si son controles, muestras tratadas o las condiciones de tratamiento a las que se sometió a la muestra. El valor de fibra dietética total entre las muestras es de 11%, por ello el higo puede ser considerado una fuente considerable de fibra dietética. La fibra se clasifica según su grado de solubilidad, la fibra soluble es fermentable casi en su totalidad por la flora bacteriana produciendo ácidos grasos de cadena corta, estos brindan varios beneficios a la salud (Park y Floch, 2007), en este trabajo encontramos que el contenido de fibra soluble es alto, tiene un valor de 7% para todas las muestras. La importancia de haber determinado el contenido de fibra dietética, insoluble y soluble radica en un efecto biológico. Los principales componentes de la fibra dietética son carbohidratos complejos como: almidón resistente, pectinas, gomas, hemicelulosas, oligosacáridos y ligninas (Hoover y Zhou, 2003). A este tipo de fibra se le ha relacionado con beneficios a la salud como efecto laxante, disminución de los niveles de colesterol y glucosa sanguíneos, sensación de saciedad, incremento en la pérdida de sales biliares en el excremento, etc.

A la fibra dietética que llega hasta el colon de animales monogástricos se le ha denominado fracción no digerible (FND) ya que puede ir acompañada con fracciones de proteína y/o biopéptidos y compuestos fenólicos (Grabitske y Slavin, 2009; Saura-Calixto, 2011).

La FND es un buen sustrato para la microbiota del colon produciendo: bióxido de carbono, metano y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) principalmente ácido acético, propiónico y butírico, así como ácidos grasos de tipo fenólico (Roberfroid, 2001); todos ellos relacionados con el efecto prebiótico (Trindade y col., 2003; Escudero y González, 2006).

7. CONCLUSIONES

El tratamiento de APH sobre el higo permite una mayor extracción de metabolitos secundarios. Para la especie objeto de estudio, el incremento de temperatura de 20°C a 40°C, no presento un efecto importante sobre el incremento en la extracción de compuestos fenólicos. La actividad antioxidante no sólo permanece sino que además se incrementa al aplicar APH.

El contenido de fibra dietética no se ve afectado ni influenciado por las altas presiones ni la temperatura del tratamiento.

~~8. REFERENCIAS~~

Abdel-Aal E, Hucl P, Rapid Method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem.* **1999**; 76: 350-354.

Aguilera M, Reza M, Barre K, Ramírez P. Capacidad antioxidante de polifenoles en Higo (*Ficus carica*) Variedad Mission. Facultad de Ciencias Químicas – UJED. México. **2008**: 1-7

Aguilera M, Alanís M, García C, Hernández C. Caracterización y Estabilidad de Antocianinas de Higo (*Ficus carica*), Variedad Mission. Universidad y ciencia [online]. **2009**; 25 (2): 151-158. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/uc/v25n2/v25n2a5.pdf>

Ali M, Chaudhary N. *Ficus hispida* Linn.: A review of its pharmacognostic and ethnomedicinal properties. *Pharmacogn Rev.* **2011**; 5 (9): 96-102.

Andersen O. Anthocyanins: Separation of Acylated Anthocyanin Pigments by High Speed CCC. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **2000**; 24 (11 & 12): 1791-1799.

Anderson J, Johnstone B, Cook M. Metaanalysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *New Engl J Med.* **1995**; 333: 276-282.

Ávalos A, Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca.* **2009**; 2 (3): 119-145

Avivi C, Polak S, Madar Z, Schwartz B. Different molecular events account for butyrate-induced apoptosis in two human colon cancer cell lines. *J Nutr,* **2002**; 132: 1812–8.

Baby J, Raj J. Pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn – An overview. *Int J PharmTech Res.* **2011**; 3 (1): 08-12

Barra F, Esteve A, Frigola A. Ascorbic acid is the Only Bioactive That is Better Preserved by High Hydrostatic Pressure by Thermal Treatment of a vegetable Beverage. *J Agric Food Chem.* **2010**; 58 (18): 10070-10705.

Bravo L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews.* **1998**; 56: 317-333

Brand W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebesem Wiss Technol.* **1995**; 28:25-30.

Beyer G, Glei M, Hartmann E, Hughes R, Persin C, Böhlm V, Rowland I, Schubert R, Jahreis G, Pool B. Butyrate is only one of several growth inhibitors produced during gut flora-mediated fermentation of dietary fiber sources. *Br J Nutr.* **2003**; 90: 1057–70.

Caliskan O, Polat A. Effects of genotype and harvest year on phytochemical and fruit quality properties of Turkish fig genotypes. *Span J Agric Res.* **2012**; 10 (4).

Cardador-Martínez A, Loarca-Piña G, Oomah D. Antioxidant Activity in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Agric Food Chem.* **2002**; 50:6975-6980.

Corrales M, Fernandez-García A, Butz P, Tauscher B. Extration of anthocyanins from grapes skins assisted by high hydrostatic pressure. *J Food Eng.* **2009**; 90: 415-421.

Chunyan C, Bo S, Ping L. Isolation and Purification of Psoralen and Bergapten from *Ficus carica* L. leaves by High-Speed Countercurrent Chromatography. *J Liq Chromatogr Relat Technol.* **2009**; 32 (1): 136-143.

Cummings J, Beatty E, Kingman S, Bingham S, Englyst H. Digestion and physiological properties of resistant starch in the human large bowel. *Br J. Nutr.* **1996**; 75: 733-747.

Da-Wen S. Emerging Technologies for Food Processing. 1ra. Ed., EUA: Elsevier Academic Press Ed, **2005**; 1-60.

Del Caro A, Piga A. Polyphenol composition of peel and pulp of two Italian fresh fig fruits cultivars (*Ficus carica* L.) *Eur Food Res Technol.* **2008**; 226 (4): 715-719.

Drago M, López M, Sainz T. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Rev mex cienc farm.* **2006**; 37(4): 58-68

Duenas M, Perez J, Santos C, Escrinano T. Anthocyanin composition in fig (*Ficus carica* L.). *J Food Comp Anal* **2008**; 21:107-115.

Ercisli S, Tosun M, Karlidag H, Dzubur A, Hadziabulic S, Aliman Y. Color and Antioxidant Characteristics of Some Fresh Fig (*Ficus carica* L.) Genotypes from Northeastern Turkey. *Plant Foods Hum Nutr.* **2012**; 12: 292-2.

Escudero E, González P. La fibra dietética. *Nutr Hosp* 21. **2006**; 2: 61-72.

Falguera V, Gatus F, Ibarz A, Barbosa-Cánovas G. Kinetic and Multivariate Analysis of Polyphenol Oxidase by High Pressure and Temperature Processing in Apple

Juices made from Six Different Varieties. *Food Bioprocess Technol.* **2012**; 6: 2342-2352

Firuzi O, Lacanna A, Petrucci R, Marrosu G, Saso L. Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by “Ferric Reduction Antioxidant Power” assay and cyclic voltammetry. *Biochim Biophys.* **2000**; 1721: 174-184.

Fukumoto L, Mazza G. Assesing antioxidant and prooxidant activities of phenolics compounds. *J Agric Food Chem.* **2000**; 48:3597-3604.

García B. Absorción *in vivo* de oligómeros de epicatequina, Tarragona. Universidad Rovira i Virgili. Tesis para obtener el grado de Doctor en Bioquímica. **2005**: 36-55.

García-Parra J, Gonzáles-Cebrino F, Delgado J, Lozano M, Hernández T, Ramírez R. Effect of termal and High Pressure processing on the Nutritional Value and Quality Attributes of a Nectarine Purre with Industrial Origin during the Refrigerated Storage. *J Food Sci.* **2011**; 76 (4): 618-625.

Gond N, Khadabadi S. Hepatoprotective Activity of *Ficus carica* Leaf Extract on Rifampicin-Induced Hepatic Damage in Rats. *Indian J Pharm Sci.* **2008**; 70 (3): 364-366.

Gómez, M. Tecnología de Altas Presiones Hidrostáticas. Universidad de Córdoba. **2010**: 1-15.

Grabitske H, Slavin J. Gastrointestinal Effects of Low-Digestible Carbohydrates. *Crit Rev in Food Nutr.* **2009**; 49: 327-360.

Hayashi R, Trends in High Pressure Bioscience Biotechnology: Progress in biotechnology. 1ra ed., Kyoto: Elsevier & Technology Books, **2002**; 19: 525-532.

Herrero A, Romero M. Innovaciones en el procesado de alimentos: Tecnologías no térmicas. *Rev Med Univ Navarra.* **2006**; 50 (4): 71-74.

Hinnebusch B, Shufen M, Wu J, Archer S, Hodin A. The effects of shortchain fatty acids on human colon cancer cell phenotype is associated with histone hyperacetylation. *J Nutr,* **2002**; 132:1012–7.

Hoover R, Zhou Y. In vitro and in vivo hydrolysis of legume starches by α -amylase and resistant starch formation in legumes—a review. *Carbohydr Polym.* **2003**; 54: 401-17.

Jeong MR, Cha JD, Kim HY. Antibacterial activity of Methanol Extract from *Ficus carica* Leaves Against Oral Bacteria. *J Bacteriol Virol.* **2009**; 39 (2): 97-102.

Jun X. Applications of high hydrostatic pressure processing of food to extracting lycopene from tomato paste waste, . High Pressure Res. **2006**; 26 (2): 33-41.

Kumar R, Kawadkar M, Sheikh S, Kastwar R, Tiwari G. A review on: Comparative studies on ethanolic extract of root and stem bark of *Ficus carica* for analgesic and anti-inflammatory activities. Int J of Pharm & Life Sci. **2012**; 3 (8): 1930-1934.

Liu R. Health benefits of fruits and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. J. Clin. Nutr. **2003**; 78: 517-520.

Lutz M, León A. Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación. Chile: Editorial Universidad de Valparaíso, **2009**.

Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémesy C, Jiménez L. Polyphenols: food souces and bioavailability. Am J Clin Nutr. **2004**; 79: 727-747.

Mariadason J, Catto A, Gibson P. Modulation of distal colonic epithelial barrier function by dietary fiber in normal rats. Gut, **1999**; 44:394–9

Marrelli M, Menichini F, Statti G, Bonesi M, Duez P, Menichini F, Conforti F. Changes in the phenolic and lipophilic composition, in the enzyme inhibition and antiproliferative activity of *Ficus carica* L. cultivar Dottato fruits durin maturation. Food Chem Toxicol. **2012**; 50:726-733.

Martínez I, Valverde Ma, Gaspar R. Significado nutricional de los compuestos fenólicos en la dieta. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. **2000**; 50 (1): 5-18.

Mateu X. Farmacia hospitalaria. En: La fibra en la alimentación. 1ra. ed., Barcelona: Editorial Edikamed S.L., **2004**: 2-6.

Mena A. Validación Farmacológica del efecto analgésico y antiinflamatorio de hojas de *Ficus carica* (Higuera), de hojas de *Persea americana* (Aguacate) y Flor de *Calendula officinalis* (Flor de muerto) en infusión acuosa. Guatemala. Universidad de San Carlos De Guatemala. Para obtener el título de Química Farmacéutica. **2005**;5-6.

Morton J. Fruits of warm climates. Julia F. Morton, ed. Miami, FL. **1987**: 47-50.

Nenadis N, Wang L, Tsimodou M, Zhang H. Estimation of scavenin activity of phenolic compounds using the ABTS^o + assay. J Agric Food Chem. **2004**; 52: 4699-4674.

Niba L. Role of non-digestible carbohydrates in colon cancer protection. Nutr Food Sci. **2003**; 33(1): 28-33

Oliveira A, Silva L, Ferreres F, Guedes P, Valentao P, Silva B, Pereira J, Andrade P. Chemical Assessment and in Vitro Antioxidant Capacity of *Ficus carica* Latex. J Agric Food Chem. **2010**; 58: 3393-3398.

Oomah D, Cardador-Martínez A, Loarca-Piña G. Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Sci Food Agric. **2005**; 85: 935-942.

Park S, Bok S, Jeon S, Park Y, Lee S, Jeon T, Choi M. Effect of rutin and tannic acid supplements on cholesterol metabolism in rats. J Nutr Res. **2002**; 22: 283-295.

Park J, Floch M. Prebiotics, probiotics, and dietary fiber in gastrointestinal disease. Gastroenterol. Clin N. **2007**; 36: 47-63.

Prasad N, Yang B, Zhao M, Wang B, Chen F, Jiang Y. Effects of high-pressure treatment on extraction yield, phenolic content and antioxidant activity of Litchi (*Litchi chinensis* Soun) fruit pericarp. J Food Sci Tech. **2009**; 44: 960-966.

Prior R, Wu X, Schaich K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Food and Dietary Supplements. J Agric Food Chem. **2005**; 53: 4290-4302

Rapeanu G, Vann A, Smout C, Hendrickx M. Thermal and high pressure inactivation kinetics of Victoria grape polyphenol oxidase: From model systems to grape must. J Food Process Eng. **2006**; 29: 269-286.

Rassouli A, Fatemi A, Asadi F, Salehi M. Effects of Fig tree (*Ficus carica*) leaf extracts on serum and liver cholesterol levels in hyperlipidemic rats. Int J Vet Res. **2010**; 4 (2): 77-80.

Saura-Calixto F. Dietary Fiber as a Carrier of Dietary Antioxidants: An Essential Physiological Function. J Agric Food Chem. **2011**; 59: 43-59.

Shiferaw N, Hong Y, Knoerzer K, Buckow R, Versteeg C. High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. Innov Food Sci Emerg. **2010**; 11: 52-60.

Shiga M, Lajolo M, Filisetti M. Cell wall polysaccharides of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Cienc. Tenol. Aliment. Caminas, **2003**; 23:141-148.

Smith J, Hiu Y. Food Processing Principles and Applications. 1ra. Ed., EUA: Blackwell Publishing Ed, **2004**: 24

Solomon A, Golubowicz S, Yablowicz Z, Grossman S, Bergman M, Gottlieb H. Antioxidant activities and anthocyanin content of fresh fruits of common fig (*Ficus carica* L.). J Agric Food Chem. **2006**; 54 (20): 7717-7723.

Slatnar A, Klancar U, Stampar F, Veberic R. Effect of Drying of Figs (*Ficus carica* L.) on the Contents of Sugars, Organic Acids, and Phenolic Compounds. J Agric Food Chem. **2011**; 59:11696-11702.

Stavric, B. Antimutagens and anticarcinogens in foods. Food Chem Toxic. 1994; 32: 79-90.

Swennen K, Coutin C, Delcour J. Non-digestible oligosaccharides with prebiotic properties. Crit Rev Food Sci. **2006**; 46(6): 459-471.

Wang H, Cao G, Prior R. "Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins," J Agric Food Chem. **1997**; 45: 304-309.

Wildman R. Classifying nutraceuticals. En: Handbook of nutraceuticals and functional foods. Wildman (Ed). CRC Press. Boca Raton. FL. **2001**: 13-30.

Willett W. Balancing life-style and genomics research for disease prevention. Science, **2002**; 296: 695-698.

Velez P, Villanueva J, Leandro C. Cuantificación de antocianinas en el maíz morado (*Zea mays* L.) tratados con ultrasonido. Fenómenos de transferencia. **2008**; 3 (1): 68-73.

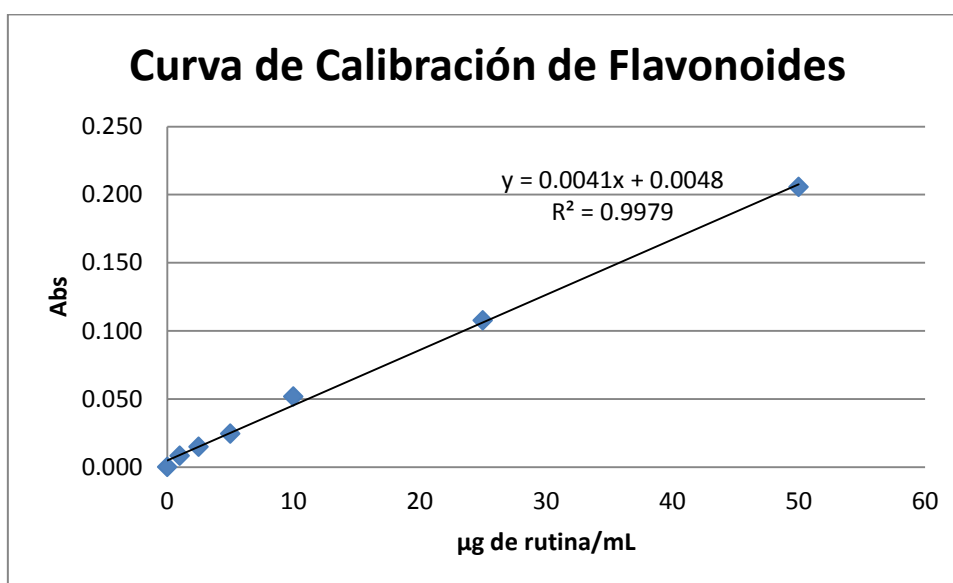
Yang X, Yu W, Ou Z, Ma H, Liu W, Ji X. Antioxidant and Immunity Activity of Water Extract and Crude Polysaccharide from *Ficus carica* L. Fruit. Plant Foods Hum Nutr. **2009**; 64: 167-173.

Young P., Jae E., Hwa C., Manoj N., Dae K., Seung S. Rihua L., Woo M., Nam C., Sung C., Tae B., Byung K. and Yunjo S. **2009**. Hexane-Soluble Fraction of the Common Fig, *Ficus carica*, Inhibits Osteoclast Differentiation in Murine Bone Marrow-Derived Macrophages and RAW 264.7 Cells. Korean J Physiol Pharmacol. **2009**; 18: 417-424.

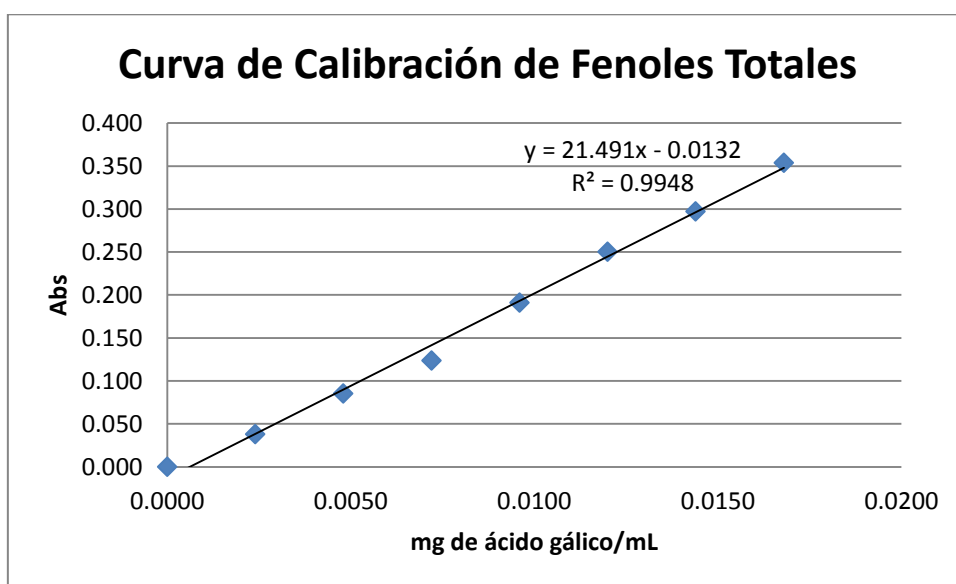
Zabetakis I, Lecler D, Kajda P. The effect of High Hydrostatic Pressure on the Strawberry Anthocyanins. J Agric Food Chem. **2000**; 48 (7):2749-2754.

ANEXOS

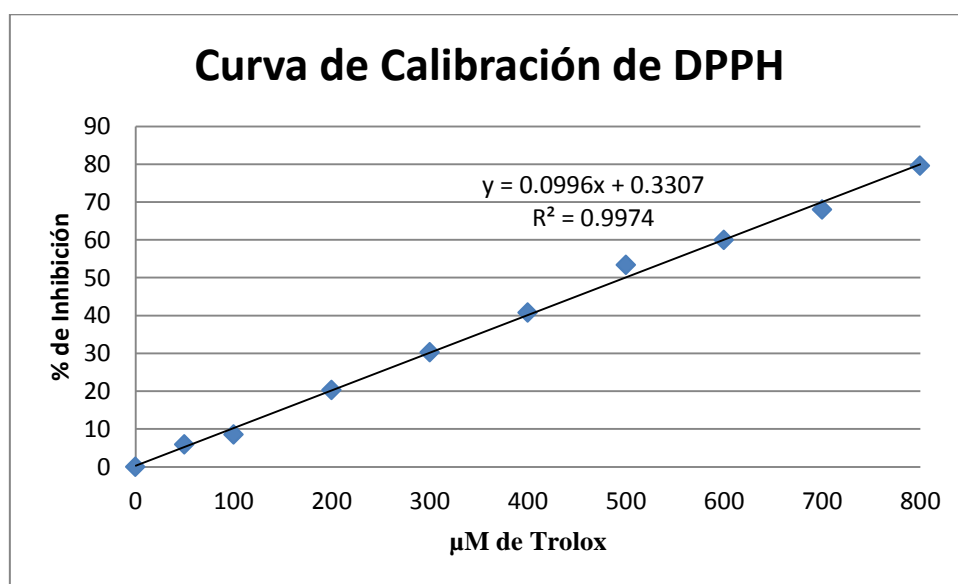
Anexo 1. Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides. Resultados expresados como μg eq. de rutina/g de muestra.



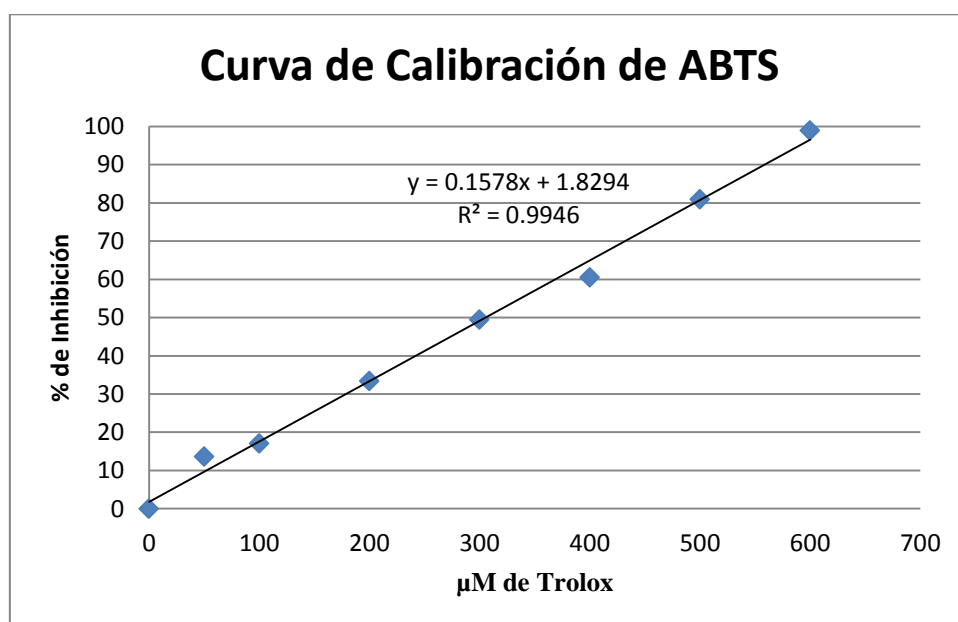
Anexo 2. Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales. Resultados expresados como μg eq. de ácido gálico/g de muestra.



Anexo 3. Curva de calibración para la determinación de capacidad antioxidante por el ensayo de DPPH. Resultados expresados como $\mu\text{mol eq. Trolox/g}$ de muestra.



Anexo 4. Curva de calibración para la determinación de capacidad antioxidante por el ensayo de DPPH. Resultados expresados como $\mu\text{mol eq. Trolox/g}$ de muestra.



Anexo 5. Curva de calibración para la determinación de capacidad antioxidante por el ensayo de FRAP. Resultados expresados como $\mu\text{mol eq. Fe}^{2+}/\text{g}$ de muestra.

