



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**“CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA FUNCIONAL DEL FRUTO DE  
XOCONOSTLE CUARESMEÑO (*Opuntia matudae*) Y EL EFECTO  
DE SU CONSUMO EN PARAMETROS BIOQUÍMICOS DE RATAS  
DIABÉTICAS”**

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER  
EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

**L.N. ANA LAURA MORALES MONTELONGO**

DIRIGIDA POR:

**DR. SALVADOR HORACIO GUZMÁN MALDONADO**

*SANTIAGO DE QUERÉTARO, QRO., DICIEMBRE DE 2009*



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
FACULTAD DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA FUNCIONAL DEL FRUTO DE XOCONOSTLE  
CUARESMEÑO (*Opuntia matudae*) Y EL EFECTO DE SU CONSUMO EN PARAMETROS  
BIOQUÍMICOS DE RATAS DIABÉTICAS**

**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

**Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

**Presenta:**

L. N. Ana Laura Morales Montelongo

**Dirigido por:**

Dr. Salvador Horacio Guzmán Maldonado

**SINODALES**

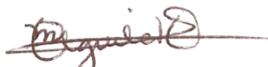
Dr. Salvador Horacio Guzmán Maldonado  
Presidente

Dra. Rosalía Reynoso Camacho  
Secretario

Dr. Edmundo Mendoza Silva  
Vocal

Dr. Candelario Mondragón Jacobo  
Suplente

Dr. Eduardo Castaño Tostado  
Suplente

  
Q.B. Magali E. Aguilar Ortiz  
Director de la Facultad

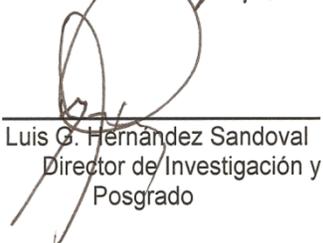
  
Firma

  
Firma

  
Firma

  
Firma

  
Firma

  
Dr. Luis G. Hernández Sandoval  
Director de Investigación y  
Posgrado

## RESUMEN

Las cactáceas han jugado un papel importante en el desarrollo de las culturas en nuestro país, y han sido ampliamente utilizadas tanto en la alimentación como en la medicina tradicional. El xoconostle cuaresmeño (*Opuntia matudae*) es un fruto ácido con posibles propiedades antidiabéticas. El propósito de este trabajo fue caracterizar el contenido químico (proteína, grasa, cenizas) y nutracéutico (polifenoles, vitamina C, betalainas y capacidad antioxidante), así como la biodisponibilidad de estos últimos compuestos en las diferentes estructuras de este fruto proveniente del estado de Hidalgo, México y Puebla, y evaluar el efecto del consumo de epidermis y pulpa de xoconostle sobre parámetros bioquímicos de ratas diabéticas (colesterol, HDL, VLDL y triglicéridos plasmáticos). En la pulpa del fruto, que presentó un pH cercano a 2.0, se encuentran cantidades importantes de polifenoles y ácido ascórbico, por otro lado, la epidermis contiene altas concentraciones de hierro y fibra insoluble, además de flavonoles como quercetina y kaempferol por lo que presenta una alta capacidad antioxidante. Las semillas del fruto son ricas en aceites y proteínas, pero no fue encontrado en ellas compuestos nutracéuticos. La composición varía dependiendo de la estructura analizada, sin embargo, la diferencia no fue significativa en la mayoría de los casos dependiendo de la localidad. Se reportó una biodisponibilidad de flavonoles y ácidos del 25% en epidermis y del 70% en pulpa. En ratas diabéticas, no se observó un efecto importante sobre el consumo de agua y alimento ni en el cambio de peso y glucemia, sin embargo, el consumo de pulpa al 0.3%, disminuyó la concentración de triglicéridos, colesterol y VLDL, y aumentó el HDL. La hipertrofia renal no fue suprimida con el consumo de xoconostle; el consumo de pulpa al 0.3% disminuyó la proteinuria hasta en un 50% en ratas diabéticas. Los resultados muestran que el consumo de xoconostle en las concentraciones utilizadas no reduce el nivel de glucosa en estadios avanzados de la diabetes, sin embargo podría ayudar a reducir las complicaciones de la enfermedad.

Palabras clave: *xoconostle cuaresmeño, biodisponibilidad, diabetes.*

## ABSTRACT

Cactaceae have played an important role in the development of cultures in our country, and have been widely used in food and in traditional medicine. The xoconostle cuaresmeño (*Opuntia matudae*) is a fruit acid that is believed to have antidiabetic properties. The purpose of this study was to characterize the chemical content (protein, fat, ash) and nutraceuticals (total polyphenols, vitamin C and antioxidant capacity betalains) the bioavailability of nutraceutical compounds of the structures of this fruit from the states of Hidalgo, Mexico and Puebla, and evaluate the effect of skin and flesh consumption of xoconostle on biochemical parameters of diabetic rats (cholesterol, HDL, VLDL and plasma triglycerides) in the fruit pulp, which presented a pH of 2.0, there are significant amounts of polyphenols and ascorbic acid; on the other hand, the skin contains high iron and insoluble fiber, as well as flavonols like quercetin and kaempferol which presented high antioxidant capacity. The seeds of the fruit are rich in oils and proteins, but was not found nutraceutical compounds. The composition varies depending on the structure analyzed, but the difference was not significant in most cases depending on location. A bioavailability of flavonols and acid from 25% were reported in skin and 70% in pulp. In diabetic rats, there was no significant effect on consumption of water and food or weight change and blood glycemia, however, after consumption of pulp at 0.3%, triglyceride, cholesterol and VLDL levels were decreased, increasing HDL. Renal hypertrophy was not suppressed with the xoconostle consumption; the consumption of pulp at 0.3% was shown to reduce proteinuria up to 50% in diabetic rats. The results show that consumption of xoconostle at the concentrations used does not reduce the glucose level in advanced stages of diabetes, however it could help to reduce complications of the disease.

Keywords: *xoconostle cuaresmeño, bioavailability, diabetes.*

# ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE CUADROS	ix
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1 Origen del género <i>Opuntia</i> .	2
2.2 Aspectos generales del xoconostle	2
2.2.1 Especies del xoconostle	2
2.2.2 Distribución geográfica del xoconostle en México	6
2.2.3 Usos y consumo del fruto de xoconostle	7
2.2.4 Propiedades medicinales del fruto de xoconostle	8
2.2.5 Estudios realizados con fruto de xoconostle	9
2.3 Alimentos funcionales	9
2.3.1 Las plantas como fuente de compuestos fitoquímico- funcionales	10
2.3.2 Clasificación de compuestos fitoquímico-funcionales	11
2.3.2.1 Betalaínas	13
2.3.2.2 Vitamina C	14
2.3.2.3 Fibra dietaria	14
2.4 Biodisponibilidad <i>in vitro</i> de compuestos fitoquímico funcionales	15
2.5 Estrés oxidativo y radicales libres	17
2.6 Mecanismos antioxidantes	18

2.7 Diabetes Mellitus	19
2.7.1 Definición y prevalencia	19
2.7.2 Clasificación de la enfermedad	19
2.7.2.1 Diabetes tipo 1	19
2.7.2.2 Diabetes tipo 2	20
2.7.3 Alteraciones metabólicas en la diabetes	21
2.7.4 Complicaciones de la diabetes mellitus	21
2.7.5 La dieta en el tratamiento de la diabetes	23
<b>III. JUSTIFICACIÓN</b>	24
<b>IV. OBJETIVOS</b>	25
4.1. Objetivos generales	25
4.2. Objetivos específicos	26
<b>V. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	26
5.1 Estrategia experimental general	27
5.2 Estrategia experimental para la caracterización del fruto de xoconostle	27
5.2.1 Material biológico	27
5.3 Análisis físico	28
5.3.1 Determinación de color (L*a*b)	28
5.4 Análisis Proximal	29
5.4.1 Determinación de proteína total	29
5.4.2 Determinación de extracto etéreo	30
5.4.3 Determinación de cenizas	31
5.4.4 Determinación de fibra insoluble, soluble y dietaria total	32
5.4.5 Determinación de carbohidratos	34
5.5 Análisis fitoquímico funcional	34
5.5.1 Determinación de Polifenoles totales y Vitamina C	34
5.5.2 Determinación de Betalaínas	37
5.6 Determinación de la Capacidad Antioxidante	38
5.6.1 Determinación de la Capacidad Antioxidante <i>in vitro</i> por el método TEAC-ABTS	38

5.6.2 Determinación de la Capacidad Antioxidante <i>in vitro</i> por el método ORAC	39
5.7 Determinación de la biodisponibilidad <i>in vitro</i> de compuestos fitoquímico-funcionales	40
5.8 Efectos antidiabéticos del xoconostle	42
5.8.1 Material químico y biológico	42
5.8.2 Inducción de diabetes con Estreptozotocina (ETZ)	44
5.8.3 Determinación de glucosa sanguínea en ayuno	45
5.8.4 Evaluación hipoglucemiante del fruto de xoconostle	45
5.8.5 Determinación de triglicéridos, colesterol total y HDL en suero	46
5.8.6 Determinación de proteína total en orina	47
5.9 Análisis Estadístico	47
<b>VI. RESULTADOS</b>	48
6.1 Análisis físico	48
6.1.1 Color del fruto de xoconostle cuaresmeño	48
6.1.2 Peso y tamaño de frutos de xoconostle cuaresmeño	49
6.1.3 °Brix de fruto de xoconostle cuaresmeño	50
6.1.4 pH de fracciones de xoconostle cuaresmeño	50
6.1.5 Proporción de fracciones respecto a peso total de xoconostle	51
6.2 Análisis proximal	52
6.2.1 Contenido de proteína total en xoconostle cuaresmeño	52
6.2.2 Contenido de extracto etéreo en xoconostle cuaresmeño	52
6.2.3 Contenido de cenizas en xoconostle cuaresmeño	53
6.2.4 Contenido de fibra total, soluble e insoluble	53
6.2.5 Contenido de carbohidratos en xoconostle cuaresmeño	54
6.2.6 Contenido de minerales en xoconostle cuaresmeño	54
6.3 Determinación de compuestos fitoquímico funcionales en xoconostle cuaresmeño	58

6.3.1 Contenido de Polifenoles Totales (PT) y Taninos condensados	58
6.3.2 Contenido de Ácido Ascórbico (AA) en xoconostle	61
6.3.3 Contenido de Betalaínas en xoconostle	62
6.4 Determinación de la capacidad antioxidante <i>in vitro</i> del fruto de xoconostle	63
6.4.1 Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> por el método TEAC y ORAC	63
6.5 Biodisponibilidad <i>in vitro</i> de compuestos antioxidantes en fruto de xoconostle	66
6.6 Efecto del consumo de xoconostle cuaresmeño ( <i>o. matudae</i> ) en ratas diabéticas	69
6.6.1 Evaluación hipoglucemiante del fruto de xoconostle en ratas diabéticas	69
6.6.2 Efecto de la ingesta de xoconostle sobre la glucemia en ratas sanas y diabéticas	70
6.6.3 Efecto del consumo de xoconostle sobre el peso corporal de ratas sanas y diabéticas	72
6.6.4 Efecto del consumo de xoconostle sobre el consumo de alimento en ratas sanas y diabéticas	73
6.6.5 Efecto del consumo de xoconostle sobre la ingesta de agua en ratas sanas y diabéticas	74
6.6.6 Efecto del consumo de xoconostle sobre el perfil lipídico de ratas sanas y diabéticas	75
6.6.7 Efecto del consumo de xoconostle sobre parámetros de daño renal en ratas diabéticas	78
<b>VII. CONCLUSIONES</b>	<b>80</b>
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>81</b>
<b>IX. ANEXOS</b>	<b>88</b>

# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	Comparación anatómica del fruto de tuna y xoconostle cuaresmeño	3
<b>2</b>	Especies del género <i>Opuntia</i> ( <i>O. joconostle</i> y <i>O. matudae</i> )	3
<b>3</b>	Distribución geográfica del cultivo de xoconostle en México	6
<b>4</b>	Cultivo de xoconostle cuaresmeño en San Martín de las Pirámides, Estado de México	7
<b>5</b>	Estructura química de las betacianinas y betaxantinas	13
<b>6</b>	Riesgo relativo de enfermedades crónicas en base al consumo diario de micronutrientes y antioxidantes	16
<b>7</b>	Estrategia general del experimento	26
<b>8</b>	Estrategia para la caracterización del fruto de xoconostle cuaresmeño	27
<b>9</b>	Distribución porcentual en peso de las estructuras de xoconostle cuaresmeño	51
<b>10</b>	Contenido de polifenoles totales en estructuras del fruto de xoconostle cuaresmeño ( <i>O. matudae</i> ) de tres localidades	60
<b>11</b>	Contenido de vitamina C en estructuras del fruto de xoconostle cuaresmeño ( <i>O. matudae</i> ) de tres localidades	61
<b>12</b>	Contenido de betacianinas y vulgaxantinas en estructuras del fruto de xoconostle cuaresmeño ( <i>O. matudae</i> )	62
<b>13</b>	Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> por el método TEAC en estructuras del fruto de xoconostle cuaresmeño ( <i>O. matudae</i> )	64
<b>14</b>	Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> por el método ORAC en estructuras del fruto de xoconostle cuaresmeño ( <i>O. matudae</i> )	65

<b>15</b>	Identificación de compuestos antioxidantes de epidermis y pulpa de xoconostle cuaresmeño	66
<b>16</b>	Biodisponibilidad <i>in vitro</i> de compuestos antioxidates en la epidermis del fruto de xoconostle	67
<b>17</b>	Biodisponibilidad <i>in vitro</i> de compuestos antioxidantes en la pulpa del fruto de xoconostle ( <i>O. matudae</i> )	68
<b>18</b>	Efecto hipoglucemiante de epidermis y pulpa de xoconostle cuaresmeño ( <i>Opuntia matudae</i> ) en ratas diabéticas	70
<b>19</b>	Efecto del consumo de epidermis y pulpa de xoconostle en los niveles de glucosa en sangre de ratas sanas y diabéticas	71
<b>21</b>	Efecto del consumo de epidermis y pulpa de xoconostle en el peso corporal de ratas sanas y diabéticas	72
<b>22</b>	Efecto del consumo de epidermis y pulpa de xoconostle en la ingesta de alimento en ratas sanas y diabéticas	73
<b>23</b>	Efecto del consumo de epidermis y pulpa de xoconostle en la ingesta de agua en ratas sanas y diabéticas	74
<b>24</b>	Efecto del consumo de epidermis y pulpa de xoconostle sobre el nivel de Triglicéridos y Colesterol en ratas sanas y diabéticas	76
<b>25</b>	Efecto del consumo de epidermis y pulpa sobre el nivel de HDL y VLDL en ratas sanas y diabéticas	77

# ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	Comparación de atributos morfológicos del fruto de especies tuneras y xoconostles ( <i>Opuntia spp.</i> )	4
<b>2</b>	Algunos atributos químicos en base seca de especies tuneras y xoconostles ( <i>Opuntia spp.</i> )	5
<b>3</b>	Clasificación de fitoquímicos funcionales	11
<b>4</b>	Composición química del alimento comercial (Zeigler) administrado a ratas	43
<b>5</b>	Grupos de experimentación para la evaluación del efecto del tratamiento de la diabetes con epidermis y pulpa de xoconostle	44
<b>6</b>	Coordenadas cromáticas en frutos de xoconostle cuaresmeño ( <i>Opuntia matudae</i> ) de tres localidades	48
<b>7</b>	Peso y tamaño de xoconostle cuaresmeño ( <i>O. matudae</i> ) de tres localidades	49
<b>8</b>	Contenido proximal de epidermis, pulpa y semillas de fruto de xoconostle cuaresmeño ( <i>o. matudae</i> ) de tres localidades productoras	56
<b>9</b>	Contenido de minerales en epidermis, pulpa y semillas de fruto de xoconostle cuaresmeño ( <i>O. matudae</i> ) de tres localidades productoras	57
<b>10</b>	Concentración de compuestos antioxidantes en la epidermis y pulpa del fruto de xoconostle	67
<b>11</b>	Parámetros de daño renal determinadas en ratas diabéticas tratadas con epidermis y pulpa de xoconostle	78

## I. INTRODUCCION

Las cactáceas han desempeñado un papel importante en el desarrollo de las culturas prehispánicas de México, involucradas desde la alimentación hasta el ámbito religioso. En México se concentra la mayor diversidad genética; a la fecha se reconocen 189 especies, de las cuales 83 se localizan en nuestro país.

En algunas regiones de México existen especies de *Opuntia*, llamadas xoconostle que en la medicina tradicional son usadas como remedio para diabetes, hipertensión, obesidad y enfermedades respiratorias. El xoconostle es considerado como un valioso alimento, es consumido como fruto fresco, como un vegetal en ensaladas y salsas, como un ingrediente principal en postres, secado en hojas como botana y en bebidas alcohólicas.

A pesar de ser un fruto de uso variado en la alimentación y utilizado en la medicina tradicional, específicamente como auxiliar en el tratamiento de la diabetes mellitus, no existe información acerca de la composición fitoquímica-funcional de la epidermis, pulpa y semilla de xoconostle producido en el país, por lo que resulta importante caracterizar dichos compuestos y su biodisponibilidad, para tener bases científicas que respalden su empleo en el tratamiento de algunas patologías, ya que se ha demostrado que algunos compuestos que pudieran estar presentes en el fruto están directamente relacionados con un mecanismo específico de protección contra diversas enfermedades.

Por lo anterior, este trabajo propone evaluar el efecto del consumo de epidermis y pulpa de xoconostle en ratas diabéticas, como es utilizado en medicina tradicional, además de determinar el contenido y biodisponibilidad *in vitro* de compuestos fitoquímico-funcionales y evaluar la capacidad antioxidante de epidermis, pulpa y semilla del fruto de xoconostle, para conocer la presencia y la distribución de dichos compuestos en el fruto.

## **II. ANTECEDENTES**

### **2.1 Origen del género *Opuntia***

Las cactáceas han desempeñado un papel importante en el desarrollo de las culturas prehispánicas de México. Se les ha involucrado desde la alimentación hasta en el ámbito religioso (Granados y Castañeda, 1991). Aún cuando su distribución se presenta desde Canadá hasta Argentina, en México se concentra la mayor diversidad genética. A la fecha se reconocen 189 especies, de las cuales 83 se localizan en nuestro país. Esto permite considerar a México centro de origen y diversificación más importante del género *Opuntia* (Bravo, 1978; Bravo-Hollis y Scheinvar, 1999). La taxonomía del género es complicada debido a que existe mucha similitud entre las diferentes especies de *Opuntia*. Esto repercute en la semejanza de caracteres entre genotipos que dificultan la separación adecuada de las especies (Bravo, 1978).

### **2.2 Aspectos generales del xoconostle**

#### **2.2.1 Especies del xoconostle**

En algunas regiones de México, hay especies de *Opuntia* llamadas xoconostle, su nombre común es derivado de las palabras Náhuatl: xoco (ácido) y nochtli (tuna) (Almanza, 1999). En la Figura 1 se muestra la diferencia anatómica del fruto de tuna y xoconostle. El xoconostle se encuentra constituido por el epicarpio que son la piel y los tejidos distantes; el mesocarpio y endocarpio que son la pulpa, y las semillas que se encuentran unidas y compactadas firmemente por un compuesto mucilaginoso (Bravo, 1978; Colunga *et al.*, 1986; Reyes-Agüero *et al.*, 2005).



a) Tuna (*Opuntia ficus-indica*)



b) Xoconostle (*Opuntia matudae*)

**Figura 1.** Comparación anatómica del fruto de tuna (a) y xoconostle cuaresmeño (b).

La planta de xoconostle tolera la sequía, debido a que presenta adaptaciones fisiológicas tales como la apertura de estomas durante la noche para evitar la transpiración por las altas temperaturas que suelen presentarse en zonas áridas y semiáridas en donde crecen. Las pencas están recubiertas por una capa cerosa, lo que le protege de la pérdida de agua, además la planta es capaz de almacenar grandes cantidades de agua, debido a que durante las escasas lluvias tiende a extender sus raíces para absorber y almacenar agua que le permita resistir los climas extremos (Nobel, 2002).



**Figura 2.** Especies del género *Opuntia* (*O. joconostle* y *O. matudae*)

Existe una gran dificultad para la diferenciación de especies debido a que se pueden presentar colores similares en diferentes especies. Hay 8 especies de xoconostle (*O. duranguensis* Britton & Rose, *O. heliabravoana* Scheinvar, *O. imbricata* DC., *O. joconostle* A. Web., *O. leucotricha* DC., *O. matudae* Scheinvar, *O. velutina* F.A.C. Weber y *O. zamudioi* Scheinvar). Éstas crecen en nopaleras silvestres en regiones semi-áridas de México, pero algunas de esas especies son también cultivadas en jardines domésticos y plantaciones comerciales (Scheinvar, 1999; Casas y Barbera, 2002).

Entre las características fisicoquímicas del fruto de xoconostle destaca su acidez, la cual se encuentra entre un pH de 3.7 a 4.5, lo que restringe su consumo, a diferencia de la tuna dulce, que presenta valores entre 5.2 a 6.0. (Bravo, 1978).

Los frutos de xoconostle tienen un tamaño menor que los de *O. ficus-indica*; estos últimos, aunque presentan grandes variaciones pueden llegar a los 250 g por fruto, lo que puede depender del cultivar, del número de frutos por cladodio y de las condiciones ambientales, aunque se considera que un fruto comercial no debiera pesar menos de 120 g (Sudzuki *et al.*, 1993; Barbera e Inglese, 1992).

**Cuadro 1.** Comparación de atributos morfológicos del fruto de especies tuneras y xoconostle (*Opuntia spp.*)

Atributo	Xoconostle	Tuna
<b>Peso de fruto (g)</b>	48.25	178.25
<b>Peso de piel (g)</b>	40.15	66.7
<b>Peso de pulpa (g)</b>	8.65	107.75
<b>Peso de semillas (g)</b>	1.6	7.0
<b>Longitud de fruto (cm)</b>	4.8	9.1
<b>Anchura de fruto (cm)</b>	4.15	6.1

Fuente: Peralta (1983), Sánchez y Figueroa (1994)

Sin duda, entre *O. joconostle* y *O. ficus-indica* existe una diferencia significativa en el contenido de sólidos solubles, que es notablemente menor (cerca de 5 %) en frutos de xoconostle y en la acidez y contenido de ácido ascórbico (76,8 mg/100 g), valores que son superiores en xoconostle respecto a los valores que presenta *Opuntia ficus-indica*. Estas características hacen que el destino industrial de los frutos difiera entre las especies (Villegas y de Gante, 1997).

**Cuadro 2.** Algunos atributos químicos en base seca de especies tuneras y xoconostle (*Opuntia spp*)

Atributo	Pulpa y semilla de tuna	Cáscara y semilla de xoconostle
pH	5.8	<b>3.3</b>
<b>Cáscara o pulpa</b>		
Proteína (%)	0.8	<b>5.1</b>
Lípidos (%)	1.1	<b>5.2</b>
Hidratos de carbono totales	49.1	----
Fibra cruda (%)	0.4	<b>12.0</b>
Pectina (%)	1.1	<b>12.7</b>
Ácido cítrico (mg/100 g)	1.2	<b>23.6</b>
Ácido ascórbico (mg/100 g)	186.7	<b>49.1</b>
Cenizas (%)	2.6	<b>17.0</b>

Fuente: Sawaya et al. (1983), Barbera e Inglese (1992), Sánchez y Ortega (1996) y Scheinvar *et al.*, (2003).

### 2.2.2 Distribución geográfica del xoconostle en México

El xoconostle (*Opuntia spp*) está presente en gran parte del centro del estado de Jalisco, en el matorral xerófilo (Arreola, 1988). Se localiza también en el estado de San Luis Potosí, en suelo de origen ígneo (Arias y Martínez, 1988); en el Estado de México, en el estado de Hidalgo y en la zona árida Queretana-hidalguense (Scheinvar, 1988).



**Figura 3.** Distribución geográfica del cultivo de xoconostle en México

El cultivo de xoconostle se centra principalmente en el estado de San Luis Potosí, en el Estado de México (Figura 4), en el estado de Hidalgo y en la zona árida queretana-hidalguense. El Consejo Mexicano de Nopal y Tuna (COMENTUNA) y el Consejo Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), en 2008, reportaron que en el Estado de México se producen 10,000 ton/año de xoconostle, cerca del 80% del cultivado en el país principalmente de la especie *O. matudae*, conocida como xoconostle cuaresmeño.



**Figura 4.** Cultivo de xoconostle cuaresmeño en San Martín de las Pirámides, Estado de México.

### **2.2.3 Usos y consumo del fruto de xoconostle**

La piel (o epidermis) de xoconostle ha sido usada como alimento en el área centro norte de México desde tiempos pre-colombinos (Sánchez y Ortega, 1996). En medicina tradicional esta fruta es usada como remedio para diabetes, hipertensión, obesidad y enfermedades respiratorias (Sánchez, 1982; Scheinvar, 1999). Debido al sabor ácido y textura succulenta, la fruta puede permanecer hasta un año en la planta aun en estado maduro. El fruto de xoconostle es considerado como un valioso alimento, que es consumido como fruto fresco, como un vegetal en ensaladas y salsas, como un ingrediente principal en postres, secado en hojas como un aperitivo, en bebidas alcohólicas y es frecuentemente usado, añadiendo este a sopas para mejorar el sabor (Almanza, 1999). También es también procesado a pequeña escala en la industria alimentaria como jalea, como fruta completa en almíbar o salmuera, en salsas y licores, entre otros productos alimentarios (Corrales y Flores, 2000).

#### **2.2.4 Propiedades medicinales del fruto de xoconostle**

En algunas regiones del país, el xoconostle es utilizado por sus propiedades medicinales, como remedio para la tos, para control la diabetes y la presión arterial, como laxante, para mitigar las molestias de la gripe y para reblandecer tumores y curar contusiones (Hernández, 1990).

El xoconostle se encuentra entre las plantas con mayor uso en México para el tratamiento empírico de la diabetes mellitus (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005), a pesar de este uso, sus principios activos y sus mecanismos de acción son aún desconocidos.

Pimienta *et al.*, (1994) evaluaron el efecto de la ingestión de frutos de *O. joconostle* en 14 individuos sanos; tomaron muestras de sangre de cada persona y obtuvieron curvas de glucosa, insulina, triglicéridos y colesterol. Los resultados mostraron que con el consumo de xoconostle, disminuyó el nivel de colesterol de las personas sometidas al estudio, pero se incrementaron sus niveles de glucosa, insulina y triglicéridos, aunque no se reportó la razón de este efecto.

La importancia que hoy se presta al bienestar y al cuidado corporal y la creciente demanda de alimentos funcionales o con «efectos curativos» ha captado el interés de la industria alimentaria, que primero estimuló tal demanda y a continuación puso en el mercado muchos productos para satisfacerla. Esto se ha hecho, en la mayoría de los casos, sin el apoyo de una rigurosa y contrastada base científica.

Por esto Rivas y García (2002) al referirse al «reforzamiento» de los alimentos con compuestos benéficos para la salud, señalan que la mayoría de los fitoquímicos necesitan estudios que confirmen sus efectos saludables.

### **2.2.5 Estudios realizados con fruto de xoconostle**

A la fecha se han realizado diferentes estudios al fruto del xoconostle, algunos de ellos como los estudios botánicos realizados por Bravo (1978) que detallan sus características morfológicas y distribución geográfica. Mayorga et al (1988) realizaron un estudio agronómico y de composición del xoconostle en el estado de Querétaro, determinaron pH, sólidos solubles, porcentaje de pectina y contenido de ácido ascórbico en frutos de *O. joconostle*; Sánchez y Figueroa (1994) analizaron 14 formas físicas (ovalado, periforme, etc.) de xoconostle de esta misma especie en Zacatecas, a las cuales determinaron pesos de fruto, piel (epidermis), semillas y pulpa; longitud y anchura del fruto; número de semillas y pH. Sánchez y Ortega (1996) realizaron análisis de la epidermis y semillas de Xoconostle Cuaresmeño en tres etapas de maduración del fruto y en dos épocas de muestreo; estos autores determinaron pH, humedad, proteína, ácidos grasos, hidratos de carbono solubles y ácidos orgánicos.

Sin embargo, hasta el momento no se cuenta con información científica acerca de la composición fitoquímica funcional que pudiera relacionarse con el efecto terapéutico que se le confiere al consumo del fruto en enfermedades como la diabetes.

### **2.3 Alimentos funcionales**

El principio “Deja que el alimento sea tu medicina y tu medicina sea tu alimento” declarado por Hipócrates hace cerca de 2500 años, toma interés nuevamente. En particular, ha habido un aumento en el interés de consumidores relacionado con el papel de alimentos específicos o componentes alimentarios fisiológicamente activos, también llamados alimentos funcionales sobre la preservación de la salud (Hasler, 2005).

La idea de los “alimentos funcionales” fue desarrollada en Japón durante la década de 1980. Surgió como una necesidad para reducir el alto costo de los seguros de vida, costo que aumentaba por la necesidad de proveer cobertura a una población cada vez de mayor edad (Anónimo, 1991).

Araya y Lutz (2003) definieron los alimentos funcionales como “alimentos cuyos componentes afectan funciones del organismo de manera positiva, promoviendo un aspecto fisiológico más allá de su valor nutritivo tradicional”.

A los compuestos funcionales de los alimentos se les está prestando una gran atención en medicina y salud pública ya que desempeñan funciones importantes en la prevención y tratamiento de algunas enfermedades degenerativas. Se ha comprobado que muchos componentes de los alimentos, carentes de valor nutritivo, especialmente los de algunas frutas, hortalizas, cereales, legumbres, especias y yerbas aromáticas son bioactivos y participan en determinadas actividades metabólicas humanas.

Su presencia en alimentos de dietas convencionales, sugiere que no son peligrosos a las concentraciones que se encuentran en sus fuentes naturales y que carecen de efectos secundarios perjudiciales aunque su bioactividad se parezca más en su mecanismo de acción, a los fármacos que a la de los nutrientes (Wrick, 1994).

### **2.3.1 Las plantas como fuente de compuestos fitoquímico-funcionales**

Existe evidencia epidemiológica, *in vivo*, *in vitro* y ensayos clínicos que indican que la dieta basada en alimentos de origen vegetal reduce el riesgo de padecer enfermedades coronarias y cáncer. En 1992, un estudio en 200 casos epidemiológicos (Block *et al.*, 1992) mostró que el riesgo de cáncer en personas que consumían una dieta alta en frutas y vegetales fue solamente de la mitad respecto de aquellos que tenían una baja ingesta de estos alimentos. Es claro que hay componentes en la dieta a base de plantas además de los nutrientes

tradicionales, los cuales pueden reducir el riesgo de cáncer. Steinmetz y Potter (1991) identificaron más de una docena de clases de químicos biológicamente activos en plantas, ahora llamados “fitoquímicos”. Actualmente es bien conocido el papel de los fitoquímicos en relación con la salud (ADA, 1995).

### 2.3.2 Clasificación de compuestos fitoquímico-funcionales

Existen cientos de compuestos fitoquímicos, muchos de ellos son similares en función o composición, por lo que son agrupados por categorías o familias. Algunas de las familias más conocidas de estos compuestos son los carotenoides, polifenoles, isoflavonas, isoprenoides, isotiocianatos, monoterpenos, flavonoides, fitoesteroles y ácidos grasos, entre otros (Deustch, 2001).

Investigaciones recientes han permitido la clasificación de fitoquímicos en grupos en base a sus funciones biológicas, así como en base a sus características físicas y químicas. En el Cuadro 3 se muestran los principales grupos de fitoquímicos, sus efectos biológicos y el alimento en que se encuentra presente.

**Cuadro 3.** Clasificación de fitoquímicos funcionales

Clase	Beneficio para la salud	Fuentes alimentarias
<b>Fenoles- Flavonoides</b>		
Antocianinas (púrpuras, azules, rojas).	Protección ocular, antisépticos, antiinflamatorios, antioxidantes, protección vascular.	Vegetales y frutas de color púrpura, azul y rojo.
Flavonoles (Quercetina, Rutina)	Protección cardiovascular, anti cancerígeno.	Cebollas, crucíferas, arándanos, uva.
Flavolones (Catequina, Epicatequina)	Anti cancerígeno, inmunoestimulantes.	Té verde, vino tinto, peras.
Flavononas (Hesperidina,	Anti cancerígeno, inmunoestimulantes.	Frutas cítricas.

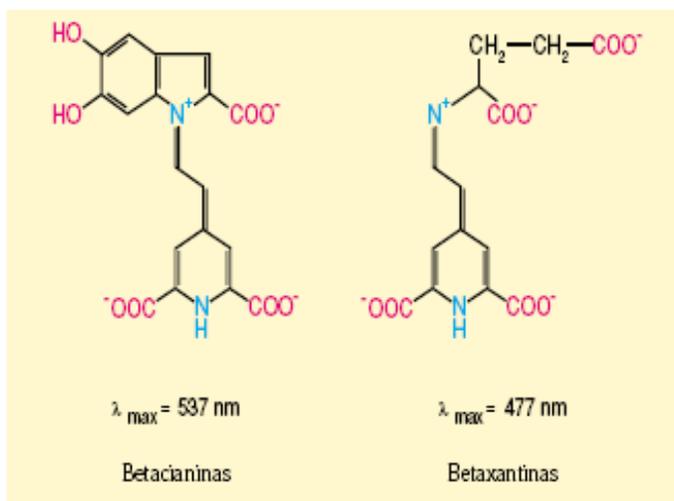
Narigina)		
Isoflavonas (Genisteína, Daidzeina)	Fitoestrógenos, preventivos del cáncer.	Soya y derivados; otras leguminosas.
Polifenoles (Taninos: polímeros de epicatequina)	Antioxidantes, anticoagulantes, antibióticos, inmunoestimulantes, reguladores de presión arterial y glucemia.	Vino tinto, lentejas, uvas negras y té verde.
Carotenoides (b-caroteno, licopeno)	Antioxidantes, disminuyen el riesgo de algunos tipos de cáncer. Inmunoestimulantes.	Vegetales y frutas amarillo-naranja-rojo. Vegetales verdes.
Fitoesteroles	Disminuyen colesterol y riesgo de cáncer, protección cardiovascular.	Vegetales amarillos y verdes, semillas y soya.
Tocotrienoles	Disminuye riesgo de cáncer de mama, disminuye colesterol.	Cereales.
Lignanós (fitoestrógenos)	Débiles antiestrógenos, disminuye riesgo de cáncer.	Semillas de lino, cereales y derivados integrales; vegetales y frutas; algunas legumbres.
Ácido fítico (fitatos)	Disminuye glucemia y riesgo de cáncer	Capas externas de semillas de cereales, legumbres, frutos secos y semillas oleaginosas.
Fibra dietética		
Soluble	Disminuye colesterol y glucemia	Avena integral y salvado de avena.
Insoluble	Estimula peristaltismo intestinal	Salvado, cereales enteros o sus derivados integrales; vegetales.

Fuente: Thomson *et al.*, 1999

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe sobre todo a las propiedades redox, que les permite actuar como agentes reductores, donadores de hidrógeno, bloqueantes del oxígeno en singulete y captadores de radicales OH $\cdot$  (Murcia y Martínez Tomé, 2000). Los compuestos fenólicos tienen un potencial de quelación, es decir, una alta capacidad de “secuestrar” a los radicales libres de metales pesados. Velioglu *et al.*, (1998) observaron que el coeficiente de correlación entre el contenido de compuestos fenólicos totales y las actividades antioxidantes estaban relacionadas de gran manera, es decir, a mayor contenido de compuestos fenólicos, la capacidad antioxidante del alimento era mayor.

### 2.3.2.1 Betalainas

Entre los metabolitos característicos encontrados en frutos de *Opuntia* se han señalado a las betalainas, compuestos solubles en agua derivados del ácido betalámico que pueden presentar actividad antiviral y antibacteriana (Viloria-Matos y Moreno-Álvarez, 2001). Las betalainas comprenden dos tipos de pigmentos hidrosolubles: las betacianinas (pigmentos rojo-violetas) y las betaxantinas (pigmentos amarillos) (Piattelli e Imperato, 1969).



**Figura 5.** Estructura química de las betacianinas y betaxantinas.

Las betalaínas y las antocianinas no se encuentran al mismo tiempo en las plantas, ya que, como lo reportan Nobel y Gibson (1990), las plantas que sintetizan betalaínas han perdido la habilidad de convertir flavonoides en antocianinas, porque no presentan la enzima que cataliza una de las reacciones cruciales para la síntesis de antocianinas. Las betalaínas se encuentran en 10 familias de vegetales y de éstas solamente dos familias son comestibles por el ser humano; la Chenopodiaceae (Remolacha) y Cactaceae (el cactus o nopal y la pitaya) (Stintzing *et al.*, 2001b).

Fisiológicamente, contribuyen a evitar la degradación de la clorofila en condiciones de temperatura y radiación solar extremas y, de la misma forma, a reducir los efectos oxidantes de los radicales libres. Actualmente, estos pigmentos están llamando la atención por su actividad antioxidante en modelos de oxidación lipídica, por su capacidad de atrapar radicales alcohólico y peróxido. También se ha demostrado que la betanina (una de las betacianinas principales) inhibe la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, y a baja concentración tiene mayor capacidad antioxidante que la catequina y el  $\alpha$ -tocoferol (Stintzing *et al.*, 2001a).

### **2.3.2.2 Vitamina C**

La vitamina C es un compuesto hidrosoluble que actúa como agente reductor en reacciones de hidroxilación o reacciones de oxidación-reducción. Se considera como el agente reductor más reactivo en el tejido orgánico, además de ser un nutriente esencial para el ser humano (Fennema, 1996). La vitamina C puede prevenir la carcinogénesis y aterogénesis por interferencia pasiva con el daño oxidativo del ADN y las lipoproteínas (Johns y Romeo, 1997).

### **2.3.2.3 Fibra dietaria**

La fibra dietaria es la porción comestible de los vegetales que las enzimas gastrointestinales humanas no pueden digerir. (Morais *et al.*, 1999).

La fibra dietaria se ha relacionado con la prevención y/o tratamiento de numerosas enfermedades y procesos que afectan al tubo digestivo, Así, la fibra no sólo guarda relación con los mecanismos del tránsito intestinal de los alimentos, sino con toda una serie de procesos fisiológicos, como es interferir en la absorción de ciertos nutrientes como la glucosa o el colesterol. Desde las observaciones confirmadas por Burkitt (1973) se sugirió que una alimentación alta en fibra y de carbohidratos no refinados protegía frente a numerosas enfermedades propias de los países occidentales como son el cáncer de colon, la enfermedad diverticular, el estreñimiento y la obesidad, entre otros.

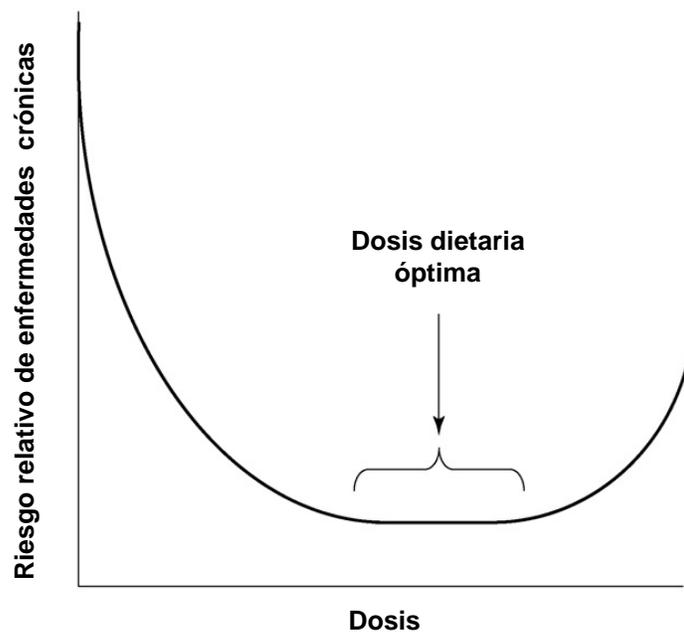
Los mecanismos de acción por el que la fibra parece mejorar el control glicémico e insulinémico, serían: a) la fibra soluble retarda el vaciado gástrico, consiguiendo así un retraso en la acción de las amilasas pancreáticas, y con ello, una absorción más lenta de carbohidratos. Este efecto depende del grado de viscosidad de la fibra, de manera que las más viscosas, son las más efectivas; b) la producción de AGCC, en especial de propionato, disminuiría la producción hepática de glucosa, influyendo en la regulación de la neoglucogénesis, disminuyendo, por tanto, las necesidades de insulina, y c) una baja en la resistencia periférica de la insulina, lo que significa que el nivel de glucosa en sangre estaría regulado por acción de la fibra soluble, lo que permitiría la óptima utilización de la insulina secretada (Anónimo, 2001).

#### **2.4 Biodisponibilidad *in vitro* de compuestos fitoquímico-funcionales**

Una dieta rica en frutas y vegetales es asociada con un riesgo reducido de cáncer y enfermedades cardiovasculares. El efecto protector ha sido atribuido a la actividad de los antioxidantes en la prevención del daño oxidativo de biomoléculas causado por la generación de radicales libres generados durante el metabolismo aeróbico (Hertog *et al.*, 1997).

Muchos fitoquímicos y algunas vitaminas tienen actividad antioxidante *in vitro*, por lo cual son llamados regularmente como “antioxidantes”. Estos han sido relacionados con efectos benéficos a la salud, pero también un exceso de lo “bueno” puede resultar malo, como muestran datos donde se examina el efecto de la ingestión de altas dosis de mezclas de estos antioxidantes o compuestos individuales, los cuales no ejercen efectos benéficos a la salud, incluso, se ve aumentado el riesgo de padecer enfermedades coronarias (Miller et al 2005).

La controversia acerca de qué cantidad es benéfica está estrechamente relacionada con la biodisponibilidad de estos antioxidantes. Muchos efectos de micronutrientes en general y antioxidantes en particular siguen una curva en forma de U (Figura 6), con bajos niveles o deficiencias causa un aumento en el riesgo de enfermedades crónicas, y un nivel óptimo da un efecto protector. Niveles más altos, causan nuevamente mayor riesgo de desarrollar enfermedades crónicas (Holst & Williamson, 2008).



**Figura 6.** Riesgo relativo de enfermedades crónicas en base al consumo diario de micronutrientes y antioxidantes

Sin embargo, con el consumo oral, la ingesta de micronutrientes y fitoquímicos en el organismo no es completa, y seguramente un porcentaje no es absorbido. Para cuantificar la cantidad que es realmente absorbida, distribuida al tejido, metabolizada y eventualmente excretada, fue introducido el término “biodisponibilidad”. La biodisponibilidad describe la concentración de un compuesto o sus metabolitos que llega al órgano diana. La Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) define la biodisponibilidad como: “La proporción y extensión en la que la fracción terapéutica es absorbida y se vuelve disponible en el sitio de acción”. En nutrición, sin embargo, el término “biodisponibilidad relativa” es comúnmente usado para describir biodisponibilidad de un compuesto de una fuente comparado con otra (Scholz et al, 2007).

Con una dieta regular, una persona consume varios gramos de fitoquímicos diariamente. Sin embargo, debido al gran número de compuestos estructuralmente diferentes, la biodisponibilidad y absorción de algunos fitoquímicos es limitada, la presencia del compuesto o sus metabolitos en los tejidos es relativamente baja (Manach *et al.*, 2005) .

En años recientes, se ha visto un creciente incremento en la investigación sobre la absorción y metabolismo de flavonoides, particularmente flavonoles. Las evidencias sugieren que los flavonoles conjugados son absorbidos en mayor medida que los aglicones. Se cree que los compuestos antioxidantes activos no están en los flavonoles dietarios por sí, sino en sus metabolitos (Crozier *et al.*, 2000).

## **2.5 Estrés Oxidativo y radicales libres**

Se ha estimado que aproximadamente un 2 % del oxígeno consumido por un organismo normal va a la formación de especies reactivas del oxígeno (EROs) de las cuales varias son radicales libres. Cuando la generación de EROs sobrepasa las numerosas barreras de defensa antioxidantes del organismo, se

produce daño por lesión química de las estructuras biológicas y a este proceso le denominamos estrés oxidativo (Chance, 1979).

Las principales especies reactivas del oxígeno que se generan durante la respiración son el anión superóxido ( $O_2^-$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). Éstas a su vez dan origen al radical hidroxilo  $OH^-$ . El anión superóxido y el radical hidroxilo son especies que poseen uno o más electrones desapareados, esto los hace sumamente reactivos pudiendo provocar reacciones en cadena (Rodríguez *et al.*, 2001).

En situación patológica se incrementan sustancialmente éstas especies químicas, provocando una alteración orgánica (estrés oxidativo) caracterizado por el daño a biomoléculas, viéndose implicadas en la génesis o exacerbación de numerosos procesos en el aparato cardiovascular (aterosclerosis, cardiopatía alcohólica), sistema neurológico (enfermedad de Parkinson, Alzheimer, traumatismos craneales), aparato ocular (catarata, fibroplasia), aparato respiratorio (cáncer de pulmón), riñón (nefrotoxicidad por metales), artritis reumatoidea (Elejalde, 2001).

## **2.6 Mecanismos antioxidantes**

Si bien los organismos vivos soportan multitudinarios factores endógenos y exógenos de estrés oxidativo, también poseen numerosos sistemas de defensa antioxidantes regulables, enzimáticos (superóxido dismutasa, la catalasa, la GSH-peroxidasa, las quinonas reductasas y hemoxigenasa) y no enzimáticos (Se, Zn, vitaminas C y E y carotenoides) que conforman la defensa antioxidante frente a las EROS (Kim *et al.*, 2003).

## **2.7. DIABETES MELLITUS**

### **2.7.1 Definición y prevalencia**

La diabetes mellitus es un síndrome que manifiesta un trastorno metabólico que cursa con hiperglicemia, es decir, un incremento persistente en los niveles basales de glucosa (>126 mg/dl ml ó 7.0 mmol/l), la que a su vez es consecuencia de una deficiencia en la secreción de insulina o en el efecto biológico de la misma (Ramos-Rodríguez, 1994). La diabetes mellitus es una enfermedad crónica y degenerativa que incapacita al cuerpo para metabolizar o usar eficazmente los carbohidratos, las proteínas y las grasas (Islas-Andrade *et al.*, 2005). Desde el punto de vista epidemiológico, la frecuencia, prevalencia y mortalidad de la diabetes señalan con claridad que se trata de un problema de salud pública (Ramos-Rodríguez, 1994).

La diabetes es un problema importante de salud pública en México. En los últimos años, las complicaciones propias de ésta enfermedad han llegado a ocupar el primer lugar como causa de muerte con 11% del total de las defunciones de ambos sexos. La población en México de personas diabéticas se encuentra entre los 6.5 y los 10 millones (prevalencia nacional de 10.7% en personas entre 20 y 69 años). De este total, 2 millones de personas todavía no han sido diagnosticadas ([www.fmdiabetes.com](http://www.fmdiabetes.com)). Actualmente, México ocupa el noveno lugar a nivel mundial por incidencia de diabetes, y se espera que en los próximos años el número de pacientes diabéticos aumente.

### **2.7.2 Clasificación de la enfermedad**

#### **2.7.2.1 Diabetes Tipo 1**

La diabetes mellitus tipo 1, también es conocida como diabetes mellitus insulino dependiente (DMID) o diabetes juvenil.

Este tipo de diabetes se debe principalmente a la destrucción de las células  $\beta$  pancreáticas encargadas de la secreción de insulina, por lo que el paciente requiere de insulina para sobrevivir. Los trastornos autoinmunitarios pueden contribuir a destruir las células  $\beta$  de muchos pacientes con este tipo de diabetes, sin embargo, la herencia desempeña también una función primordial que establece la vulnerabilidad de estas células a su destrucción (Flores *et al.*, 2005).

La falta de insulina reduce la eficacia en el transporte de glucosa en la periferia y aumenta la producción de ésta en el hígado, incrementando los valores plasmáticos de glucosa hasta 300 y 1200 mg/dL. Estas concentraciones de glucosa plasmática ejercen numerosos efectos en todo el organismo (Bennett y Knowler, 2001).

#### **2.7.2.2 Diabetes Tipo 2**

Este tipo de diabetes se presenta con más frecuencia que la tipo 1 y supone del 80 al 90% de los casos de diabetes. Se caracteriza por alteraciones en la acción y secreción de la insulina (Bennett y Knowler, 2001). Los tejidos sensibles a la insulina, como musculo y tejido adiposo, son resistentes a las acciones metabólicas de la insulina, estado conocido como resistencia a la insulina. A diferencia de la diabetes tipo 1, la diabetes tipo 2 se asocia con un aumento de los niveles plasmáticos de insulina. Esto se debe a una respuesta compensatoria de las células beta-pancreáticas por el descenso en el uso y deposito de carbohidratos y el incremento consiguiente de glucosa periférica. Los niveles elevados de insulina circulante no son suficientes para controlar los niveles de glucosa en sangre, debido a la resistencia a la insulina que presentan las células de este tipo de pacientes (Flores *et al.*, 2005).

En las últimas etapas de la enfermedad, las células beta-pancreáticas se agotan y no son capaces de producir suficiente insulina para evitar una hiperglicemia mas intensa, sobre todo después del consumo de carbohidratos (Flores *et al.*, 2005). En etapas avanzadas, la diabetes tipo 2 se asocia con un

aumento en el deterioro de las células beta-pancreáticas (Bennett y Knowler, 2001) y a largo plazo el paciente con diabetes tipo 2 podría presentar características clínicas similares a la diabetes tipo 1.

### **2.7.3 Alteraciones metabólicas en la diabetes**

La diabetes tipo 1 se manifiesta inicialmente con tres secuelas esenciales: 1) hiperglicemia, 2) aumento del metabolismo de las grasas con fines energéticos y de la síntesis de colesterol en el hígado y 3) reducción de las proteínas musculares (Flores *et al.*, 2005). En la diabetes, la utilización de glucosa es baja debido a que la insulina, el estímulo hormonal para la absorción y uso de la glucosa, es deficiente. Como consecuencia de ello, la glucosa está presente en cantidades excesivas. Las células hepáticas intentan generar más glucosa mediante la estimulación de la gluconeogénesis. La mayor parte de los sustratos proceden de los aminoácidos, que a su vez provienen en gran parte de la degradación de las proteínas musculares. La insulina modifica la disponibilidad de sustratos gluconeogénicos que son liberados desde el músculo y el tejido adiposo. Cuando hay niveles bajos de insulina, existe una liberación de proteínas y triglicéridos del músculo y tejido adiposo, respectivamente, lo que lleva a un incremento en los niveles de sustratos de la gluconeogénesis, tales como alanina y ácidos grasos libres (Bennett y Knowler, 2001). La glucosa no puede reutilizarse para volver a sintetizar aminoácidos o ácidos grasos, por lo que los pacientes diabéticos pueden perder peso aunque consuman lo que en condiciones normales y sanas sería una cantidad de calorías adecuada para la alimentación. El uso excesivo de grasa por el hígado durante periodos prolongados de tiempo determina que la sangre circulante se sature de colesterol y que las paredes arteriales lo depositen (Mathews, 2002).

### **2.7.4 Complicaciones de la diabetes mellitus**

Los niveles elevados de glucosa (hiperglicemia), que caracterizan a la diabetes, eventualmente generan una serie de complicaciones, que de no ser

tratadas, provocan la muerte (Reusch, 2003). Dentro de las complicaciones más comunes en la diabetes mellitus se encuentran las siguientes:

### **1) Complicaciones macro-vasculares:**

#### a) Aterosclerosis

La aterosclerosis es una enfermedad en la cual las paredes de las arterias se hacen más gruesas y duras. En un tipo de aterosclerosis, la grasa se acumula en el interior de las arterias y hace más lento el flujo de sangre y afecta la irrigación en distintos tejidos y órganos, provocando infarto al miocardio, apoplejía o amputación de alguna extremidad en el paciente (Wei *et al.*, 1998). Dicha complicación vascular representa la causa directa de muerte en más del 50 % de los pacientes diabéticos, ya que favorece lesiones vasculares miocárdicas, cerebrales, renales y la aparición de isquemia a nivel de miembros inferiores, que promueven la aparición de infecciones secundarias y gangrena (Wei *et al.*, 1998).

### **2) Complicaciones micro-vasculares:**

#### b) Retinopatía diabética

La retinopatía diabética es una complicación ocular, causada por el deterioro de los vasos sanguíneos que irrigan la retina del ojo. Estos vasos sanguíneos debilitados pueden dejar salir líquido o sangre, formar ramas frágiles en forma de cepillo y agrandarse en ciertos lugares. Cuando la sangre o el líquido de los vasos lesionan o forman tejidos fibrosos en la retina, la imagen enviada al cerebro se hace borrosa, si esta alteración no es tratada, puede causar ceguera.

#### c) Neuropatía diabética

La neuropatía diabética es una complicación común de la diabetes, en la cual se presenta daño a los nervios como resultado de una hiperglicemia o por la

disminución del flujo sanguíneo, el cual puede ser temporal o permanente. La neuropatía puede afectar nervios craneales o de la columna vertebral y sus ramificaciones tienden a desarrollarse por etapas (Ginsberg, 2000).

#### d) Nefropatía diabética

La nefropatía es una enfermedad secundaria de la diabetes en la cual el riñón pierde la capacidad para funcionar apropiadamente. Esta condición se caracteriza por los niveles elevados de albúmina y presencia de proteína en la orina. La nefropatía diabética es la causa más común de insuficiencia renal crónica (Scobie, 2002).

### **2.7.5 La dieta en el tratamiento de la diabetes**

Dentro de la dieta, se ha observado que algunos alimentos, como el frijol, la chaya y el nopal se han utilizado para el tratamiento de la diabetes. En México, los frutos de las cactáceas también se han utilizado tradicionalmente para el tratamiento de esta enfermedad. Los frutos de la especie *Opuntia* han sido ampliamente recomendadas para disminuir los niveles de glucosa en sangre (Trejo-González *et al.*, 1996). Dentro de los frutos de las cactáceas, el fruto de xoconostle es una fuente potencial de vitamina C, (COMENTUNA, 2008).

Pimienta *et al.*, (1994) evaluaron el efecto de la ingestión de xoconostle sobre la glicemia y los lípidos en suero, mientras que Rojas-Serrano (2004) en su tesis profesional evalúa el efecto del xoconostle en la disminución de colesterol total en sangre en ratas, ambos estudios confieren propiedades farmacéuticas al xoconostle, Alonso-Castro (2007) encontró que el xoconostle posee un marcado efecto estimulante sobre la incorporación de glucosa por los adipositos 3T3 acompañado por un potente efecto pro-adipogénico, sin embargo, a la fecha se desconocen los compuestos presentes en el xoconostle que pudieran estar relacionados con este efecto terapéutico.

### **III. JUSTIFICACIÓN**

El xoconostle es un fruto poco explotado, que se conserva por largo tiempo en la planta, el cual es consumido como aderezo, condimento o como parte de los ingredientes de platillos de algunas regiones del país, o bien, procesado para la elaboración de conservas, jaleas, mermeladas y dulces cubiertos.

El fruto fresco de xoconostle es utilizado en diferentes regiones del país como parte, específicamente, del control de glucosa y colesterol en plasma, entre otros, sin embargo, hasta el momento no se han realizado estudios de los compuestos nutracéuticos del fruto y su distribución en las estructuras consumidas (epidermis y pulpa) que pudieran estar relacionados con la prevención de las enfermedades antes mencionadas.

Existen compuestos fitoquímicos que están relacionados con la prevención del estrés oxidativo. La diabetes y el estrés oxidativo parecen relacionarse, existen evidencias que demuestran que los niveles elevados de glucosa en la sangre producen la autoxidación de esta misma, lo que puede contrarrestarse con el consumo de compuestos antioxidantes presentes en frutas y vegetales.

Por ello es importante el desarrollo de este proyecto, con el análisis proximal, fitoquímico-funcional y la biodisponibilidad de estos compuestos en epidermis, pulpa y semilla, y el estudio del efecto del consumo de xoconostle en ratas sanas y diabéticas se podrá contribuir al conocimiento del efecto que ejerce el consumo de este fruto sobre las principales complicaciones de la diabetes.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Caracterizar los compuestos nutraceuticos del fruto de xoconostle y el efecto de su consumo en parámetros bioquímicos de ratas diabéticas.

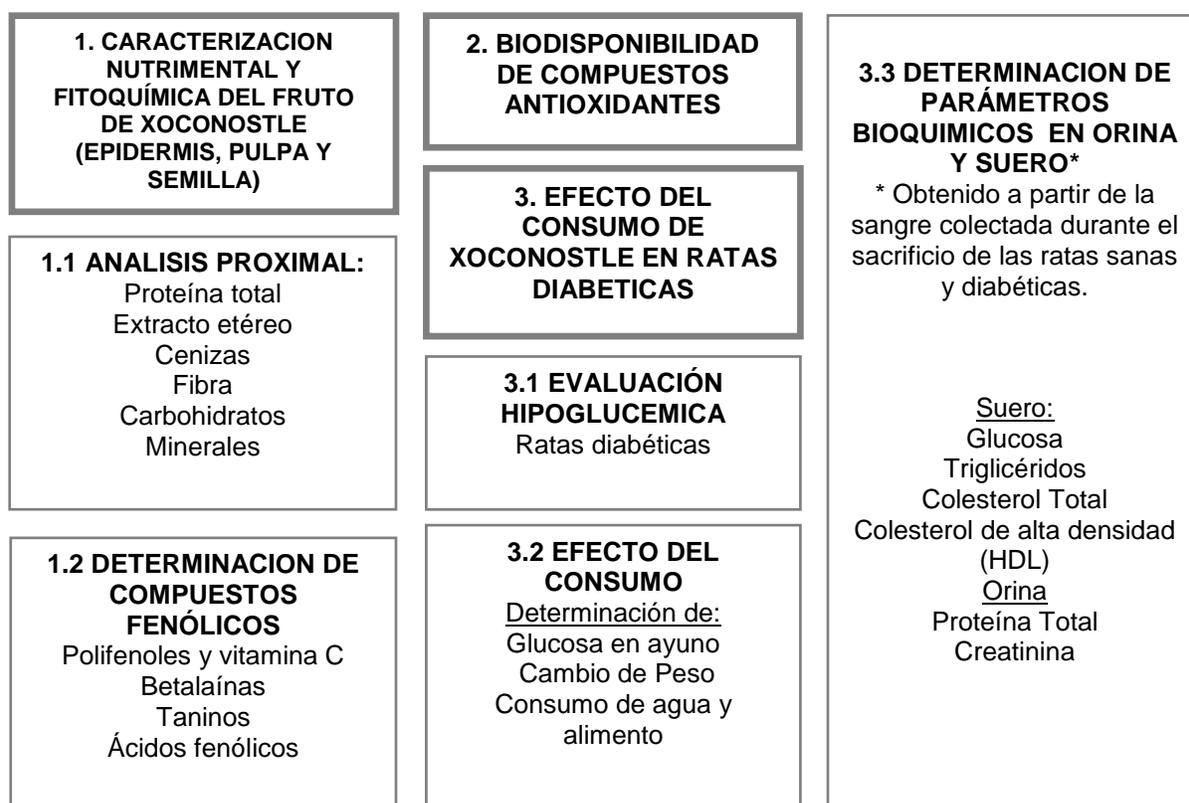
### 4.2 Objetivos específicos

1. Cuantificar el contenido de betalaínas y compuestos fenólicos presentes en epidermis, pulpa y semilla de xoconostle de tres localidades productoras.
2. Determinar la capacidad antioxidante *in vitro* del fruto de xoconostle por la técnica ABTS y ORAC.
3. Determinar la biodisponibilidad *in vitro* de los compuestos nutraceuticos presentes en epidermis, pulpa y semilla del xoconostle en estudio.
4. Evaluar el efecto del consumo de epidermis y pulpa de fruto de xoconostle sobre el perfil lipídico y algunos signos de daño renal (proteinuria y peso relativo de riñones) en ratas diabéticas.

## V. METODOLOGIA Y MÉTODOS

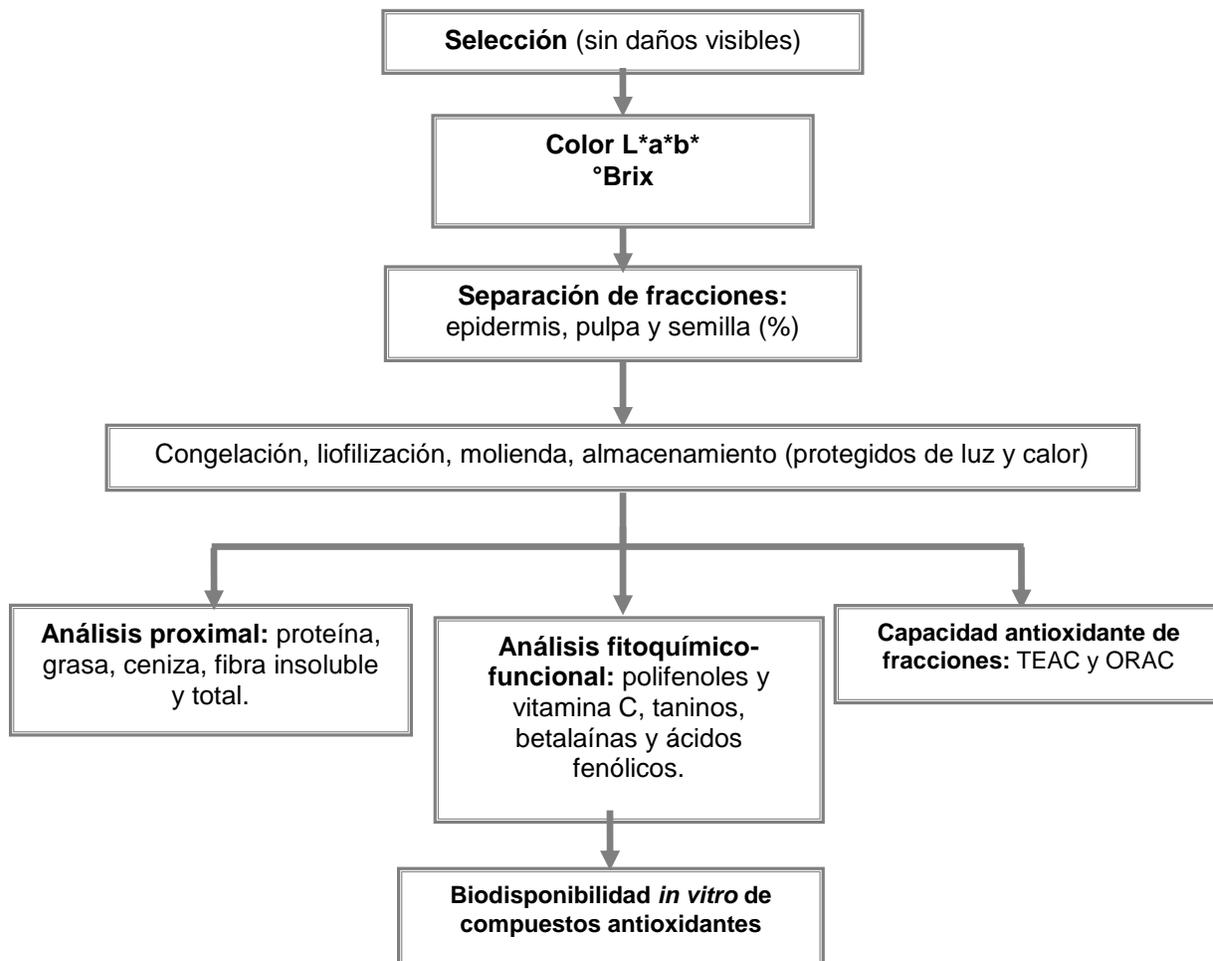
### 5.1 Estrategia experimental general

En la Figura 7 se muestra la estrategia general del experimento, el cual constó de tres áreas, la primera la caracterización química y fitoquímica funcional de cada una de las estructuras del fruto, previamente liofilizadas. La segunda etapa es el estudio de la biodisponibilidad de compuestos antioxidantes de las estructuras del fruto y la tercera la evaluación del consumo de las estructuras del fruto en ratas diabéticas.



**Figura 7.** Estrategia general del experimento

## 5.2. Estrategia experimental para la caracterización del fruto de xoconostle



**Figura 8.** Estrategia para la caracterización del fruto de xoconostle cuaresmeño.

### 5.2.1 Material Biológico

Los frutos fueron colectados en zonas de cultivo ubicadas en:

**San Martín de las Pirámides, Edo. de México:** población localizada al noreste del Estado de México, entre las coordenadas latitud 19° 37' 05" mínima y 19° 46' 20" máxima; longitud 98° 45' 40" mínima y 98° 53' 27" máxima a una altura de 2,300 metros sobre el nivel medio del mar. Fecha de colecta: Abril de 2008.

**Pachuca, Hidalgo.** Capital del Estado de Hidalgo, entre las coordenadas 21°24' al norte; al sur 19°36'; al este 97°58' y 99°53' de longitud este con una altura máxima de 2395 metros sobre el nivel medio del mar. Fecha de colecta: Junio de 2008.

**Villanueva, Puebla.** Población perteneciente al municipio de Acatzingo, con latitud 10.05- 19°3'0N, y longitud 97.72- 97°43'0N. Altura máxima de 2140 metros sobre el nivel del mar. Fecha de colecta: Agosto de 2008.

Los frutos fueron colectados basados en el color rosado de la epidermis, ya que no existen datos de referencia para conocer la madurez del fruto; fueron llevados al Laboratorio de Alimentos del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Bajío-Celaya). Se seleccionaron sin daños visibles, se lavaron y se separaron las estructuras, registrando el peso total del fruto y la proporción de epidermis, pulpa y semillas. Se almacenó a -80°C, se liofilizaron, molieron y almacenaron por separado. La Figura 8 muestra la estrategia de experimentación para llevar a cabo la caracterización nutrimental y fitoquímica de las estructuras del fruto.

### **5.3. Análisis físico**

#### **5.3.1 Determinación de color (L\*a\*b)**

Para la determinación de color se utilizó un colorímetro CR-400/410 Konica Minolta, tomando como base el sistema CIE-Lab, usando el estándar blanco, el iluminante C y el observador a 10°. La medición se realizó directamente sobre la epidermis del fruto y el equipo proporcionó valores L\*a\*b\* para calcular el ángulo de matiz o tono ( $h^\circ$ =valor Hue) y la pureza o saturación (Chroma) o cromaticidad (valor C\*), así como, la diferencia neta de color ( $\Delta E$ ).

## **5.4 Análisis Proximal**

### **5.4.1 Determinación de proteína total**

El contenido de proteína cruda se determinó de acuerdo a la técnica descrita por Villegas y Mertz, (1971) por el método Micro-Kjeldahl.

El método Kjeldahl se basa en la combustión en húmedo de la muestra por el calentamiento con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores metálicos y de otro tipo para reducir el nitrógeno orgánico de la muestra hasta amoníaco, el cual queda en solución en forma de sulfato de amonio. El digerido, una vez alcalinizado, se destiló en forma directa o por arrastre de vapor para desprender el amoníaco que es retenido y posteriormente se tituló con un álcali estándar para dar el contenido de nitrógeno orgánico.

Se pesó 0.1 g de muestra seca y molida en un tubo para digestión. Luego se le agregó a cada tubo 4 mL de mezcla de ácidos: sulfúrico-salicílico. Los tubos, tapados con parafilm, se dejaron en reposo junto con la mezcla por un lapso de 18 horas. Al término del reposo se les agregaron 0.6 g de mezcla catalítica de selenio y perlas de vidrio. La nueva mezcla se dejó digiriendo en una termoplancha a una temperatura de 180 °C durante una hora. Después se aumentó la temperatura calentando hasta que las muestras alcanzaron un color verde claro. Terminada la digestión se dejaron enfriar las muestras para su posterior destilación.

Para la destilación se agregó a cada tubo 29 mL de agua destilada, pero en pequeñas porciones para enjuagar los tubos y evitando que pudieran quedar residuos de muestra que signifiquen pérdidas. Todo el volumen resultante, tanto de las muestras digeridas con el agua, se depositaron en un tubo para destilador.

Por otro lado, en un matraz Erlenmeyer con capacidad de 250 mL se adicionaron 5 mL de solución indicadora de ácido bórico y se colocó debajo del

condensador del equipo de destilación. Al tubo que contiene la muestra se le agregaron 20 mL de hidróxido de sodio al 10 N y se colocó dentro del destilador. El proceso de destilación terminó cuando el matraz receptor contenía 75 mL del destilado. Finalmente se tituló la muestra con ácido sulfúrico al 0.01 N, dando por terminada la titulación cuando el color del destilado viró de verde a rosa claro.

Para el cálculo de proteína total se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Proteína} = \%N \times 6.25$$

Donde:

$$\% N = \left[ \frac{(V - V_o) \times N \times Meq}{M} \right] \times 100$$

V = volumen (mL) de ácido sulfúrico gastado en la titulación de la muestra

V<sub>o</sub> = volumen (mL) de ácido sulfúrico gastado en la titulación del blanco

N = normalidad del ácido sulfúrico

Meq = miliequivalentes del N<sub>2</sub> (0.014 g)

M = peso de la muestra (g)

Nota: 1 mL de ácido sulfúrico al 0.01 N = 0.14 mg de N-NH<sub>4</sub>

#### 5.4.2 Determinación de extracto etéreo

El contenido de grasa, también llamado extracto etéreo, se determinó de acuerdo a la metodología descrita por la AOAC (2000).

La grasa cruda formada principalmente por lípidos y otras sustancias que no lo son (ejemplo, clorofila, pigmentos como carotenos y xantofilas, compuestos orgánicos volátiles, vitaminas liposolubles, etc.) tiene el carácter físico común de ser soluble en ciertos disolventes. La denominación de “extracto etéreo” es debida a la utilización de hexano como disolvente.

Se pesaron en papel filtro seco (y con su peso previo) aproximadamente 2 gramos de muestra seca y molida anotando el peso exacto y destarando el peso del papel. Posteriormente se colocó la muestra en un cartucho para extractor Goldfish y se agregaron 60 mL de hexano para cada muestra en el recipiente respectivo del mismo equipo extractor. El proceso duró aproximadamente dos horas. Al finalizar el proceso, el cartucho se colocó en el horno a una temperatura de 130 °C por una hora. Al término del secado, el cartucho se depositó en un desecador y al cabo de dos horas de enfriamiento se pesó el cartucho correspondiente.

El contenido de extracto etéreo se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$(\%) \text{ Extracto etéreo} = \left[ \frac{P_i - P_f}{P_i} \right] \times 100$$

Donde:

Pi = Peso inicial de la muestra seca (g)

Pf = Peso final de la muestra desengrasada (g), descartando el peso del papel

#### **5.4.3 Determinación de cenizas**

El contenido de cenizas se determinó de acuerdo al método descrito por la AOAC (2000).

La ceniza de un producto alimentario es el residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica. La cantidad de cenizas representa el contenido total de minerales en los alimentos.

Se obtuvo el peso seco de los crisoles de porcelana a usar. En cada crisol se pesó un gramo de muestra. Posteriormente el crisol se colocó sobre un mechero para calcinar la muestra contenida. Terminada la calcinación, los crisoles se introdujeron en una mufla a la temperatura de 500 °C hasta que las cenizas se tornaron de color blanco (este proceso duró aproximadamente tres horas).

Después, hasta que la temperatura de la mufla descienda a 100 °C, los crisoles se depositaron en un desecador y se dejaron ahí durante su enfriamiento por dos horas. Finalmente se pesaron las muestras restando el peso de los crisoles.

Para el cálculo de cenizas se multiplicó el peso del residuo final por cien y el resultado se dividió entre la cantidad inicial de la muestra antes de incinerar.

#### **5.4.4 Determinación de fibra insoluble, soluble y dietaria total**

La fibra dietaria es la parte del alimento que no es afectada por el proceso digestivo en el cuerpo, es decir, incluye a la totalidad de todos los compuestos, fibrosos o no, que no son digeribles por las enzimas del intestino humano. Sólo una pequeña cantidad de fibra es metabolizada en el estómago y el intestino; el resto pasa a través del tracto gastrointestinal y hace parte de las heces. La fibra es muy importante para una dieta saludable y puede ser una ayuda valiosa en el manejo del peso.

Se utilizó el método gravimétrico enzimático descrito por Prosky *et al.*, (1988) con ligeras modificaciones. Las determinaciones se realizaron por duplicado y cada uno con dos réplicas.

**Fibra dietaria total:** a 1 g de muestra previamente desgrasada en dos vasos de precipitado de 250 mL (1 g en cada vaso) se le adicionaron 50 mL de una solución reguladora de fosfatos (1.4 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  y 8.4 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , aforar a un litro) 0.08 M y pH 6.0 (se ajustó con NaOH o con  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) y 0.1 mL de enzima  $\alpha$ -amilasa termoestable. Los vasos se agitaron, se cubrieron con papel aluminio y se colocaron en baño maría. La mezcla se agitó a intervalos de cinco minutos. Se incubaron durante 15 minutos, después de que la temperatura interna de los vasos alcanzó 95°C, se enfriaron los vasos a temperatura ambiente y posteriormente se adicionaron 10 mL de NaOH 0.275 N, se ajustó el pH a 7.5 + 0.2 (de ser necesario, se ajustó el pH con NaOH o HCl al 5%). Se adicionó 0.1 mL de una solución de proteasa (50 mg/mL) preparada al instante con solución de

fosfatos (a cada vaso se le agregan 5mg de proteasa). Se cubrieron los vasos con papel aluminio y se colocaron de nuevo a baño maría con agitación continua a 60°C. Cuando la temperatura interna del vaso alcanzó 60°C, se incubaron durante 30 minutos, tiempo después del cual se dejaron enfriar y se agregó 10 mL de HCl 0.325 M (ajustar pH a 4.5 + 0.2 con NaOH o HCl al 5%). Se agregó 0.1 mL de amiloglucosidasa a cada vaso, se cubrió con papel aluminio nuevo y se colocó nuevamente a baño maría con agitación continua a 60°C, incubando durante 30 minutos cuando alcanzaba 60°C como temperatura interna. Al término de este proceso se añadieron 4 volúmenes (hasta llenar el vaso de precipitado) de etanol al 95% a cada vaso, se cubrieron con aluminio y se dejaron reposar a temperatura ambiente hasta el siguiente día para completar la precipitación. Al siguiente día, en los tubos Falcon previamente tarados, se centrifugó (10 min a 5000 rpm) el contenido de los vasos (cuidando no dejar residuo en los vasos), desechando el sobrenadante. Se congelaron los residuos para posteriormente ser liofilizados. Después de la liofilización se pesaron los tubos con el residuo y se registró el peso. El residuo de uno de los tubos fue utilizado para determinarle el contenido de proteína y el otro tubo para determinarle ceniza.

El porcentaje de fibra dietaria fue calculado de la siguiente manera:

$$\% \text{ Fibra dietaria total} = [\text{promedio 1 y 2 (mg)} - \text{Proteína (mg)} - \text{Ceniza (mg)}] * 100$$

**Fibra insoluble:** Para la determinación de la fibra insoluble se realizó el mismo procedimiento para la fibra dietaria total, solo que, después del tratamiento enzimático no se adicionó etanol al 95%, sino que el contenido de los vasos fue centrifugado inmediatamente. El porcentaje de fibra se calculó de igual manera que la fibra dietaria total.

**Fibra soluble:** El contenido de fibra soluble se calculó por diferencia utilizando los valores de fibra dietaria total y fibra insoluble.

**% Fibra soluble**= % Fibra dietaria total - % Fibra insoluble

#### **5.4.5 Determinación de carbohidratos**

Este componente se determinó por la diferencia de peso con 100 g de muestra restando la suma del contenido de proteína, extracto etéreo, cenizas y fibra total.

### **5.5 Análisis fitoquímico funcional**

#### **5.5.1 Determinación de Polifenoles totales y vitamina C**

La determinación de polifenoles se realizó por el método descrito por Georgé *et al.*, (2005), en el cual se hace una purificación de los compuestos fenólicos mediante un cartucho de separación, marca OASIS, esto con la finalidad de no sobreestimar el contenido de polifenoles en la muestra.

Se pesaron 0.2 g de muestra, se adicionaron 5 mL de acetona/agua (50/50, v/v) y se agitó por 10 min en vórtex, se sonicó 10 min y nuevamente se agitó 10 min. Se filtró con papel filtro Whatman # 41 y se coloca en un frasco color ámbar, los residuos se lavaron con 2 mL de acetona/agua (50/50, v/v) y se filtra con el mismo papel.

Se acondicionaron los cartuchos (3 mL de metanol + 2 veces con 3 mL de agua). Se tomaron 500 µL del extracto del frasco, se colocaron en un tubo de ensayo con 3500 µL de agua destilada (se agitó en vórtex para homogenizar). De la dilución se colocaron 2000 µL en el cartucho OASIS y se agregaron 2 mL más de agua destilada (para lavar el cartucho) el total del líquido que pasa a través del cartucho es colectado en una probeta, registrando el volumen final, de éste volumen se tomaron 2000 µL y se colocaron en un tubo de ensayo, pasándolo a

baño maría durante 2 h a 85°C, tiempo después del cual se colocó en baño de hielo durante 5 minutos.

Posteriormente se tomaron 25  $\mu$ L del extracto (del frasco ámbar) y se le adicionan 475  $\mu$ L de agua. A ésta dilución, a los 500  $\mu$ L del volumen de la probeta y los 500 $\mu$ L del tubo que se encontraba en el baño de hielo se les adiciona 2.5 mL de Folin-ciocalteu (cada 10 seg) entre cada tubo y después de 2 min de haber agregado el Folin al primer tubo se agregaron 2 mL de carbonato de sodio (cada 10 seg), agitando con vórtex inmediatamente y pasándolo a baño maría a 50°C durante 15 minutos, sacando tubo por tubo y se fueron colocando en baño de hielo por 5 min, se retiran del baño de hielo y se lee a 760 nm en el espectrofotómetro calibrando con un blanco (25  $\mu$ L de acetona/agua (50/50 (v/v) diluido en 475  $\mu$ L de agua destilada).

La concentración de polifenoles totales se obtuvo mediante una curva estándar de ácido gálico y se expresó en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra (mg EAG/100 g); la de ácido ascórbico, mediante la curva estándar del mismo compuesto y se expresó en mg equivalentes de ácido ascórbico por 100 g de muestra (mg EAA/100 g).

Los cálculos se realizaron de la siguiente manera:

**Fracción A- Fracción B=** Polifenoles totales (usando curva de ácido gálico).

**Fracción B- Fracción C=** Ácido ascórbico (usando curva de ácido ascórbico).

Se acondicionaron los cartuchos (3 mL de metanol + 2 veces con 3 mL de agua). Se tomaron 500  $\mu$ L del extracto del frasco, se colocaron en un tubo de ensayo con 3500  $\mu$ L de agua destilada (se agitó en vórtex para homogenizar). De la dilución se colocaron 2000  $\mu$ L en el cartucho OASIS y se agregaron 2 mL más de agua destilada (para lavar el cartucho) el total del líquido que pasa a través del cartucho es colectado en una probeta, registrando el volumen final, de éste volumen se tomaron 2000  $\mu$ L y se colocaron en un tubo de ensayo, pasándolo a

baño maría durante 2 h a 85°C, tiempo después del cual se colocó en baño de hielo durante 5 minutos.

Posteriormente se tomaron 25  $\mu$ L del extracto (del frasco ámbar) y se le adicionan 475  $\mu$ L de agua. A ésta dilución, a los 500  $\mu$ L del volumen de la probeta y los 500 $\mu$ L del tubo que se encontraba en el baño de hielo se les adiciona 2.5 mL de Folin-ciocalteu (cada 10 seg) entre cada tubo y después de 2 min de haber agregado el Folin al primer tubo se agregaron 2 mL de carbonato de sodio (cada 10 seg), agitando con vórtex inmediatamente y pasándolo a baño maría a 50°C durante 15 minutos, sacando tubo por tubo y se fueron colocando en baño de hielo por 5 min, se retiran del baño de hielo y se lee a 760 nm en el espectrofotómetro calibrando con un blanco (25  $\mu$ L de acetona/agua (50/50 (v/v) diluido en 475  $\mu$ L de agua destilada).

La concentración de polifenoles totales se obtuvo mediante una curva estándar de ácido gálico y se expresó en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra (mg EAG/100 g); la de ácido ascórbico, mediante la curva estándar del mismo compuesto y se expresó en mg equivalentes de ácido ascórbico por 100 g de muestra (mg EAA/100 g).

Los cálculos se realizaron de la siguiente manera:

**Fracción A- Fracción B**= Polifenoles totales (usando curva de ácido gálico).

**Fracción B- Fracción C**= Ácido ascórbico (usando curva de ácido ascórbico).

La concentración de taninos condensados se calculó comparando con una curva estándar y se expresó como mg equivalentes de catequina por gramos de muestra (mg EC/g).

### 5.5.2 Determinación de Betalaínas

Nilson (1970) desarrolló un método espectrofotométrico que determina directamente betalaínas y betaxantinas sin una separación inicial. Este método se basa en que las betaxantinas se absorben sólo a 476-478 nm y las betalaínas a 535-540 nm pero también se absorben en el máximo visible de las betaxantinas. El cálculo de la relación de absorbancia de 538 nm, a 477 nm, determina la concentración de las betalaínas.

Se pesaron 100 mg de fruto liofilizado y molido. Se homogenizó con 10 mL de metanol, se agitó por 1h (con vórtex), después se filtró con papel filtro (Whatam # 5) y se enjuagó el tubo con 5 mL de metanol (2 veces) y se filtró con el mismo papel. Posteriormente se leyó en el espectrofotómetro a una absorbancia de 476 nm, 538 nm, y 600 nm. Los resultados fueron expresados en términos de concentración de betacianinas y betaxantinas totales.

Ecuación de Nilsson:

$$X = 1.095 (a - c)$$

$$Z = a - X$$

$$Y = b - z - (X/3.1)$$

$$\%B = (X/1120) * FD * 100$$

$$\%V = (Y/750) * FD * 100$$

Donde:

% B = % de betacianinas.

% V = % de vulgaxantinas o betaxantinas.

FD = factor de dilución.

a = abs 538 nm    b = abs 476 nm    c = abs 600 nm

## 5.6 Determinación de la Capacidad Antioxidante

### 5.6.1 Determinación de la Capacidad antioxidante por el método TEAC-ABTS

El ensayo de la capacidad antioxidante expresada como equivalentes de trolox fue desarrollado inicialmente por Miller *et al.*, (1993), el cual se basa en atrapar aniones de larga vida como el 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato-HCl) (ABTS<sup>-</sup>). En este análisis el, ABTS es oxidado por el oxidante (metamioglobina y por el peróxido de hidrógeno, dióxido de manganeso, persulfato de potasio, además de reacciones enzimáticas). La reacción presenta una coloración intensa y puede detectarse espectrofotométricamente a 734 nm. La capacidad antioxidante se basa por la capacidad que tiene la muestra de disminuir el color, reaccionando directamente con el radical ABTS<sup>-</sup> (Prior *et al.*, 2005).

Se pesaron 100 mg de muestra y se diluyen en 5 mL de acetona/agua (1:1, v/v), se agitaron (vórtex) por 10 min, posteriormente se colocaron por 10 min a sonicar y finalmente se volvieron a agitar (vórtex) por 10 min más. Se filtró y enjuagó el tubo con 2 mL del solvente. Después se acondicionó el radical ABTS con buffer de fosfato hasta que esta mezcla alcanzó una absorbancia de  $0.700 \pm 0.002$ , posteriormente se colocaron 990  $\mu$ L de esta mezcla y 10  $\mu$ L del filtrado de la muestra. En ese momento se leyó la absorbancia de la mezcla (min 0=antes de agregar la muestra) y se le volvió a tomar lectura después de 6 min de añadir la muestra.

Cálculo de TEAC

$$\text{TEAC} = \Delta \text{ Abs} / (\text{c.r} * \text{C})$$

Donde:

$\Delta \text{ Abs} = \text{Abs al min 0} - \text{Abs al min 6}$       C = Concentración de la muestra ( $\mu\text{g/g}$ ).

c.r.= coeficiente de regresión obtenido de la curva de trolox

### 5.6.2 Determinación de la Capacidad Antioxidante *in vitro* por el método ORAC

El método empleado fue descrito por Ou *et al.*, (2001). Se preparó una solución amortiguadora de fosfatos, la cual se utilizó para preparar todos los reactivos y las diluciones necesarias (mezclar 71 mL de fosfato de sodio monobásico 0.2 M y 304 mL de fosfato de sodio dibásico 0.2 M se lleva a 900 mL con agua destilada y se ajusta el pH cuidando de no rebasar el volumen de 1 L. Se almacenó en botella ámbar a 4 °C). se preparó una solución madre de fluoresceína 0.5315 mM (5 mg en 25 mL). De esta solución se preparó la solución de trabajo  $8.185 \times 10^{-5}$  mM (7.7  $\mu$ L de solución madre aforado a 50 mL).

Se tomaron 1.5 mL de la solución de trabajo de fluoresceína y se colocaron en una celda espectrofotométrica. En la misma celda se agregó 0.75 mL de muestra (diluida en solución amortiguadora con el objetivo de que el poder antioxidante decaiga en lapso de tiempo menor que el estándar de Trolox 40  $\mu$ M y mayor que la de 10  $\mu$ M) y se colocó a baño maría a 37 °C por 5 min. Después de este tiempo se agregó 0.75 mL de solución de AAPH [2,2'-azobis(2-amidinopropano)-HCl] (0.415 g aforado a 10 mL), agitando con la misma pipeta. Inmediatamente se tomó la primera lectura en el fluorómetro ( $\lambda_{excitación}=493$   $\lambda_{emisión}=515$ ) y se regresó al baño maría. Se continuó leyendo la celda cada minuto hasta que el valor de la intensidad corresponda al 10% del valor inicial. En este procedimiento se corrió un blanco junto con la muestra. Los valores se reportaron como  $\mu$ mol equivalentes de Trolox por gramo de muestra ( $\mu$ molET/g) mediante una curva estándar usando el área neta bajo la curva (ANBC) de cuatro concentraciones de Trolox.

Para el cálculo del valor ORAC se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$ANBC = (ABC_{muestra} - ABC_{blanco})$$

$$ABC = \text{área bajo la curva} = 0.5 + f_1/f_0 + f_2/f_0 + \dots + f_i/f_0$$

Donde:

f0= fluorescencia inicial leída al min 0.

f1= fluorescencia leída al tiempo i.

NOTA: La solución amortiguadora de fosfatos y la solución madre de fluoresceína sólo pueden almacenarse por dos meses. La solución patrón de fluoresceína debe prepararse al instante protegiéndola de la luz y sólo puede utilizarse el día que se prepara. Con la solución AAPH se tienen los mismos cuidados que para la solución patrón de fluoresceína, pero adicionalmente se debe mantener en baño de hielo.

## **5.7 Determinación de la biodisponibilidad *in vitro* de compuestos fitoquímico-funcionales**

Para evaluar la biodisponibilidad *in vitro* de los compuestos fitoquímico-funcionales de cada una de las fracciones del fruto se utilizó el método descrito por Gil-Izquierdo et al (2002). Esto se llevó a cabo en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos de la UCAM (Universidad Católica de San Antonio, Murcia) y el CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Murcia-España).

Este método consiste en una digestión con pepsina-HCl durante 2 h (para simular condiciones gástricas) y una digestión con pancreatina y sales biliares por 2.5 h (simulando condiciones del intestino delgado). Para la digestión con pepsina-HCl, las muestras de 4 g fueron homogenizadas en 6 mL de agua purificada Milli-Q (Millipore, Mlsheim, France) en un Ultra-Turrax T-25 (Jankel & Kunkel, Staufen, Alemania) a 8300g por 1 min. Para los análisis de HPLC de 3 g del homogenizado que fue centrifugado a 11400 rpm por 10 min a 4°C (centrifuga modelo Beckman J2-21) y filtrado a través de una membrana de 0.45  $\mu\text{m}$  (tipo Millex HV13, Millipore) antes de ser inyectado. Esta muestra fue tomada como patrón.

Una alícuota del homogenizado fue añadido por duplicado a 31500 unidades de pepsina (EC 3.4.231.1; Sigma). El pH fue ajustado a 2 con adición de HCl concentrado y las muestras fueron incubadas en baño maría con agitación

(J.P. Selecta, Barcelona, España) por 2 h bajo condiciones de pH controlado (a fin de simular las condiciones postconsumo en el estómago). Para el análisis en HPLC, 1.5 g de la muestra digerida con pepsina fue centrifugada a 5000g por 5 min (centrifuga modelo Centronic, J. P. Selecta). El sobrenadante y la pastilla fueron separados, extraídos y analizados por la técnica que se mencionará más adelante.

Después de la digestión con pepsina (2 h), 2 g de la digestión con pancreatina junto con segmentos de tubos de diálisis de celulosa conteniendo 2.5 mL de agua y NaHCO<sub>3</sub> (Sigma), fueron colocados en tubos de polietileno de 220 mm de largo (diámetro 40 mm). Esta digestión generó 2 fases, un dializado soluble y un no-dializado insoluble. Todos los compuestos presentes en el extracto de pancreatina-bilis fue analizado por HPLC, mientras que 1 g de la fracción no dializada fue centrifugada a 5000g por 5 min en una centrífuga (modelo Centronic, J. P. Selecta). Todos los compuestos fueron identificados por su comportamiento cromatográfico y espectro UV, HPLC-ESIMS y comparaciones cromatográficas con marcadores auténticos.

Para la identificación de compuestos se realizó un análisis HPLC-ESIMS de acuerdo a lo reportado por Vallejo *et al.*, 2003, usando un Agilent HPLC (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania) equipado con una bomba G1312A, automático G1313A, detector con arreglo de fotodiodo G1315B, controlado por un software Agilent v. A.08.03 y desgasificador G1322A, bajo las condiciones descritas para los análisis por HPLC como se menciona a continuación.

Las separaciones se llevaron a cabo con una columna LiChroCART (Merck, Darmstadt, Alemania, ODS-18-25 x 0.4 cm; 5  $\mu$ m tamaño de partícula). La fase móvil consistió en Agua/Ácido fórmico (95:5 v/v) (A) y metanol (B). El flujo fue de 1 mL/min y el gradiente utilizado comenzó con 10% de B, para alcanzar 15% de B a los 5 min, 30% de B a los 20 min, 50% de B a los 35 min y 90% de B a los 40 min. Los cromatogramas fueron registrados entre 280 y 435 nm. Los derivados del ácido cafeoilquinico fueron identificados como ácido cloragénico (5-ácido

cafeoilquinico, Sigma, St. Louis, MO), los flavonoides como quercetina 3 rutinosida (Sigma) y derivados de ácido sináptico como ácido sináptico (Sigma).

## **5.8 Efectos antidiabéticos del xoconostle**

Este experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioquímica Molecular de la Universidad Autónoma de Querétaro.

### **5.8.1. Material químico y biológico**

#### **Material químico**

- Estreptozotocina (STZ) de la marca Sigma para la inducción química de diabetes en ratas de experimentación.
- Glucómetro de la marca ROCHE.
- Tiras reactivas marca Accutrend para la determinación de glucosa sanguínea.
- Kits enzimáticos de la marca Randox Laboratories para la determinación de glucosa, triglicéridos, colesterol y HDL en suero.
- Kit enzimático de la marca Randox Laboratories para la determinación de Creatinina en orina.

#### **Material Biológico**

##### Animales de experimentación

Se utilizaron ratas Wistar macho de 250 a 350 g de peso corporal (P.C.). Los animales se obtuvieron del bioterio del CINVESTAV-México, mantenidos en condiciones controladas de temperatura y de ciclos de luz:oscuridad (12:12 h) en

el bioterio de la Universidad Autónoma de Querétaro, lugar donde se realizó el estudio. El alimento marca Zeigler (Cuadro 5) y el agua purificada se proporcionaron ad libitum durante todo el estudio experimental.

#### Fruto de xoconostle curesmeño

El xoconostle utilizado en la administración a ratas diabéticas fue comprado en el Mercado Escobedo en la Ciudad de Santiago de Querétaro, Querétaro. El fruto se trasladó al Laboratorio de Bioquímica Molecular de la Universidad Autónoma de Querétaro, se lavó para retirar restos de suciedad, se retiró la epidermis y semillas. Se utilizó solamente la epidermis y pulpa haciendo una pasta homogénea que fue guardada en congelación y protegida de la luz. Dicha pasta, tanto de pulpa como de epidermis fue diluída en agua purificada para administrarla en las dosis establecidas.

**Cuadro 4.** Composición química del alimento comercial (Zeigler) administrado a las ratas

Componente	Contenido (g/100 g)
Proteína	18.80
Aceite crudo	5.70
Fibra cruda	3.80
Ceniza	5.90
Carbohidratos	50.11
Azúcar	4.91
Minerales	3.22
Vitaminas	0.33
L-lisina	1.03
DL-metionina	0.56

### 5.8.2 Inducción de diabetes con Estreptozotocina (ETZ)

Para la inducción química de diabetes se utilizó estreptozotocina (ETZ), administrada vía intraperitoneal en una dosis de 50 mg/kg de peso corporal a 35 ratas macho Wistar, en ayuno de 15 horas.

La estreptozotocina se preparó minutos antes de la inducción y se disolvió en una solución amortiguadora de citratos 0.1 M a pH 4.5. Cuatro días posteriores a la inducción, se cuantificaron los niveles de glucosa en sangre de las ratas de experimentación en ayuno. Aquellos animales que presentaron una concentración de glucosa mayor a 180 mg/dL se incluyeron en el estudio.

Los animales se dividieron en 7 grupos (3 sanos y 4 diabéticos). La dosis a administrar según el grupo se muestran en el Cuadro 4.

**Cuadro 5.** Grupos de experimentación para la evaluación del efecto del tratamiento de la diabetes con epidermis y pulpa de xoconostle

Grupo	(Ratas)	Tratamiento
1	Sanas (n=5)	Ninguno
2	Sanas (n=5)	Epidermis al 0.17% (equivalente a epidermis de 6 xoconostles)
3	Sanas (n=5)	Pulpa al 0.6% (equivalente a pulpa de 6 xoconostles)
4	Diabéticas (n=7)	Ninguno
5	Diabéticas (n=7)	Epidermis al 0.17% (equivalente a epidermis de 6 xoconostles)
6	Diabéticas (n=7)	Pulpa al 0.3% (equivalente a pulpa de 3 xoconostles)
7	Diabéticas (n=7)	Pulpa al 0.6% (equivalente a pulpa de 6 xoconostles)

Tanto la epidermis como la pulpa de xoconostle fueron administradas en el agua de consumo diario durante tres semanas, posterior a la inducción de la diabetes. Durante este periodo de tiempo, se registró semanalmente el peso corporal, el consumo de agua y alimento, así como los niveles de glucosa sanguínea en ayuno tanto en ratas sanas como en las diabéticas.

Al finalizar el tiempo del estudio se obtuvieron muestras de orina y de sangre de todos los grupos experimentales. La muestra de sangre se recolectó por punción cardiaca, la cual se centrifugó a 10,000 g por 10 min para la obtención de suero, el cual se congeló a -20° C. También se extrajeron los riñones, que fueron pesados para calcular el peso relativo y se congelaron con nitrógeno líquido y se almacenaron a -70°C.

### **5.8.3 Determinación de glucosa sanguínea en ayuno**

El nivel de glucosa en sangre se cuantificó en sangre obtenida de la vena caudal de los animales de experimentación, con un mínimo de 8 horas de ayuno. Para esta determinación se utilizaron tiras reactivas de la marca Accutrend y un glucómetro de la marca Roche, con una sensibilidad de 60-600 mg/dL de glucosa.

Esta determinación se basa en el siguiente fundamento: la glucosa presente en la muestra de sangre reacciona con la enzima glucosa deshidrogenasa presente en la tira reactiva, para dar lugar a gluconolactona y poder reductor en forma de NADH + H<sup>+</sup>, el cual genera una corriente eléctrica que es registrada por el glucómetro, indicando la concentración de glucosa en mg/dL.

### **5.8.4 Evaluación hipoglucemiante del fruto de xoconostle**

Se separaron 4 ratas diabéticas en ayuno de cada grupo al asar. A estas se les midió concentración de glucosa en sangre de la vena caudal (registrando este dato como T0=Tiempo cero), se les administró a través de una cánula 1 mL de epidermis o pulpa (dependiendo del grupo de experimentación). Se midió glucosa

nuevamente a los 15, 30, 60, 90 y 180 min después de la administración del extracto.

### **5.8.5 Determinación de triglicéridos, colesterol total y HDL en suero**

Para la cuantificación de triglicéridos, colesterol y HDL se utilizaron kits enzimáticos comerciales de la marca Randox Laboratories. Las determinaciones se realizaron en muestras de suero de los animales de experimentación.

Triglicéridos. Los triglicéridos presentes en la muestra de sangre reaccionan con una lipasa para formar glicerol. El glicerol, convertido a glicerol 3 - fosfato por la enzima glicerol cinasa, reacciona con la enzima glicerol fosfato oxidasa para formar fosfato de dihidroxiacetona y peróxido de hidrogeno, el cual reacciona con la enzima con 4-aminoantipirina/p-clorofenol y a través de la enzima peroxidasa se lleva a cabo la formación de un compuesto de color rojo intenso llamado quinoneimina, el cual se lee espectrofotométricamente a una longitud de onda de 500 nm.

Colesterol. Para esta determinación también se utiliza el indicador quinoneimina que se forma a partir de peróxido de hidrogeno y 4-amino-antipirina en presencia de fenol y peroxidasa. Los esteres de colesterol presentes en la muestra reaccionan con la enzima colesterol esterasa para liberar colesterol, que al reaccionar de nuevo con esta enzima produce colestén-3-ona y peróxido de hidrogeno, a partir del cual se obtiene el indicador antes mencionado, que se lee a una longitud de onda de 546 nm.

HDL. Las lipoproteínas de baja densidad (LDL y VLDL) y las fracciones de quilomicrones precipitan cuantitativamente al añadir ácido fosfotungstico en presencia de iones magnesio. Después de centrifugar, la concentración de colesterol se determinará en la fracción HDL que queda en el sobrenadante. Por lo que esta determinación se basa en el mismo principio que la determinación enzimática de colesterol.

### **5.8.6 Determinación de Proteína Total en orina**

Los animales se separaron en jaulas individuales para la recolección de la orina en un lapso de 12 horas. La orina se filtró antes de la determinación de proteína. Para la cuantificación de proteína en orina se empleó el método de Lowry, en el que la cantidad detectada de proteína en la orina se calcula relacionando la absorbancia con una curva de albúmina.

### **5.9 Análisis Estadístico**

\* Caracterización de fruto de xoconostle: Los resultados fueron expresados como la media + la desviación estándar (DE) del experimento con tres repeticiones. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un análisis de varianza (ANOVA). Se realizó, además, una comparación de medias de Tukey (programa JMP 5.0.1.) con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ .

\* Efecto del consumo de xoconostle en ratas diabéticas: Los resultados se reportaron como la media + EE. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza de 95%. Se determinó la comparación de medias de cada tratamiento con su grupo control, empleando el método de Dunnett (la diferencia significativa se marca con un asterisco) y una comparación de todos los grupos, tanto sanos como diabéticos, empleando el método de Tukey (la diferencia significativa se marca con letras). Los datos se analizaron con el paquete estadístico JMP 5.0.1.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Análisis físico

#### 6.1.1 Color del fruto de xoconostle cuaresmeño

El Sistema Cie-Lab (C.I.E, 1986) define cada color a partir de unas coordenadas denominadas  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  y  $b^*$ . Los parámetros  $a^*$ ,  $b^*$ , y  $L^*$  definen las coordenadas de un espacio cilíndrico que contiene tres atributos psicofísicos básicos del color (luminosidad, saturación y tonalidad).

**Cuadro 6.** Coordenadas cromáticas en frutos de Xoconostle Cuaresmeño (*Opuntia matudae*) de tres localidades

Xoconostle	Color		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$
<b>Hidalgo</b>	53.33 ± 3.71 b	11.86 ± 7.00 a	11.56 ± 4.60 b
<b>México</b>	56.75 ± 5.01 a	13.36 ± 6.73 a	11.71 ± 4.30 b
<b>Puebla</b>	51.61 ± 3.27 b	12.52 ± 7.67 a	17.28 ± 5.02 a

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa por la prueba de Tukey, ( $p < 0.05$ ).

Las coordenadas cromáticas de los frutos de las localidades estudiadas se muestran en el Cuadro 6. Se observan diferencias significativas en los parámetros  $L^*$  y  $b^*$ . La coordenada  $L^*$  un rango de 0-100 (0=negro, 100=blanco). El fruto de xoconostle de México presentó mayor valor de  $L^*$  comparado con el xoconostle de Hidalgo y Puebla, encontrándose estos entre valores de 50-60. La coordenada  $a^*$  es una medida de la intensidad de color rojo, cuando el valor de ésta es positivo, y del color verde cuando su valor es negativo. Los frutos no presentaron diferencia

significativa en dicho parámetro, los frutos presentaban en su mayoría una coloración rosada a roja. La coordenada  $b^*$  mide la intensidad del color amarillo si el valor de dicha coordenada es positiva, y del color azul si su valor es negativo. Los frutos de los estados de México e Hidalgo presentaron valores similares sin diferencias significativas entre dichos frutos, el valor para  $b^*$  en frutos de xoconostle del estado de Puebla fue mayor a los anteriores. Esta información nos podría permitir seleccionar los frutos por su coloración externa ya que es difícil clasificarlos según su madurez.

### 6.1.2 Peso y tamaño de frutos de xoconostle cuaresmeño

En el Cuadro 7 podemos observar el tamaño de los frutos de xoconostle. Los xoconostles del Estado de México y Puebla presentaron un peso similar entre sí, al igual que su tamaño, en contraste, el xoconostle del estado de Hidalgo presenta un peso y diámetro ecuatorial menor, sin embargo, en su longitud transversal no se observó diferencia significativa.

**Cuadro 7.** Peso y tamaño de xoconostle cuaresmeño (*O. matudae*) de tres localidades.

	<b>Peso</b>	<b>Diámetro ecuatorial</b>	<b>Longitud transversal</b>
<b>Xoconostle Hidalgo</b>	41.43 ± 13.38 b	4.25 ± 0.34 b	4.91 ± 0.54 a
<b>Xoconostle México</b>	61.23 ± 5.03 a	4.54 ± 0.24 a	5.03 ± 0.42 a
<b>Xoconostle Puebla</b>	56.96 ± 9.37 a	4.46 ± 0.24 a	5.02 ± 0.43 a

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa por la prueba de Tukey, ( $p < 0.05$ ).

El fruto de xoconostle tiene menor tamaño que el reportado para *Opuntia ficus indica* (Piga, 2004). Los frutos de *O. ficus-indica* pueden alcanzar entre 5.5-8.8 cm de longitud transversal (altura entre los polos), mientras que el fruto de xoconostle se caracteriza por tener un tamaño menor 4.9-5.1 cm. El diámetro

ecuatorial del xoconostle es similar al de las tunas (4.6-5.2 cm), por lo que su principal diferencia radica en la altura del fruto (Peralta, 1983).

### **6.1.3 °Brix de fruto de xoconostle cuaresmeño**

El contenido de °Brix que representa el cociente de sacarosa presente en el fruto de xoconostle, encontrándose valores semejantes para frutos del estado de Hidalgo y México (5.83-6.32 °Bx), sin diferencias significativas entre sí, y un mayor contenido en frutos cultivados en Puebla (7.08 °Bx).

El contenido de azúcares en esta *Opuntia*, que fue determinado en fruto completo, difiere del contenido de algunos frutos de la misma especie, como es la tuna, en la que se reportan 14.58 °Bx en fruto completo y en *O. dillenii* con 10.35 °Bx (Díaz-Medina *et al.*, 2007).

### **6.1.4 pH de fracciones de xoconostle cuaresmeño**

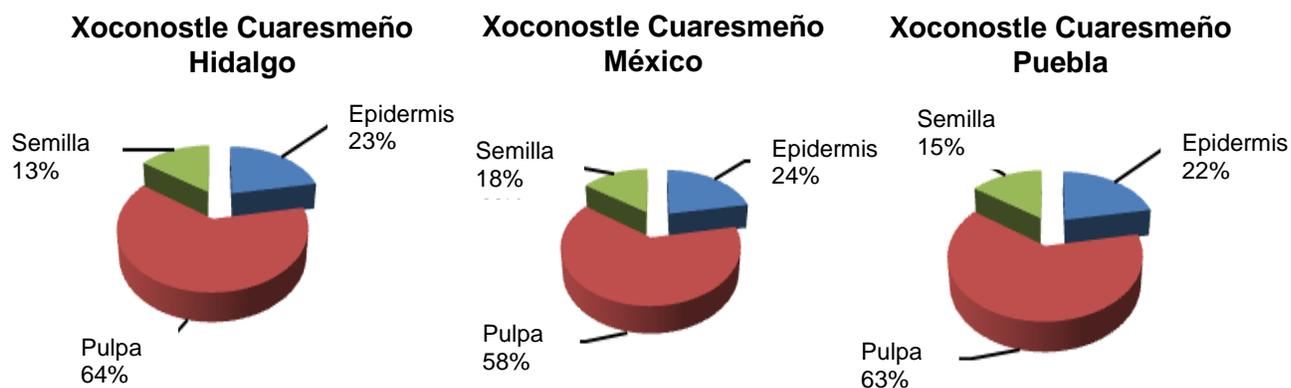
El fruto de xoconostle se caracteriza por ser un fruto ácido, de ahí su nombre en náhuatl que significa “tuna ácida”. Los valores de pH que presentaron diferencia significativa entre las localidades de cultivo, con diferencias de pH en sus fracciones.

El menor pH fue observado en pulpa (3.00-3.13), seguido por la epidermis (3.71-3.97) y los valores más altos fueron encontrados en la semilla (4.8).

Sin embargo, aunque su pH es bajo, no es la única *Opuntia* con tal característica, ya que se ha reportado que *O. dillenii* tiene un pH de 3.34, por lo que su uso en la alimentación y medicina tradicional puede variar respecto al uso que es dado a la tuna, que presenta un pH de 6.32, cercano a la neutralidad es de 6.32 (Díaz-Medina *et al.*, 2007).

### 6.1.5 Proporción de fracciones respecto al peso total de xoconostle

En la Figura 9 se muestra el porcentaje de cada fracción con respecto al 100% del fruto; observamos que el fruto del Estado de México tiene una mayor cantidad de epidermis y semilla que los frutos de Puebla e Hidalgo. Los frutos de Hidalgo y Puebla mostraron similitud en porcentaje de peso de las fracciones. En promedio, se puede observar que la pulpa representa entre el 58 y 64% del total del fruto, similar al 45-67% reportado por Piga (2004) para frutos de *O. ficus-indica* (L.) Mill. El porcentaje de epidermis (pericarpio) en xoconostle cuaresmeño fue menor que el 33-55% reportado para esta misma especie de *Opuntia* (Piga, cultivar, las prácticas culturales, número de semillas, cantidad de frutas por planta, fotoperiodo, clima y estación de cosecha. La cantidad de semillas es mayor para xoconostle cuaresmeño que para tuna.



**Figura 9.** Distribución porcentual en peso de las estructuras del fruto de xoconostle cuaresmeño.

## 6.2 Análisis proximal

### 6.2.1 Contenido de proteína total en xoconostle cuaresmeño

En el Cuadro 8 se muestra la composición proximal de las estructuras de xoconostle de las tres localidades estudiadas. De las estructuras analizadas (epidermis, pulpa y semilla), es la semilla la que contiene mayor cantidad de proteína; la semilla de Puebla presentó diferencia significativa (8.16%) con respecto al contenido de proteína de las semillas procedentes del Estado de México e Hidalgo (7.22 y 6.84% respectivamente). El contenido proteico en semilla se encuentra por encima del reportado para semillas de garambullo (2.90%) (Maldonado-Gualito, 2008) y el 0.97 + 0.01% reportado por Prieto-García *et al.*, (2006), en semillas de *O. ficus-indica*. En la pulpa de xoconostle de los Estados de México e Hidalgo (1.78-1.63%), el contenido de proteína fue similar al 1.72% reportado por Maldonado-Gualito (2008) para garambullo, valores significativamente superiores al 0.21% reportado para pulpa de tuna. El contenido proteico para epidermis de las tres localidades fue similar al de la pulpa de Puebla (2.38 a 2.75%), valores superiores a lo reportado en epidermis de garambullo y tuna (1.20%) (Cerezal y Duarte, 2005).

Estos niveles de proteína en la semilla que es desechada, merecen una evaluación de su calidad con fines de producción de harina para alimentación de ganado o la formulación de suplementos alimenticios de consumo humano.

### 6.2.2 Contenido de extracto etéreo en xoconostle cuaresmeño

El contenido de extracto etéreo en epidermis y pulpa no presentaron diferencia significativa entre ambas estructuras de las tres localidades (Cuadro 8) y el porcentaje fue considerablemente superior a lo reportado para *O. ficus-indica* y *Myrtillocactus geometrizans* (garambullo), valores que coincidieron con el 5.2% de extracto etéreo reportado por Scheinvar *et al.*, (2003). El contenido de extracto

etéreo (grasa) en la pulpa, según lo reportado por Sawaya *et al.*, (1983) y Ewaidah y Hassan (1992), fue de 0.7%; la pulpa de garambullo presenta cerca del 2% de grasa. La semilla es el principal almacén de grasas del fruto, Prieto-García *et al.*, (2006) reportó un 17.22% de extracto etéreo en semillas de *O.ficus-indica*, y un 2.3% en garambullo (Maldonado-Gualito, 2008), mientras que en semillas de xoconostle encontramos que éstas contienen entre 7.15 a 8.10% de grasa.

Al igual que el contenido de proteína, en la semilla se encontró una cantidad significativa de grasas, las cuales podrían ser aprovechadas para su utilización en alimentos de consumo humano o animal, aunque la composición de estos aceites no fueron estudiados.

### **6.2.3 Contenido de cenizas en xoconostle cuaresmeño**

El porcentaje de cenizas en epidermis y semilla de las tres localidades no presentó diferencias significativas (Cuadro 8), sin embargo, en la epidermis el porcentaje fue mayor que el registrado en la pulpa y las semillas. Cerezal y Duarte (2005), reportaron un contenido de cenizas en semillas de 0.92 a 1.03%, significativamente inferior al encontrado en la misma estructura de xoconostle.

### **6.2.4 Contenido de fibra total, soluble e insoluble**

El contenido de fibra total en la epidermis de xoconostle mostró una diferencia significativa respecto a la localidad de procedencia del fruto, tal diferencia no se observó para pulpa y semilla del fruto. La epidermis de xoconostle presentó una mayor cantidad de fibra total (13.23 a 20.36%), respecto a la pulpa y semilla. La cantidad de fibra en el fruto de xoconostle varía dependiendo de la estructura. Para las tres estructuras estudiadas, cerca del 75% de la fibra presente es fibra insoluble.

La epidermis del fruto es una estructura rica en fibra insoluble, este tipo de fibra estimula el peristaltismo intestinal, por lo que estimula el tránsito intestinal,

beneficiando el mantenimiento del peso corporal y disminuyendo el riesgo de padecer cáncer.

### **6.2.5 Contenido de carbohidratos**

El contenido de carbohidratos en epidermis (58.01 a 66.09%) fue significativamente menor respecto de la pulpa y semillas del fruto (Cuadro 8). Prieto-García *et al.*, (2006) reportaron un  $74.68 \pm 0.56\%$  de carbohidratos totales en semilla de *O. ficus-indica*, porcentaje menor que el encontrado para semillas de *O. matudae* en el presente estudio. Las diferencias encontradas en este trabajo pueden ser debidas a que en el presente estudio, el análisis de la semilla incluyó el mucílago que las rodea, además de ser menor la cantidad de semillas encontradas en el fruto de xoconostle que en la tuna.

### **6.2.6 Contenido de minerales**

Basados en varios estudios sobre composición de *Opuntias*, el fruto de *O. ficus-indica* es considerado buena fuente de minerales, especialmente calcio, potasio y magnesio (Stintzing *et al.*, 2001; Piga, 2004; Lee *et al.*, 2005; Gurrieri, 2000); las semillas del fruto son ricas en minerales. La composición mineral del fruto de xoconostle se muestra en el Cuadro 9.

El Kossori *et al.*, (1998) reporta un mayor contenido de calcio en epidermis de tuna (*O. ficus-indica*) seguido por la semilla y finalmente la pulpa. En *O. matudae* estos datos difieren en concentración, encontrándose en mayor cantidad en epidermis (2.69-3.20%) con variaciones según la localidad al igual que en pulpa, donde se encontró un contenido entre 1.41-1.96%, en semilla el contenido de calcio es de 0.49 % sin diferencia significativa según la localidad.

. En xoconostle cuaresmeño, al igual que para el contenido de calcio, el mayor contenido de magnesio se encontró en la epidermis del fruto con 0.82-0.92%, seguido de pulpa con 0.51-0.69% y la menor cantidad se presentó en la

semilla (0.14-0.19%) con diferencias estadísticas entre las localidades de cultivo. Lo que difiere de lo reportado por estos autores (Stintzing et al, 2001; Piga, 2004; Lee *et al.*, 2005; Gurrieri, 2000) que reportan la mayor concentración de calcio y magnesio para epidermis, seguido por semilla y pulpa, lo cual podría estar influenciado por la localidad de cultivo y las prácticas de agricultura de la región.

No fue detectado sodio en el fruto de xoconostle. El contenido de potasio varió de acuerdo a la estructura analizada del fruto. En epidermis, el contenido (3.00 a 3.29%) es significativamente superior al de la pulpa (2.20 a 2.51%) y semilla. El contenido de potasio en epidermis fue similar al reportado por El Kossori *et al.*, (1998) en epidermis de tuna *O. ficus-indica* (3.4%). El contenido de potasio en semilla de *O. matudae* se encontró entre 0.20 y 0.22mg/100g sin diferencia significativa entre localidades.

De acuerdo a lo reportado por El Kossori et al (1998) para tuna; la epidermis del xoconostle contiene una alta cantidad de calcio, potasio y magnesio. Mientras que las semillas de, al igual que las de *O. ficus-indica*, son ricas en zinc. Sin embargo, el contenido de hierro difiere de lo que reportan para tuna, ya que en xoconostle, la mayor concentración de hierro se encontró en la epidermis, contrario a lo reportado para tuna por los mismos autores, quienes señalan que el contenido de hierro fue mayor en pulpa que en la epidermis.

**Cuadro 8.** Contenido<sup>1</sup> proximal en epidermis, pulpa y semillas de fruto de xoconostle cuaresmeño (*O. matudae*) de tres localidades productoras.

	Proteína (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)	Fibra (%)			Carbohidratos (%)
				Soluble	Insoluble	Total	
Epidermis Hidalgo	2.75 ± 0.09 c	4.78 ± 0.44 c	13.57 ± 0.60 a	6.79 ± 0.18 b	12.10 ± 0.03 a	18.89 ± 0.14 b	60.01
Epidermis México	2.38 ± 0.09 c	4.54 ± 0.44 c	14.04 ± 0.61 a	7.94 ± 0.60 a	12.43 ± 0.04 a	20.36 ± 0.63 a	58.68
Epidermis Puebla	2.47 ± 0.04 c	4.51 ± 0.33 c	13.70 ± 0.20 a	2.60 ± 0.08 c	10.63 ± 0.88 b	13.23 ± 0.82 c	66.09
Pulpa Hidalgo	1.63 ± 0.00 d	5.05 ± 0.30 c	8.27 ± 0.24 b	3.03 ± 0.59 c	7.60 ± 0.55 c	10.64 ± 0.03 d	74.41
Pulpa México	1.78 ± 0.44 d	5.19 ± 0.45 c	9.03 ± 0.21 bc	1.66 ± 0.10 d	7.11 ± 0.35 c	8.77 ± 0.28 e	75.23
Pulpa Puebla	2.66 ± 0.44 c	5.28 ± 0.25 c	9.14 ± 0.10 c	1.60 ± 0.13 d	6.91 ± 0.63 c	8.52 ± 0.72 e	74.4
Semilla Hidalgo	6.84 ± 0.22 b	7.23 ± 0.40 b	1.70 ± 0.06 c	0.72 ± 0.11 e	0.60 ± 0.06 d	1.31 ± 0.16 f	82.92
Semilla México	7.22 ± 0.44 b	8.10 ± 0.17 a	1.95 ± 0.08 c	0.32 ± 0.01 e	0.06 ± 0.01 d	0.38 ± 0.01 f	82.35
Semilla Puebla	8.16 ± 0.13 a	7.15 ± 0.23 b	1.90 ± 0.09 c	0.30 ± 0.04 e	0.07 ± 0.01 d	0.37 ± 0.04 f	82.42

Los resultados son el promedio de dos experimentos independientes con tres repeticiones.

Letras iguales no presentaron diferencias significativas mediante la prueba de Tukey (p<0.05)

<sup>1</sup> Los resultados son expresados en base seca.

**Cuadro 9.** Contenido<sup>1</sup> de minerales en epidermis, pulpa y semillas de fruto de xoconostle cuaresmeño (*O. matudae*) de tres localidades productoras.

	Minerales					
	Na (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (ppm)	Zn (ppm)
Epidermis Hidalgo	ND	3.29 ± 0.09 a	2.69 ± 0.05 b	0.91 ± 0.00 a	62.30 ± 0.57 b	17.35 ± 0.64 abc
Epidermis México	ND	3.09 ± 0.01 a	3.20 ± 0.06 a	0.92 ± 0.02 a	95.90 ± 3.39 b	12.75 ± 0.50 cde
Epidermis Puebla	ND	3.00 ± 0.04 a	3.06 ± 0.03 a	0.82 ± 0.01 b	59.70 ± 1.70 a	10.10 ± 0.00 cde
Pulpa Hidalgo	ND	2.48 ± 0.09 b	1.41 ± 0.03 d	0.51 ± 0.01 d	15.80 ± 4.95 c	8.31 ± 1.67 de
Pulpa México	ND	2.20 ± 0.06 b	1.96 ± 0.13 c	0.64 ± 0.02 c	12.65 ± 5.02 c	6.55 ± 1.07 de
Pulpa Puebla	ND	2.51 ± 0.28 b	1.89 ± 0.21 c	0.69 ± 0.06 c	13.44 ± 5.32 c	5.29 ± 0.71e
Semilla Hidalgo	ND	0.21 ± 0.02 c	0.48 ± 0.04 e	0.19 ± 0.01 e	19.30 ± 2.40 c	22.05 ± 4.45 ab
Semilla México	ND	0.20 ± 0.00 c	0.49 ± 0.01 e	0.18 ± 0.00 e	16.25 ± 3.32 c	23.40 ± 3.68 a
Semilla Puebla	ND	0.22 ± 0.01 c	0.49 ± 0.01 e	0.14 ± 0.00 e	17.35 ± 0.78 c	14.10 ± 2.26 bcd

Los resultados son el promedio de dos experimentos independientes con tres repeticiones.

Letras iguales no presentaron diferencias significativas mediante la prueba de Tukey (p<0.05)

<sup>1</sup> Los resultados son expresados en base seca.

## 6.3 Determinación de compuestos fitoquímico funcionales en xoconostle cuaresmeño

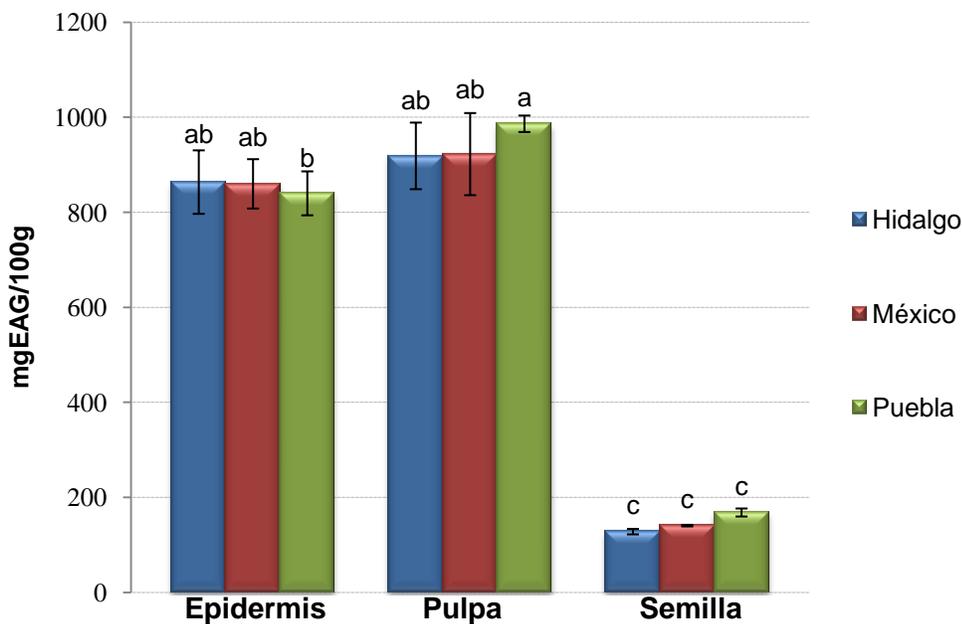
### 6.3.1 Contenido de Polifenoles Totales (PT) y Taninos Condensados

En la actualidad este grupo de compuestos fitoquímicos presenta un gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana. Así, muchas de las propiedades beneficiosas descritas en los alimentos de origen vegetal, asociadas principalmente a la actividad antioxidante y las propiedades antinutritivas de estos compuestos, están relacionadas con la presencia y con el contenido fenólicos.

El contenido de polifenoles totales fue similar en la epidermis y pulpa de xoconostle en las localidades del Estado de México e Hidalgo, con diferencia significativa en la pulpa de frutos colectados en el estado de Puebla como se muestra en la Figura 10. En semilla, el contenido de polifenoles totales fue de tan solo 25% del contenido de pulpa y epidermis, no mostró diferencia significativa con respecto a la localidad de procedencia.

El contenido promedio de polifenoles totales en epidermis y pulpa se encontró entre los 859.65 y 918.52 mgAG/100g, valores superiores a los reportados para epidermis y pulpa de frutos de *Opuntia megacantha* (Ndhlala *et al.*, 2007) y de *Opuntia dillenii* Haw (Chang *et al.*, 2008) en el que se encontró la mayor concentración de polifenoles en semilla (212.8 mg EAG/100 g) seguido por epidermis y pulpa con 133.4 y 91.5 mg EAG/100 g respectivamente.

Por los datos obtenidos, el fruto de xoconostle cuaresmeño presenta valores superiores respecto de otras *Opuntias*, contenidos similares a los reportados para frutillas como el arándano, el cual contiene entre 495 y 980 mg EAG/100 g (Wada y Ou, 2002) y el garambullo (cactácea) con 1233 mg EAG/100 g en frutos maduros (Hernández-Herrera, 2008)



**Figura 10.** Contenido<sup>1</sup> de polifenoles totales en estructuras del fruto de xoconostle cuaresmeño (*O. matudae*) de tres localidades

Los resultados son el promedio de dos experimentos independientes con tres repeticiones.

Letras distintas indican diferencias significativas Tukey ( $p < 0.05$ )

<sup>1</sup> Los resultados son expresados en base seca.

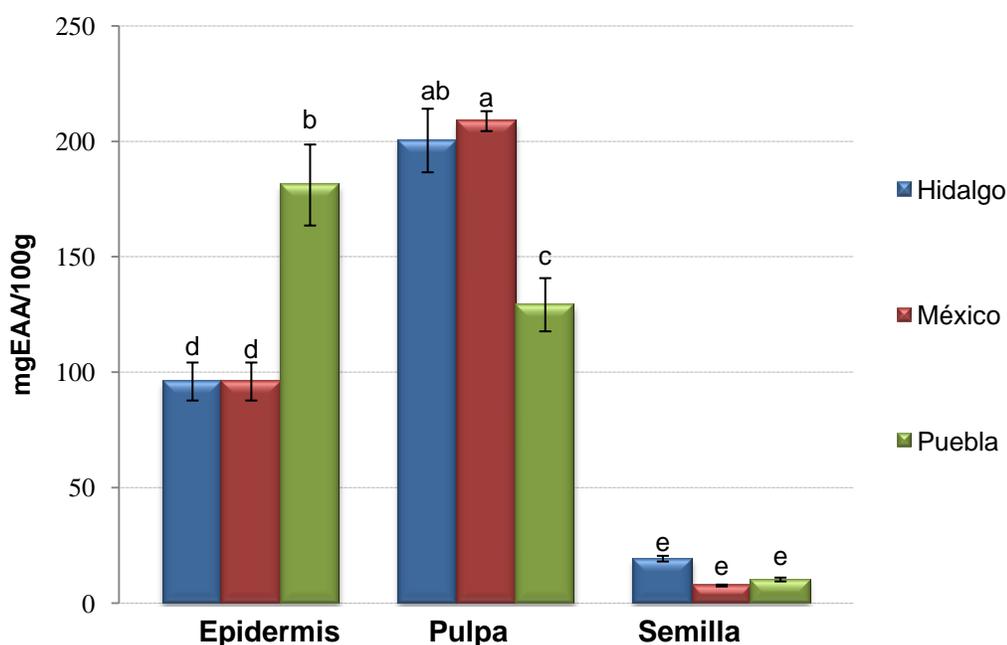
EAG = Equivalente de ácido gálico.

No se detectaron taninos condensados en ninguna de las tres estructuras analizadas y pese al contenido significativo de polifenoles totales presentes en la epidermis y pulpa de xoconostle, es importante señalar que los polifenoles son considerados antinutrientes ya que pueden formar complejos con las proteínas, almidón y enzimas digestivas, causando una reducción del valor nutritivo de los alimentos (Berlitz y Grosch, 1988), esto podría impactar negativamente el estado nutricional, la tasa de crecimiento, la digestibilidad de la proteína y la disponibilidad de los aminoácidos (Chung *et al.*, 1998).

### 6.3.2 Contenido de Ácido Ascórbico (AA) en xoconostle

El efecto protector de frutas y vegetales, es generalmente atribuido a sus constituyentes antioxidantes, incluyendo la vitamina C o ácido ascórbico entre otros.

El contenido de ácido ascórbico para el fruto de xoconostle fue elevado respecto a lo encontrado en otras cactáceas, la mayor cantidad de ácido ascórbico se encontró en pulpa, la cual muestra variación según localidad de colecta. Se cuantificó un contenido de 129.19 mgEAA/100g en pulpa de xoconostle del estado de Puebla, 208.69 mgEAA/100g en pulpa de xoconostle del Estado de México.



**Figura 11.** Contenido de vitamina C en estructuras del fruto de xoconostle cuaresmeño (*O. matudae*) de tres localidades

Los resultados son el promedio de dos experimentos independientes con tres repeticiones.

Letras distintas indican diferencias significativas Tukey ( $p < 0.05$ )

1 Los resultados son expresados en base seca.

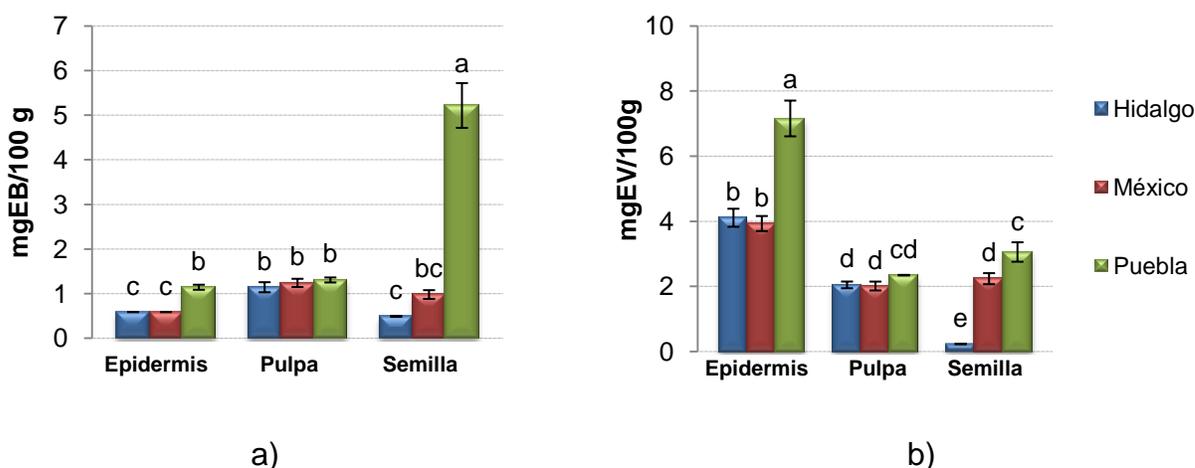
EAA = Equivalente de ácido ascórbico.

El contenido de vitamina C en *O. ficus-indica* se encuentra entre los 12-81 mg/100g de pulpa (Cheftel y Cheftel, 1983), contenido que es superado por el contenido del mismo micronutriente en pulpa de *O. matudae*.

El contenido de ácido ascórbico mostró diferencia según la estructura analizada, siendo mayor en pulpa, seguida del contenido en epidermis y por último en semilla, la cual no mostró diferencia significativa con respecto a la localidad de procedencia del fruto, además de que presentó una cantidad mínima de ácido ascórbico.

### 6.3.3 Contenido de Betalaínas en xoconostle

En la Figura 12 se muestra el contenido de betalaínas se observó que el contenido de betalaínas fue variable dependiendo de la estructura analizada. Las betacianinas (pigmentos rosados) fueron encontradas en mayor cantidad en semilla de xoconostle del estado de Puebla. En garambullo maduro se reportan valores de 62.4 mg EB/100 g (Herrera-Hernández, 2008), superior al contenido de betacianinas encontrado en xoconostle que mayoritariamente contiene vulgaxantinas que dan la coloración amarilla en el fruto.



**Figura 12.** Contenido<sup>1</sup> de betacianinas (a) y vulgaxantinas (b) en estructuras del fruto de xoconostle cuaresmeño (*O. matudae*)

Los resultados son el promedio de dos experimentos independientes con tres repeticiones.

Letras distintas indican diferencias significativas Tukey ( $p < 0.05$ )

1 Los resultados son expresados en base seca.

EB = Equivalente de betanina

EV= Equivalente de vulgaxantina

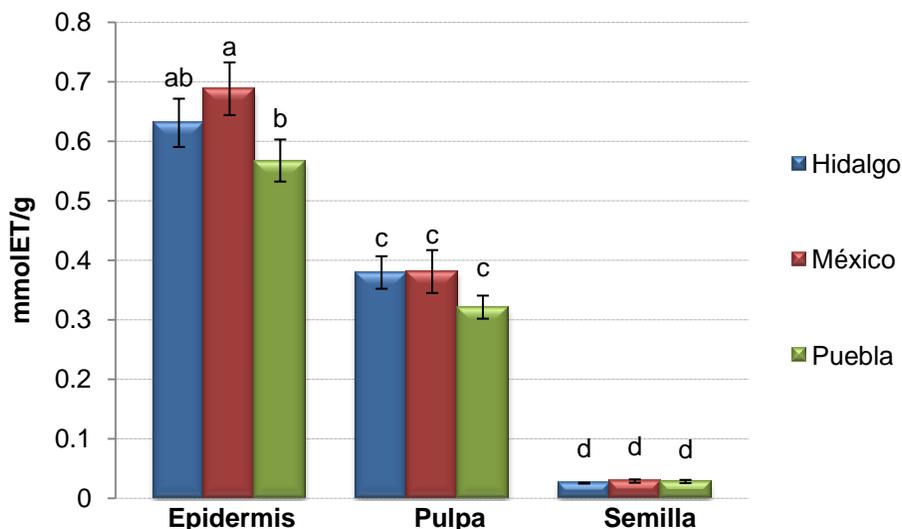
El fruto de xoconostle al mostrar una coloración rosada en la epidermis, posee una cantidad limitada de betacianinas; las vulgaxantinas (coloración amarilla) están presentes en mayor cantidad, sin embargo, el pH del fruto podría favorecer la desestabilización de estos compuestos, por lo que su bajo contenido en betalaínas a pesar de ser una *Opuntia* podría ser atribuido al pH ácido de estos frutos.

## **6.4 Capacidad antioxidante *in vitro* del fruto de xoconostle**

### **6.4.1 Capacidad antioxidante *in vitro* por el método TEAC y ORAC**

La capacidad antioxidante determinada por el método TEAC indicó que no hubo diferencias significativas en pulpa y semilla con respecto a la localidad, contrario a la capacidad antioxidante en epidermis. La epidermis del fruto del estado de México presenta mayor capacidad antioxidante que la epidermis de los frutos de Hidalgo y Puebla.

Como se muestra en la Figura 13, la capacidad antioxidante en la epidermis del fruto fue mayor que en pulpa. La capacidad antioxidante de la epidermis fue mayor a la del garambullo morado-rojizo (en madurez de consumo) que fue reportado por Hernández-Herrera (2008) con 0.25 mmol ET/g. La capacidad antioxidante en pulpa de xoconostle es superior a la que Butera (2002) reporta para pulpa de tuna con  $4.20 \pm 0.51$  mM ET/100 g.



**Figura 13.** Capacidad antioxidante<sup>1</sup> *in vitro* por el método TEAC en estructuras del fruto de xoconostle cuaresmeño (*O. matudae*)

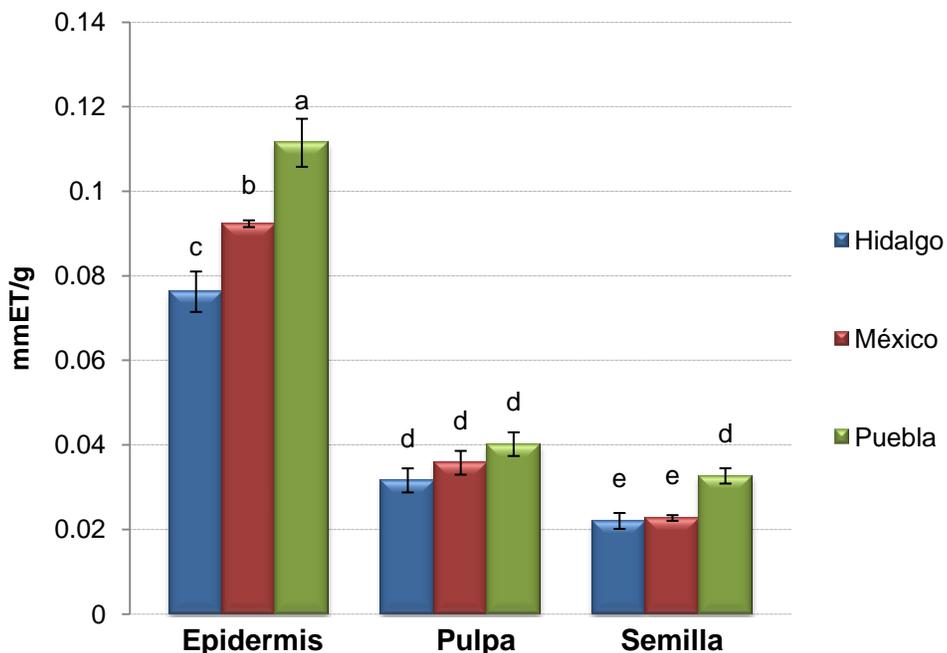
Los resultados son el promedio de dos experimentos independientes con tres repeticiones.

Letras distintas indican diferencias significativas Tukey ( $p < 0.05$ )

1 Los resultados son expresados en base seca.

No se observó una correlación positiva entre el contenido de vitamina C, carotenoides, betalaínas y flavonoides con la capacidad antioxidante, por lo que la capacidad antioxidante total podría estar relacionada con el contenido total de estos compuestos.

En la Figura 14 se muestra que los valores más elevados de ORAC se encontraron en la epidermis, con una capacidad antioxidante entre 0.08 y 0.11 mm ET/g, los cuales se encuentran por debajo de lo reportado para epidermis de *Opuntia dillenii* Haw, con 0.14 mm ET/g (Chang *et al.*, 2008); estos autores reportan que la mayor capacidad antioxidante es encontrada en semilla (0.18 mm ET/g), seguida por epidermis (0.14 mm ET/g) y finalmente pulpa (0.10 mm ET/g), mientras que en xoconostle cuaresmeño, hemos encontrado cantidades mínimas (0.02-0.03 mm ET/g) en semilla y en pulpa (0.3-0.4 mm ET/g).



**Figura 14.** Capacidad antioxidante<sup>1</sup> *in vitro* por el método ORAC en estructuras del fruto de xocconostle cuaresmeño (*O. matudae*)

Los resultados son el promedio de dos experimentos independientes con tres repeticiones.

Letras distintas indican diferencias significativas Tukey ( $p < 0.05$ )

<sup>1</sup> Los resultados son expresados en base seca.

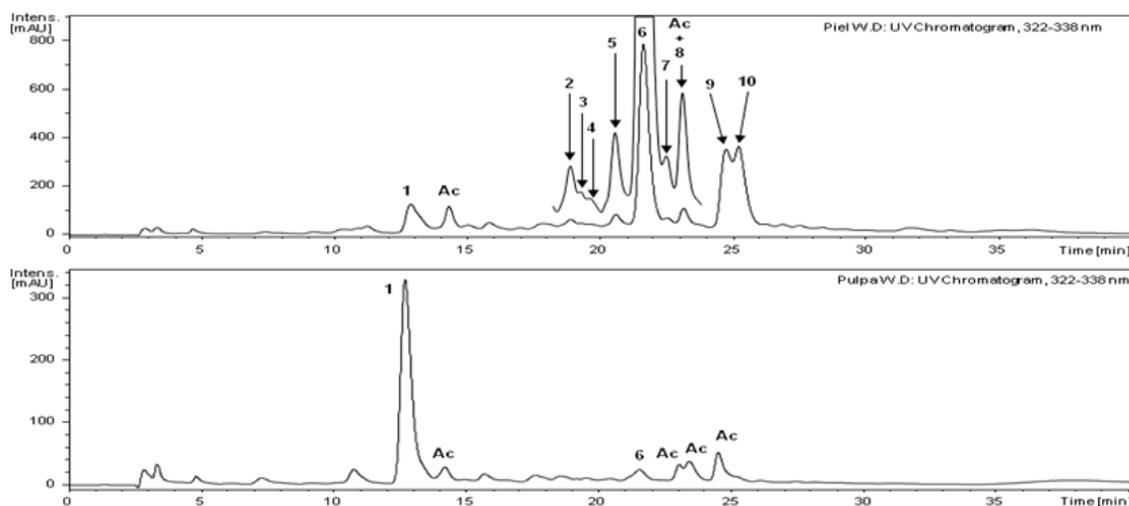
Kuti (2004) realizó un estudio en frutos completos de cuatro especies de *Opuntia*, reportando que la capacidad antioxidante (ORAC) es de 0.02 a 0.03 mm ET/g en frutos de piel roja de *Opuntia streptacantha* y piel verde *O. ficus-indica* respectivamente, estos resultados son similares a lo que se encontró en pulpa y semilla de xocconostle.

En este estudio no fue posible correlacionar el contenido de polifenoles totales, ácido ascórbico, betalainas y minerales con la capacidad antioxidante que se determinó para cada estructura analizada.

## 6.5 Biodisponibilidad *in vitro* de compuestos antioxidantes en fruto de xoconostle

Con el consumo oral, la absorción de micronutrientes y fitoquímicos en el organismo no es completa y seguramente un porcentaje no es asimilado.

Se identificaron algunos compuestos fenólicos con importante actividad antioxidante y terapéutica, tales como quercetina, metoxiquercetina, kaempferol e isoharmentina, todos estos presentes en epidermis de xoconostle cuaresmeño. En pulpa, se encontraron principalmente ácidos fenólicos e isoharmentina, sin embargo, pese a la coloración rosada oscura de la semilla no fue posible identificar algún compuesto antioxidante en estas.



**Figura 15.** Identificación de compuestos antioxidantes de epidermis y pulpa de xoconostle cuaresmeño

1. No identificado. 2. Derivados de Quercetina. 3. Metoxiquercetina. 5 y 8. Kaempferol. 4, 6, 7, 9 y 10. Isoharmentina.

Como se mencionó con anterioridad, con un consumo oral, la absorción de micronutrientes y fitoquímicos en el organismo no es completa y solamente cierto porcentaje es absorbido. Para cuantificar la cantidad que es realmente absorbida, distribuida al tejido, metabolizada y eventualmente excretada, fue introducido el

término “biodisponibilidad”. La biodisponibilidad describe la concentración de un compuesto o sus metabolitos que llega al órgano diana.

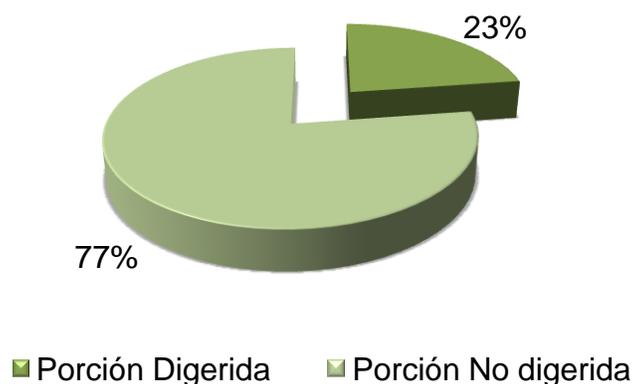
**Cuadro 10.** Concentración de compuestos antioxidantes en la epidermis y pulpa del fruto de xoconostle.

	Pulpa de xoconostle ( $\mu\text{g/g}$ )	Epidermis de xoconostle ( $\mu\text{g/g}$ )
<b>Contenido Inicial</b>	$3.4 \pm 0.2$ a	$56.04 \pm 0.4$ a
<b>Porción Digerida</b>	$2.34 \pm 0.05$ b	$12.72 \pm 0.1$ c
<b>Porción No digerida</b>	$1.06 \pm 0.01$ c	$43.32 \pm 0.3$ b

Letras distintas indican diferencias significativas Tukey ( $p < 0.05$ )

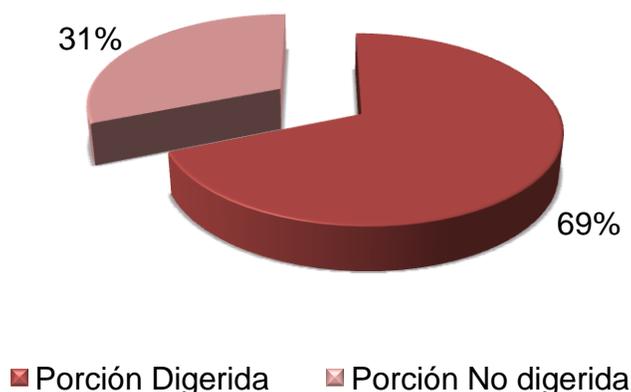
1 Los resultados son expresados en base seca.

Para conocer la concentración de compuestos presentes en el fruto se utilizó como patrón ácido clorogénico para determinar el contenido total de ácidos presentes en el fruto, y para determinar la concentración de flavonoles se utilizó como patrón quercetina. En el Cuadro 10 se muestra una comparación entre la concentración inicial, porción digerida y no digerida. Posteriormente se calculó el porcentaje de absorción de compuestos antioxidantes.



**Figura 16.** Biodisponibilidad *in vitro* de compuestos antioxidantes en la epidermis del fruto de xoconostle (*O. matudae*).

Se observa en la Figura 16, que la porción digerible de compuestos antioxidantes es de tan solo el 23%, mientras que la porción no digerible alcanza un porcentaje considerable (77%). La causa probable de que la porción digerible sea tan pequeña podría deberse a que los minerales y compuestos fenólicos presentes en la epidermis del fruto forman complejos y disminuyen la biodisponibilidad de los mismos.



**Figura 17.** Biodisponibilidad *in vitro* de compuestos antioxidantes en la pulpa del fruto de xoconostle (*O. matudae*).

En pulpa de xoconostle cuaresmeño se encontró una menor cantidad de compuestos antioxidantes, sin embargo su biodisponibilidad *in vitro* se vio aumentada con respecto a la de la epidermis del mismo fruto.

La Figura 17 muestra que la porción digerida representó hasta un 69%, porcentaje mayor al 23% de compuestos absorbidos de la epidermis del fruto. Contrario al contenido de compuestos presentes en la epidermis, la epidermis del fruto es pobre en minerales (hierro y zinc), por lo que la biodisponibilidad de los compuestos antioxidantes no se vio gravemente afectada por los complejos que en epidermis disminuyeron su asimilación.

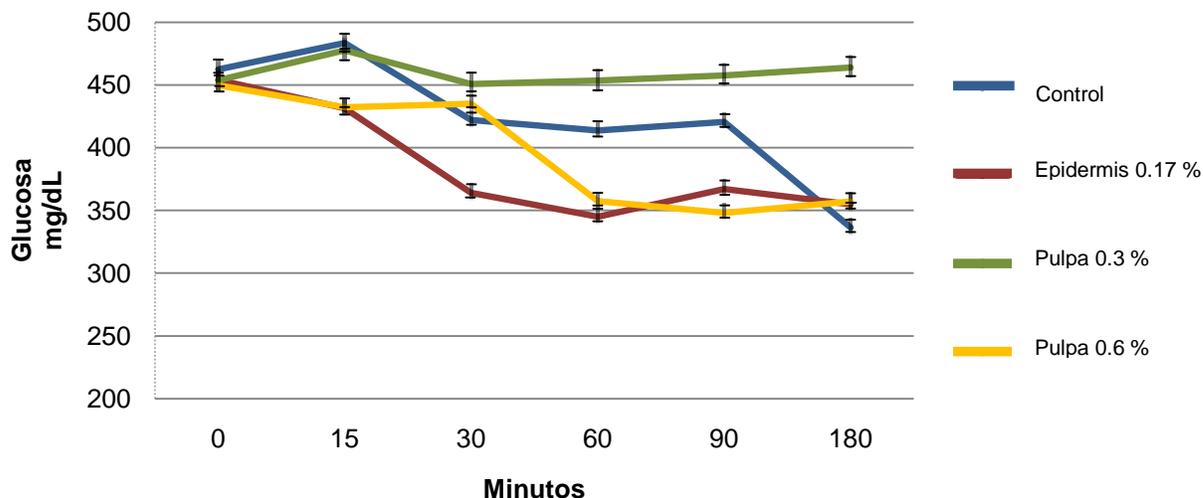
## **6.6 Efecto del consumo de xoconostle cuaresmeño (*O. matudae*) en ratas diabéticas**

### **6.6.1 Evaluación hipoglucemiante a corto plazo del fruto de xoconostle en ratas diabéticas**

Estudios previos en *Opuntias*, sugieren el potencial farmacológico como la acción hipoglucemiante que posee este género, la cual ha sido usada como en medicina tradicional en el tratamiento de la diabetes (Park & Chun, 2001).

En la Figura 18 se muestra el efecto que tuvo el consumo de epidermis y pulpa de xoconostle en sus diferentes concentraciones sobre la glicemia en ayuno en ratas diabéticas. Se observa que las ratas diabéticas tratadas con pulpa al 0.3% mantienen una glicemia estable comparada con las ratas del grupo control, en la que se observa una disminución gradual del nivel de glucosa en sangre a lo largo de 180 minutos. Los tratamientos de epidermis al 0.17% y pulpa al 0.6% presentan el mejor efecto hipoglicémico con respecto al control, sin embargo, podemos observar que la glicemia disminuye de forma similar durante los primeros 15 minutos, no obstante, después de los 60 min la glicemia tiende a elevarse, efecto que no fue observado al administrar pulpa al 0.6% que aunque mantiene los niveles durante los primeros 60 min, después de este tiempo disminuye gradualmente.

Estadísticamente, no se observa diferencia entre los valores reportados para los tratamientos con respecto a su control, excepto a los 60 min, donde el tratamiento de pulpa al 0.6% demuestra tener un efecto hipoglucemiante al ser administrada en ayuno.

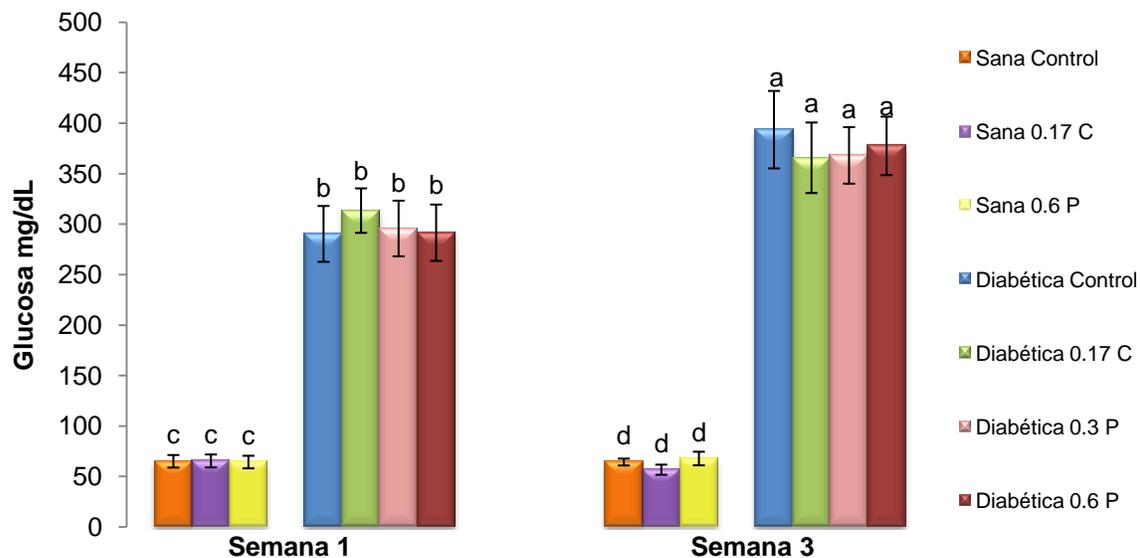


**Figura 18.** Efecto hipoglucemiante de epidermis y pulpa de xoconostle cuaresmeño (*Opuntia matudae*) en ratas diabéticas.

Pese a ser un fruto del género *Opuntia*, su consumo a estas dosis no demostró ejercer un efecto hipoglucemiante en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina (ETZ).

### 6.6.2 Efecto de la ingesta de xoconostle sobre la glucemia en ratas sanas y diabéticas

En la Figura 19 se muestra el efecto del consumo de epidermis y pulpa en ratas sanas y diabéticas sobre la glucosa en ayuno con respecto a su respectivo control. La semana 1 representa la primera semana desde la inducción de la diabetes y la semana 3 la glicemia en ayuno del último día de tratamiento. Observamos que al inicio del tratamiento, los niveles de glucosa son elevados, encontrándose entre los 270 y 320 mg/dL, sin embargo, estadísticamente no se reporta diferencia entre los grupos con tratamiento y el control. En ratas sanas, el xoconostle no muestra efecto en la glicemia en ayuno con respecto al control.



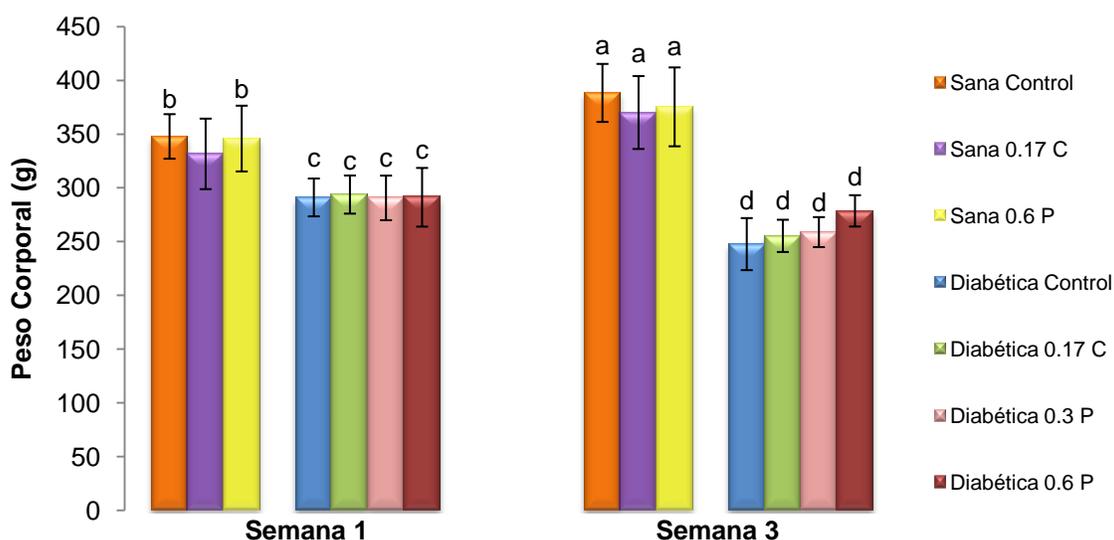
**Figura 19.** Efecto del consumo de epidermis y pulpa de xoconostle en los niveles de glucosa en sangre de ratas sanas y diabéticas al inicio y final del tratamiento.

Los valores se presentan como la media de la concentración (mg/dL) de los niveles de Glucosa en ayuno  $\pm$  E.E. (\*) Indica diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) con respecto al control (Dunnett.) Letras distintas indican diferencia significativa según parámetro analizado (Tukey). **0.17 C= 0.17% Cáscara o Epidermis; 0.3 P= 0.3% Pulpa; 0.6 P= 0.6% Pulpa.** Semanas a partir de inducción con STZ.

Los resultados muestran que tampoco hubo una disminución en los niveles de glucosa sanguínea de los animales diabéticos, por el contrario, el nivel de glucosa continúa en asenso conforme pasa el tiempo de experimentación. Es importante mencionar que una vez que los animales presentan diabetes, ésta evoluciona rápidamente y se generan las complicaciones, por lo que a este nivel, ya no es posible observar una protección por el consumo de epidermis y pulpa en cuanto a los niveles de glucosa. Por lo tanto, en etapas avanzadas los niveles de glucosa en sangre no pueden controlarse con éstas concentraciones de epidermis y pulpa de xoconostle, sino que puede ser necesaria la administración de fármacos hipoglucemiantes.

### 6.6.3 Efecto del consumo de xoconostle sobre el peso corporal de ratas sanas y diabéticas

La pérdida de peso en la diabetes es un factor importante que indica el progreso de la enfermedad. Esto se debe a que una de las características de la diabetes es la disminución del peso corporal debido a la pérdida de masa muscular y la degradación de los triglicéridos provenientes del tejido adiposo, como resultado de la demanda de energía del organismo que no puede cubrir la glucosa, al no poder ser incorporada a los tejidos dependientes de insulina. En la Figura 20 se presenta el peso corporal de todos los grupos experimentales. En ratas sanas se observa un incremento de peso con respecto al inicio de tratamiento, siguiendo su ciclo de crecimiento que se ve reflejado en la ganancia de peso, sin presentar diferencia significativa los tratamientos con respecto al control de ratas sanas.



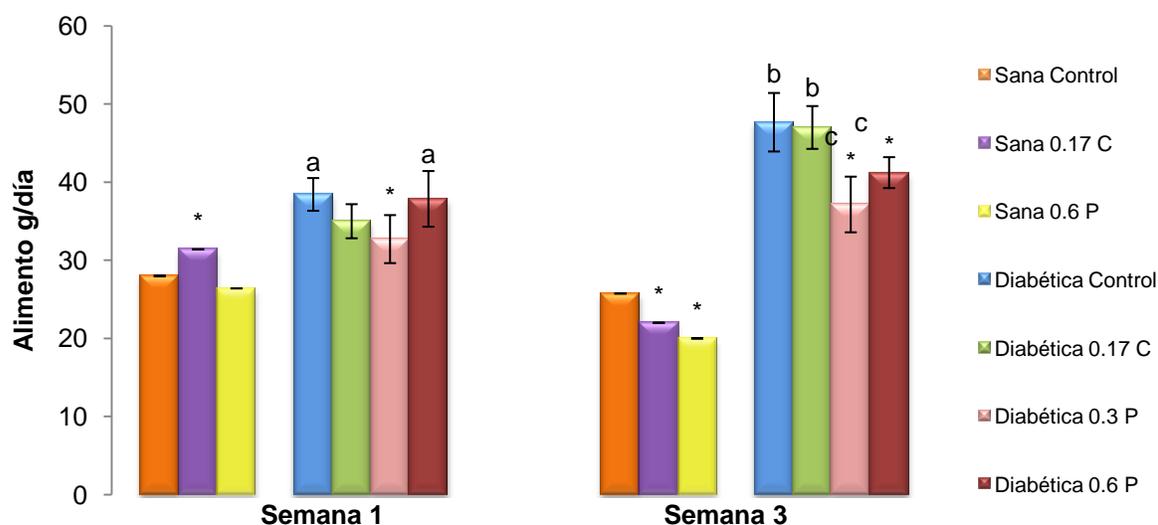
**Figura 21.** Efecto del consumo de epidermis y pulpa de xoconostle sobre el peso corporal de ratas sanas y diabéticas.

Los valores se presentan como la media de la ganancia de peso corporal (g)  $\pm$  E.E. (\*) Indica diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) con respecto al control (Dunnett). Letras distintas indican diferencia significativa según parámetro analizado (Tukey). **0.17 C= 0.17% Cáscara o Epidermis; 0.3 P= 0.3% Pulpa; 0.6 P= 0.6% Pulpa.** Semanas a partir de inducción con STZ.

En los grupos de ratas diabéticas, no se observó una diferencia significativa entre los grupos con tratamiento y el grupo control, la pérdida de peso fue similar en cada grupo, lo que podría deberse a que en esta etapa de la enfermedad, las dosis utilizadas tanto de epidermis como de pulpa no son efectivas para disminuir la utilización de grasas y tejido muscular para suministrar energía al músculo, por lo que, la degradación de estos tejidos, se ve reflejada en la pérdida de peso corporal.

#### 6.6.4 Efecto del consumo de xoconostle sobre el consumo de alimento en ratas sanas y diabéticas

Uno de los síntomas comúnmente conocido de la diabetes es la polifagia, que implica el aumento en el consumo de alimentos. Cuando la enfermedad está controlada, puede haber una disminución de la ingesta de alimento, la cual está regulada por péptidos anorexigénicos y orexigénicos que controlan los centros de saciedad y apetito, respectivamente (Patel, 2006). La expresión de estos péptidos es inhibida o estimulada por la insulina. Durante la diabetes, la disminución y/o actividad de la insulina, altera la regulación de estos péptidos lo que conduce a un aumento del consumo de alimento (Arora, 2006).



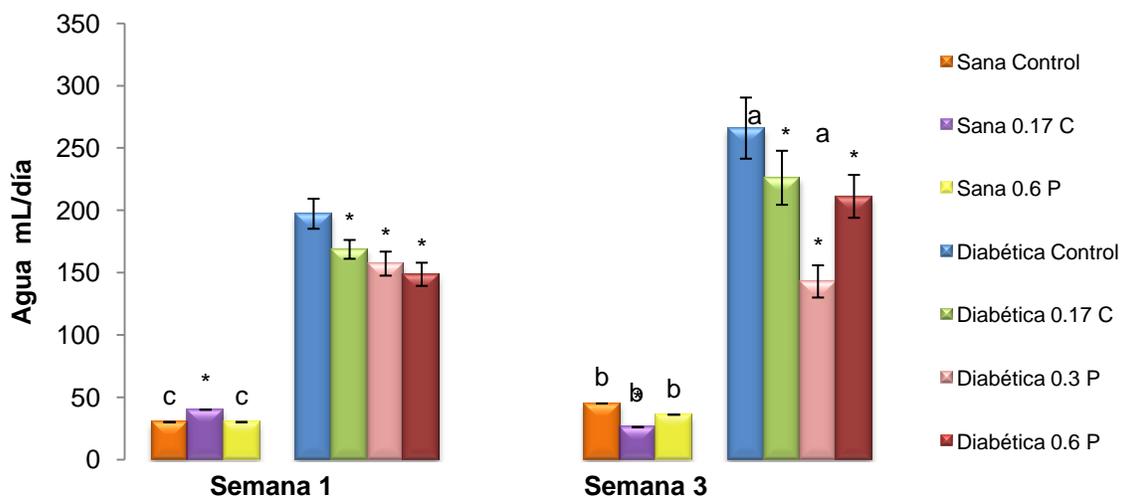
**Figura 22.** Efecto del consumo de epidermis y pulpa de xoconostle en la ingesta de alimento en ratas sanas y diabéticas.

Los valores se presentan como la media del consumo de alimento (g)  $\pm$  E.E. (\*) Indica diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) con respecto al control (Dunnet). Letras distintas indican diferencia significativa según parámetro analizado (Tukey). **0.17 C= 0.17% Cáscara o Epidermis; 0.3 P= 0.3% Pulpa; 0.6 P= 0.6% Pulpa.** Semanas a partir de la inducción con STZ.

La Figura 22 muestra el consumo de alimento al inicio como al final del tiempo de tratamiento, tanto de ratas sanas como diabéticas. Las ratas tratadas con xoconostle, a la semana 3 muestran una disminución significativa de la ingesta de alimento.

### 6.6.5 Efecto del consumo de xoconostle sobre la ingesta de agua en ratas sanas y diabéticas

La diabetes es una enfermedad que se caracteriza, entre otros síntomas, por polidipsia (sed excesiva) (Braunwald y *et al.*, 1998). El exceso de glucosa en la sangre necesita de la excreción de cantidades elevadas de agua, vía urinaria, para eliminar la glucosa disuelta en el organismo (King, 1991). Debido a esto hay una deshidratación ocasionada por el arrastre de líquido, como consecuencia, el consumo de agua en los animales diabéticos se hace evidente (Federación Mexicana de Diabetes, 2003).



**Figura 23.** Efecto del consumo de epidermis y pulpa de xoconostle en la ingesta de agua en ratas sanas y diabéticas al inicio y final del tratamiento.

Los valores se presentan como la media de la ingesta de agua (mL)  $\pm$  E.E. (\*) Indica diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) con respecto al control (Dunnet). Letras distintas indican diferencia significativa según parámetro analizado (Tukey). **0.17 C= 0.17% Cáscara o Epidermis; 0.3 P= 0.3% Pulpa; 0.6 P= 0.6% Pulpa.** Semanas a partir de la inducción con STZ.

En ratas sanas, el consumo de agua no presentó una diferencia significativa con respecto al grupo control (Figura 23), sin embargo, en ratas diabéticas es evidente la disminución en la ingesta de agua en las ratas tratadas con pulpa al 0.3%, consumo que se mantuvo estable con respecto al consumo de agua al inicio del tratamiento. Se observó claramente que en ratas diabéticas del grupo control el consumo fue en aumento conforme el tiempo de experimentación transcurrió, al igual que en el grupo tratado con epidermis al 0.17% y pulpa al 0.6%, aunque el consumo siempre fue menor para grupos tratados con xoconostle que en el grupo control.

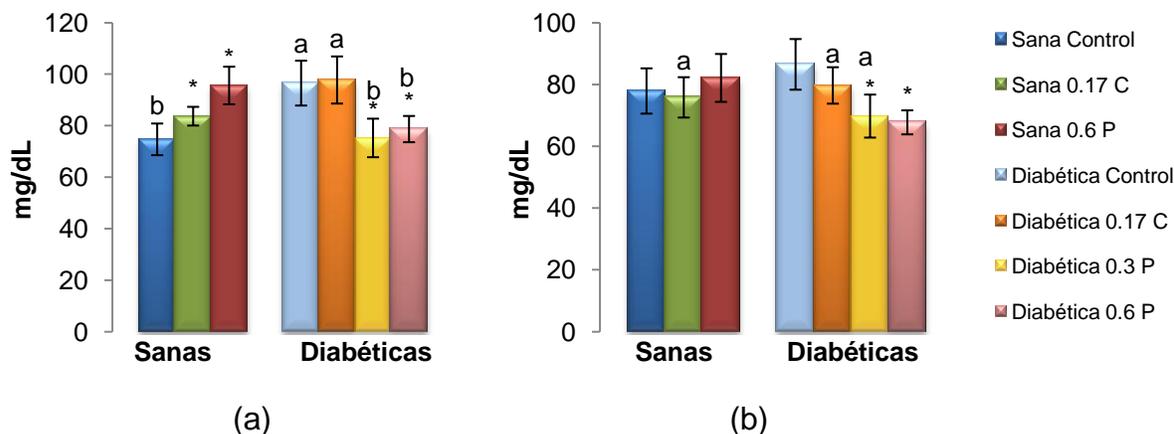
#### **6.6.6 Efecto del consumo de xoconostle sobre el perfil lipídico de ratas sanas y diabéticas**

Transcurrido un tiempo de experimentación de tres semanas, las ratas fueron sacrificadas. Se extrajo sangre de la aorta coronaria para determinar perfil lipídico en suero.

Los parámetros bioquímicos medidos en suero fueron: colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL).

En el análisis bioquímico sanguíneo (Figura 24) se observó que la pulpa de xoconostle, en ambas concentraciones (0.3 y 0.6%) tienen un efecto significativo sobre el nivel de triglicéridos en ratas diabéticas, nivel que puede llegar a los presentados en ratas sanas sin tratamiento. Sin embargo, las ratas sanas tratadas con epidermis y pulpa de xoconostle presentan un efecto contrario que en ratas

diabéticas, pudiendo llegar a niveles similares a los que presentan los animales diabéticos sin tratamiento.



**Figura 24.** Efecto del consumo de epidermis y pulpa de xococonostle sobre el nivel de Triglicéridos (a) y Colesterol (b) en ratas sanas y diabéticas.

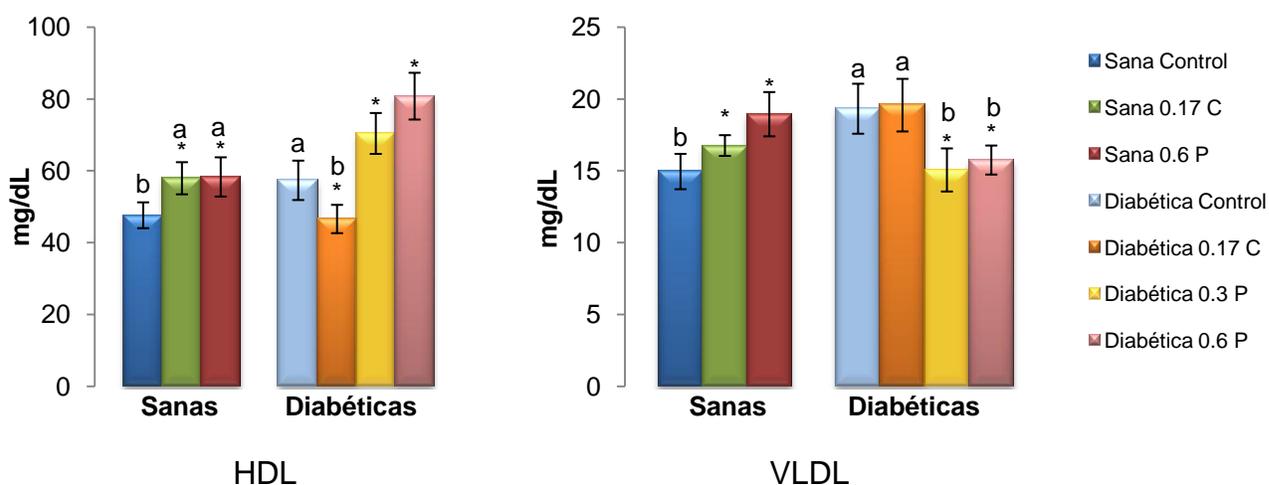
Los valores se presentan como la media de la concentración (mg/dL) de los niveles de Triglicéridos y Colesterol en suero  $\pm$  E.E. (\*) Indica diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) con respecto al control (Dunnet). Letras diferentes indican valores con diferencia significativa (Tukey). **0.17 C= 0.17% Cáscara o Epidermis; 0.3 P= 0.3% Pulpa; 0.6 P= 0.6% Pulpa.**

En el caso del colesterol, se observa una disminución significativa en los niveles de colesterol de ratas tratadas con pulpa al 0.6%, niveles por debajo a los que presentaron ratas sanas del grupo control.

Las alteraciones del perfil lipídico del paciente diabético se caracterizan por altos niveles de triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (LDL), así como bajos niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL). Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) son las lipoproteínas responsables del transporte de colesterol de los tejidos corporales al hígado, lo que se ve reflejado en una disminución de colesterol cuando el HDL se eleva, confiriendo una propiedad anti aterogénica a éstas últimas. El tratamiento con ambas concentraciones de pulpa (0.3 y 0.6%) en ratas diabéticas, como se muestra en la Figura 26, elevó el nivel de colesterol HDL

sérico a  $70.36 \pm 5.69$  y  $80.74 \pm 6.51$  mg/dL, respectivamente, representando un aumento de cerca del 50% más HDL en ratas tratadas con pulpa que en ratas diabéticas del control. La American Heart Association recomienda niveles superiores a 60 mg/dL para reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

En la Figura 25 se puede observar que las ratas sanas del grupo control presentan niveles bajos de VLDL ( $14.94 \pm 1.23$  mg/dL) comparada con las ratas diabéticas control ( $19.31 \pm 1.74$  mg/dL). Lo que implica que el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares secundarias a la diabetes.



**Figura 25.** Efecto del consumo de epidermis y pulpa sobre el nivel de HDL y VLDL en ratas sanas y diabéticas

Los valores se presentan como la media de la concentración (mg/dL) de los niveles de HDL y VLDL en suero  $\pm$  E.E. (\*) Indica diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) con respecto al control, (Dunnet). Letras diferentes indican valores con diferencia significativa (Tukey). **0.17 C= 0.17% Cáscara o Epidermis; 0.3 P= 0.3% Pulpa; 0.6 P= 0.6% Pulpa.**

### 6.6.7 Efecto del consumo de xoconostle sobre parámetros de daño renal en ratas diabéticas

La nefropatía diabética es una enfermedad secundaria a la diabetes mellitus. Una de las principales complicaciones de la diabetes es la nefropatía diabética. La presencia de proteína en orina se debe a la pérdida de la capacidad de los glomérulos de las nefronas del riñón para filtrar sustancias y iones que, posteriormente serán reabsorbidos (como el sodio, glucosa y albumina) y secretados (como el potasio y urea) para la formación de la orina (Rhee *et al.*, 2002). En esta etapa se determinaron algunos parámetros de daño renal para evaluar el desarrollo de una de las complicaciones de la diabetes. En el Cuadro 11 se muestran algunos parámetros de daño renal, los valores obtenidos en orina de ratas sanas de ambas etapas se incluyen como referencia.

**Cuadro 11.** Parámetros de daño renal determinadas en ratas diabéticas tratadas con epidermis y pulpa de xoconostle

<b>Grupo/Tratamiento</b>	<b>Peso relativo (%)</b>	<b>Proteína (mg/12 hr)</b>
<b>Sanas Control</b>	0.0054 + 0.0003 b	0.70 + 0.39 c
<b>Sanas 0.17% Epidermis</b>	0.0056 + 0.0004 b	0.29 + 0.10 e
<b>Sanas 0.6% Pulpa</b>	0.0055 + 0.0002 b	0.33 + 0.30 e
<b>Diabéticas Control</b>	0.0096 + 0.0009 a	1.25 + 0.68 a
<b>Diabéticas 0.17% Epidermis</b>	0.0091 + 0.0004 a	1.19 + 0.75 a
<b>Diabéticas 0.3% Pulpa</b>	0.0094 + 0.0007 a	0.54 + 0.51 d
<b>Diabéticas 0.6% Pulpa</b>	0.0090 + 0.0007 a	0.86 + 0.86 b

Los valores se presentan como la media de los valores obtenidos  $\pm$  E.E. (\*) Indica diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) con respecto al control (Dunnet). Letras diferentes indican valores con diferencia significativa (Tukey).

Una de las complicaciones frecuentes de la diabetes es la nefropatía diabética, en donde una de las características más comunes es la hipertrofia renal. Debido a que se mantiene elevada el azúcar en la sangre existe una mayor filtración de los riñones, debido a que hay un aumento del flujo de sangre y éstos aumentan de tamaño. Por ello en este experimento se registró en peso de los riñones como un indicador del control de esta complicación.

Se puede observar que el peso relativo de los riñones de las ratas diabéticas ( $0.0096 \pm 0.0009$ ) fue mayor comparado con el de las ratas sanas ( $0.0096 \pm 0.0009$ ) ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 11). No se observó diferencia significativa en el peso relativo de ratas diabéticas tratadas con respecto a su control. En riñones de ratas sanas no se observó hipertrofia, mientras que en ratas diabéticas se encontró que los riñones crecían 50% más que en ratas sanas.

En el Cuadro 11 se muestra el nivel de proteína encontrada en orina recolectada de 12 horas. Aunque no se observa diferencia significativa de los grupos tratados respecto a su grupo control (tanto sano como diabético), es posible observar que el consumo de pulpa al 0.3% disminuyó la excreción de proteína al 50% con respecto de la excreción de proteína del grupo control diabético, lo cual sugiere que el consumo de xoconostle a esta concentración (0.3%) permite mejorar la filtración de proteína a través del glomérulo del riñón, evitando la hipertrofia del tejido y el daño renal, dicho efecto fue similar al reportado por Martínez-Samayoá (2008) con el consumo de garambullo a una dosis de 2g/kg de peso corporal.

## VII. CONCLUSIONES

- El fruto de xoconostle cuaresmeño está conformado mayormente por una pulpa ácida y sin semillas. Su composición fitoquímica funcional varió dependiendo de la estructura analizada, y en menor medida dependiendo de la localidad.
- La epidermis del fruto mostró una alta capacidad antioxidante (TEAC) para las tres localidades. Presentó alto contenido de fibra insoluble, hierro y compuestos nutraceuticos como quercetina, metoxiquercetina, kaempferol e isoharmentina, sin embargo, la biodisponibilidad *in vitro* de estos compuestos fue limitada por la formación de complejos con micro y macronutrientes.
- La pulpa del fruto presentó una alta concentración de polifenoles totales y ácido ascórbico; su capacidad antioxidante (TEAC) fue menor que la de la epidermis del fruto, sin embargo, la biodisponibilidad *in vitro* los compuestos nutraceuticos representó cerca de un 70%.
- La biodisponibilidad *in vitro* tuvo una correlación directa con el efecto terapéutico en ratas diabéticas, sin embargo, a dosis elevadas, el efecto se vió revertido.
- El consumo de epidermis y pulpa de xoconostle no tuvo un efecto significativo en la glicemia de ratas diabéticas, tampoco en el cambio de peso, sin embargo disminuyó notablemente el consumo de agua y alimento con respecto a las que no recibieron tratamiento alguno.
- El consumo de pulpa al 0.3% mostró un efecto cardioprotector y renal, disminuyendo la concentración de colesterol, VLDL y proteína urinaria.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADA. 1995. Position of the American Dietetic Association: Phytochemicals and functional foods. *J. Am. Diet. Assoc.* 95: 493-496.
- Almanza R.A. 1999. "Cocina Indígena y Popular. Recetario Guanajuatense del Xoconostle". Comisión Nacional para la Cultura y las Artes, México Distrito Federal.
- Alonso-Castro, A. J. 2007. Escrutinio de Actividades Tipo Insulina en Plantas Usadas Tradicionalmente como Antidiabéticos. Tesis de Maestría. Maestría en Ciencias en la Especialidad de Biología Molecular. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. San Luis Potosí, S.L.P. 36p.
- American Heart Association. [www.americanheart.org](http://www.americanheart.org)
- Andrade-Cetto, A., Heinrich, M. 2005. Mexican plants whit hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 93, 325-248.
- Anónimo. 1991. When food meets medicine. *Food Manuf.* 66:26.
- Anónimo. 2001. A diet containing food rich in soluble and insoluble fiber improves glycemic control and reduces hyperlipidemia among patients with type 2 diabetes mellitus. *Nutr Rev.*, 59:52-55.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis (16th Ed.) Association of official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Araya, L. H., Lutz, R. M. 2003. Functional and Healthy Foods. *Rev. Chil. Nutr.* 30,1.
- Arias, M. C. G. y M. A. Martínez C. 1988. Jardín de introducción de procedencias de Nopal (*Opuntia* spp.). In: Memoria de la III Reunión Nacional y I Reunión Internacional. El Nopal. 10-14 de octubre. Saltillo, Coah. México. pp: 81-86.
- Arora, S. Anubhuti. 2006. Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity: a review. *Neuropeptides.* 40:375-401.
- Arreola, N. H. J. 1988. Distribución de las especies de *Opuntia* en Jalisco. In: Memoria de la III Reunión Nacional y I Reunión Internacional. El Nopal. 10-14 de octubre. Saltillo, Coah. México. pp: 104-110.
- Barbera, G. e Inglese, P. 1992. The quality of cactus pear fruits. pp.143-148. In: Actas II Congreso Internacional de la Tuna y Cochinilla, Santiago.
- Barreiro J. A., Milano M., Sandoval AJ. 1997. Kinetics of colour change of double concentrated tomato paste during thermal treatment. *J Food Engineer* 33: 359-371.
- Berlitz, H., Grosch W. 1988. Química de los alimentos. Ed. Acribia. España; Zaragoza.
- Bennett PH., Knowler WC. 2001. Diabetes Mellitus: Definiton, Diagnosis and Classification of diabetes mellitus and Glucose Metabolism. 13th edition. C. Ronald Kahn and Gordon C. Weir; eds.. Philadelphia; Lea & Febiger. 19:331-339.
- Block, G., Patterson, B., Subar, A. 1992. Fruit, vegetables, and cancer prevention: A review of the epidemiological evidence. *Nutr. Cancer* 18: 1-29.
- Bravo H., E. 1978. Las Cactáceas de México. Vol I. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria. D.F., México. 743 p.

- Bravo-Hollis, H. y L.Scheinvar. 1999. El Interesante Mundo de las Cactáceas. 2da edición. Fondo de Cultura Económica. D. F., México. 233 p.
- Braunwald, E., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Longo, D., Jameson, J. 1998. Principios de medicina interna Harrison. 15a edición. Editorial Mc. Graw-Hill.
- Burkitt DP. 1973. Some diseases characteristic of modern western civilization. *BMJ*, 1:274-278.
- Butera, D., Tesoriere, L., Di Gaudio, F., Bongiorno, A., Allegra, M., Pintaudi, A., Kohen, R., Livrea M. 2002. Antioxidant activities of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its Betalains: Betanin and Indicaxanthin. *J Agric. Food Chem.* 50: 6895-6901.
- Casas A. y Barbera G. 2002. Mesoamerican domestication and diffusion. In "Cacti: Biology and Uses". P.S. Nobel (Ed.) p. 143-162. University of California Press, Berkeley-Los Angeles- London.
- Cerezal, P., Duarte, G. 2005. Some characteristics of cactus pear (*Opuntia ficus.índica* (L.) Miller) harvested in the Altiplane of the 2nd Región of Chile. *Journal of the Professional Association for Cactus Development.*
- Chance B., Sies H., Boveris A. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organisms. *Physiol. Rev.* 59:527-605.
- Chang, S., Hsieh, Ch., Yen, G. 2008. The protective effect of *Opuntia dillenii* Haw fruit against low-density lipoprotein peroxidation and its active compounds. *Food Chemistry.* 106: 569-575.
- Cheftel JC., Cheftel H. 1983. Frutta e verdure. In *Biocemica e tecnologia degli alimenti.* Eds: Cheftel JC, Cheftel H, Edagricole, Bologna, Italy, 147-240.
- Chung K. T., Wong T. Y., Wei C-I., Huang Y.-W., Lin Y. 1998. Tannins and Human Health: A review. *Crit. Rev. Food Sci;* 38 (6): 421-464.
- C.I.E. 1986. Colorimetrie, 2nd ed. Publication C.I.E. N°15, 2. Viena: Central Bureau of the Comisión Internationale de L'Eclairage.
- Colunga G.M.S., Hernández X.E. y Castillo M.A. 1986. Variación morfológica, manejo agrícola tradicional y grado de domesticación de *Opuntia* spp. en el Bajío guanajuatense. *Agrociencia* 65: 7.
- COMENTUNA, Red Nopal y CONABIO. 2008. Nopales, tunas y xoconostles. Consejo Mexicano de Nopal y Tuna, A.C., Red Nopal y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 1ª edición, México.
- Corrales G.J. y Flores V.C.A. 2000. "Tendencias Actuales y Futuras en el Procesamiento del Nopal y la Tuna. Reporte de Investigación". Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Estado de México.
- Crozier, A., Burns, J., Aziz, A. Stewart, A., Rabiasz, H., Jenkins, G., Edwards, C., Lean, M. 2000. Antioxidant flavonols from fruits, vegetables and beverages: measurements and bioavailability. *Biol. Res.* v.33 n.2 Santiago
- Deshpande, S. S., Chetyan, M. 1985. Evaluation of vainillin assay for tannin analysis of dry beans. *J. Food Sci.* 50:905-916
- Deustch, L. 2001. Foods that fight disease. Discover the healing power of food. 13-22.

- Díaz-Medina, E. M., Rodríguez-Rodríguez E. M., Díaz-Romero C. 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. *Food Chemistry* 103: 38-45.
- El Kossori, L., Villaume, C., El Boustani, E.; Sauvaire, Y., Mejean, L. 1998. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.) *Plant Foods for Human Nutrition*. 52. 263-270.
- Elejalde J.I. 2001. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes, *An. Med. Interna*: 18 (6), 145-152.
- Ewaidah, E. H., Hassan, B. H. 1992. Prickly pear sheets:a new fruit product. *Int. J. Food Sci. Technol.* 27: 353-358.
- Federación Mexicana de Diabetes. 2003. Control total de la diabetes para el médico tratante. Editorial Intersistemas, S. A. de C. V. México, D. F.
- Fennema, O. 1996. Water soluble vitamins. *Food Chemistry* 3rd. Ed. Marcel Dekker Inc., New York, p.559-567.
- Flores-Martínez SE, Machorro-Lozano MV, García-Zapien AG, López-Cardona MG, Morán-Moguel MC, Sánchez-Corona J. 2005. Diabetes Mellitus. Epidemiología molecular en la diabetes mellitus y sus complicaciones. 3a. ed. Ed. McGraw-Hill.. pp. 35-69.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, M.J. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *J. Agric. Food Chem.* 53:1370-1373.
- Gil-Izquierdo, A., Zafrilla, P., Tomás-Barberán, F. A. 2002. An method to simulate phenolic compounds release from the food matrix in the gastrointestinal tract. *Eur. Food Res. Technol.* 214, 155-159.
- Ginsberg, H. N. 2000. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J. Clin. Invest.* 106:453-458.
- Granados S., A. y A. D. Castañeda P. 1991. El Nopal. Historia, Fisiología, Genética e Importancia Frutícola. Editorial Trillas. D. F., México. 227 p.
- Hasler C. 2005. Regulation of Functional Foods and Nutraceuticals. A Global Perspective, IFT Press series, 2005.
- Gurrieri S., Miceli L., Lanza C.M., Tomaselli F., Bonomo R.P., Rizzarelli E. 2000. Chemical characterization of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) and perspectives for the storage of its juice. *J Agric Food Chem* 48, 5424-5431.
- Hare R. S. 1950. Endogenous creatinine in serum and urine. *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.* 74, 148.
- Hernández, V. R. E. 1990. Algunas *Opuntia* en los remedios medicinales de los pobladores de San Luis Potosí, México. En: J. J. López G. y M. J. Ayala O. (Eds). Memoria de la 3ª Reunión Nacional y 1ª Reunión Internacional El nopal, su conocimiento y Aprovechamiento. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. pp 355-358.
- Hernández-Herrera, MG. 2008. Efecto del estado de madurez y el almacenamiento sobre la calidad funcional del garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Hertog M., Van Poppel G., Verhoeven D. 1997. Potentially anticarcinogenic secondary metabolites from fruit and vegetables. In *Phytochemistry of Fruit and Vegetables*; Tomas-Barberan, F. A., Robins, R. J., Eds.; Clarendon Press: Oxford, U.K.; pp 13-329.

- Holst B., Williamson G. 2008. A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. *Nat Prod Rep*, 21:425-447.
- Islas-Andrade, S., Revilla Monsalve, M. C. 2005. Diabetes Mellitus. "Diabetes Mellitus: concepto y nueva clasificación". Tercera Edición. Edit. McGraw-Hill. Sección I. Cap. 1. p.p. 3-20.
- Johns, T., Romero, J. 1997. Functionality of Food Phytochemicals. *Recentes advances in phytochemical*. Vol. 31.57-59. New York, USA.
- Kim K.S., Sanghyun L., Yeon L. S., Sang J. H., Youmie P., Kuk S. H., Bak-Kwang K. 2003. Anti-oxidant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*, *J. Ethnopharmacol.*: 85 (1), 69-72.
- Kuti, O. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chem.* 85 (4); 527-533
- Lee Y.-C., Pyo Y.-H., Ahn C.-K., Kim S.-H. 2005. Food functionality of *Opuntia ficus-indica* var. cultivated in Jeju Island. *J Food Sci Nutr* 10, 103-110.
- Maldonado-Gualito, MJ. 2008. Distribución anatómica de los fitoquímicos-funcionales del garambullo (*Myrtillocactus Geometrizers*). Tesis Profesional. Instituto Tecnológico de Celaya.
- Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Remesy C. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr.*81:230S-242S.
- Martínez-Samayoa, PM. 2008. Análisis molecular de la capacidad antioxidante del fruto de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) en ratas diabéticas. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Mathews, C. K., Van Holde, K. E. 2002. Bioquímica. 2ª edición. Edit. McGraw-Hill. Interamericana.
- Mayorga, V. M. C., M. Urbiola L., G. Suárez R. y H. M. Escamilla S. 1988. Estudio agronómico de xoconostle *Opuntia* spp. en la zona semiárida del Estado de Querétaro. In: Memoria de la III Reunión Nacional y I Reunión Internacional. El Nopal. 10-14 de octubre. Saltillo, Coah. México. pp: 239-245.
- Miller, N. J., Diplock, A., Rice-Evans, C., Davies, M., Gopinathan, V., Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.* 84, 407-412.
- Miller ER., Pastor-Berriuso R., Dalal D., Riemersma RA., Appel LJ., Guallar E. 2005. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med*, 142:37-46.
- Morais M., Vítolo M., Aguirre A., Fagundes-Neto U. 1999. Measurement of low dietary fiber intake as a risk factor for chronic constipation in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 28:132-5.
- Murcia, M. A., Martínez-Tomé M. 2000. Antioxidant activity of resveratrol compared with common food additives. *J Food Protect.* 64: 379-384.
- Ndhlala, A. R., Kasiyamhuru A., Mupure C., Chitindingu K., Benhura M. A., Muchuweti M. 2007. Phenolic composition of *Flacourtia indica*, *Opuntia megacantha* and *Sclerocarya birrea*. *Food Chemistry* 103: 82-87.
- Nilson, I. 1970. Studies into the pigments in beet root. *Lantbrukshoegshoegskolans Anals.* 36:179-183.

- Nobel, P., Gibson, A. 1990. The cactus primer. Harvard University Press. Pp 188-190.
- Nobel, P. 2002. Cacti. Biology and uses. University of California Press. Pp 57-62.
- Ou B., Hampsh-Woodill M. and Prior R. 2001. Development and validation of an improved Oxygen Radical Absorption Capacity assay using fluorescein as a fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.* 49:4619-4626.
- Park, E.H., Chun, M. J. 2001. Wound healing activity of *Opuntia ficus-indica*. *Fitoterapia*, 72, 165–167.
- Patel, HR., Qi, Y., Hawkins, EJ., Hileman, SM., Elmquist, JK., Imai, Y., Ahima, RS. 2006. Neuropeptide Y deficiency attenuates responses to fasting and high-fat diet in obesity-prone mice. *Diabetes*. 55: 3091-8
- Peralta, M. 1983. Caracterización fenológica y morfológica de formas de nopal (*Opuntia* spp.) de fruto (tuna) en el altiplano potosino-zacatecano. Tesis Profesional. Centro Agropecuario, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes, Ags., México. 88 p.
- Piattelli, M., Imperato, F. 1969. Betacyanins of the family Cactaceae. *Phytochemistry* 8.1503-1507.
- Piga A. 2004. Cactus pear: a fruit of nutraceutical and functional importance. *J Profess Assoc Cactus Dev*, 9-22.
- Pimienta, B. E., Méndez, L., Ramírez, B., Domínguez, R. M., Montoya, E., García, J. 1994. Effect of the ingestión of xoconostle fruit (*Opuntia joconostle* Weber) on glicemia and serum lipids. P. Felker and J. R. Moss (Eds.). Proceedings Fifth Annual Texas Pickly Pear Council. Kingsville, Texas. USA. Pp. 51-60.
- Prior, R., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standarized metods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53:4290-4302.
- Prosky, L., Asp, N.G., Schweizer, T.F., DeVries, J. W., Furda, I. 1988. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71:1017-1023.
- Ramos-Rodríguez, H. G., Domingo Méndez, J. 1994. Diabetes Mellitus Experimental. *Ciencia Vet.* p. p. 347-360.
- Reusch J. 2003. Diabetes, microvascular complications, and cardiovascular complications: what is it about glucose?. *J. Clin. Invest.* 112:986-988.
- Reyes-Agüero J.A., Aguirre R.J.R. and Valiente B.A. 2005. Reproductive biology of *Opuntia*: a review. *J. Arid Environ.* In press.
- Rhee, S., Kim, M., Kwag, O. 2002. Effects of green tea catechin on prostaglandin synthesis of renal glomerular and renal dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr.* 11:232-6.
- Rivas, J., y García, M. 2002. Flavonoides en alimentos vegetales: estructura y actividad antioxidante. *Alim. Nutr. Salud.*, 9 (2), 31-38.
- Rodríguez J.M., Menéndez J. R., Trujillo Y. 2001. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev. Cubana Med. Milit.*: 30 (1), 15-20.
- Rojas-Serrano, C. 2004. El xoconostle en la disminución de colesterol total en sangre en ratas. Tesis profesional. Ingeniería en Agroecología. Departamento de Agroecología. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 47p.

- Sánchez M.H. 1982. "Algunos usos Prehispánicos de las Cactáceas entre los Indígenas de México". Gobierno del Estado de México, Metepec, Estado de México.
- Sánchez, V. G. y Figueroa, B. 1994. Distribución y variación de *Opuntia joconostle* Weber en el estado de Zacatecas. *Geografía Agrícola*. 20: 69-78.
- Sánchez V.G. y Ortega D.M.L. 1996. Componentes químicos durante la maduración del fruto de *Opuntia joconostle* Weber cuaresmero. *Agrociencia* 30: 541.
- Sawaya, W. N., Khatchadourian, H. A., Safi, W. M. y Al-Hammad, H. M. 1983. Chemical characterization of prickly pear pulp, *Opuntia ficus-indica*, and the manufacturing of prickly pear jam. *J. Food Technol.* 18:183-193.
- Scheinvar, L. 1988. Los nopales silvestres del estado de Querétaro en sus tipos de vegetación. III Reunión Nacional y I Internacional. *El Nopal*. p. 39.
- Scheinvar L. 1999. Biosistemática de los xoconostles mexicanos y su potencial económico. In "Memoria del VIII Congreso Nacional y VI Internacional Sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal".. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.
- Scheinvar, L., S. Filardo K., S. Segura, G. Olalde P., B. Mendoza, A. Ramírez P., A. Chimal H., J. Olivares. 2003. Importancia de las microestructuras y estudios bromatológicos como apoyo a la taxonomía del género *Opuntia* Mill (Cactaceae). Universidad Autónoma Chapingo, Universidad Autónoma de Zacatecas e Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. Zacatecas, Zac., México. pp. 111-116.
- Scholz S., Williamson G. 2007. Interactions affecting the bioavailability of dietary polyphenols in vivo. *Int J Vit Nut Res*, 77:224-235
- Scobie I. 2002. Atlas de la diabetes. Medway maritime hospital. 2a. edición. The encyclopedia. 7-31.
- Steinmetz, K.A., Potter, J.D. 1991. Vegetables, fruit and cancer II. Mechanisms. *Cancer Causes Control* 2: 427-442.
- Stintzing, C., Scheieber, A., Carle, R. 2001. Betacyanins in fruits from redpurple pitaya, *Hyleocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose". *Food Chemistry*. 77(1).
- Sudzuki, F., Muñoz, C y Berger, H. 1993. El cultivo de la tuna (Cactus Pear). Departamento de Reproducción Agrícola. Universidad de Chile.
- Thomson, C., Bloch, A., Hasler, C. M. 1999. Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. *J. Amer. Diet. Assoc.* 99(10) 1280-1281.
- Trejo-González A., Gabriel-Ortiz G., Puebla-Pérez AM., Guisar-Contreras MD., Murguía-Mazariegos MR., Mejía-Arreguín S., Calva E. 1996. A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntia fulginosa*) controls experimentally induced diabetes in rats. *J Ethnopharmacology*. 55:27-33.
- Vallejo, F.; Tomás-Barberán, F. A.; García-Viguera, C. 2003. Effect of climatic and sulfur fertilization conditions, on phenolic compounds and vitamin C, in inflorescences of eight broccoli cultivars. *Eur. Food Res. Technol*, 216, 395-401.
- Velioglu, Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B. D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4113-4117.

- Villegas, E., Mertz, E. T. 1970. Chemical screening methods for Maite protein quality at CIMMYT. Research Bull No. 1. CIMMYT.
- Villegas y de Gante, M. 1997. Los Nopales (*Opuntia* spp.) recursos y símbolos tradicionales en México. pp. 271-273. In: Memorias. VII Congreso Nacional y V Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México.
- Viloria-Matos A., Moreno-Álvarez MJ. 2001. Betalaínas: una síntesis de su proceso. BIOTAM. 12 (3): 7-18.
- Wada, L., Ou, B. 2002. Antioxidant activity and phenolic content of Oregon canaberries. J. Agric. Food Chem. 50:3495-3500.
- Wei M., Gaskill S., Haffner, S., Stern, M. 1998. Effects of diabetes and level of glycemia on all-cause and cardiovascular mortality. The San Antonio Heart Study. Diab. Care. 7:1167-1172.
- Wrick K.L. 1994. The potential role of functional foods in Medicine and Public Health. Functional Foods. Ed. Goldberg. Chapman and Hall. New York.

## IX. ANEXOS

