



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Departamento de Investigación y Posgrado en
Alimentos
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**“Evaluación del efecto antidiabético del subproducto
obtenido en la elaboración de jugo de mango”**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

PRESENTA

IBQ Itzel Mireya Gutiérrez Ruíz

DIRECTORA DE TESIS

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Centro Universitario
Diciembre 2013
Querétaro, Qro.
México



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Evaluación del efecto antidiabético del subproducto obtenido en la elaboración de jugo de mango”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en ciencia y tecnología de alimentos

Presenta:

IBQ. Itzel Mireya Gutiérrez Ruíz

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

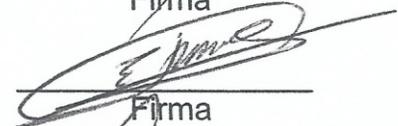
SINODALES

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Presidente



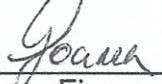
Firma

Dr. Edmundo Mercado Silva
Secretario



Firma

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Vocal



Firma

Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente

Firma

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz
Suplente



Firma

MSP. Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad

Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Diciembre, 2013
México

Resumen

Un tratamiento complementario para enfermedades crónico degenerativas es una dieta rica en antioxidantes y fibra, ya que estos compuestos tienen beneficios sinérgicos a la salud. En el caso de la diabetes mellitus, estos compuestos ayudan a regular los niveles de glucosa sanguíneos y a disminuir el estrés oxidativo generado en el organismo, reduciendo así las complicaciones de esta enfermedad. Dichos compuestos se encuentran de manera significativa en frutas y en sus residuos agroindustriales. En el procesamiento del mango (*Mangifera Indica sp.*) para la obtención de jugo en la empresa Pascual Boing, se genera un residuo que representa hasta el 35% de la producción, el cual se ha estudiado previamente y se ha propuesto como un ingrediente potencialmente adecuado para la elaboración de productos nutracéuticos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antidiabético del subproducto de mango. Se realizó una caracterización parcial en donde se determinó el contenido de fibra dietaria total y sus fracciones, soluble e insoluble, obteniéndose valores de 38.29, 12.49, y 25.81 %, respectivamente. También fueron determinados los fenoles extraíbles, por medio de la cuantificación de fenoles totales (101.56 mg EAG/g) y flavonoides (29.96 mg. eq. catequina/g), y fenoles no extraíbles mediante la cuantificación de taninos hidrolizables (1.05 mg. eq. metil galato/g) y taninos condensados (0.35 Abs. 555 nm); se midió su capacidad antioxidante *in vitro* mediante cuatro métodos, inhibición de la formación del radical óxido nítrico, poder reductor, ABTS y DPPH, mostrando una mejor capacidad antioxidante comparado con una fibra comercial de nopal. Por otro lado, se realizó un ensayo *in vivo* para evaluar las propiedades antidiabéticas del subproducto, en el cual se observó un efecto hipoglucemiante en el grupo suplementado con el subproducto de mango (0.5 g/kg peso), observándose una reducción significativa en el nivel de glucosa al término de la tercer semana (21.17 %) y un aumento en la concentración de insulina en suero con respecto al grupo control diabético. En cuanto al perfil lipídico hubo mejoría en el grupo con subproducto de mango en la concentración de triglicéridos en suero con una reducción significativa de 52.18 % en comparación al control. Se evaluó el funcionamiento renal, obteniéndose una mejoría en la filtración y reabsorción de la creatinina y una disminución en la hipertrofia renal en el tratamiento con el subproducto. En cuanto al estado antioxidante, el subproducto de mango aumento la capacidad antioxidante en suero y heces, además de tener un mayor contenido de compuestos fenólicos en orina y heces, y disminuir la peroxidación lipídica en el riñón. En base a lo anterior se concluye que el subproducto tiene efectos benéficos relacionados con la diabetes debido a sus diferentes componentes bioactivos, siendo así una alternativa viable como tratamiento complementario para esta enfermedad.

Palabras clave: Subproducto de mango (*Mangifera indica L.*), diabetes mellitus, fibra, antioxidantes.

Summary

A diet rich in fiber and antioxidants is a complementary treatment for chronic degenerative diseases due to the fact that these components have synergic benefits to health. In diabetes mellitus they help regulate blood glucose levels and diminish oxidative stress produced in the organism, reducing complications in this disease. Significant amounts of these components are found in fruits and their agro industrial wastes. In the Pascual Boing industry, 35% of raw material is turned into waste during the production of mango (*Mangifera Indica* sp.) juice. This waste product has been previously analyzed and proposed as a potential ingredient in the production of nutraceutical products. The objective of this study was to evaluate the antidiabetic effect of the mango byproduct. A partial characterization was performed in the byproduct, obtaining 38.29% total dietary fiber, 12.49% soluble fiber and 25.81% insoluble fiber. Extractable phenols were determined by quantifying total phenols (101.65 EAG/g) and flavonoids (29.96 mg. eq catechin/g), and non extractable phenols by quantifying hydrolyzable tannins (1.05 mg. eq methyl gallate/g) and condensed tannins (0.35 Abs. 555 nm); *in vitro* antioxidant capacity was measured by four different methods: inhibition of the nitric oxide radical, reducing power, ABTS⁺ and DPPH[•], resulting in a better antioxidant capacity compared to a commercial nopal fiber. On the other hand, an *in vivo* assay was performed to evaluate the antidiabetic properties of the byproduct (0.5 g/kg weight), a hypoglycemic effect was observed in the group supplemented with the mango byproduct, and having a significant reduction of glucose levels at third week (21.17 %) of treatment and an increased concentration of serum insulin compared to the diabetic control group. In the treated-mango byproduct group, there was an improvement on the lipid profile in the concentration of serum triglycerides with a significant reduction of 52.18 % compared to the control. In the evaluation of renal function showed an improvement of the filtration and reabsorption of creatinine and a reduction of the renal hypertrophy was obtained in the group treated with the byproduct. The mango byproduct increased the antioxidant capacity status in serum, feces and urine and decreased the lipidic peroxidation of renal tissue. Overall, the mango byproduct has beneficial effects related to diabetes due to its different bioactive components, being a viable alternative complementary treatment for this disease.

Key words: Mango byproduct (*Mangifera indica* L.), diabetes mellitus, fiber, antioxidants.

DEDICATORIAS

A mis padres

Este logro va dedicado principalmente a ustedes, gracias por brindarme su apoyo y cariño en todo momento.

A mi esposo Francisco

Por tu amor, paciencia y comprensión. Gracias por tu apoyo durante estos 2 años llenos de trabajo y esfuerzo.

Agradecimientos

Al H. Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo otorgado para la realización de mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al Programa de Posgrado en alimentos del Centro de la República, por el apoyo brindado para la realización de este proyecto.

A la Dra. Rosalía Reynoso Camacho, por dejarme formar parte de su equipo de trabajo. Una gran maestra y una gran mujer, muchas gracias por sus enseñanzas y apoyo.

A mis sinodales, Dr. Edmundo Mercado, Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca, Dra. Minerva Ramos y Dra. Sandra Mendoza, por las aportaciones y observaciones para la mejora de este proyecto de investigación.

A todo el personal administrativo, en especial a Carmelita y Laurita, por su buena disposición y apoyo.

A mis compañeros de trabajo en el laboratorio de Bioquímica Molecular, en especial a Mayra Herrera, excelente estudiante y persona, gracias por la ayuda y amistad que recibí de ti en todo momento. A Marely, Vicky y Diana, que desde un inicio me brindaron apoyo y grata compañía.

A mis estudiantes de servicio Aldo, Marianita, Gina y Brenda, por ayudarme siempre con buena actitud, les estoy muy agradecida por su trabajo y buena compañía.

ÍNDICE

| | Página |
|---|---------------|
| Resumen | i |
| Summary | ii |
| Dedicatorias | iii |
| Agradecimientos | iv |
| Índice | v |
| Índice de figuras | ix |
| Índice de cuadros | x |
| 1. Introducción | 1 |
| 2. Antecedentes | 3 |
| 2.1 Diabetes mellitus | 3 |
| 2.1.1 Relevancia nacional de la diabetes mellitus | 3 |
| 2.1.2 Clasificación de la diabetes mellitus y principales causas | 3 |
| 2.1.3 Alteraciones metabólicas debido a la diabetes mellitus tipo 1 | 4 |
| 2.1.4 Hiperglucemia y estrés oxidativo | 5 |
| 2.1.5 Complicaciones de la diabetes mellitus | 7 |
| 2.1.5.1 Nefropatía diabética | 7 |
| 2.1.6 Tratamientos para la diabetes mellitus | 8 |
| 2.2 Fibra dietaria | 8 |
| 2.3 Antioxidantes | 10 |
| 2.4 Fibra antioxidante | 12 |
| 2.4.1 Metabolismo y biodisponibilidad de polifenoles en la fibra antioxidante | 13 |
| 2.5 Subproductos naturales | 16 |
| 2.6 La industria de jugos en México | 17 |
| 2.7 El mango y su subproducto | 18 |
| 3. Justificación | 22 |
| 4. Hipótesis | 23 |
| 5. Objetivos | 23 |
| 5.1 General | 23 |

| | |
|--|----|
| 5.2 Específicos | 23 |
| 6. Materiales | 24 |
| 6.1 Material químico | 24 |
| 6.2 Material vegetal | 24 |
| 6.3 Material biológico | 25 |
| 7. Metodología | 25 |
| 7.1 Caracterización parcial del subproducto de mango | 25 |
| 7.1.1 Determinación de fibra dietaria total | 25 |
| 7.1.2 Determinación de la fracción indigerible | 26 |
| 7.1.3 Cuantificación de fenoles extraíbles | 27 |
| 7.1.3.1 Cuantificación de fenoles totales | 27 |
| 7.1.3.2 Cuantificación de flavonoides | 27 |
| 7.1.4 Cuantificación de fenoles no extraíbles | 28 |
| 7.1.4.1 Cuantificación de taninos condensados | 28 |
| 7.1.4.2 Cuantificación de taninos hidrolizables | 28 |
| 7.2 Evaluación de capacidad antioxidante in vitro | 29 |
| 7.2.1 Poder reductor del subproducto de mango | 29 |
| 7.2.2 Inhibición de la formación del radical óxido nítrico | 29 |
| 7.2.3 Determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS ^{•+} | 30 |
| 7.2.4 Determinación de la capacidad antioxidante por método DPPH [•] | 31 |
| 7.3 Experimentos <i>in vivo</i> | 31 |
| 7.3.1 Inducción de diabetes mellitus tipo 1 con estreptozotocina | 31 |
| 7.3.2 Dieta | 32 |
| 7.3.3 Evaluación del efecto antidiabético del subproducto de mango | 33 |
| 7.3.3.1 Medición semanal | 33 |
| 7.3.3.2 Sacrificio y obtención de muestras | 33 |
| 7.3.3.3 Medición de glucosa e insulina en suero | 33 |
| 7.3.3.4 Determinación del tamaño de los islotes de | |

| | |
|--|----|
| Langerhans | 34 |
| 7.3.3.5 Evaluación de parámetros bioquímicos en orina y suero relacionados con el daño renal | 34 |
| 7.3.4 Evaluación del efecto del subproducto de mango en el estado antioxidante de ratas diabéticas. | 34 |
| 7.3.4.1 Medición de la capacidad antioxidante en suero por el ensayo del radical ABTS ^{•+} | 34 |
| 7.3.4.2 Cuantificación de polifenoles en la orina de ratas diabéticas | |
| 7.3.4.3 Peroxidación lipídica en fracción post-mitocondrial (PMS) en tejido renal | 35 |
| 7.3.4.4 Medición del peso, humedad, fenoles totales y capacidad antioxidante de heces | 36 |
| 8. Análisis estadístico | 37 |
| 9. Resultados y discusiones | 38 |
| 9.1 Caracterización parcial | 38 |
| 9.1.1 Contenido de fibra dietaria y fracción indigerible | 38 |
| 9.1.2 Contenido de compuestos fenólicos | 42 |
| 9.1.3 Capacidad antioxidante | 46 |
| 9.2 Ensayos <i>in vivo</i> | 52 |
| 9.2.1 Efecto del subproducto de mango sobre el consumo de agua de ratas diabéticas. | 53 |
| 9.2.2 Efecto del subproducto de mango sobre el consumo de alimento de ratas diabéticas. | 54 |
| 9.2.3 Efecto del subproducto de mango sobre el peso corporal de ratas diabéticas. | 57 |
| 9.2.4 Efecto del subproducto de mango sobre la concentración de glucosa sanguínea de ratas diabéticas. | 58 |
| 9.2.5 Efecto del subproducto de mango sobre la concentración de insulina en suero de ratas diabéticas. | 61 |
| 9.2.6 Efecto del subproducto de mango sobre el tamaño de los | |

| | |
|---|----|
| islotes de Langerhans de ratas diabéticas. | 63 |
| 9.2.7 Efecto del subproducto de mango sobre el perfil lipídico de ratas diabéticas. | 65 |
| 9.2.8 Efecto del subproducto de mango sobre marcadores de daño renal de ratas diabéticas. | 68 |
| 9.2.9 Efecto del subproducto en el estado antioxidante de ratas diabéticas. | 71 |
| 9.2.10 Efecto del subproducto en el tamaño, humedad, fenoles totales y capacidad antioxidante en las heces de ratas diabéticas. | 73 |
| 10. Conclusiones | 78 |
| 11. Bibliografía | 79 |

INDICE DE FIGURAS

| Figura | | Página |
|---------------|--|---------------|
| 1 | Producción del anión superóxido a nivel de la mitocondria por la cadena transportadora de electrones (Brownlee, 2001). | 6 |
| 2 | Efecto de los polifenoles sobre el metabolismo de carbohidratos (Adaptada de Hanhineva <i>et al.</i> , 2010). | 11 |
| 3 | Metabolismo de polifenoles (Modificado de Kemperman <i>et al.</i> , 2010). | 15 |
| 4 | Principales industrias productoras de jugo en el mercado nacional (SAGARPA, 2009). | 17 |
| 5 | Producción de jugo de frutas en México (1994-2005). Fuente: SIAP, con datos de INEGI. | 18 |
| 6 | Generación de subproducto en la primera etapa del proceso industrial para obtener pulpa de fruta en la elaboración de jugo. | 25 |
| 7 | Consumo de agua de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango. | 54 |
| 8 | Consumo de alimento de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango. | 55 |
| 9 | Peso corporal de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango. | 57 |
| 10 | Concentración de glucosa sanguínea de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango. | 59 |
| 11 | Concentración de insulina en suero de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango. | 62 |
| 12 | Microfotografías representativas del análisis histopatológico de los islotes de Langerhans de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con el subproducto de mango. | 64 |
| 13 | Tamaño promedio de los islotes de Langerhans de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango. | 64 |

INDICE DE CUADROS

| Cuadro | | Página |
|---------------|---|---------------|
| 1 | Grupos experimentales para la evaluación del efecto antidiabético de fibra antioxidante de mango. | 32 |
| 2 | Contenido de fibra dietaria total y fracción indigerible, soluble e insoluble, del subproducto de mango. | 38 |
| 3 | Contenido de compuestos fenólicos, extraíbles y no extraíbles, del subproducto de mango. | 43 |
| 4 | Porcentaje máximo de inhibición y concentración inhibitoria media (IC ₅₀) del extracto del subproducto de mango. | 47 |
| 5 | Capacidad antioxidante del extracto del subproducto de mango medida por el ensayo de poder reductor. | 51 |
| 6 | Lípidos en suero y heces de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango. | 66 |
| 7 | Parámetros de daño renal en ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango. | 69 |
| 8 | Estado antioxidante de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango. | 72 |
| 9 | Contenido de humedad, fenoles totales y capacidad antioxidante de heces de ratas diabéticas suplementadas con subproducto de mango. | 74 |

1. Introducción

La diabetes mellitus es un desorden metabólico que afecta a una proporción importante de la población mundial, mostrando en los últimos años un aumento gradual en su incidencia y prevalencia. En México la diabetes es la segunda causa de muerte en la población y afecta a todas las clases sociales (Maritim *et al.*, 2003; Olaiz *et al.*, 2006; OMS, 2010).

Este síndrome se caracteriza por una hiperglucemia crónica causada por la insuficiencia en la secreción o en la acción de la insulina, la cual está acompañada de un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, aunado a una disminución de los sistemas antioxidantes endógenos (Johansen *et al.*, 2005; Ramos *et al.*, 2006).

Este incremento en el estrés oxidativo está ampliamente relacionado con el desarrollo y la progresión de la diabetes, así como de sus complicaciones, entre las que se encuentran de manera común las que afectan al sistema vascular, riñones, retina, nervios periféricos y piel (Ceriello, 2000; Chang y Chuang, 2010).

Debido a esto, en los últimos años se han propuesto tratamientos complementarios, de bajo costo y fácil acceso, que ayuden a la prevención y control de esta enfermedad y sus complicaciones, una de estas alternativas es una dieta rica en antioxidantes y fibra (Maritim *et al.*, 2003; Rahimi *et al.*, 2005; Serrano *et al.*, 2009).

La fibra dietaria soluble inhibe la absorción de macronutrientes, reduce la glucosa postprandial, retarda el vaciamiento gástrico, produce ácidos grasos de cadena corta, incrementa la saciedad, desacelera la hidrólisis del almidón y ayuda a disminuir el colesterol en la sangre. En cuanto a la fibra dietaria insoluble, ésta contribuye al efecto de aumento de volumen y peso de las heces, incrementa la sensación de saciedad y es un regulador intestinal (Slavin, 2013).

Los antioxidantes por su parte ayudan a contrarrestar los daños potenciales causados por la generación de radicales libres, ya que tienen la capacidad de estabilizarlos y por lo tanto de disminuir el estrés oxidativo en el organismo del paciente diabético. Algunos fitoquímicos como los polifenoles, además de poseer una actividad antioxidante tienen un efecto benéfico en el metabolismo de lípidos y carbohidratos (Rodríguez *et al.*, 2001; Weickert y Pfeiffer, 2008; Hanhineva *et al.*, 2010).

De manera natural estos dos componentes bioactivos se encuentran en cantidades importantes en los subproductos de fruta, este tipo de residuos son de gran interés ya que llegan a representar del 35% al 65% de la producción total, y en éstos se encuentran generalmente compuestos bioactivos que pueden ser aprovechados para su uso como aditivos en alimentos nutraceuticos (Larrauri *et al.*, 1996; Saura, 2011).

En diversas investigaciones se ha tenido un gran interés por el mango (*Mangifera Indica L.*) debido a que este fruto, contiene diversos componentes bioactivos en la piel y pulpa, tales como polifenoles, fibra, carotenoides y vitaminas. Una parte importante de esta producción se utiliza en la elaboración de jugo y néctares. En este proceso se obtiene un subproducto que consiste principalmente en piel, semilla y remanentes de pulpa, debido a que la eliminación de este tipo de subproducto genera un problema para la industria, se espera que el aprovechamiento de este residuo traiga consigo un beneficio económico y ambiental (Kanjana, 2006; Al-Sheraji *et al.*, 2011).

La empresa Pascual Boing, es una de las principales industrias productoras de jugo en México, ya que representa el 10% de la producción nacional en este ramo. En estudios anteriores se demostró que el subproducto de mango presenta propiedades funcionales (SAGARPA, 2009; Olivera, 2012). Es por todo lo anterior que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antidiabético de los componentes bioactivos del subproducto de mango en un modelo *in vivo*.

2. ANTECEDENTES

2.1 Diabetes mellitus

La diabetes mellitus constituye un grupo heterogéneo de trastornos metabólicos de carácter crónico, caracterizados por una condición de hiperglucemia constante (>126 mg/dl ml ó 7.0 mmol/l) (Al *et al.*, 2004).

2.1.1 Relevancia nacional de la diabetes mellitus

La diabetes mellitus es una enfermedad de gran importancia a nivel mundial y nacional. Según datos de la Federación Internacional de Diabetes (FID) en su última actualización en el año 2012 la prevalencia mundial de esta enfermedad fue de 8.3 %, y afirman que el 50 % de las personas con diabetes no están diagnosticadas. Mientras que en México la OMS publicó en el año 2012 la prevalencia de esta enfermedad con un valor de 15.59 %, según datos de la Federación Mexicana de Diabetes (FMD) la población aproximada de personas enfermas asciende entre 6.5 y 10.6 millones de personas en nuestro país en el intervalo de edad de 20 a 79 años (OMS, 2012; FID, 2012).

2.1.2 Clasificación de la diabetes mellitus y principales causas

- DM Tipo 1: En este tipo de diabetes el principal factor es el genético y es causada por la destrucción de células β -pancreáticas por un proceso del tipo inmunitario. Representa entre el 5 y 10% de los casos del síndrome diabético a nivel mundial.
- DM Tipo 2: Este tipo de diabetes es producida por una deficiencia de insulina y/o la resistencia a la insulina. Es decir, las células β -pancreáticas no producen suficiente insulina y/o la insulina no se reconoce de manera eficaz en el hígado, tejido adiposo y/o muscular, ocasionando que no se dé la señalización de la insulina, impidiendo que entre glucosa a la célula y además por consiguiente provocando una serie de trastornos metabólicos. Esta clase de diabetes es la más

frecuente en la población adulta, corresponde entre el 90 y 95% de los casos de síndrome diabético a nivel mundial (LeRoit *et al.*, 2003).

En etapas avanzadas de la diabetes tipo 2, cuando el paciente no ha tenido un control metabólico óptimo se incrementa el deterioro de las células β -pancreáticas, y a largo plazo el paciente con diabetes tipo 2 podría presentar características clínicas y complicaciones similares a la diabetes tipo 1 (Bennett y Knowler , 2001).

2.1.3 Alteraciones metabólicas debido a la diabetes mellitus tipo 1

La DM tipo 1 se manifiesta inicialmente con tres características esenciales: hiperglucemia, aumento del metabolismo de las grasas con fines energéticos y reducción de las proteínas musculares. Esto es debido principalmente a la falta de producción de la insulina, ya que es la encargada de diferentes funciones como la síntesis de glucógeno, triglicéridos y proteínas. Al no haber producción de esta hormona todos estos procesos están alterados, lo cual conduce a que se presenten las alteraciones metabólicas mencionadas (Flores *et al.*, 2005).

La hiperglucemia es un síntoma característico de la diabetes, también se presenta debido a la falta de la insulina, ya que en condiciones normales esta hormona es la encargada de disminuir la glucosa disponible por medio de tres acciones: estimulando la formación de glucógeno al inducir la vía metabólica de la glucogénesis por su acción sobre la enzima glucógeno sintetasa, inhibiendo la vía de la gluconeogénesis por su acción sobre la enzima fosfoenol piruvato carboxinasa (PEPCK), y por último promoviendo la entrada de glucosa en los tejidos periféricos, como el tejido muscular y adiposo (Hanhineva *et al.*, 2010).

En cuanto al metabolismo de los lípidos, en la diabetes tipo 1 hay un aumento en la lipólisis y una inhibición de la lipogénesis, lo cual produce una mayor concentración de ácidos grasos libres, así como una disminución en el peso corporal (Mateos y Zacarías, 2002).

En cuanto al metabolismo de proteínas, su síntesis se encuentra inhibida debido a la ausencia de la insulina, además, hay una disminución en las proteínas del músculo, esto es debido a que en la diabetes al no haber señalización de esta hormona en las células hepáticas, se encuentra activa la vía de la gluconeogénesis, en donde 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 (Bennet y Knowler, 2001).

2.1.4 Hiperglucemia y estrés oxidativo

En el paciente diabético ante un exceso de EROs (moléculas derivadas del oxígeno con una gran capacidad de reacción por su alta inestabilidad química) y radicales libres (moléculas o porciones de ellas que presentan al menos un electrón desapareado en su orbital más externo y son extraordinariamente reactivos), se rompe el equilibrio produciendo el llamado estrés oxidativo, el cual provoca el daño oxidativo a las macromoléculas al no poder ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes de defensa (Al *et al.*, 2004; Brownlee, 2001).

La hiperglucemia crónica característica de la diabetes puede conllevar a una condición de estrés oxidativo en el paciente, esto es como consecuencia principalmente del descontrol metabólico y se caracteriza por una acumulación de especies reactivas de oxígeno (EROs) y nitrógeno (ERNs), las cuales juegan un importante papel en el desencadenamiento de la enfermedad y en el desarrollo de los diversos estados fisiopatológicos que la acompañan (Wellen y Hotamisligilm, 2005).

Hay diferentes vías que contribuyen a que el organismo del diabético se encuentre en una condición de estrés oxidativo, una de las más importantes es la mitocondria, ya que es el principal sitio de producción de EROs, y que, como ya se mencionó anteriormente, es debido a que el metabolismo se encuentra constantemente acelerado, con lo que finalmente también se tiene un aumento en

la actividad de la cadena respiratoria, en donde se da la sobreproducción del anión superóxido (Figura 1) (Stentz *et al.*, 2004; Brownlee, 2001).

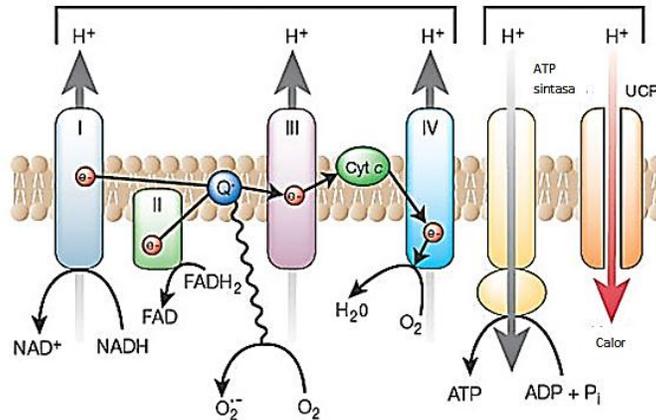


Figura 1. Producción del anión superóxido a nivel de la mitocondria por la cadena transportadora de electrones (Brownlee, 2001).

Los lípidos son las moléculas más susceptibles al daño por las EROs y los radicales libres mediante el proceso de peroxidación lipídica. La lipoperoxidación se asocia con la etiología de diversos padecimientos como son el engrosamiento y rigidez de los vasos sanguíneos (ateroesclerosis) (Céspedes y Castillo, 1999).

Las proteínas son susceptibles al daño por las EROs debido a que todos los residuos de aminoácidos están sujetos al ataque por el radical OH^{\cdot} . Los radicales libres causan alteraciones a la estructura secundaria de las proteínas, con lo que se puede dar la pérdida de la formación de la estructura terciaria y cuaternaria, este tipo de cambios conformacionales provocan que las proteínas sean más susceptibles a procesos de proteólisis y desnaturalización, lo cual conlleva finalmente a la pérdida de su actividad biológica (Pryor, 1994).

La presencia de radicales libres y otras moléculas como citocinas pro-inflamatorias y óxido nítrico, ocasionan la destrucción de células β -pancreáticas provocando que de esta manera se vea limitada la producción parcial o total de insulina, y aumentando aún más el estrés oxidativo (Wolff, 1993).

2.1.5 Complicaciones de la diabetes mellitus

Algunas enfermedades asociadas con la diabetes mellitus son: enfermedades típicas vasculares (macroangiopatías) como la aterosclerosis y la hipertensión, cardiomiopatías, conducción anormal en los nervios, daño renal, alteraciones funcionales en las plaquetas, cataratas, envejecimiento prematuro, contractilidad anormal en las células del músculo liso vascular, entre otras (Moreno, 2001).

Cabe destacar que una de las complicaciones microvasculares más frecuentes de la diabetes mellitus es la nefropatía diabética, esta se desarrolla en el 15-40% de los pacientes con diabetes tipo 1 y diabetes tipo 2, y se asocia con un aumento considerable en la morbilidad y mortalidad (Wada y Kanwar, 2011).

2.1.5.1 Nefropatía diabética

La nefropatía diabética (ND) es una de las principales complicaciones de la diabetes, es una enfermedad secundaria, en la cual el riñón pierde la capacidad para funcionar apropiadamente y se relaciona con determinadas alteraciones renales morfológicas y funcionales (Kanwar *et al.*, 2008).

El riñón es un órgano cuyas principales funciones son: filtrar la sangre del sistema circulatorio y eliminar los desechos por la orina (ej. urea, creatinina, sodio), regular y mantener la homeostasis del cuerpo por medio del balance de fluidos y electrolitos, y la función endócrina, que consiste en la liberación de hormonas como la eritropoyetina, renina y calcitriol (forma activa de la vitamina D). Todas estas funciones en mayor o menor grado se ven afectadas en el paciente con nefropatía diabética (Thomson *et al.*, 2004).

La nefrona es la unidad funcional del riñón, en donde se lleva a cabo la filtración de la sangre, y está compuesta por el glomérulo, la cápsula de bowman y el túbulo. El glomérulo y el túbulo son las dos estructuras más afectadas por la acción de las EROs y las citocinas proinflamatorias, afectándose su permeabilidad y su capacidad de reabsorción (Rodríguez *et al.*, 2012).

Las principales características de la nefropatía diabética, son dos: el adelgazamiento de la membrana basal del glomérulo y la acumulación de la matriz extracelular (MEC). Los cambios fisiológicos más importantes que se presentan como consecuencia de esto son: la hipertrofia e hiperplasia del glomérulo, con lo cual ocurre una hiperfiltración glomerular dando paso a la proteinuria o microalbuminuria, también existen distintas lesiones renales que conllevan a la glomérulo-esclerosis, acumulación de colágeno y la fibrosis, con lo que se altera la permeabilidad de las membranas, la filtración glomerular y la capacidad de reabsorción del túbulo, y como consecuencia el deterioro en general de las funciones renales (Kanwar *et al.*, 2008).

2.1.6 Tratamientos para la diabetes mellitus

Las estrategias de tratamiento se dividen en no farmacológicas, como la dieta y el ejercicio, y las farmacológicas, que incluyen el uso de medicamentos orales e insulina. Estos agentes terapéuticos tienen efectos secundarios como alteraciones gastrointestinales, náusea, hipoglucemia, cefalea y dolor abdominal, entre otros (Mateos y Zacarías, 2002).

Por otra parte, existen estrategias de bajo costo y fácil acceso a la población, como una alternativa de este tipo de estrategias están las terapias ricas en antioxidantes y en fibra, que de manera sinérgica ayudan a prevenir y disminuir el deterioro funcional orgánico originado por el estrés oxidativo común en las personas diabéticas (Hanhineva *et al.*, 2010; Rahimi *et al.*, 2005; Saura, 2012; Serrano *et al.*, 2009).

2.2 Fibra dietética

En diversos estudios clínicos y epidemiológicos se ha demostrado que el consumo de fibra dietaria está inversamente relacionado con el riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares, así como con efectos positivos en enfermedades

crónico degenerativas como la diabetes, obesidad y cáncer (Papathanasopoulos y Camilleri, 2010).

La fibra dietaria soluble está constituida por β -glucanos, oligosacáridos, mucílagos, pectinas solubles y gomas. Está comprobado que la formación de gel y el aumento de viscosidad provocado por la fibra soluble, inhibe la absorción de macronutrientes, reduce la glucosa postprandial, además de retardar el vaciamiento gástrico, incrementa saciedad, desacelera la hidrólisis del almidón, ayuda a disminuir el colesterol en la sangre y tiene una influencia benéfica en el perfil de lípidos sanguíneo (Lattimer y Haub, 2010).

Otro mecanismo de acción importante de la fibra dietaria soluble es su fermentación en el colon y los cambios que se generan en la microbiota a lo largo del intestino. Los prebióticos son parte de la fibra que se pueden definir como carbohidratos, principalmente oligosacáridos, que resisten la digestión en el intestino delgado y llegan al colon donde son fermentados por la microbiota intestinal, produciendo hidrógeno, metano, dióxido de carbono, lactato y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Tolhurst *et al.*, 2012).

Las diferentes fuentes de fibras van a tener un perfil de fermentación variable, donde los AGCC más abundantes son principalmente el ácido acético, butírico y propiónico, cada uno de estos tiene diversos efectos positivos en el organismo. En general, los AGCC aumentan la absorción de calcio y otros minerales, también actúan disminuyendo el pH del colon, y con ello inhiben el crecimiento de patógenos potenciales y a su vez promueven el crecimiento de bacterias benéficas, tales como bifidobacterias y lactobacilos. Además, los AGCC disminuyen los niveles de glucosa, ácidos grasos libres y colesterol (FAS) (Papathanasopoulos y Camilleri, 2010; Conterno *et al.*, 2011).

Se ha demostrado que los AGCC reducen la glucosa postprandial por dos mecanismos. Incrementan la concentración del péptido similar a glucagón-1 (GLP-1) y del péptido YY (PYY). GLP-1 es producido en las células L principalmente en

el íleon y colon, y actúa sobre las células β -pancreáticas promoviendo la liberación de insulina e inhibiendo la secreción de glucagón, el péptido YY por su parte manda la sensación de saciedad al cerebro, y con estas acciones ambas hormonas ayudan a disminuir la concentración de glucosa sanguínea después de la ingesta de alimentos (Ostman *et al.*, 2002; Lattimer y Haub, 2010; Papathanasopoulos y Camilleri, 2010; Tolhurst *et al.*, 2012).

En cuanto a la fibra dietaria insoluble está se constituye por lignina, celulosa, pectinas insolubles y hemicelulosa. Actualmente, también se ha ampliado el concepto incluyendo componentes como proteína y almidón resistente, ésta es la fracción que principalmente contribuye al efecto de aumento de volumen y peso de las heces, incrementa la sensación de saciedad y es un regulador intestinal ya que acelera el tránsito del bolo fecal (Slavin *et al.*, 2013; Saura, 2011).

Además se ha demostrado recientemente que la fibra insoluble tiene un importante mecanismo más allá de su efecto local en el intestino, ya que también aumenta a la incretina polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP), el cual estimula la liberación de insulina postprandial en las células β del páncreas, disminuyendo así los picos hiperglucémicos (Samra y Anderson, 2007; Lattimer y Haub, 2010).

2.3 Antioxidantes

El consumo de alimentos provenientes de plantas ha sido asociado a una disminución en el riesgo de padecer enfermedades crónicas degenerativas como la diabetes, enfermedades cardiovasculares y cáncer. Algunas de estas propiedades benéficas a la salud se les han atribuido a los polifenoles, los cuales son compuestos que se encuentran en las plantas y que poseen propiedades anti-inflamatorias y antioxidantes, además de tener efectos en el metabolismo de lípidos y carbohidratos (Hanhineva *et al.*, 2010).

Los polifenoles son un amplio grupo de fitoquímicos que se consideran potentes antioxidantes, son compuestos que se caracterizan por poseer anillos aromáticos de benceno con uno o más grupos hidroxilo, este grupo incluye a los flavonoides, ácidos fenólicos, proantocianidinas, taninos, resveratrol, entre otros. Su actividad antioxidante se debe a su estructura química y a la presencia de anillos aromáticos y grupos hidroxilo, esto implica la deslocalización de los electrones y permite a los polifenoles reaccionar con los radicales libres, donándoles electrones y transformándose con esto en radicales intermedios más estables y menos reactivos, que ya no causan un daño a las macromoléculas. Además también tienen la capacidad de quelar iones metálicos y donar protones (Manach *et al.*, 2005).

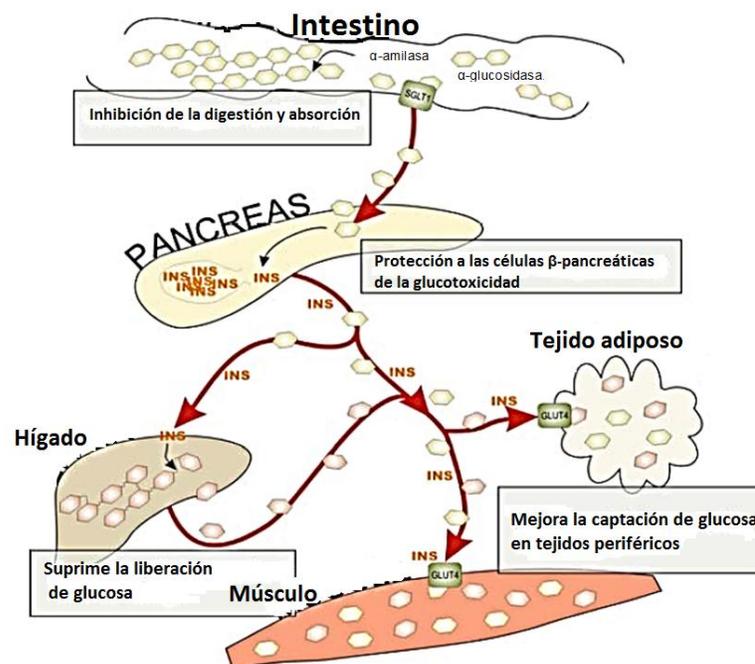


Figura 2. Efecto de los polifenoles sobre el metabolismo de carbohidratos (Adaptada de Hanhineva *et al.*, 2010).

Existen estudios en modelos animales y algunos estudios en humanos, en donde los polifenoles, o bebidas y alimentos ricos en polifenoles, han disminuido la respuesta glucémica y los picos hiperglucémicos, y/o han tenido un efecto positivo en la secreción y sensibilidad de la insulina. Los posibles efectos de los polifenoles en el metabolismo de los carbohidratos que se han comprobado son los

siguientes: la disminución de la actividad de enzimas como la α -amilasa y/o α -glucosidasa a nivel intestinal, la disminución en la absorción de glucosa en el intestino, la estimulación de la secreción de insulina en las células β -pancreáticas, la modulación en la liberación de glucosa en el hígado, la activación del receptor de insulina en tejidos periféricos como el adiposo y muscular, la modulación de la cascada de señalización de la insulina y de la expresión de genes relacionados (Figura 2) (Hanhineva *et al.*, 2010).

Sin embargo en la naturaleza los polifenoles no se encuentran aislados, estos se encuentran en las plantas interaccionando con una gran cantidad de compuestos, como pueden ser: otros polifenoles, proteínas, fitoquímicos, lípidos, carbohidratos, los componentes de la pared celular, entre otros. Es por ello que en los últimos años se ha incrementado el interés en el estudio de matrices alimentarias complejas en lugar del estudio de compuestos puros aislados, ya que la mayoría de la literatura existente se enfoca exclusivamente a polifenoles de plantas extraídos con solventes orgánicos (los llamados polifenoles extraíbles PE), sin embargo, los polifenoles no extraíbles PNE (compuestos de alto peso molecular que generalmente están unidos a las moléculas de la pared celular) se han relacionado también con beneficios a la salud (Saura, 2011).

Diversos investigadores han resaltado la importancia de generar este tipo información ya que han demostrado que los PNE son la parte mayoritaria de los polifenoles de la dieta con actividad biológica significativa, ya que la biodisponibilidad y las propiedades relacionadas con la salud dependen de la solubilidad en los fluidos intestinales, y esta solubilidad es diferente a la que se tiene en los solventes orgánicos (Saura, 2012; Serrano *et al.*, 2009).

2.4 Fibra antioxidante

El término de fibra antioxidante se refiere a aquellas matrices de fibra que son ricas en componentes bioactivos. En los últimos años se le ha dado gran importancia a ese tipo de fibras, ya que se ha demostrado que alrededor del 50%

del total de los antioxidantes de la dieta atraviesan el intestino atrapados por la fibra dietética, debido principalmente a su habilidad para formar complejos con proteínas y polisacáridos, y proponiendo a su vez, que esto se puede considerar como una de las funciones más importantes de la fibra (Saura, 2011).

2.4.1 Metabolismo y biodisponibilidad de polifenoles en la fibra antioxidante

Los compuestos antioxidantes que principalmente se encuentran asociados a la fibra son los polifenoles y en menor cantidad los carotenoides (Manach *et al.*, 2005). Concretamente en el caso de los polifenoles, los de menor peso molecular tales como flavonoides, ácidos fenólicos, dímeros y trímeros de proantocianidinas, están asociados a la fibra soluble; mientras que los polifenoles de mayor grado de polimerización como los taninos condensados y los hidrolizables se encuentran asociados a la fibra insoluble (Serrano *et al.*, 2007).

Una vez que la fibra antioxidante llega al intestino delgado, ésta es hidrolizada y se da la formación de un gel, algunos polifenoles de bajo peso molecular (monómeros, dímeros y trímeros) pueden ser absorbidos en esta parte del tracto digestivo. Únicamente las agliconas y algunos glucósidos pueden ser absorbidos por el intestino delgado, sin embargo, la mayoría de los polifenoles que están presentes en la fibra antioxidante se encuentran en forma de ésteres, glucósidos o polímeros, interaccionando con la matriz alimentaria, y no pueden ser absorbidos en su forma nativa hasta ser hidrolizados por las enzimas intestinales o por la microflora colónica (Hollman y Katan, 1997; Crespy *et al.*, 2000).

Se ha estimado que alrededor del 40% de los taninos son bioaccesibles en el intestino delgado (ID), mientras que el 46% se convierten bioaccesibles en el intestino grueso (IG), siendo los taninos hidrolizables más bioaccesibles en el ID y las proantocianidinas en el IG (Saura *et al.*, 2007).

Cuando la microbiota está involucrada, la eficiencia de la absorción es usualmente reducida porque la flora también degrada a las agliconas liberando y produciendo varios ácidos aromáticos en este proceso, sin embargo estos ácidos aromáticos pueden tener otro tipo de actividad benéfica (Kemperman *et al.*, 2010; Touriño *et al.*, 2011).

Por otra parte, una vez que son absorbidos los metabolitos se transportan al hígado donde las enzimas hepáticas llevarán a cabo 3 principales tipos de conjugación: metilación, sulfatación y glucoronidación, el tipo de conjugación depende del sustrato y de las cantidades presentes. El modo de actividad de estas enzimas depende de la naturaleza del polifenol y la dosis ingerida, lo que conlleva a diferencias interindividuales en la capacidad de metabolizar polifenoles (Tilgman y Ulmanen, 1996).

Por último, los metabolitos de polifenoles van a seguir 2 rutas de excreción la vía biliar y la ruta urinaria. Mediante la vía biliar, los compuestos son llevados hacia el duodeno donde son sujetos de acción de las enzimas bacterianas, específicamente de la β -glucoronidasa, en el segmento distal del intestino, después de lo cual se pueden reabsorber (Watanabe *et al.*, 1998). Los metabolitos conjugados con estructuras más largas o extensas, como los que se encuentran en las fibras antioxidantes, son más comunes de eliminarse por la vía de bilis, y por ejemplo, los conjugados con estructuras más pequeñas como los monosulfatados son preferentemente excretados por la orina (Crespy *et al.*, 2003).

El término de biodisponibilidad integra muchas variables tales como la absorción intestinal, excreción de glucorónidos en el lumen intestinal, metabolismo de la microflora, metabolismo intestinal, metabolismo hepático, unión con albumina, asimilación celular, metabolismo intracelular, acumulación en tejido y excreción, ya sea biliar o urinaria (Figura 3) (Kemperman *et al.*, 2010).

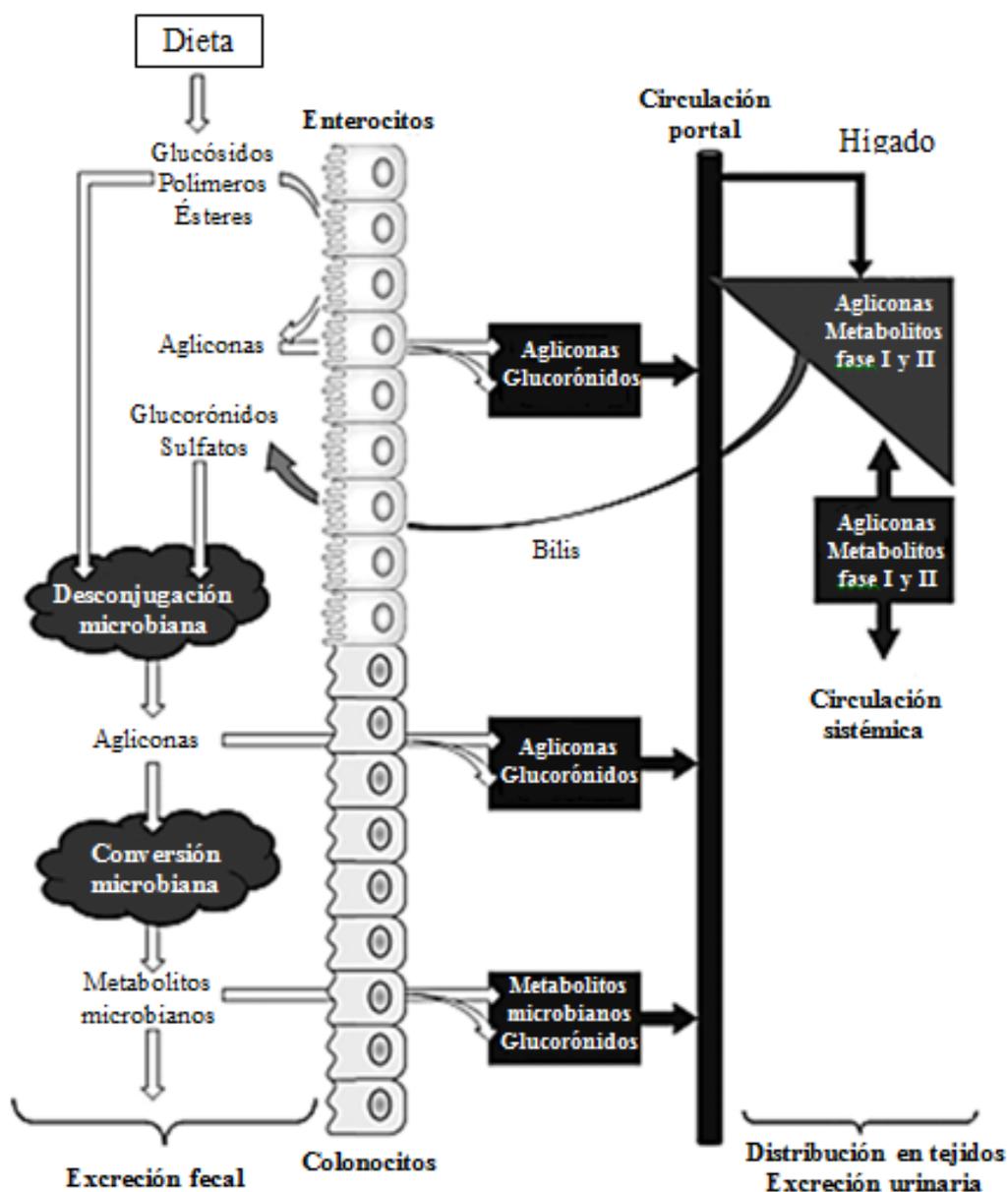


Figura 3. Metabolismo de polifenoles (Modificado de Kemperman *et al.*, 2010).

En cuanto a estudios enfocados al efecto de un concentrado de fibra antioxidante en la diabetes mellitus existen muy pocos, sin embargo en ensayos *in vitro* se ha demostrado que los taninos de varias plantas han inhibido eficazmente enzimas intestinales como la α -amilasa y α -glucosidasa con valores de K_i similares a los de inhibidores sintéticos como la acarbosa, lo cual es bueno ya que podrían utilizarse como un tratamiento natural complementario para el control de los niveles de glucosa en personas diabéticas (Broadhurst *et al.*, 2000; Matsui *et al.*, 2001).

En estudios *in vivo* las proantocianidinas derivadas del cacao han mostrado efectos preventivos en las complicaciones de la diabetes al inhibir la formación de cataratas en ratas, debido principalmente a su actividad antioxidante (Osakabe *et al.*, 2004). Por otra parte, el extracto de un concentrado de semilla de uva, rico en proantocianidinas, ha mostrado efectos anabólicos similares a los de la insulina, activando la síntesis de glucógeno y aumentando la concentración del transportador de glucosa GLUT-4 en las membranas (Pinent *et al.*, 2004).

Es por todo lo anterior que es de gran importancia la búsqueda y el estudio de estas matrices de fibras dietarias que llevan consigo componentes funcionales bioactivos, ya que tendrían beneficios sinérgicos es decir, los efectos de la fibra aunados a los efectos de los antioxidantes, teniendo en este campo una alternativa más completa para un tratamiento con potencial antidiabético.

2.5 Subproductos naturales

Durante algunos procesos agroindustriales se generan subproductos o residuos, y si ellos no son reciclados o procesados apropiadamente, generan diversos problemas ambientales ocasionando con esto un problema de gestión para las empresas productoras. Sin embargo, algunos de estos materiales, como lo son de manera importante los residuos de procesamientos de frutas y hortalizas, pueden llegar a ser fuentes atractivas por su contenido en compuestos tales como los pigmentos, fibra alimentaria, proteína, nutrientes, pectinas, lípidos, celulosa, polifenoles, lignina, vitaminas entre otros, por lo tanto estos, pueden ser potencialmente útiles cuando se les transforma mediante tratamientos químicos, físicos o microbiológicos en productos de elevado valor agregado (García *et al.*, 2013).

Particularmente, es de gran interés la industria de jugos, ya que en el procesamiento de frutas para este fin se generan de manera importante residuos, que van del 35% al 60%, y con un bajo contenido en azúcares y alto contenido en

fibra, vitaminas y antioxidantes, los cuales no han sido explotados en nuestro país para fines nutracéuticos (Ajila *et al.*, 2007; Larrauri *et al.*, 1996).

2.6 La industria de jugos en México

En México existen cerca de 250 empresas productoras de jugos, néctares y concentrados, que procesan una gran variedad de frutas. Los productores principales son Jumex con aproximadamente 31% del mercado, Del Valle con 24%, Pascual Boing con 10%, Lala con 5%, Florida 7 con 4%, Valle Redondo con 2.4% y otras marcas con 17.2% (Figura 4, SAGARPA, 2009).

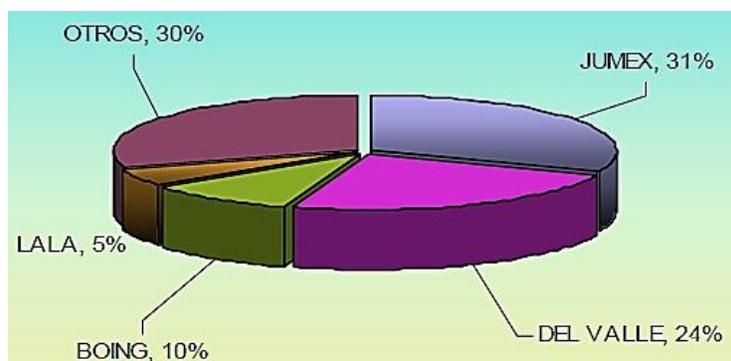


Figura 4. Principales industrias productoras de jugo en el mercado nacional (SAGARPA, 2009).

Las frutas más utilizadas para la elaboración de jugos y néctares según datos del INEGI son la manzana representando el 18% de la producción total de jugo, le siguen el mango, la naranja y el durazno representando cada uno el 17%, la uva el 7%, la piña el 5%, la guayaba el 1%, y otras frutas el 18% restante de la producción nacional, observándose un crecimiento importante en la producción del jugo de mango a través del período 1994-2005, donde en este último año se produjeron aproximadamente 130 millones de litros (Figura 5).

En el estado de Querétaro se encuentra La Sociedad Cooperativa de Trabajadores de Pascual, S.C.L, en la que se elaboran y comercializan bebidas naturales, saludables y nutritivas en la gama de jugos, néctares, pulpas de fruta, agua purificada y refrescos.

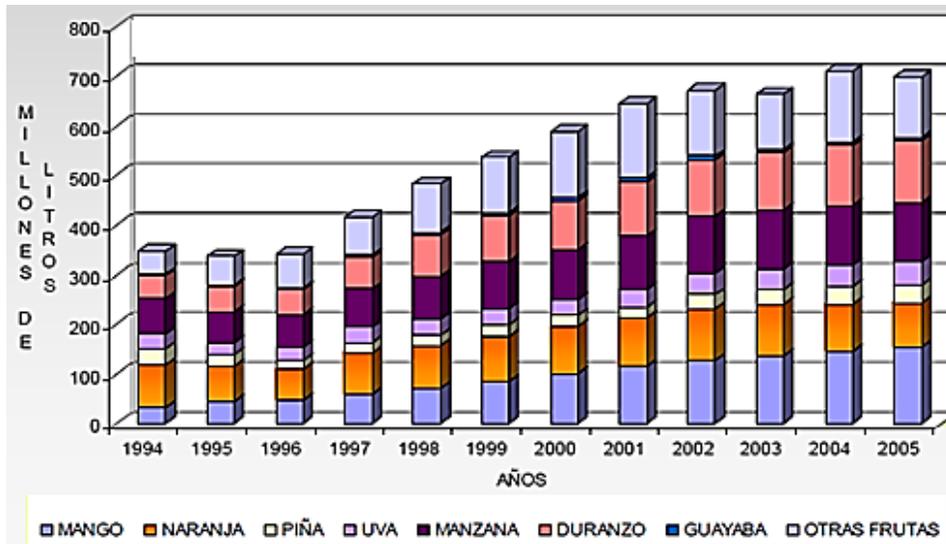


Figura 5. Producción de jugo de frutas en México (1994-2005). Fuente: SIAP, con datos de INEGI.

Las frutas que se procesan en la empresa Pascual Boing para la elaboración de jugo son fresa, guayaba, mango y tamarindo. En particular, se estima que hay un 70% de rendimiento en el proceso de los productos de la empresa, el 30% restante se considera subproducto o desecho orgánico y se donan para su uso como abono de las tierras de cultivo de la región.

2.7 El mango y su subproducto

El mango (*Mangifera indica L.*) es una fruta de temporada por ello aproximadamente el 20% de la fruta es procesada en productos como puré, néctar, jugos, productos lácteos, entre otros, y durante este procesamiento se generan subproductos que consisten principalmente en la piel, la semilla y remanentes de pulpa, los cuales representan del 35 al 60% del total del peso de la fruta. La piel en específico, constituye aproximadamente del 15 al 20% de la totalidad del mango, y no es utilizada para ningún fin comercial, por lo tanto es desechada y se convierte en una pérdida, de nutrientes y componentes bioactivos, y una fuente de contaminación (Ajila *et al.*, 2008).

Diversos autores han estudiado la piel y subproductos de diferentes variedades de mango y han concluido que es una excelente fuente de polifenoles, carotenoides, vitamina C, vitamina E, pectinas, celulosa, fibra dietaria y otros fitoquímicos, los cuales son compuestos bioactivos que poseen alto valor agregado y diversos beneficios a la salud humana (Larrauri *et al.*, 1996; Hassan *et al.*, 2011; Ajila *et al.*, 2007).

En una caracterización química de los fenoles en la porción extraíble de la piel del mango realizadas por Hassan *et al.* (2011), demostraron que la piel es una fuente rica en estos compuestos bioactivos, encontrándose en mayor cantidad el ácido gálico, ácido p-cumárico, ácido elágico, mangiferina y ácido protocatecoico.

Además de estos compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes, la piel del mango contiene un alto porcentaje de fibra con un balance entre sus fracciones soluble e insoluble. Es por ello que Ajila y Prasada (2013), analizan la composición de los carbohidratos y los polifenoles unidos a la fibra dietaria, encontrando la presencia de cantidades significativas de ácidos fenólicos y flavonoides unidos, tales como el ácido gálico, ácido protocatecoico, ácido siríngico, ácido ferúlico, kaempferol y quercetina (Ajila y Prasada, 2013).

También se han evaluado las propiedades funcionales de diferentes harinas elaboradas a partir de la piel, pulpa y subproductos de distintas variedades de mango, observándose que poseen alta capacidad de hidratación, valores mejores a la celulosa para hinchamiento, adsorción de aceite y agua, y se encontró que además de incrementar la calidad nutracéutica su adición también mejora algunas propiedades sensoriales, concluyendo con esto que este tipo de harinas tienen un enorme potencial como ingredientes funcionales en el desarrollo de productos nutracéuticos (García *et al.*, 2013).

En cuanto a ensayos *in vitro* la piel del mango y los subproductos estudiados han demostrado poseer una buena capacidad antioxidante y la capacidad de inhibir

enzimas digestivas, sin embargo, a pesar de toda esta información y los beneficios potenciales descritos para este tipo de material no existen estudios *in vivo* en donde se evalúen los beneficios fisiológicos del consumo de la piel del mango o de un subproducto de mango como concentrados de fibra antioxidante (Dorta *et al.*, 2012; Sogi *et al.*, 2013; Olivera, 2012).

Sellamuthu *et al.* (2013) realizaron estudios *in vivo* en ratas diabéticas, donde administraron oralmente la mangiferina aislada de hojas de mango y observaron un efecto antidiabético al disminuir la glucosa sanguínea y aumentar la utilización de la glucosa por parte del hígado. En cuanto al páncreas midieron diferentes marcadores de estrés oxidativo, enzimáticos y no enzimáticos, encontrando mejoría en todos ellos, concluyen que los beneficios fisiológicos observados son debidos principalmente a la potente actividad antioxidante de la mangiferina.

Muruganandan *et al.* (2005) también estudia el efecto de la mangiferina en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina por medio de su administración vía intraperitoneal, y ellos encuentran un efecto antidiabético y antiaterogénico, debido a la disminución significativa en la glucosa postprandial y al mejoramiento en el perfil de lípidos.

Por último, Perpetuo y Salgado (2003) suplementaron la alimentación de ratas sanas y diabéticas con una harina elaborada a partir de pulpa mango de la variedad Tommy Atkins. La harina con un alto porcentaje de fibra y una cantidad significativa de compuestos fenólicos, demostró una disminución significativa en los niveles de glucosa en comparación al control diabético, junto con un aumento en la concentración de insulina y en la cantidad de glucógeno hepático. Los autores, sugieren que la harina de mango debido a sus componentes puede ayudar en el tratamiento de la diabetes.

El grupo de trabajo ha realizado estudios con los subproductos de mango y guayaba de la Planta Pascual Boing para evaluarlos como fuentes potenciales de

fibra antioxidante, también se llevó a cabo una caracterización y los resultados que se obtuvieron fueron favorables en cuanto a propiedades funcionales de los dos subproductos y con un elevado contenido de fibra dietaria total. Se observó una elevada capacidad antioxidante para el subproducto de mango, así como, un atrapamiento de la glucosa e inhibición de la α -amilasa en los estudios *in vitro*. Este subproducto consta principalmente de la piel del mango, así como de los remanentes de pulpa. Se considera necesario, como una segunda etapa de esta investigación, evaluar el efecto de los componentes bioactivos del subproducto en un modelo de diabetes mellitus tipo 1.

3. JUSTIFICACIÓN

La diabetes mellitus es una enfermedad que año con año muestra un incremento gradual en su incidencia y prevalencia, México ocupa el noveno lugar de diabetes en el mundo, siendo las complicaciones de este síndrome la segunda causa de muerte en nuestro país. Esto está estrechamente relacionado con la condición de estrés oxidativo en el que se encuentra el organismo de la persona diabética y que es ocasionado a su vez principalmente por la condición de hiperglucemia crónica.

Frente a esta problemática, actualmente existe un incremento en el uso de alternativas naturales para complementar los tratamientos farmacológicos convencionales. Una alternativa que se propone es una dieta rica en fibra y antioxidantes, ya que estos dos componentes bioactivos ayudan a disminuir los efectos perjudiciales de la enfermedad y prevenir sus complicaciones.

Una fuente de estos compuestos bioactivos se tiene en el aprovechamiento de subproductos industriales provenientes del procesamiento de frutas. Se sabe que estos residuos representan un porcentaje elevado de la producción y que gracias al aprovechamiento de estos recursos se obtendrán beneficios económicos y ambientales.

Se ha demostrado que el subproducto obtenido de la elaboración de jugo de mango es rico en fibra, polifenoles, vitaminas y carotenoides. Por todo lo anterior, en el presente trabajo se propone evaluar el potencial efecto antidiabético del subproducto de mango con el objetivo de aprovechar un residuo de origen natural que pudiera ser una alternativa para el control de enfermedades crónicas relacionadas con el estrés oxidativo como la diabetes mellitus.

4. HIPÓTESIS

El alto contenido de fibra y compuestos antioxidantes del subproducto obtenido en la elaboración de jugo de mango disminuyen los niveles de glucosa y el estrés oxidativo de animales diabéticos.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL

Evaluar las propiedades antidiabéticas del subproducto obtenido en la elaboración industrial de jugo de mango.

5.2 ESPECÍFICOS

- Cuantificar polifenoles, extraíbles y no extraíbles, fibra dietaria total y evaluar la capacidad antioxidante *in vitro* del subproducto de mango.
- Evaluar el efecto hipoglucemiante e hipolipidémico del subproducto de mango en un modelo de diabetes.
- Evaluar el efecto del subproducto de mango sobre el estado antioxidante en un modelo de diabetes.

6. MATERIALES

6.1 Material químico

- Kit de Sigma para la determinación de fibra dietaria total en el subproducto de mango.
- Para la inducción de la diabetes mellitus se utilizó el fármaco estreptozotocina (STZ) de la marca Sigma[®].
- Tiras reactivas marca ACCUTREND[®] para la determinación de glucosa sanguínea.
- Kit para la determinación de glucosa marca Randox[®].
- Ensayo de ELISA para la cuantificación de insulina para rata, de la marca Millipore[®].
- Kit para la determinación de creatinina de la marca Randox[®].
- Kit para la determinación de colesterol total, colesterol HDL y triglicéridos, marca Randox[®].
- El resto de reactivos químicos usados incluyendo los solventes, son de grado analítico.

6.2 Material vegetal

La materia prima fue un producto de desecho en el procesamiento de la pulpa de mango (*Mangifera indica L.*) para la elaboración de jugo de la empresa mexicana Sociedad Cooperativa Trabajadores de Pascual, S.C.L., Planta San Juan del Río, Querétaro, México (Figura 6).

Una vez obtenido el subproducto, éste se colocó en un secador de bandeja con aire caliente a una temperatura de 50 °C durante 24 horas. La materia seca se trituró en un molino, y se pasó por una malla con un tamaño de partícula ≤ 40 micras. Posteriormente, el subproducto de mango en polvo fue almacenado en recipientes herméticos y protegidos de la luz.



Figura 6. Generación de subproducto en la primera etapa del proceso industrial para obtener pulpa de fruta en la elaboración de jugo.

6.3 Material biológico

Se utilizaron 32 ratas macho Wistar de 18 semanas de edad, con un peso promedio de 400 ± 20 g. Los animales utilizados en el estudio se adquirieron en Rismart S.A. de C.V.

7. Metodología

7.1 Caracterización parcial del subproducto de mango

7.1.1 Determinación de fibra dietaria total

La fibra dietaria se determinó por el método de la AOAC (1999). Se usaron dos porciones duplicadas de muestra seca. Se pesó 1 g de muestra y se realizó la primera incubación con α -amilasa termoestable (A-3306, Sigma Chemical Co.), a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ y pH 6, durante 15 min; posteriormente se digirió enzimáticamente con proteasa (P-5380, Sigma Chemical Co.) a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y pH 7.5 durante 30 min. En seguida, la muestra se incubó con amiloglucosidasa (A-9268, Sigma Chemical Co.) a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y pH 4.5 durante 30 min. A la mitad de las muestras se les agregó cuatro volúmenes de etanol 95%, con el objetivo de precipitar la fibra soluble, posteriormente se dejaron las muestras reposando toda la noche. Al día siguiente las muestras se filtraron y se realizaron lavados en el residuo con etanol 78 %,

etanol 95 % y acetona. Se dejaron secar a 100 °C toda la noche y al siguiente día se registró el peso. Se determinó cenizas y proteína total por el método de Kjeldahl en los residuos. La fibra dietaria total se calculó a partir de las muestras a las que se les añadió el etanol, la fibra dietaria insoluble del otro duplicado de muestras, y la fibra soluble a partir de la diferencia de las dos anteriores, con la siguiente ecuación.

$$\text{FDT} = \frac{[\text{peso del residuo} - \text{proteína} - \text{ceniza} - \text{blanco}]}{[\text{peso de la porción de prueba}]}$$

(AOAC, 1999)

7.1.2 Determinación de la fracción indigerible

La determinación de fracción indigerible de la muestra se realizó de acuerdo al método de Saura-Calixto *et al.* (2000). Se pesaron 300 mg de la muestra y se añadió una solución de pepsina con una concentración de 300 mg de pepsina por cada mL de solución amortiguadora HCl-KCl (0.5 M HCl y 0.03 M de KCl), a pH de 1.5, las muestras se incubaron por 1 h a 40°C en un baño de agua con agitación constante. Posteriormente, se añadió 9 mL de solución amortiguadora de Tris-malato (0.1 M, pH 6.9). Se agregó la α -amilasa (1 mL de 120 mg/mL en solución amortiguadora Tris-malato), y luego las muestras se incubaron en baño de agua a 37 °C por 16 h con agitación constante. Al término de este paso, las muestras se centrifugaron durante 15 min a 3000 g y el sobrenadante se removió. Los residuos se lavaron dos veces con 10 mL de agua destilada y posteriormente los sobrenadantes se combinaron. Los residuos se secaron durante la noche a 105 °C y la fracción indigerible insoluble se cuantificó gravimétricamente. Los sobrenadantes se transfirieron a una membrana y se llevó a cabo la diálisis contra agua por 48 h a 25°C. Los dializados se liofilizaron y pesaron, para poder así determinar la fracción indigerible soluble.

7.1.3 Cuantificación de fenoles extraíbles

Para la obtención del extracto se pesó 1 g del subproducto seco y se le agregó 40 mL de metanol:agua (50:50) a pH 2, se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Posteriormente se centrifugó a 1500 g por 10 min y se recuperó el sobrenadante (Extracto A). Al residuo se le agregó nuevamente una mezcla de 40 mL de acetona:agua (70:30), de igual forma se agitó a temperatura ambiente por 1 h, y una vez terminado este lapso se centrifugó a 1500 g por 10 min y se recuperó el sobrenadante (Extracto B). Los extractos A y B se mezclaron para llevar a cabo la determinación de fenoles totales y flavonoides correspondientes a la fracción de los extraíbles, y se guardó el residuo para las determinaciones de polifenoles no extraíbles (Hassan *et al.*, 2011).

7.1.3.1 Cuantificación de fenoles totales

Para la determinación de polifenoles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton *et al.* (1999). Dicha técnica cuantifica la concentración total de grupos hidroxilos fenólicos presentes en la muestra que se está analizando. Este método se basa en una reacción de óxido-reducción obteniendo una coloración azul. Se tomó una alícuota de 20 μL del extracto (A+B) del subproducto de mango, la cual se colocó en un tubo de ensayo y se completó el volumen a 250 μL con agua destilada, se adicionó 125 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu 1N, se agitó en vórtex por 5 min, posteriormente se agregó 625 μL de Na_2CO_3 al 20% y se dejó reposar 2 h en la oscuridad. Transcurrido este tiempo se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 760 nm y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por g de materia seca (Singleton *et al.*, 1999).

7.1.3.2 Cuantificación de flavonoides

El contenido de flavonoides totales se basa en la capacidad del AlCl_3 para formar quelatos con flavonoides orto-dihidroxilados, 3-hidroxilados y 5-hidroxilados. Para llevar a cabo la reacción se mezclaron 30 μL de NaNO_3 (10 %), 60 μL de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (20 %), 200 μL de NaOH (1 M) y 400 μL de agua destilada con 100 μL

de cada muestra, después se agitó y dejó en reposo durante 30 min. Se realizaron las lecturas de absorbancia a 510 nm y se compararon con una curva de calibración de catequina. Los resultados se expresan como mg equivalente de catequina/g de peso seco (Heimler *et al.*, 2006).

7.1.4 Cuantificación de fenoles no extraíbles

7.1.4.1 Cuantificación de taninos condensados

La cuantificación de proantocianidinas no extraíbles se realizó mediante la hidrólisis ácida con n-butanol del residuo de la extracción descrito en la técnica anterior (7.1.3). Esta técnica se fundamenta en la liberación a partir de calor y un alcohol de las antocianidinas estables al calor a partir de los taninos condensados del subproducto, estas antocianidinas son pigmentos que generan un compuesto coloreado que se puede medir a una longitud de onda de 550 nm.

Las proantocianidinas presentes en el residuo se hidrolizaron de acuerdo al método descrito por Porter *et al.* (1986). Brevemente, en un tubo con tapa de 10 mL se agregó 6 mL de n-butanol/HCL (95:5), después se añadió 0.1 g del residuo y 0.2 mL del reactivo metálico (2% (p/v) sulfato de amonio férrico en una concentración 2 mol/L HCl), y el contenido se mezcló en el vórtex. Se colocó en baño maría a temperatura de ebullición durante 50 min. Posteriormente, se dejó enfriar el tubo y la solución se transfirió a un matraz aforado ajustando el volumen a 25 mL, con el reactivo n-butanol/HCl antes preparado. La absorbancia se leyó a una longitud de onda de 550 nm. Los resultados se expresan en unidades de absorbancia (Amarowicz y Pegg, 2006).

7.1.4.2 Cuantificación de taninos hidrolizables

El fundamento de esta técnica consiste en hidrolizar los taninos hidrolizables produciendo metil galato, el cual se hace reaccionar con KIO_3 con lo que se genera un compuesto coloreado que se lee a una longitud de onda de 525 nm.

En esta técnica de igual forma se usó el residuo de la técnica de fenoles extraíbles descrita anteriormente. El procedimiento es el siguiente, se pesaron 20 mg de la

muestra y se le agregó 2 mL de metanol/H₂SO₄ (90:10), se dejó incubar a 85 °C durante 20 h. Después de este tiempo se centrifugaron los tubos a 3000 g y al sobrenadante se le ajustó el volumen a 3 mL con agua destilada, y se añadió 4 volúmenes de etanolamina comercial (50 µL), agitando entre cada adición. A cada muestra se le agregó 500 µL de acetato de amonio 3.7 M y se ajustó el pH a 5.5 con etanolamina. Se aforó a 4 mL con agua destilada y se mezcló. Se transfirieron 100 µL de la muestra en un tubo de 2 mL, se le agregó 350 µL de agua, 1000 µL de metanol y se mezcló. Los tubos se taparon y se pusieron en baño de agua a 30 °C. Para preparar el blanco en cada muestra se reemplazaron los 350 µL de agua por HCl al 0.3 N. Se sacaron los tubos del baño maría después de 10 minutos para añadirles 40 µL de KIO₃, y se mezclaron bien. Se regresó a baño maría a 30 °C durante 50 min y posteriormente se leyó la absorbancia a 525 nm, teniendo como blanco agua destilada (Hartzfeld *et al.*, 2002).

7.2 Evaluación de capacidad antioxidante *in vitro*

7.2.1 Poder reductor del subproducto de mango

Para medir el poder reductor de la muestra, el extracto del subproducto se añadió en diferentes concentraciones a tubos Falcon de 15 mL, se agregó 500 µL de solución amortiguadora de fosfatos 0.2 M (pH 6.6), se mezcló con 1 mL de ferrocianuro de potasio (1%), y se incubó a 50 °C durante 20 min. Posteriormente, se añadió el ácido tricloroacético (500 µL, 10%) a la mezcla de reacción, se agitó y se centrifugó a 3000 g durante 10 min. El sobrenadante obtenido se mezcló con un volumen igual de agua destilada, se añadió 300 µL de cloruro férrico al 1%, después de la incubación se midió la absorbancia a 700 nm. Conforme se observe un incremento en la absorbancia de la reacción indicará un incremento en el poder reductor de la muestra (Ribeiro *et al.*, 2008).

7.2.2 Inhibición de la formación del radical óxido nítrico

Para establecer la habilidad de los extractos para capturar el radical óxido nítrico (NO·), se aplicó la metodología seguida por Giraldo *et al.* (2003), con algunas modificaciones. Se prepararon diferentes concentraciones del extracto para

calcular la concentración inhibitoria media (IC_{50}), a cada tubo se le agregó agua destilada para completar un volumen de 1 mL, inmediatamente se adicionó 0.2 mL de nitroprusiato de sodio (113 mM), se agitó y se dejó incubar a temperatura ambiente (150 min). Posteriormente terminado el tiempo de incubación se agregó el reactivo de Griess, primero 0.4 mL del reactivo A (ácido sulfanílico al 1% en ácido fosfórico al 5%) y 15 min después se adicionó 0.4 mL del reactivo B (N-1 naftiletilediamina al 0.1% en agua destilada). Los tubos se dejaron en reposo durante 10 min, y se midió la absorbancia a 546 nm. Las lecturas de absorbancia decrecen con el aumento de la actividad antinitrosativa. El porcentaje de inhibición del radical óxido nítrico se estimó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$(\%) PION = \left[\frac{A_0 - A_M}{A_0} \right] \times 100$$

Donde: (%) PION: corresponde al potencial inhibitorio del óxido nítrico

A_0 : es la absorbancia del control

A_M : es la absorbancia de la mezcla reaccionante

7.2.3 Determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS^{•+}

La actividad antioxidante se determinó mediante la metodología desarrollada por Re *et al.*, (1999). La formación del radical ABTS^{•+} se realizó mediante la reacción de persulfato de potasio (2.45 mM) con ABTS (2,2'azinobis(-3 etilbensotiazolin-6-ácido sulfónico)) (7 mM). Se colocó 0.0033 g de persulfato de potasio y 0.0194 g del reactivo y se añadió 5 mL de agua destilada; esta mezcla se agitó y se dejó reposar 24 h en oscuridad y a temperatura ambiente.

Una vez formado el radical ABTS^{•+}, éste diluyó con solución amortiguadora de fosfatos con un pH de 7.4, hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0.70 (\pm 0.1) a una longitud de onda de 754 nm. Se colocaron 980 μ L del radical ABTS y se mezclaron con diferentes concentraciones del extracto del subproducto de mango con el fin de evaluar la concentración inhibitoria media (IC_{50}). La mezcla se dejó reposar por 7 min a temperatura ambiente y protegida de

la luz, para posteriormente tomar la lectura correspondiente a 754 nm en el espectrofotómetro.

7.2.4 Determinación de la capacidad antioxidante por método DPPH'

Este método, desarrollado por Brand *et al.* (1995), basa en la disminución de la absorbancia medida a 515 nm debido a la reducción del radical DPPH. por la acción de los antioxidantes. Se preparó una solución 0.1 mM de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) en metanol, 1 mL del radical se adicionó a las diferentes concentraciones del extracto del subproducto de mango, se mezcló y se incubó durante 30 min a temperatura ambiente y protegido de la luz, una vez terminado este tiempo se leyó la absorbancia de la mezcla a 517 nm. La actividad para secuestrar radicales de los extractos se determinó en base a la disminución de los valores de absorbancia calculando el porcentaje de inhibición, y posteriormente los resultados se expresaron como concentración inhibitoria media (IC₅₀).

7.3 Experimentos *in vivo*

Con el objetivo de evaluar el potencial efecto antidiabético del subproducto de mango se suplementó la dieta de ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina en un porcentaje basado en la ingesta diaria recomendada por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (0.5 g/kg peso corporal) (FAO, 2007). Se trabajó con 32 ratas macho Wistar de 18 semanas de edad, con un peso promedio de 400 ± 20 g, las cuales se sometieron a una semana de adaptación en condiciones controladas de temperatura, bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 h, temperatura y humedad controladas (22 ± 3 °C y $55 \pm 15\%$ respectivamente) con acceso libre a comida y agua.

7.3.1 Inducción de diabetes mellitus tipo 1 con estreptozotocina

La inducción de la diabetes se realizó en las ratas de todos los grupos, exceptuando al grupo control. Después de un ayuno de 12 h se inyectó a las ratas vía intraperitoneal una dosis única de estreptozotocina (STZ) de 45 mg/kg de peso corporal, disuelta en una solución amortiguadora de citrato de 0.1 M, pH 4.5.

Cuatro días posteriores a la inducción de diabetes con STZ se determinaron los niveles de glucosa en ayuno en los animales en estudio. Aquellos que presentaron niveles de glucosa mayores a 180 mg/dL se consideraron como diabéticos y fueron asignados dentro de los grupos experimentales, incluyéndose 8 ratas diabéticas por grupo. Las ratas del grupo control negativo (sanas) recibieron solución salina vía intraperitoneal. Las ratas diabéticas se dividieron aleatoriamente en 3 grupos, distribuidos de acuerdo al cuadro 1.

Cuadro 1. Grupos experimentales para la evaluación del efecto antidiabético de fibra antioxidante de mango.

| Grupo | Dieta |
|---------------------------------|--|
| Control sano | 8 ratas con dieta estándar ¹ |
| Control diabético | 8 ratas con dieta estándar ¹ |
| Subproducto de mango | 8 ratas con dieta estándar mezclada con el subproducto ² |
| Fibra comercial de nopal | 8 ratas con dieta estándar mezclada con fibra comercial ³ |

¹Dieta estándar (proteína de 22%, grasa de 5% y fibra de 6%), ²Dieta subproducto (dieta estándar + 0.5 g de fibra dietaria total en el subproducto/kg de peso corporal) ³Dieta fibra comercial (dieta estándar + 0.5 g de fibra dietaria total en la fibra comercial de nopal/kg de peso corporal).

7.3.2 Dieta

Se administró una dieta estándar para el grupo control sano y control diabético, la cual fue una croqueta comercial molida para rata marca nu3lab 22-5, con un porcentaje de proteína de 22%, grasa de 5% y fibra de 6%. Para el grupo del subproducto de mango, se molió la croqueta y posteriormente se mezcló con el subproducto de mango, buscando una ingesta diaria de las ratas de 0.5 g de fibra total en el subproducto por kg de peso corporal, para el grupo de fibra comercial se utilizó una fibra de nopal en las mismas proporciones.

7.3.3 Evaluación del efecto antidiabético del subproducto de mango

7.3.3.1 Medición semanal

Semanalmente se cuantificó el aumento de peso corporal, la glucosa en ayuno, el consumo de alimento y de agua, y se registró un valor promedio por cada grupo de ratas. El nivel de glucosa (mg/dL) se cuantificó en la sangre obtenida de la vena caudal de las ratas, con un mínimo de 8 h de ayuno. Para ello se empleó un glucómetro ROCHE y tiras reactivas Accu-Check, con una sensibilidad de 20-600 mg/dL de glucosa.

7.3.3.2 Sacrificio y obtención de muestras

Durante la última semana de tratamiento se recolectaron en dos muestreos las heces representativas de cada animal, y se almacenaron a -70 °C. El día del sacrificio se recolectó la orina de los animales en ayuno de 12 h, se filtró y almacenó a -70 °C.

Las ratas se anestesiaron con éter etílico y se tomó una muestra de sangre por punción cardíaca. Se extrajeron los riñones y el páncreas, los cuales se lavaron con amortiguador de fosfatos salinos frío. Los riñones se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -70 °C para su posterior análisis, mientras que el páncreas se almacenó en solución de formaldehído para el análisis histopatológico.

7.3.3.3 Medición de glucosa e insulina en suero

Inmediatamente después de la extracción de la sangre por una cardiopunción de las ratas anestesiadas, se obtuvo el suero por medio de una centrifugación a 3000 g durante 10 min y las muestras se almacenaron a -70 °C hasta el momento de su análisis. Para la medición de glucosa en suero se utilizó un kit enzimático de Randox y la cuantificación de insulina en suero se realizó por el método de ELISA con un kit de la marca Millipore.

7.3.3.4 Determinación del tamaño de los islotes de Langerhans

Para evaluar el efecto protector del subproducto de mango se realizó un análisis histopatológico en el páncreas. El páncreas extraído se lavó con solución fisiológica estéril, posteriormente se fijó en una solución de formaldehído al 4 %. Después se realizó la fijación e inclusión en parafina y finalmente se llevó a cabo la microdissección, obteniendo cortes de 5 μm , en los cuales se llevó a cabo la tinción con hematoxilina-eosina (HIE), para posteriormente tomar las imágenes representativas y realizar las mediciones del eje mayor de los islotes de Langerhans.

7.3.3.5 Evaluación de parámetros bioquímicos en orina y suero relacionados con el daño renal

En las muestras de orina colectadas se determinó el contenido de proteína por el método de Bradford (1976), así mismo, se determinó la glucosa y creatinina, en suero y orina, mediante kits de la marca Randox.

7.3.4 Evaluación del efecto del subproducto de mango en el estado antioxidante de ratas diabéticas.

7.3.4.1 Medición de la capacidad antioxidante en suero por el ensayo del radical ABTS^{•+}

La actividad antioxidante en el suero recolectado el día del sacrificio de los animales en ayuno se determinó mediante el ensayo con el radical ABTS^{•+} desarrollado por Re *et al.* (1999), descrito previamente en el punto 7.2.3 de este trabajo. Se agregaron 20 μL del suero con 980 μL del radical ABTS^{•+}, la mezcla se agitó y dejó reposar por 7 min a temperatura ambiente y protegido de la luz, para posteriormente tomar la lectura correspondiente a 754 nm en el espectrofotómetro. Se realizaron curvas con Trolox como estándar, los resultados se reportaron como mg equivalentes de Trolox/mL.

7.3.4.2 Cuantificación de polifenoles en la orina de ratas diabéticas

El contenido total de polifenoles excretados en la orina recolectada durante 12 h se estimó mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu con algunas modificaciones propuesto por Roura *et al.* (2006). Primeramente en la orina recolectada se realizó una separación de fase sólida, se utilizó un cartucho HLB (3 mL, 60 mg) y una cámara de filtración con vacío, se realizó la activación de la columna y se añadió 1 mL de la orina previamente filtrada, el cartucho fue lavado con 2 mL de ácido fórmico (1.5 M) y 2 mL de agua:metanol (95:5 v/v). Los polifenoles fueron eluidos con 1 mL de metanol con 1% de ácido fórmico, esta fracción se recuperó para posteriormente realizar el ensayo de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton *et al.* (1999) con algunas modificaciones, de la manera siguiente, se tomaron 200 μ L de la fracción metanólica eluida después de la separación de fase sólida, esto se mezcló con 140 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu y 2.4 mL de agua, se agitó y dejó reposar 1 minuto, posteriormente se agregaron 420 μ L de carbonato de sodio (200 g/L), se agitó y la mezcla fue incubada durante una hora a temperatura ambiente. Después de este tiempo, se añadió 910 μ L de agua destilada a la reacción, se mezcló, y se tomó la lectura a una absorbancia de 765 nm.

7.3.4.3 Peroxidación lipídica en fracción post-mitocondrial (PMS) en tejido renal

La medición se realizó mediante el método descrito por Kaur *et al.* (2005), para lo cual se hizo una extracción previa de la fracción mitocondrial de homogenizado de tejido de riñón usando solución amortiguadora de fosfatos (0.1 M, pH 7.4) el cual contenía KCl (1.17%). Se pesaron 100 mg de tejido y se le añadieron 1.2 mL de solución amortiguadora, se trituró el tejido y se sometió a centrifugación a 800 g por 5 min. Se tomó el sobrenadante, se centrifugó nuevamente por 10, 500 g por 20 min, en el sobrenadante se encuentra la fracción post-mitocondrial (PMS). El volumen final de reacción fue de 1 mL, para lo cual se colocó 850 μ L de PMS y 150 μ L de buffer pH 7.4 sin KCl, seguido de 1 mL de ácido tricloroacético (10 %) y 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA). Se sometió a temperatura de ebullición por 20 min para formar el complejo MDA-TBA. Finalmente se agregaron 2.5 mL de

butanol, se agitó en el vórtex, se centrifugó y se tomó la lectura en el sobrenadante a 532 nm. El análisis de resultados se llevó a cabo usando el coeficiente de extinción 1.56×10^5 M/cm.

7.3.4.4 Medición del peso, humedad, fenoles totales y capacidad antioxidante de heces.

Se recolectaron las heces de cada animal en dos muestreos durante la última semana de tratamiento, se escogieron 5 heces de cada animal al azar y se pesaron, para obtener el peso fresco. Se tomaron las medidas de ancho y largo con un vernier, y se dejaron secar a 100 °C hasta obtener peso constante.

Para la cuantificación de fenoles totales y la capacidad antioxidante, las muestras se liofilizaron y trituraron, obteniéndose así un polvo fino, homogéneo y seco. Para la extracción de polifenoles a partir de las heces liofilizadas se realizó el mismo procedimiento de extracción que en la muestra del subproducto de mango, descrito en el punto 7.1.3. Se pesaron 0.125 g del liofilizado y se agregaron 10 mL de metanol:agua (90:10) a pH 2, se agitó durante 1 h a temperatura ambiente, se centrifugó a 1500 g durante 10 min y se recuperó el sobrenadante (A). Posteriormente, se agregaron 10 mL de acetona:agua (70:30) sobre el residuo de la extracción anterior, nuevamente se agitó durante 1 h a temperatura ambiente, y terminado este tiempo se centrifugó a 1500 g durante 10 min, se recuperó el sobrenadante (B) y se desechó el residuo. Se mezclaron los sobrenadantes A y B, y a partir de esta mezcla se determinó el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y se midió la capacidad antioxidante por el ensayo del radical DPPH[•], descrito en la sección 7.2.4 (Goñi y Serrano, 2005).

8. Análisis estadístico

Los resultados se reportaron como la media \pm error estándar. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95%. Para la comparación entre dos medias se utilizó la prueba *t* de student, y para la comparación entre más de dos medias se utilizó la prueba de Tukey. Los datos se analizaron con el paquete estadístico JMP 5.0.1.

9. RESULTADOS Y DISCUSIONES

9.1 Caracterización parcial

9.1.1 Contenido de fibra dietaria y fracción insoluble

En el cuadro 2 se muestran los porcentajes para la FDT, encontrándose que el subproducto presentó 38.29 % (expresado en materia seca), mientras que la harina de nopal comercial, empleada como un control de fibra con fines comparativos, tiene un porcentaje significativamente mayor de FDT con respecto al subproducto de mango, con un valor de 49.92 %.

Cuadro 2. Contenido de fibra dietaria total y fracción indigerible, soluble e insoluble, del subproducto de mango.

| Parámetro | Mango | Nopal |
|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Fibra dietaria total (FDT) | 38.29 ± 1.12 ^b | 49.92 ± 1.39 ^a |
| -Fibra dietaria insoluble | 25.81 ± 0.31 ^b | 40.00 ± 0.94 ^a |
| -Fibra dietaria soluble | 12.49 ± 0.82 ^a | 9.92 ± 0.45 ^b |
| Relación FD insoluble : FD soluble | 67.4 : 32.59 | 80.12 : 19.87 |
| Fracción indigerible total (FIT) | 58.08 ± 0.32 ^b | 67.34 ± 1.32 ^a |
| -Fracción indigerible insoluble | 43.85 ± 0.10 ^b | 57.47 ± 1.17 ^a |
| -Fracción indigerible soluble | 14.23 ± 0.23 ^a | 9.86 ± 0.27 ^b |
| Relación FI insoluble : FI soluble | 75.49 : 24.50 | 85.34 : 14.64 |

Los valores se expresan en (%) y representan la media ± DE. Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba *t* de student. (FDT: fibra dietaria total; FIT: fracción indigerible total; FD: fibra dietaria; FI: fracción indigerible).

Ajila y Prasada (2013) afirman que la piel del mango puede ser comestible y es una fuente importante de carbohidratos no digeribles. En un estudio estos autores determinaron la FDT y la composición de carbohidratos que forman parte de la fibra de dos variedades de piel de mango (Raspuri y Badami), en dos diferentes grados de maduración, encontrando un contenido de FDT en un intervalo de 40.6–72.5 %. El valor inferior es similar a lo que se encontró en nuestro estudio, además ellos observaron que el contenido de la fibra en la piel de ambas variedades incrementa durante la maduración. Entre los carbohidratos no digeribles que encontraron de manera importante como parte de la fibra de la piel del mango están la galactosa, arabinosa, glucosa y azúcares neutros.

En cuanto a la harina de nopal, Ayadi *et al.* (2009) analizaron la composición química de harina de cladodios con espinas (*Opuntia ficus indica* F. *amylocea*) y sin espinas (*Opuntia ficus indica* f. *inermis*), y reportaron un contenido de FDT entre 41.83-51.24 %, rango en el cual se encuentra el valor encontrado para la harina de nopal comercial en el presente trabajo.

Tradicionalmente la fibra dietaria se ha clasificado en fibra soluble e insoluble y esta clasificación se basa en la solubilidad de las sustancias que componen la FDT en agua (Conterno *et al.*, 2011). En el cuadro 3 se presentan los valores para las fracciones soluble e insoluble de las muestras. En cuanto a la fibra insoluble, se observó la misma tendencia que en la FDT, el mango presentó un valor de 25.89 % para esta fracción, similar a lo reportado por García *et al.* (2013), para un subproducto en la elaboración de jugo de mango de la variedad Tommy Atkins, con un porcentaje de fibra insoluble del 26.6 %. El nopal tienen un mayor porcentaje con un valor de 40.00 %, similar a lo reportado por Contreras *et al.* (2011), quienes analizaron cladodios de diferentes días de desarrollo y encontraron valores para la fibra insoluble en un rango de 39.1-55.9 %, concluyendo que conforme incrementa la maduración incrementa el porcentaje de fibra insoluble.

Por otra parte, en cuanto a la fracción soluble el subproducto de mango mostró un contenido significativamente mayor que el nopal comercial, con un porcentaje del 12.49 %, nuevamente similar a lo reportado para subproductos de la variedad Ataulfo y Tommy Atkins con valores de 11.15 y 12.11 %, respectivamente (García *et al.*, 2013). Esto es importante ya que a esta fracción se le han atribuido mayormente los efectos positivos observados en estudios relacionados con la diabetes. Por otro lado, el nopal presentó 9.92 % de fibra soluble y este contenido es menor a lo reportado por Contreras *et al.* (2011), ya que en su estudio encontraron valores en un intervalo de 12.5-32.1 %. Estos autores reportaron que, debido al procesamiento térmico, hay pérdidas importantes de las fibras solubles, y además esta fracción disminuye conforme aumentan los días de maduración.

Se ha demostrado que cada fracción tiene efectos fisiológicos, propiedades fisicoquímicas y funcionales diferentes, la parte insoluble está mayormente relacionada con la regulación intestinal y características relacionadas con la textura, mientras que la parte soluble está asociada con la viscosidad, adsorción de agua y efectos hipoglucemiantes e hipolipidémicos. En términos de beneficios a la salud, ambas fracciones se complementan, es decir, los beneficios del consumo de fibra que se han comprobado no solo dependen del tipo o cantidad de fibra consumida, sino también de las proporciones entre cada una de las fracciones. Por lo anterior diversos autores recomiendan que se deben consumir ambas fracciones dentro de una relación de 70:30 a 50:50 (insoluble:soluble), la cual es la ideal para maximizar los beneficios ya mencionados. Como se puede observar en el cuadro 3 esta relación es similar a la que se tiene en el subproducto de mango y en general, a la que se encuentra en las frutas, ya que la proporción entre sus fracciones está más balanceada en comparación con la fibra de los cereales (Ajila y Prassada, 2013; Conterno *et al.*, 2011; Schneeman, 1987).

Existe una tendencia en el campo de la nutrición a extender el concepto de fibra dietaria para incluir todos los componentes de los alimentos que llegan al colon (Asp *et al.*, 1996). En esta línea, Saura *et al.* (2000) propone un nuevo concepto

llamado fracción indigerible, el cual además de incluir a los constituyentes que se toman en cuenta tradicionalmente en la definición de FDT tales como la celulosa, hemicelulosa, lignina, gomas, mucílagos, oligosacáridos y pectinas, incluye otros componentes como el almidón y la proteína resistente y/o biopéptidos, polifenoles, minerales y otros compuestos, que debido a interacciones complejas con la pared celular llegan al colon y poseen efectos fisiológicos (Bravo y Saura, 1998).

En este trabajo se utilizó el método propuesto por Saura *et al.* (2000) para la determinación de la fracción indigerible (FI) de las muestras. En el cuadro 3 se muestran los resultados para esta técnica, en la cual se tienen las ventajas de analizar las muestras tal y como son consumidas, y usar condiciones similares a las del cuerpo humano. Como era de esperarse, los valores para la fracción indigerible total (FIT) fueron mayores que los obtenidos para el ensayo de FDT, y siguieron la misma tendencia, ya que el subproducto de mango tiene un porcentaje significativamente menor con respecto al nopal, con valores de 58.08 y 67.34 %, respectivamente. Este aumento observado en la FIT es debido a la presencia de otros constituyentes diferentes a los polisacáridos que no son almidón y lignina, tales como el almidón resistente el cual es un material fermentable y la proteína resistente que también funciona como sustrato de la microbiota (Asp *et al.*, 1996).

La fracción indigerible también se clasifica en insoluble y soluble, observándose que ambas mediciones guardan también la misma relación, con valores para el mango y nopal de 43.85 y 57.47 % para la fracción insoluble, y 14.23 y 9.86 % para la fracción soluble, respectivamente. A pesar de las ventajas de este método y, que desde un punto de vista nutricional esta cuantificación podría ser de mayor utilidad, en la literatura no existen actualmente reportes de la FI de muchos alimentos, no se encuentran valores reportados para subproductos o piel de mango y harinas de nopal. Sin embargo, existen estudios donde evalúan el contenido de la FI de diferentes frutas, hortalizas y cereales, como es el caso de la manzana, naranja, plátano, tomates, papas, avena, arroz, entre otros, en donde se

puede observar la misma tendencia que en nuestros resultados tanto para la FIT como para sus fracciones soluble e insoluble, ya que el contenido de FIT es mayor al de FDT (Saura *et al.*, 2000).

9.1.2 Contenido de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son reconocidos por diversas funciones biológicas relacionadas con beneficios a la salud (Ayadi *et al.*, 2009; Manach *et al.*, 2004).

Algunas de estas propiedades benéficas a la salud se han relacionado con la prevención y disminución de complicaciones en enfermedades crónicas degenerativas, como la diabetes mellitus. Esto debido a que los polifenoles poseen propiedades anti-inflamatorias y antioxidantes, además de tener efectos en el metabolismo de lípidos y carbohidratos en distintos niveles, ayudando en general a disminuir la hiperglucemia y el estrés oxidativo que presenta el paciente diabético (Hanhineva *et al.*, 2010).

En el cuadro 3 se presentan los resultados del contenido de compuestos fenólicos, de acuerdo a la clasificación y metodologías propuestas por Saura (2012), en donde los polifenoles se dividen en extraíbles (PE) y no extraíbles (PNE). Desde un punto de vista de solubilidad, los PE son aquellos que pueden extraerse mediante el uso de solventes orgánicos, mientras que los PNE permanecen en el residuo de la extracción debido a la habilidad de los anillos aromáticos y de sus grupos hidroxilo de formar macromoléculas, así como de unirse a polisacáridos, proteínas y componentes de la pared celular, mediante enlaces covalentes, puentes de hidrógeno, e interacciones hidrofílicas e hidrofóbicas. Por otro lado, desde un punto de vista fisiológico, los PE incluyen aquellos compuestos que se solubilizan en el intestino delgado en condiciones fisiológicas, en suma con los que se liberan de la matriz del alimento por la acción de las enzimas digestivas, por consiguiente los PNE serían aquellos compuestos que atraviesan el tracto gastrointestinal asociados a macromoléculas indigeribles alcanzando con esto el

colon, donde son liberados por la acción de la microflora y pueden absorberse como metabolitos (Bravo y Saura, 1994; Saura, 2012).

Cuadro 3. Contenido de compuestos fenólicos, extraíbles y no extraíbles, del subproducto de mango.

| | Determinación | Mango | Nopal |
|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------|---------------------------|
| Polifenoles extraíbles | Fenoles totales ¹ | 101.56 ± 0.96 ^a | 21.24 ± 0.22 ^b |
| | Flavonoides ² | 29.96 ± 2.58 ^a | 2.36 ± 0.23 ^b |
| Polifenoles no extraíbles | Taninos condensados ³ | 0.346 ± 0.02 ^a | 0.214 ± 0.01 ^a |
| | Taninos hidrolizables ⁴ | 1.05 ± 0.04 ^a | 0.07 ± 0.01 ^b |

Los valores representan la media ± DE. Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba *t* de student.

¹Compuestos fenólicos totales expresados en mg equivalentes de ácido gálico/g de materia seca.

²Flavonoides expresados en mg equivalentes de (+) catequina/g de materia seca.

³Taninos condensados expresados en Absorbancia 550 nm/100 mg de materia seca.

⁴Taninos hidrolizables expresados en mg equivalentes de metil galato/g de materia seca.

Para los fenoles extraíbles se cuantificaron fenoles totales y flavonoides, en el cuadro 3 podemos observar que se obtuvo la misma tendencia para las dos determinaciones, ya que el subproducto de mango tiene concentraciones significativamente mayores a las del nopal, con 4.7 veces más fenoles totales y 12.7 veces más flavonoides en este extracto. Estos resultados son similares a lo encontrado en la literatura por Ajila *et al.* (2007), quienes analizaron la piel de mango de diferentes variedades a distintos grados de maduración, obteniendo valores de 54.6–109.7 mg eq. AG/g, intervalo en donde se encuentran los valores del presente estudio, ellos concluyen que el contenido de compuestos polifenólicos es mayor en la piel de mangos maduros. Ueda *et al.* (2000) analizaron la pulpa y la piel del mango en diferentes etapas de maduración, y encontraron que en cualquier etapa de esta fruta el contenido de polifenoles es mayor en la piel que en la pulpa. Esto es de interés ya que la piel es el principal componente en el subproducto que se tiene en la elaboración de jugos de la

empresa Pascual Boing, lugar de donde se obtuvo el subproducto para este estudio.

En cuanto al contenido de flavonoides, Dorta *et al.* (2012) analizaron el efecto de diferentes solventes y temperaturas para la extracción de estos compuestos a partir de un subproducto de mango de la variedad Keitt, obteniendo para los extractos metanol:agua (1:1) y acetona:agua (1:1) a 25 °C valores de 34 y 43 mg eq. catequina/g, y observaron que conforme aumenta la temperatura hasta 75 °C aumenta la extracción de flavonoides. Los resultados reportados son mayores a los valores de este estudio; sin embargo, la mezcla de solventes que se utilizó en el presente trabajo es diferente a la reportada por estos autores.

En cuanto a la harina de nopal, Bensandon *et al.* (2010) analizaron el contenido de fenoles totales de diferentes variedades de nopal obteniendo valores en un rango de 27.6-31.8 mg eq. AG/g, los cuales son mayores a lo obtenido en este trabajo. Figueroa *et al.* (2010) realizaron una caracterización de harinas de nopal comercial y muestras del tipo silvestre, obteniendo valores para fenoles totales entre 1-19.9 mg eq. AG/g, concluyendo que las variedades silvestres tienen el mayor contenido de fenoles, como se puede observar el límite superior es similar al resultado obtenido para la harina comercial objeto de estudio. Por otro lado en el reporte mencionado también fue evaluado el contenido de flavonoides, y encuentran que el valor más bajo lo obtuvieron unas tabletas comerciales de nopal con un valor cercano a 1 mg eq. quercetina/g.

Como podemos observar, en la literatura existe un amplio intervalo de valores reportados en este tipo de cuantificaciones, tanto para el subproducto de mango como para el nopal, lo cual hace difícil el comparar nuestros resultados. Los diversos autores citados señalan que estas variaciones tan grandes son debido principalmente a factores como la variedad utilizada, condiciones ambientales, el grado de maduración, el tipo procesamiento y las condiciones de almacenamiento de las muestras (Martí *et al.*, 2001; Guillen, 2007).

En cuanto a las determinaciones para los polifenoles no extraíbles (PNE), las cuales se hicieron a partir del residuo de la extracción anterior, se cuantificaron taninos condensados e hidrolizables, en ambos casos se observa la misma tendencia, ya que las concentraciones en el extracto del subproducto de mango son significativamente mayores con respecto a la harina de nopal.

Los taninos hidrolizables se cuantificaron después de una hidrólisis con calor a partir del residuo con metanol y ácido sulfúrico, el subproducto presentó 15 veces más concentración de este tipo de compuestos con respecto al nopal comercial. Esto era de esperarse ya que se ha reportado que la piel del mango es rica en taninos, sobre todo del tipo hidrolizables, los cuales le dan un gran potencial antioxidante y la característica de astringencia al consumirla (Dorta *et al.*, 2012).

Los resultados de la determinación de taninos condensados se obtuvieron por medio de una hidrólisis con butanol y HCl a 95°C, los valores se reportaron en unidades de absorbancia a 550 nm/mg como lo describe Amarowicz y Pegg (2006), esto es debido a la falta de un estándar comercial de proantocianidinas estables al calor. En cuanto a los resultados para el mango, se obtuvo un valor de 0.346 A_{550} /mg, el cual fue significativamente mayor con respecto al nopal con un valor de 0.07 A_{550} /mg.

Los taninos están relacionados con diversas funciones biológicas, y los efectos van a depender tanto del grado de polimerización como de la solubilidad. Se ha demostrado que tienen propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antivirales y anti-diabéticas debido al gran número de grupos hidroxilo que contienen, lo cual los hace potentes antioxidantes. Algunas funciones biológicas se han sugerido que se deben a la capacidad que tienen los taninos de interactuar con proteínas de la célula, aunque los mecanismos no están del todo elucidados (Pinnet *et al.*, 2004; Serrano *et al.*, 2009).

9.1.3 Capacidad antioxidante

Se ha recomendado la combinación de varios métodos para evaluar la capacidad antioxidante debido a varias razones: en primer lugar, los antioxidantes pueden ejercer su acción mediante mecanismos muy diversos (pueden suprimir la generación de los primeros radicales que inician el daño oxidativo, capturar radicales libres, quelar metales, formar complejos, reducir algunos compuestos, inducir la actividad de sistemas biológicos antioxidantes, entre otros), y en un mismo alimento puede haber mezclas de diferentes antioxidantes con distintos mecanismos de acción y entre los que, además, se pueden establecer reacciones sinérgicas. Por lo que serán necesarios distintos análisis para poder considerar los posibles mecanismos de acción de todos los antioxidantes presentes en un alimento. Por todas estas razones, un gran número de autores han planteado la necesidad de combinar más de un método de medida en la determinación de la capacidad antioxidante *in vitro* (Frankel y Meyer, 2000; Sánchez, 2002; Aruoma, 2003; Prior *et al.*, 2005).

En los cuadros 4 y 5 se muestran los resultados para la capacidad antioxidante de los extractos de ambas muestras por cuatro métodos: ABTS^{•+}, DPPH[•], NO[•] y poder reductor; todos los ensayos se realizaron de igual manera incluyendo un estándar para su comparación.

En el cuadro 4 primeramente se muestran los resultados para el máximo porcentaje de inhibición para cada una de las muestras en los tres ensayos con radicales libres. El estándar catequina alcanza porcentajes mayores al 99 % de inhibición en los tres métodos, mientras que el subproducto de mango y el nopal tienen comportamientos distintos, los dos extractos alcanzan un mayor porcentaje máximo de inhibición en el ensayo del radical DPPH[•], este máximo porcentaje de inhibición disminuye con el radical ABTS^{•+}, y por último, es aún más bajo con el radical óxido nítrico. Esto puede estar relacionado a la afinidad de los antioxidantes con los distintos radicales; también se pudiera sugerir que el medio en el que ocurre la reacción favorece o disminuye la acción de los distintos

antioxidantes presentes en los extractos, ya que cabe destacar cada uno de los ensayos tienen medios de reacción distintos (Pérez, 2007).

Cuadro 4. Porcentaje máximo de inhibición y concentración inhibitoria media (IC₅₀) del extracto del subproducto de mango.

| | DPPH [*] | ABTS ^{*+} | NO [*] |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Mango ¹ | 98.83 ± 1.56 ^a | 96.28 ± 0.94 ^b | 93.55 ± 1.84 ^b |
| Nopal ¹ | 72.23 ± 1.34 ^b | 61.70 ± 0.53 ^c | 57.23 ± 2.58 ^c |
| Catequina ¹ | 99.95 ± 0.63 ^a | 99.13 ± 0.42 ^a | 99.05 ± 0.71 ^a |
| Mango ² | 7.25 ± 0.34 ^b | 4.56 ± 0.42 ^b | 32.36 ± 2.45 ^b |
| Nopal ² | 81.66 ± 7.08 ^a | 58.32 ± 3.99 ^a | 448.15 ± 14.30 ^a |
| Catequina ² | 2.03 ± 0.13 ^c | 1.52 ± 0.18 ^c | 6.37 ± 0.71 ^c |

Los valores representan la media ± DE. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba *t* de student.

¹ Los valores representan el máximo porcentaje de inhibición del radical (%)

² Los valores representan el IC₅₀ (µg/mL).

También es importante resaltar que en los tres ensayos el subproducto de mango estadísticamente tuvo un mayor porcentaje máximo de inhibición con respecto al extracto de la harina de nopal, siendo el extracto del subproducto igual que el estándar catequina en el ensayo del radical DPPH^{*}, y teniendo valores más cercanos en los otros dos ensayos en comparación con el extracto de nopal. En base a esto se puede considerar al subproducto con una alta capacidad antioxidante.

En numerosos estudios se ha sugerido la relación entre el contenido de polifenoles de un extracto y su capacidad antioxidante; por otro lado, también se ha comprobado que la estructura de estos compuestos son determinantes en este tipo de mediciones. Por ejemplo, de manera general se puede señalar que la presencia de sustituyentes hidroxilo es el factor más importante a tomar en cuenta. (Bensadón *et al.*, 2010; Villaño *et al.*, 2005; Siquet *et al.*, 2006). Por lo tanto, una

muestra con mayor contenido de compuestos fenólicos totales y sustituyentes hidroxilo presenta, de manera general, una mayor capacidad antioxidante, en este estudio se cumplió esta relación, ya que el subproducto presentó mayor concentración de fenoles totales, aunque valdría la pena una caracterización más profunda del tipo y estructura de los compuestos en cada extracto para poder concluir sobre la cantidad de sustituyentes hidroxilo.

Ribeiro *et al.* (2008) estudiaron cuatro variedades de mango: Ubá, Tommy Atkins, Haden y Palmer, analizando la pulpa, la piel y la semilla. Reportan porcentajes de inhibición para el radical DPPH[•] en un rango de 39.6 a 94.2%, siendo la variedad Ubá la que presentó mayor capacidad para reducir al radical, con 1.8, 2.1y 2.4 veces más capacidad antioxidante que las otras variedades, respectivamente. Estos autores concluyen que el extracto de la piel muestra capacidad antioxidante significativamente más alta que la pulpa y el hueso, lo cual lo atribuyen a su concentración elevada de compuestos antioxidantes.

Por otro lado, Aguirre *et al.* (2013) midieron la capacidad antioxidante de extractos de la piel del nopal por el método de ABTS^{•+} y DPPH[•], utilizando etanol como solvente de extracción y temperaturas de 60 a 93 °C, observando que a mayor temperatura hay una mayor extracción de polifenoles pero una menor capacidad antioxidante. Los obtienen como resultados de las capacidades antioxidantes mencionadas, rangos de porcentajes de inhibición de 68-92 % para el ensayo del radical ABTS^{•+}, y de 15-55 % para el ensayo del radical DPPH[•]. En nuestro estudio se obtuvieron valores de 61 y 72 %, respectivamente, por lo que podemos ver que para el ensayo ABTS^{•+} el resultado es un valor similar al límite inferior del rango reportado, mientras que para el ensayo DPPH[•] nosotros obtuvimos un valor mayor. Cabe mencionar es difícil la comparación entre estos estudios debido a que ellos utilizan únicamente la piel del nopal y otro tipo de solvente y temperaturas mayores para la extracción.

En la segunda parte del cuadro 4 podemos ver los resultados para la concentración inhibitoria media (IC_{50}), la cual es una medida que establece la concentración de una sustancia, en este caso del extracto del subproducto de mango, que se requiere para el 50% de inhibición del radical libre en evaluación. Estableciendo que a menor valor de IC_{50} mayor será la capacidad antioxidante de la muestra. Como era de esperarse, los valores del IC_{50} del subproducto de mango fueron significativamente menores con respecto a los valores del nopal en todos los ensayos.

En cuanto al ensayo del radical DPPH[•], este resultado nos sugiere que existe una cantidad más alta de compuestos donadores de protones y electrones en el subproducto de mango que son capaces de estabilizar al radical, ya que estos dos mecanismos son los que se están dando en la reacción. Al comparar el valor del IC_{50} del estándar catequina, únicamente fue 2.8 veces menor en comparación con el subproducto, y hasta 40 veces menor en comparación con el valor del extracto de nopal (Foti *et al.*, 2004; Prior *et al.*, 2005).

Por otra parte, en el ensayo ABTS^{•+} se observa un comportamiento similar, aunque en esta reacción se trata únicamente de una transferencia de electrones. Este ensayo se basa en la capacidad de los antioxidantes para capturar el radical catiónico. Como podemos observar el subproducto nuevamente tiene un valor de IC_{50} significativamente menor con respecto al nopal, y en comparación con la catequina es únicamente tres veces mayor la concentración requerida de subproducto para la inhibición del 50 % del radical (Prior *et al.*, 2005).

De los tres ensayos mostrados, los resultados con una diferencia más notable se encuentra en el ensayo de atrapamiento del radical óxido nítrico. Este resultado es relevante ya que este radical está presente de manera natural en el organismo, y ante una concentración excesiva produce el llamado estrés nitrosativo y un posible daño a las principales macromoléculas. En este ensayo vemos un comportamiento distinto, ya que aunque el porcentaje de inhibición alcanzado por el mango es

cercano al del estándar, en este estudio el nopal obtuvo valores de inhibición mucho menores (57.2 %), y por consiguiente el valor de IC_{50} del nopal fue 70 veces mayor en comparación a la catequina, mientras que el subproducto únicamente fue 5 veces mayor en su valor. Estas diferencias vienen determinadas por distintos factores como la posible formación de complejos, interacciones no favorables, la estereoselectividad del radical, la solubilidad de los compuestos en el medio de la reacción y, por ejemplo, la influencia en el tiempo de reacción, en el cual hay una permanente exposición al oxígeno a diferencia de los otros dos métodos (Wang *et al.* 1998; Giraldo *et al.*, 2003).

No se podría atribuir a un compuesto o familia de compuestos exclusivamente la variabilidad de los resultados obtenidos, por lo que se necesita caracterizar los extractos del subproducto y del nopal detalladamente para poder determinar las diferencias aquí presentadas. Además, cabe destacar que en este estudio se emplearon materiales donde no se tiene información sobre la variedad, maduración o tipo de almacenamiento empleado, por lo que debido a factores como la diversidad genética, el porcentaje de inhibición y la capacidad antioxidante global podrían verse afectados. La comparación con datos reportados en la literatura no son muy útiles para concluir al respecto, ya que el contenido en compuestos antioxidantes de frutas y, por tanto, su capacidad antioxidante asociada, se puede ver afectado por factores fisiológicos, como la variedad y la madurez, así como por factores tecnológicos, como las condiciones de conservación y procesado.

En el cuadro 5 se presentan los resultados para la técnica poder reductor, esta metodología a diferencia de las capacidades antioxidantes que anteriormente se presentaron no utiliza radicales libres. En este ensayo se mide la capacidad de los componentes de la muestra de donar electrones a un complejo de hierro, y así reducirlo de Fe^{+3} a Fe^{+2} . El poder reductor de un compuesto está por lo tanto relacionado con su habilidad de transferir electrones, y es por ello, que este ensayo sirve como un indicador importante de la capacidad antioxidante. Los

resultados se expresan en unidades de absorbancia, es decir, a mayor absorbancia mayor poder reductor de la muestra (Ribeiro *et al.*, 2008).

Cuadro 5. Capacidad antioxidante del extracto del subproducto de mango medida por el ensayo de poder reductor.

| Concentración | Mango | Nopal |
|----------------------|----------------------------|----------------------------|
| 100 µg/mL | 0.503 ± 0.066 ^a | 0.076 ± 0.009 ^b |
| 125 µg/mL | 0.638 ± 0.034 ^a | 0.103 ± 0.011 ^b |
| 150 µg/mL | 0.759 ± 0.043 ^a | 0.128 ± 0.009 ^b |
| 175 µg/mL | 0.913 ± 0.072 ^a | 0.152 ± 0.018 ^b |
| 200 µg/mL | 1.006 ± 0.081 ^a | 0.185 ± 0.016 ^b |

Los valores se expresan en unidades de absorbancia (700 nm) y representan la media ± DE. Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba *t* de student.

Se probaron cinco concentraciones diferentes para cada extracto y, como podemos observar, los resultados indican que ambas muestras tienen la capacidad de reducir al hierro y, a medida que aumenta la concentración de los extractos aumenta la reducción, es decir, es una reacción dosis dependiente.

Podemos ver que en todas las concentraciones, los valores del extracto del subproducto de mango son significativamente mayores en comparación con el nopal, siendo 5 veces más altos sus valores de absorbancia en todas las concentraciones probadas. Esto se pudiera atribuir primeramente a la mayor concentración de compuestos fenólicos que presenta el subproducto en este extracto. Sin embargo, diversos autores mencionan la relación entre el poder reductor y la acción de otro tipo de antioxidantes que se encuentran en el mango, como por ejemplo los carotenoides, ya que se ha demostrado que también estos compuestos tienen gran capacidad de reducir al hierro (Chung *et al.*, 2002).

Además, Ribeiro *et al.* (2008) analizaron diferentes variedades de piel del mango y su poder reductor con la misma metodología empleada en este trabajo, encontrando que aunque sí existe una correlación entre la acción de reducir y el contenido de polifenoles en la muestra, existe una correlación más alta entre el contenido de ácido ascórbico y el poder reductor. El ácido ascórbico es otro potente antioxidante que está presente en el mango, y según reportes se encuentra en concentraciones de 25-32 mg/100 g (Vinci *et al.*, 1995). Es por ello que se midió el poder reductor del ácido ascórbico como estándar, y obtuvimos que para este ensayo únicamente era necesaria una concentración de 20 ug/ml para obtener valores de absorbancia de 0.346, es decir su capacidad de reducir es mucho mayor que el de los extractos, en los cuales se detectó la coloración de la reacción con concentraciones cercanas a 100 ug/ml.

Por último, en cuanto a los resultados para la caracterización de compuestos bioactivos y su capacidad antioxidante, se puede sugerir que el residuo orgánico obtenido de la elaboración de jugo de mango es una fuente importante de fibra, compuestos fermentables y antioxidantes, y puede ser un candidato adecuado para estudios *in vivo* en donde se evalúen sus efectos y potenciales beneficios fisiológicos.

9.2 Ensayos *in vivo*

En la diabetes mellitus lo más deseable es que se lleve un control metabólico óptimo, en el cual el paciente debe mantener los niveles basales de glucosa y lípidos sanguíneos, controlar la presión arterial y evitar las alteraciones renales, para prevenir y controlar las complicaciones propias de la enfermedad. El propósito de disminuir o atenuar las complicaciones de la diabetes representa una alternativa terapéutica de gran importancia, sobre todo por los altos costos de sus tratamientos. Es por ello la búsqueda constante de alimentos nutraceuticos, ya que tienen la ventaja de que además de ser más económicos, presenten menos efectos colaterales. Por lo anterior, para determinar el posible efecto antidiabético

del subproducto de mango se realizaron ensayos *in vivo* en un modelo de diabetes en ratas inducido con estreptozotocina (STZ).

9.2.1 Efecto del subproducto de mango sobre el consumo de agua de ratas diabéticas.

La principal alteración en la diabetes, como ya se ha mencionado, es el exceso de glucosa en la sangre; esto, entre otras consecuencias, provoca que los animales necesiten de cantidades elevadas de agua para así poder excretar el exceso de glucosa por la vía urinaria (poliuria). Este síntoma se le denomina polidipsia, sed excesiva, y es utilizado como un indicador de la presencia de la enfermedad, es por ello que se decidió cuantificar diariamente a lo largo del experimento el consumo de agua de los animales en estudio (Braunwald *et al.*, 1998).

En la figura 7 se presenta el consumo de agua promedio de cada animal durante las 3 semanas del experimento (mL/día). La primer semana inició justo después de haberse confirmado la presencia de la enfermedad, es por ello que se puede observar una diferencia significativa entre el control sano y el control diabético, ya que en el inicio del experimento los animales diabéticos ya consumían 7.24 veces más agua en comparación a los animales sanos. Este comportamiento continúa hasta el final del experimento, observándose en las mediciones un incremento gradual en el consumo de agua de este grupo, lo cual nos podría sugerir el avance de la enfermedad a lo largo del tiempo.

Se puede observar también una disminución en el consumo de agua en ambos grupos a los cuales se les suplementó con los concentrados de fibra (0.5 g fibra/kg peso corporal); aunque no fue significativa, ambos tratamientos alcanzaron reducciones importantes. El tratamiento del subproducto de mango mostró reducciones similares en la semana 1, 2 y 3, con valores de 24.8, 24.4 y 21.5 %, respectivamente, mientras que el nopal tuvo reducciones de 26.4, 18.3 y 17.1 %. Lo que nos indica que las dietas suplementadas con los concentrados de fibra ayudan a regular levemente esta alteración de la enfermedad.

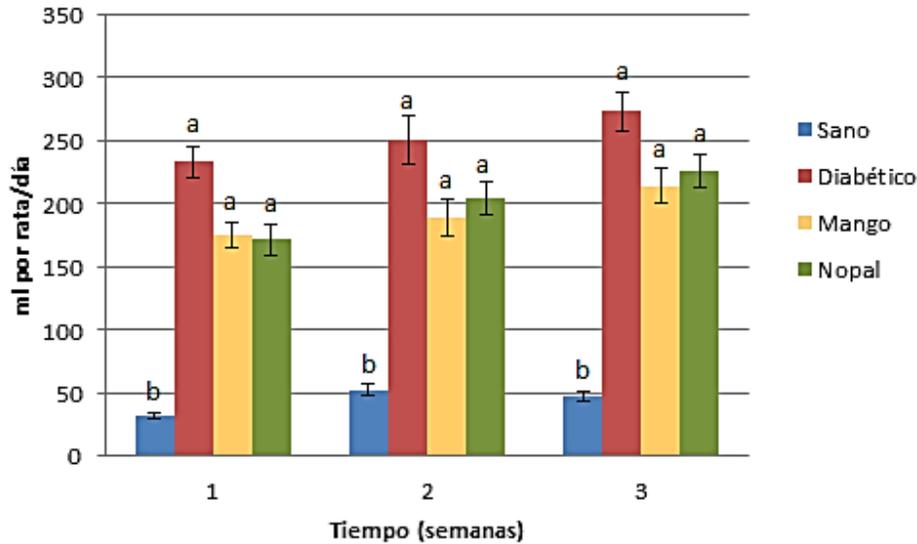


Figura 7. Consumo de agua de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango.

Los datos se expresan como la media \pm EE. Letras diferentes en cada semana indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tukey.

9.2.2 Efecto del subproducto de mango sobre el consumo de alimento de ratas diabéticas.

La polifagia, junto con la polidipsia y la poliuria, son los tres principales síntomas tempranos de la diabetes fáciles de detectar. La polifagia también conocida como hiperfagia, es un término médico que se utiliza para describir el incremento de apetito y el consecuente aumento en el consumo de alimento.

La figura 8 corresponde a la cantidad promedio de alimento consumido por animal de cada uno de los grupos de experimentación (g/día). Se puede observar que hay una diferencia entre los grupos control, ya que desde un inicio y a lo largo de las tres semanas los animales diabéticos duplican los gramos de alimento ingerido con respecto a los animales sanos. Esto es debido a la falta de insulina en las ratas diabéticas, lo cual provoca que no se presente la sensación de saciedad, ya que entre las funciones de esta hormona se encuentra la de inhibir la expresión de péptidos orexigénicos, los cuales están encargados de inducir el hambre y,

aunado a que el metabolismo está constantemente acelerado, esto conlleva a la ingesta excesiva del alimento (Milagro y Marques, 2002).

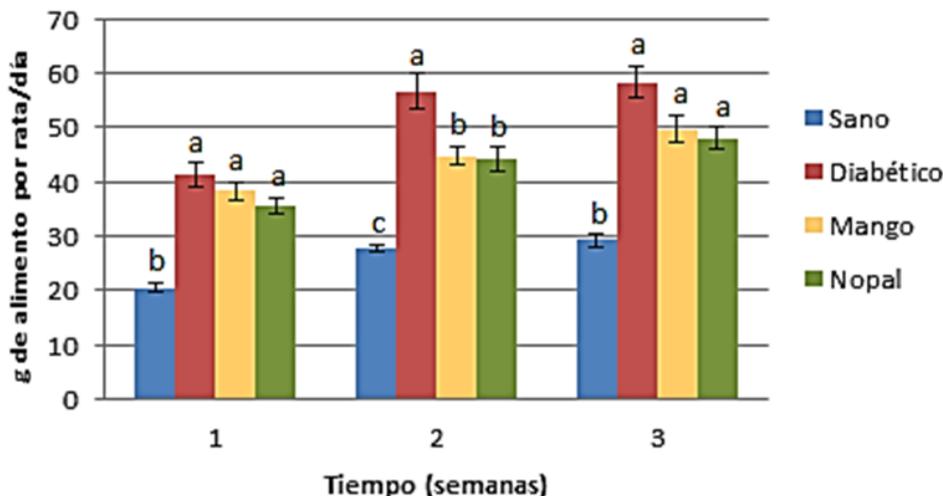


Figura 8. Consumo de alimento de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango.

Los datos se expresan como la media \pm EE. Letras diferentes en cada semana indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Tukey.

En la primer semana, no existe diferencia significativa entre los dos grupos con los tratamientos de fibras y el control diabético; sin embargo, a partir de la segunda semana hay una reducción significativa en este consumo, con un valor de 20.8% para el grupo suplementado con el subproducto de mango, y de 21.8% para el grupo suplementado con el nopal. En la tercer semana aunque se observa la misma tendencia, esta disminución no llega a ser estadísticamente significativa, únicamente alcanza el 14.7y 17.5 %, para el grupo del subproducto y nopal, respectivamente.

Con estos resultados se puede sugerir que las dietas suplementadas con ambos concentrados de fibra pueden ejercer una sensación de saciedad, ya sea por el efecto mismo de la fibra dietaria, el aumento en la expresión de péptidos anorexigénicos, o bien debido a una mejoría en el estado de la enfermedad que se ve reflejada mediante este parámetro.

Cada fuente natural de fibra puede tener diversos efectos en el organismo, no se pueden generalizar los beneficios ya que estos van a depender tanto del tipo como de la cantidad de fibra consumida (Slavin, 2013). En cuanto a la sensación de saciedad, este efecto se ha relacionado con la capacidad de la fibra para disminuir el vaciamiento gástrico; entre los principales factores que influyen en este efecto se puede citar a la viscosidad de la fibra, el tamaño de partícula, la solubilidad y su capacidad de retención de agua. Con esto se podría explicar que a pesar de que el subproducto de mango presentó mayor porcentaje de fibra soluble, fracción que está generalmente más relacionada con la saciedad, el nopal presenta un comportamiento similar, atribuido a su mayor grado de viscosidad, debido a su alto contenido de mucílago, el cual es un polisacárido altamente ramificado que tienen la capacidad de formar redes moleculares y retener gran cantidad de agua (Sepúlveda *et al.*, 2006).

Por último, entre los mecanismos relacionados con la saciedad, cabe resaltar que la fibra dietaria cuando es fermentada en el intestino grueso aumenta la producción del péptido similar a glucagón (GLP-1, por sus siglas en inglés) y del péptido YY, hormonas que se liberan en el intestino y juegan un rol en la saciedad, ya que mandan la señal directamente al cerebro. Además, también se ha comprobado que aumentan la secreción de insulina y la proliferación de las células β -pancreáticas (Lattimer y Haub, 2010).

Un efecto similar al mencionado ya ha sido reportado por Singh *et al.* (2005), quienes trabajan con la piel de la papa, la cual es considerada un subproducto en el procesamiento del tubérculo rico en fibra y fenoles. Suplementaron la dieta de ratas diabéticas inducidas con STZ con la piel de la papa, encontrando un aumento del 100 % en el consumo de alimento entre las ratas enfermas y las sanas, siendo que para el grupo con tratamiento al cual se le añadió a la dieta 10 % de la piel de la papa tuvo una disminución significativa en el consumo de alimento del 28 % con respecto al control diabético.

9.2.3 Efecto del subproducto de mango sobre el peso corporal de ratas diabéticas.

En la diabetes tipo I existe una disminución del peso corporal, esto es debido a que al haber baja concentración de insulina hay una liberación de ácidos grasos a partir de los triglicéridos del tejido adiposo para fines energéticos, y una degradación de proteínas musculares, esto se atribuye a que los aminoácidos del músculo sirven como sustrato para producir glucosa a partir de la vía de la gluconeogénesis, la cual no está regulada a causa de la falta de insulina (Flores *et al.*, 2005).

En la figura 9 se muestran los promedios en gramos para el peso corporal de las ratas a lo largo del experimento. En la semana cero se pesaron los animales con el objetivo de calcular la dosis para la inducción, y es por ello que no existe diferencia significativa entre los cuatro grupos.

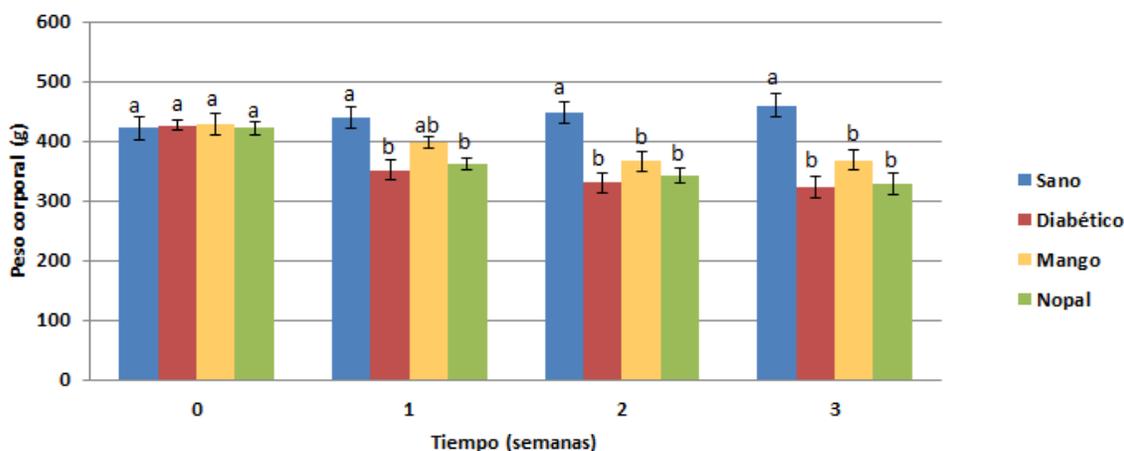


Figura 9. Peso corporal de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango.

Los datos se expresan como la media \pm EE. Letras diferentes en cada semana indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tukey.

A partir de la semana 1, donde ya se había confirmado la presencia de la enfermedad, existe una diferencia significativa entre el grupo sano y los grupos diabéticos, con una disminución en promedio al término del experimento de 136 g para el control diabético, 92 g para el subproducto de mango y 132 g para el nopal

comercial, esta disminución del peso como ya se mencionó es claramente una condición típica del diabético. Sin embargo, no se encontró un aumento de peso de manera significativa en ningún tiempo a lo largo de los tratamientos, con lo que se puede sugerir que ningún concentrado de fibra ayudó de manera significativa a la disminución en la pérdida de peso.

9.2.4 Efecto del subproducto de mango sobre la concentración de glucosa sanguínea de ratas diabéticas.

En el presente estudio se indujo un modelo experimental de diabetes tipo 1 *in vivo* con una dosis única de estreptozotocina (45 mg/kg de peso corporal). A esta dosis, el fármaco causa un daño oxidativo generando la destrucción progresiva de las células β -pancreáticas, y reduciendo o suprimiendo así la producción y secreción de insulina, provocando una disminución en la incorporación de la glucosa en tejidos periféricos, como el adiposo y muscular, y por lo tanto un incremento en la glucemia (Szkudelski, 2001).

En la figura 10 se presentan las concentraciones de glucosa en sangre de los animales con 12 h de ayuno a lo largo de las semanas de tratamiento. Se puede observar que al inicio del experimento existe una diferencia significativa entre el grupo control sano y diabético, confirmándose con esto la presencia de la enfermedad. Los datos son similares a lo reportado en animales sanos, donde las concentraciones de glucosa en sangre en ayunas oscilan entre 70 a 110 mg/dL, valores mayores a este rango se consideran animales con alteraciones (Yin *et al.*, 2011).

La diabetes es una enfermedad progresiva, ya que si no se tienen los cuidados necesarios y un control sobre los niveles de glucosa se tendrá como resultado un avance acelerado en los síntomas y un deterioro gradual en el estado del organismo. Esto se puede observar con el grupo control diabético, ya que en el comienzo presentaron valores de glucosa promedio de 312.5 mg/dL, y después de tan sólo 3 semanas en un estado de hiperglucemia constante, los animales ya

presentaban concentraciones de 469.8 mg/dL, el cual ya es un grado avanzado de la enfermedad.

Podemos observar que el grupo de animales alimentados con una dieta suplementada con el subproducto de mango (0.5 g fibra/kg peso corporal), tuvo una reducción significativa a partir de la segunda semana y se mantuvo hasta terminar el experimento, con una reducción promedio en la concentración de glucosa del 21 % al término de la tercer semana. Por otro lado, al grupo al cual se le adicionó la harina de nopal comercial en la dieta (0.5 g fibra/ kg peso corporal) no tuvo reducción significativa a lo largo de las 3 semanas de tratamiento.

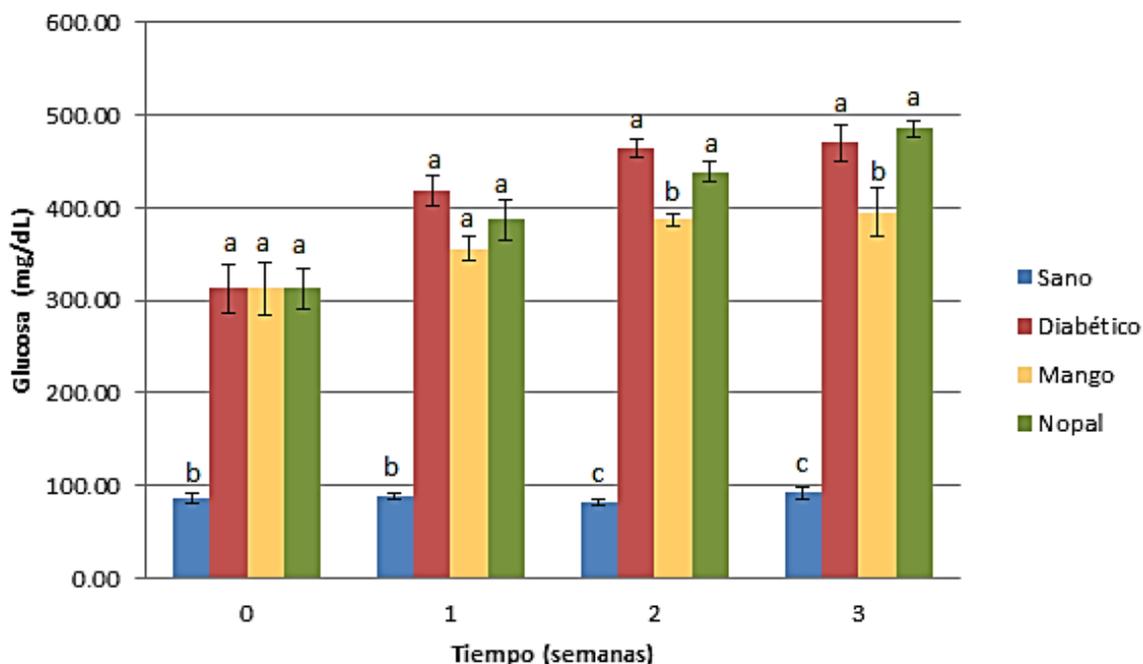


Figura 10. Concentración de glucosa sanguínea de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango.

Los datos se expresan como la media \pm EE. Letras diferentes en cada semana indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Tukey.

Se ha comprobado que algunos alimentos considerados como antidiabéticos muestran solamente actividad antihiper glucémica cuando se administran por largos periodos de tiempo, ya que sus compuestos tienen que alcanzar una concentración elevada en el cuerpo para causar este efecto (Alarcon *et al.*, 1998).

Esto podría asociarse con lo encontrado para el grupo del subproducto, el cual tuvo una disminución en la glucosa desde un inicio con respecto a su control, pero esta reducción únicamente fue significativa a partir de la segunda semana, y hasta que finalizó el experimento.

El efecto antihiper glucémico se puede relacionar con los antioxidantes presentes en el subproducto de mango, los cuales pueden tener un efecto protector de las células β al disminuir el estrés oxidativo en el páncreas, con esto aumentar la concentración de insulina en suero y, por lo tanto, promover la entrada de glucosa a los tejidos periféricos y disminuir en algún grado las alteraciones metabólicas a causa de la falta de esta hormona.

En la literatura existen diversos estudios donde se ha comprobado que los compuestos polifenólicos o los alimentos ricos en polifenoles, reducen los niveles de glucosa en sangre por diversos mecanismos, los cuales incluyen la estimulación de la secreción de insulina directamente en las células β , la protección contra el daño oxidativo en el páncreas, el aumento en la entrada de glucosa en los tejidos periféricos, la disminución en la absorción de glucosa a nivel del intestino, el aumento en el almacenamiento de glucógeno y la inhibición de la gluconeogénesis (Waltner *et al.*, 2002; Al-Wadi, *et al.*, 2004; Hanhineva *et al.*, 2010).

Aderibigde *et al.* (2001) sugieren que el principio activo con efecto antihiper glucémico en el mango es la mangiferina, y concluyen que este compuesto estimula la liberación de la insulina de las células β -pancreáticas. Por otra parte, Biwiti *et al.*, (2000), Jouad *et al.*, (2000) y Saxena y Vikram (2004), proponen que el efecto antidiabético observado por la mangiferina es debido a acciones extra-pancreáticas, como la estimulación de la utilización de la glucosa periférica y el aumento del proceso glucogénico o glucolítico, y también al mismo tiempo la disminución de la glucogénesis y gluconeogénesis.

Sellamuthuet *et al.* (2013) realizaron estudios *in vivo* en ratas diabéticas donde administraron oralmente la mangiferina, observando un efecto antidiabético al disminuir la glucosa sanguínea y aumentar la utilización de la glucosa por parte del hígado. También midieron diferentes marcadores de estrés oxidativo en el páncreas encontrando mejoría en todos ellos, por lo que los autores concluyeron que los beneficios fisiológicos observados son debido principalmente a la potente actividad antioxidante de la mangiferina.

Una gran cantidad de compuestos fenólicos de manera aislada también han mostrado efectos hipoglucemiantes y/o antidiabéticos por diversos mecanismos, entre los que cabe destacar a la epicatequina, catequina, ácido gálico, epigallocatechingalato, resveratrol y ácido siríngico, debido a que estos compuestos se encuentran en el subproducto de mango, los cuales fueron identificados por HPLC-DAD en los extractos de un subproducto de mango proveniente de Boing (Ahmed *et al.*, 2011; Yamabe *et al.*, 2006; Olivera, 2012)

Por último, también es importante tomar en cuenta un posible efecto a nivel de la absorción de glucosa en el intestino, ya que Yoshikawa *et al.* (2001) demostraron que polifenoles aislados del mango tienen la capacidad de inhibir a la α -amilasa y α -glucosidasa. De igual forma, en la primera etapa de este proyecto se demostró que el subproducto de mango tiene un porcentaje de inhibición de la α -amilasa de 64%, y también tiene la capacidad de disminuir la difusión de glucosa en un sistema de dializado que simula el intestino delgado (Olivera, 2012).

9.2.5 Efecto del subproducto de mango sobre la concentración de insulina en suero de ratas diabéticas.

Con la finalidad de complementar los resultados anteriores y poder explicar un posible mecanismo del subproducto de mango, se evaluaron los niveles de insulina en suero de los animales en estudio al término de los tratamientos (Figura 11). Se observa nuevamente una diferencia significativa entre el control sano y el diabético, lo cual se debe a que en el modelo, como ya se ha explicado, se

provoca la destrucción parcial y progresiva de las células β -pancreáticas, las cuales son las encargadas de producir y secretar esta hormona.

El grupo con la dieta suplementada con la harina de nopal nuevamente no mostró un incremento significativo, lo cual concuerda con el resultado de glucosa sanguínea. En cuanto al grupo suplementado con el subproducto de mango si se observó un incremento, el cual no fue estadísticamente significativo, sin embargo se puede sugerir que esto explicaría en parte la disminución de los niveles de glucosa y, además es importante resaltar que es de relevancia fisiológica ya que al aumentar la producción y liberación de insulina, se pudieran además disminuir otro tipo de trastornos metabólicos relacionados con la ausencia de esta hormona.

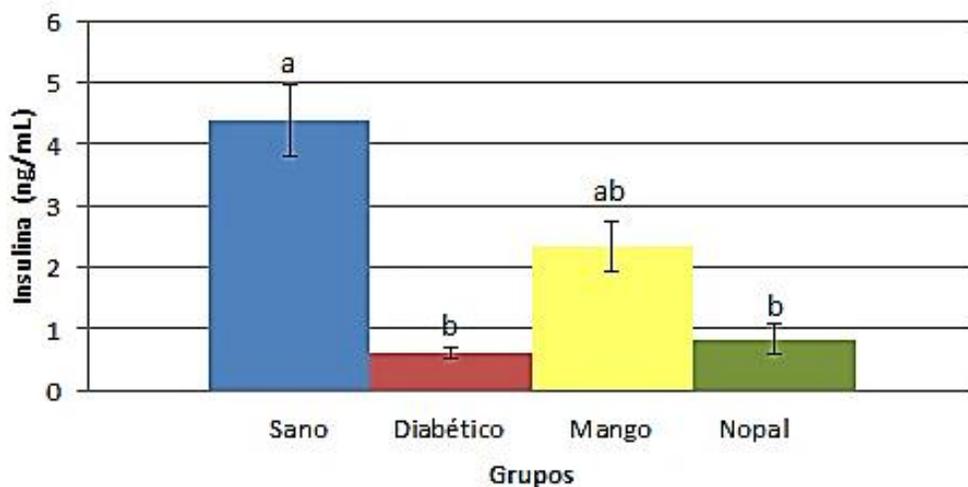


Figura 11. Concentración de insulina en suero de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango. Los datos se expresan como la media \pm EE. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Tukey.

Estos resultados son similares a lo reportado por Perpetuo y Salgado en el 2003, en este estudio se suplemento la dieta de ratas diabéticas (STZ) con una harina elaborada a partir de pulpa de mango, que contenía un alto porcentaje de fibra y una cantidad significativa de compuestos fenólicos. Ellos observaron una disminución significativa en los niveles de glucosa del grupo que consumía la harina de mango en comparación al control diabético, junto con un aumento en la concentración de insulina y en la cantidad de glucógeno hepático. Se sugiere que

la harina de mango debido a sus componentes puede ayudar en el tratamiento de la diabetes.

9.2.6 Efecto del subproducto de mango sobre el tamaño de los islotes de Langerhans de ratas diabéticas.

Se realizó un análisis histopatológico del páncreas, el cual es el órgano blanco de la STZ, con el objetivo de observar el efecto de los tratamientos sobre el tamaño de los islotes de Langerhans, los cuales son acúmulos de células que se encargan de producir la insulina.

En la figura 12 se muestran ejemplos de las microfotografías representativas de los cortes realizados sobre el páncreas de los animales en estudio. A partir de este tipo de imágenes se tomaron las mediciones del eje mayor de cada islote y se calculó un promedio por cada grupo de experimentación, los resultados se presentan en la figura 13 y se expresan como unidades arbitrarias.

Se puede observar en la figura 12-a el islote de una rata sana, el cual se puede tomar como referencia de un islote sin daño o alteraciones, con un tamaño en promedio de 15.61 unidades arbitrarias. En la figura 12-b, la cual pertenece al páncreas de un animal diabético, se puede ver una disminución significativa en el tamaño del eje con un valor de 7.49 unidades arbitrarias, visiblemente existe una menor población de células en general, además de presentar daños y rompimientos en la estructura. Esto es debido a que el páncreas es un tejido altamente susceptible al daño oxidativo, ya que es un tejido no dependiente de insulina en el cual los altos niveles glucosa provocan que exista un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) a nivel de la mitocondria, las cuales van a causar daños principalmente en las células β , ya que son especialmente sensibles a las EROs debido a que hay una muy baja expresión de enzimas antioxidantes en comparación con otro tipo de células (Tiedge *et al.*, 1997).

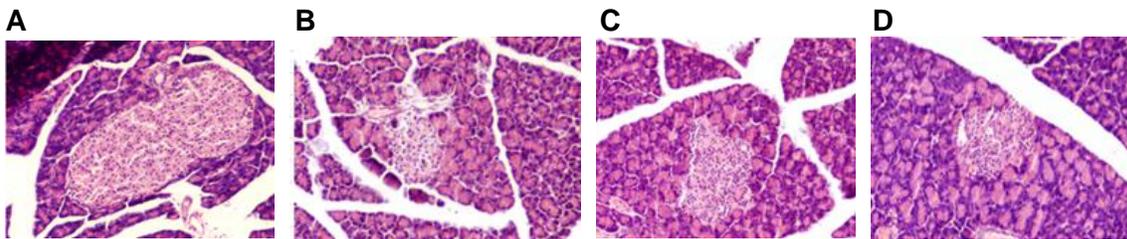


Figura 12. Microfotografías representativas del análisis histopatológico de los islotes de Langerhans de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con el subproducto de mango. (a: grupo sano; b: grupo diabético; c: grupo suplementado con el subproducto de mango; d: grupo suplementado con la harina de nopal comercial).

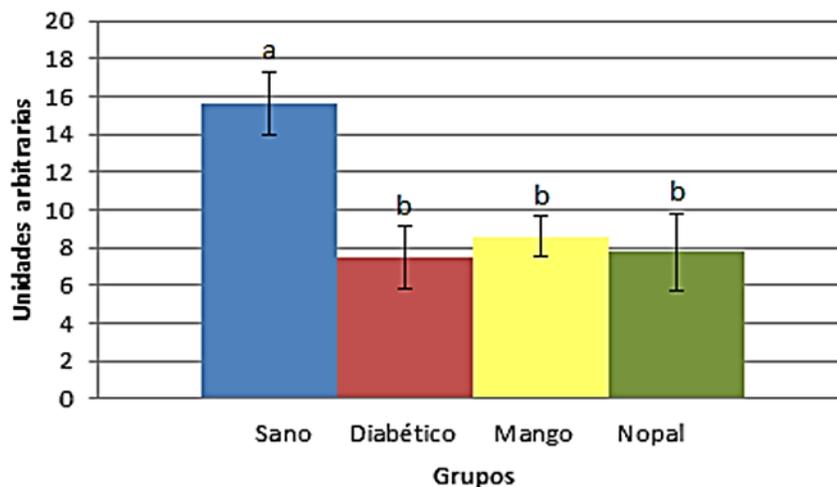


Figura 13. Tamaño promedio de los islotes de Langerhans de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango. Los datos se expresan como la media \pm EE. Letras diferentes en cada columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Tukey.

En ninguno de los tratamientos se puede observar un aumento significativo en el tamaño del eje mayor de los islotes en comparación con el control diabético, ya que los valores promedio del eje tienen un valor de 8.6 para el subproducto de mango y 7.7 para la harina de nopal comercial. Esto sugiere que el posible efecto protector observado del subproducto de mango no fue suficiente para aumentar de manera significativa el tamaño de los islotes; por otro lado, se han propuesto mecanismos antidiabéticos en donde a pesar de no haber un mayor número de células β , los compuestos bioactivos protegen y aumentan la eficiencia de las células β existentes, provocando así una mayor producción y liberación de esta hormona, sin embargo es necesario hacer un estudio analizando otro tipo de

parámetros y biomarcadores para poder determinar el mecanismo por el cual el subproducto de mango presentó un efecto antihiper glucémico (Aderibigde *et al.* 2001).

9.2.7 Efecto del subproducto de mango sobre el perfil lipídico de ratas diabéticas.

Las alteraciones en el perfil de lípidos son una complicación común en la diabetes, la hiperlipidemia es una de ellas, y representa un factor de riesgo importante para el desarrollo prematuro de la aterosclerosis, además de acelerar el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares en los pacientes diabéticos (Kaur *et al.*, 2005).

En el cuadro 6 se muestran los resultados para el perfil lipídico. En cuanto a la cuantificación de colesterol total no se encontró diferencia significativa entre control sano y diabético, y tampoco entre ambos tratamientos con respecto a su control. Sin embargo, al cuantificar la lipoproteína HDL si se observa una diferencia entre los grupos control, ya que en el diabético existe una disminución en la concentración de esta lipoproteína. Se encontró un aumento en la concentración de colesterol HDL en ambos grupos adicionados con los concentrados de fibra en comparación con los animales enfermos, y este aumento fue estadísticamente significativo únicamente en el grupo suplementado con el nopal comercial. Esto pudiera sugerir un efecto protector cardiovascular, ya que al aumentar la concentración de HDL, esta lipoproteína tienen la capacidad de disminuir el colesterol excedente por medio del transporte reverso y, por lo tanto, también prevenir la acumulación de las LDL y su posible oxidación, reduciendo así el riesgo de padecer enfermedades como la aterosclerosis, la cual es una de las principales complicaciones en la diabetes.

Los compuestos fenólicos presentes en las harinas podrían relacionarse con este aumento observado en HDL, en diversos estudios se han relacionado los

polifenoles o alimentos ricos en estos compuestos con un efecto protector cardiovascular (Burke *et al.*, 2010).

Cuadro 6. Lípidos en suero y heces de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango.

| Parámetro/ Grupo | Sano | Diabético | Mango | Nopal |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Colesterol total | 49.6 ± 3.7 ^a | 55.3 ± 5.4 ^a | 55.9 ± 3.3 ^a | 66.1 ± 6.6 ^a |
| HDL | 18.0 ± 1.1 ^a | 14.4 ± 0.0 ^b | 16.9 ± 0.5 ^{ab} | 17.7 ± 0.9 ^a |
| Factor de riesgo coronario | 2.8 ± 0.2 ^b | 4.2 ± 0.4 ^b | 3.8 ± 0.2 ^{ab} | 3.5 ± 0.1 ^{ab} |
| Triglicéridos en suero | 88.6 ± 18.6 ^b | 274.0 ± 22.9 ^a | 143.2 ± 13.0 ^b | 148.5 ± 21.0 ^b |
| Triglicéridos en heces | 41.5 ± 0.9 ^b | 48.3 ± 5.0 ^b | 85.7 ± 2.7 ^a | 84.4 ± 3.5 ^a |

Los datos se expresan en (mg/dL) y representan la media ± EE. Letras diferentes en cada renglón indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Tukey.

Uto *et al.* (2010) demostraron que diversos ácidos fenólicos del café están involucrados en el aumento de la lipoproteína HDL, y se propone que el mecanismo por el cual actúan es mediante el incremento en la expresión de los transportadores ABCA1 y ABCG1, los cuales están encargados del transporte reverso del colesterol de las células a la lipoproteína HDL naciente y madura.

Por otra parte, a pesar de no haber diferencia en la concentración de colesterol total entre animales sanos y diabéticos, al calcular el factor de riesgo coronario, el cual es una relación entre el colesterol total y HDL, se encontró un factor de riesgo significativamente más alto para el grupo diabético en comparación al grupo sano, con un valor de 4.27 y 2.80, respectivamente. En cuanto a los grupos con tratamientos de fibra al calcular este factor no se observó diferencia significativa

con respecto a los controles; sin embargo, el valor es menor en comparación con los animales enfermos.

Muruganandan *et al.* (2005) estudiaron el efecto de la mangiferina en ratas diabéticas inducidas con STZ, encontrando un efecto antidiabético y antiaterogénico, debido a la disminución significativa en la glucosa postprandial y al mejoramiento en el perfil de lípidos, ya que ellos también observan un aumento en la concentración de la lipoproteína HDL, similar a lo obtenido en el presente estudio.

El modelo de diabetes inducido con STZ también se caracteriza por una elevación en la concentración de triglicéridos en sangre, y es la alteración más común en el perfil lipídico de diabéticos. En el cuadro 6 se muestran los resultados para la cuantificación de triglicéridos en suero, en los cuales se encontró una diferencia significativa entre los controles, con un valor de 88.6 mg/dl para el control sano, mientras que el diabético presentó tres veces más este valor, con una concentración de 274.0 mg/dL, esto es debido primeramente a la hiperfagia e hipertrofia intestinal que se presenta en un animal diabético ya que hay una mayor absorción de lípidos, y también se debe a que el tejido adiposo no es capaz de almacenar los triglicéridos ya que requiere de la señalización de la insulina para depositarlo (Young *et al.*, 1988).

En cuanto a los tratamientos, ambas fibras tuvieron una reducción significativa con respecto al control diabético, esta reducción fue de 48 % para el subproducto de mango, y de 46 % para el nopal comercial. Ciertas fibras son capaces de adsorber sales biliares, lo que implicaría la disminución de la disponibilidad de éstas para la formación de micelas lipídicas en la luz intestinal, con una disminución de la absorción intestinal de grasas, otro mecanismo por el cual la fibra pudiera estar haciendo esto, es por medio del atrapamiento directo de lípidos provenientes de la dieta a nivel del intestino impidiendo así su absorción (Iwata *et al.*, 2012). Es por lo anterior que se cuantificaron los triglicéridos en heces, los resultados se muestran

también en el cuadro 6 y efectivamente se encontró una concentración significativamente mayor de triglicéridos en las heces de ambos grupos con los tratamientos de fibras. Un efecto similar lo encontraron Iwata *et al.* (2012), al administrar la piel de mandarina a ratas sanas, ya que también observan a la cuarta semana de tratamiento con este concentrado de fibra una disminución en la concentración de triglicéridos en suero y un incremento en la excreción de lípidos en las heces.

9.2.8 Efecto del subproducto de mango sobre marcadores de daño renal de ratas diabéticas.

Una de las complicaciones más comunes e importantes de la diabetes es la nefropatía diabética, en donde una de las características es la hipertrofia de los riñones. Por ello en este experimento se tomó en cuenta el peso relativo de los riñones como un indicador del control de esta complicación.

En el cuadro 7 se encuentran los resultados para este parámetro, en donde se puede observar que el peso relativo de los riñones de las ratas diabéticas fue mayor comparado con el de las ratas sanas, con un valor de 1.08 y 0.67 respectivamente. Esto es a consecuencia de los altos niveles de glucosa que activan en las células renales varias vías que involucran moléculas como AGE's (productos finales de glicación avanzada por sus siglas en inglés), PKC (proteína cinasa C), factores de crecimiento y especies reactivas de oxígeno, y tiene como consecuencia un aumento en exceso de la matriz extracelular tanto del túbulo como del glomérulo, lo cual progresa en gloméruloesclerosis, hipertrofia y fibrosis túbulo-intersticial (Wada *et al.*, 2011).

Por otro lado, los grupos de ratas diabéticas a los que se les incorporó en su dieta el subproducto de mango, al igual que el nopal comercial, mostraron un menor peso de los riñones con respecto al control diabético, con una reducción del 20.3 % y 18.55 % respectivamente, este resultado tiene relevancia fisiológica, sin embargo, esta disminución no resultó ser estadísticamente significativa para ninguno de los tratamientos. Esta mejoría se podría relacionar con componentes

antioxidantes del subproducto de mango que tienen la capacidad de evitar el daño causado por las EROs en este tejido, ya que las vías antes mencionadas tienen como común denominador a las EROs, siendo el punto central en la patogénesis por el daño debido a la hiperglucemia.

Cuadro 7. Parámetros de daño renal en ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango.

| Parámetro/ Grupo | Sano | Diabético | Mango | Nopal |
|--------------------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Peso relativo del riñón ¹ | 0.67 ± 0.02 ^b | 1.08 ± 0.06 ^a | 0.86 ± 0.07 ^{ab} | 0.88 ± 0.10 ^{ab} |
| Creatinina en suero ² | 0.68 ± 0.15 ^b | 0.92 ± 0.12 ^a | 0.73 ± 0.02 ^b | 0.67 ± 0.05 ^b |
| Creatinina en orina ² | 30.52 ± 1.33 ^{ab} | 15.65 ± 1.77 ^c | 35.27 ± 1.95 ^a | 23.81 ± 2.59 ^b |
| Proteína en orina ² | 2.12 ± 0.02 ^a | 2.25 ± 0.10 ^a | 2.21 ± 0.12 ^a | 2.11 ± 0.19 ^a |

Los datos representan la media ± EE. Letras diferentes en cada renglón indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Tukey.

¹Peso relativo= (Peso del riñón/peso corporal).

²Resultados expresados en (mg/dL).

Conclusiones similares fueron reportadas por Yamabe *et al.* (2007), quienes observaron en ratas Wistar macho diabéticas un aumento en el peso de los riñones respecto a las ratas sanas, y que el tratamiento con la administración intragástrica de polifenoles disminuye significativamente el peso de los riñones, sugiriendo que estas fracciones mejoran los cambios renales y la hipertrofia.

Los parámetros bioquímicos clínicos utilizados comúnmente para evaluar la función renal se basan en las mediciones de glucosa, creatinina y proteína total, tanto en suero como en orina. Los riñones filtran la sangre para eliminar los productos de desecho que el cuerpo no puede utilizar, por ejemplo la creatinina que es un producto de la descomposición de la creatina, la cual es eliminada por

la orina. Este compuesto se utiliza como marcador en la diabetes como medida del funcionamiento renal, si el nivel de creatinina sérica es alto es posible que este presente un daño en la función renal (Bazari, 2007).

En el cuadro 7 se muestra el contenido de creatinina en suero y orina, en donde se encontró una diferencia significativa entre los grupos control sano y control diabético en ambos análisis, esto es debido a que en un organismo diabético existe un daño a nivel del túbulo proximal y se ve alterada su función de reabsorción, por lo que la creatinina, que es un metabolito de desecho se reabsorbe, aumentando así su concentración en suero y disminuyéndose en orina.

Ambos tratamientos tuvieron un efecto positivo en este parámetro, disminuyendo los niveles de creatinina en suero y aumentaron su excreción en orina. Este efecto se ha relacionado con el EGCG, el cual es un polifenol que está presente en ambas muestras y que se ha relacionado con la disminución en la formación e AGE's, los cuales son compuestos que están relacionados con la progresión de la nefropatía diabética (Yambe *et al.*, 2006).

Li *et al.* (2010), administraron mangiferina en dos dosis (15 y 45 mg/dL) a ratas diabéticas durante doce semanas, y observaron una mejoría en el aclaramiento de creatinina únicamente con la dosis más alta. Se concluyó que la disminución del daño es casi en su totalidad, ya que llega a ser significativamente igual al control sano y se sugiere que esto se debe a la gran actividad antioxidante de este compuesto.

En la nefropatía diabética también se ve alterada la función de filtración a nivel del glomérulo, esto debido a la expansión de la matriz mesangial y por consiguiente al adelgazamiento de la membrana basal, lo que ocasiona la pérdida de permeabilidad de la membrana, y el paso de la sangre a la orina de compuestos como las proteínas. En el cuadro 7 se muestran los resultados de los niveles de proteína en orina, en donde no se encontró diferencia significativa entre control

sano y diabético, ni entre tratamientos. Esto pareciera que contradice el resultado anteriormente mencionado, sin embargo, ambos parámetros se relacionan con daños diferentes en las distintas estructuras del riñón. Y se puede sugerir que los animales no presentaban un grado avanzado de la enfermedad a nivel renal, ya que la proteinuria se presenta únicamente en etapas avanzadas de la diabetes en donde ya existe un daño mayor en la membrana del riñón que permite el paso de compuestos de elevado peso molecular como las proteínas.

9.2.9 Efecto del subproducto en el estado antioxidante de ratas diabéticas.

En el cuadro 8 se muestran tres parámetros que son utilizados como marcadores de estrés oxidativo en suero, orina y riñón, que se escogieron con la finalidad de complementar y poder explicar los resultados anteriormente descritos.

Para la inhibición del radical ABTS^{•+} se utilizó el suero de las ratas obtenido el día del sacrificio con 12 horas de ayuno. Se puede observar que existe una disminución significativa en la capacidad antioxidante del suero de las ratas diabéticas en comparación con el suero de las ratas sanas, esto se pudiera relacionar con la disminución del sistema antioxidante endógeno del organismo, ya que con esto se confirma que el grupo diabético presenta especies pro-oxidantes.

Por otra parte, al grupo al cual se le adicionó el subproducto de mango tuvo un aumento significativo en la capacidad antioxidante del suero, teniendo valores similares al sano, mientras que en el nopal comercial no se observó este comportamiento. Este dato es de gran relevancia ya que el subproducto mejora el estatus antioxidante, y al disminuir el estrés oxidativo en el suero se evita el daño a macromoléculas como la LDL, disminuye la formación de AGE's y en general se mantiene un entorno reductor en las células y componentes circulantes.

Los marcadores en la orina son importantes debido a que se pudieran relacionar con el estado antioxidante del riñón y de la sangre, es por ello que se cuantificaron

el contenido de fenoles totales en la orina recolectada durante 12 horas de los animales en experimentación. Podemos observar los resultados en el cuadro 9, en donde, entre el control sano y el control diabético se presenta una diferencia significativa, esto pudiera resultar contradictorio ya que el control diabético presenta mayor contenido de polifenoles, sin embargo, en la técnica utilizada compuestos como los azúcares reductores y otras sustancias interfieren con la cuantificación.

Cuadro 8. Estado antioxidante de ratas diabéticas alimentadas con dietas suplementadas con subproducto de mango.

| Parámetros | Grupos | | | |
|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | Control sano | Control diabético | Mango | Nopal |
| ABTS en Suero ¹ | 0.24 ± 0.03 ^a | 0.13 ± 0.01 ^c | 0.22 ± 0.02 ^{ab} | 0.15 ± 0.02 ^{bc} |
| Fenoles totales en orina ² | 0.40 ± 0.01 ^c | 0.47 ± 0.03 ^b | 1.00 ± 0.09 ^a | 0.82 ± 0.12 ^{ab} |
| Lipoperoxidación en tejido renal ³ | 17.35 ± 0.82 ^c | 33.17 ± 1.32 ^a | 23.37 ± 2.64 ^b | 23.06 ± 2.51 ^b |

Los datos se expresan como la media ± EE. Letras diferentes en cada renglón indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Tukey.

¹ Los resultados están expresados en (μ geq. Trolox/mL).

² Los resultados están expresados en (mg eq. de ácido gálico/mL).

³ Resultados están expresados en (nM TBARS/mg de tejido).

En cuanto al grupo del subproducto de mango este presentó un aumento significativo en el contenido de fenoles totales con respecto a ambos controles, con un contenido mayor al del control diabético. Esta determinación corrobora la ingesta de compuestos polifenólicos de este grupo, por lo tanto estos compuestos permanecen con capacidad de reducir aun después de ser filtrados a través del riñón.

En cuanto al nopal comercial también se observó un aumento en el contenido de compuestos reductores con respecto al control diabético, aunque menor al observado con el mango. Estos resultados sugieren que los compuestos antioxidantes del nopal permanecen menor tiempo en suero y son eliminados rápidamente en la orina, a la vez se podría relacionar con la mejoría en parámetros de daño renal.

También se cuantificaron los productos de oxidación lipídica en el riñón por medio de la cuantificación de TBARS (por sus siglas en inglés: especies reactivas al ácido tiobarbitúrico). Se encontró que el grupo diabético tiene una mayor concentración de TBARS, lo cual confirma en estado de estrés oxidativo en este nivel, y explica las alteraciones en el funcionamiento renal antes descritas.

En cuanto al grupo del subproducto de mango, este pudo disminuir la oxidación de lípidos de manera significativa, al igual que el nopal comercial, lo cual sugiere que ambas muestras contienen uno o más compuestos antioxidantes que disminuye y/o previene el daño oxidativo en este órgano, y podría relacionarse con el alto contenido de compuestos reductores presentes en la orina.

9.2.10 Efecto del subproducto en el tamaño, humedad, fenoles totales y capacidad antioxidante en las heces de ratas diabéticas.

La fibra dietaria tiene diversos efectos sobre el intestino y su funcionamiento, una manera sencilla de observar cómo afectan las diferentes fibras es realizando mediciones sobre las heces. En el cuadro 9 se muestran los resultados de volumen, humedad y peso seco de las heces de los animales en experimentación.

El volumen de las heces fue mayor en el control diabético con respecto al control sano, lo cual se podría relacionar con el aumento observado de consumo de alimento y agua. Mientras que el subproducto de mango tiene un incremento significativo del 77 % con respecto al control diabético, por otra parte el grupo del nopal comercial únicamente tiene un incremento del 46 %. La capacidad de

retención de agua y el tamaño de partícula de las fibras parecen ser de especial importancia para el aumento de volumen de las heces, en este trabajo no se determinaron estos parámetros, sin embargo se podría resaltar que el tamaño de partícula del mango era visiblemente mayor en comparación con el nopal comercial, lo cual podría explicar este resultado (Papathanasopoulos y Camilleri, 2010).

Cuadro 9. Contenido de humedad, fenoles totales y capacidad antioxidante de heces de ratas diabéticas suplementadas con subproducto de mango.

| Grupos/ Parámetros | Sano | Diabético | Mango | Nopal |
|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Volumen ¹ | 0.46 ± 0.04 ^c | 0.60 ± 0.07 ^b | 1.06 ± 0.10 ^a | 0.86 ± 0.05 ^{ab} |
| Humedad ² | 48.50 ± 1.72 ^b | 53.84 ± 2.18 ^b | 61.53 ± 1.98 ^a | 65.12 ± 1.30 ^a |
| Peso seco ³ | 0.18 ± 0.02 ^b | 0.19 ± 0.00 ^b | 0.24 ± 0.01 ^a | 0.22 ± 0.00 ^{ab} |
| Fenoles totales ⁴ | 0.65 ± 0.03 ^b | 0.28 ± 0.03 ^c | 1.14 ± 0.10 ^a | 0.45 ± 0.03 ^d |
| Capacidad antioxidante ⁵ | 392.3 ± 35.5 ^b | 600.0 ± 41.1 ^a | 173.8 ± 34.8 ^c | 619.1 ± 25.7 ^a |

Los datos se expresan como la media ± EE. Letras diferentes en cada renglón indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Tukey.

¹ Resultados expresados en (cm³).

² Resultados expresados en (%).

³ Resultados expresados en (g/unidad).

⁴ Resultados expresados en (mg eq. ácido gálico/mL)

⁵ Los resultados expresan el IC₅₀ para el radical DPPH' (µg/mL).

En cuanto al contenido de humedad se observa que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupo diabético y el grupo sano. Por otra parte, el grupo el cual fue suplementado con el subproducto de mango nuevamente presenta un incremento significativo en el porcentaje de humedad, al igual que el tratamiento con el nopal comercial, esto se podría explicar por una parte por el mayor consumo de agua, y debido a la presencia de la fibra soluble de

ambos concentrados de fibra, ya que sus componentes fácilmente se enlazan con el agua atrapándola y aumentando la humedad (Lattimer, 2010).

La ingesta del subproducto como complemento de la dieta estándar en los animales incremento el peso seco total de las heces con respecto a los controles, sin presentar diferencia significativa entre los demás grupos. El peso seco podría estar indicando una mayor cantidad de componentes indigeribles de la fibra de mango que permanece en el colon. Por otra parte los gases generados durante su fermentación así como los AGCC promueven a su vez el crecimiento del número de microorganismos benéficos en el colon, es decir, si se aumenta la ingesta de fibra se promueve el crecimiento de la microfloracolónica, y este efecto trófico también se ha reportado que repercute en el volumen y peso de las heces, ya que entre el 40 y 50 % de la masa de estas son bacterias (Slavin, 2013).

Prevenir el estrés oxidativo, como ya se mencionó, es importante para tener buena salud y prevenir enfermedades, y la dieta es un factor principal en afectar el estado antioxidante. La ingesta de antioxidantes frecuentemente se estima por la determinación de la actividad antioxidante en la sangre y sus derivados (suero y/o plasma), sin embargo en el caso de los polifenoles especialmente los de alto peso molecular, parece haber poca absorción y estos compuestos fenólicos que permanecen en el tracto digestivo, pueden interactuar con la microflora y ofrecer efectos fisiológicos antes de ser eliminados, contribuyendo al estatus antioxidante de la digesta.

El aparato digestivo constituye un componente separado e importante, que forma parte de todo el estado antioxidante del cuerpo humano, por lo tanto las estrategias para reducir el estrés oxidativo deben ser modificadas o más bien expandidas para incluir al sistema digestivo además de la sangre y los tejidos (Goñi y Serrano, 2005). Se ha demostrado que el intestino delgado durante la diabetes presenta numerosas alteraciones morfológicas y funcionales, y el estrés oxidativo también es un factor que contribuye a estas alteraciones a este nivel.

Kakkar *et al.* (1995), demostraron por medio de la medición de marcadores de lipoperoxidación y oxidación de proteínas, que existe estrés oxidativo durante la diabetes inducida con STZ en los animales en experimentación y un daño así como una disminución del sistema antioxidante de defensa, a tan solo 6 semanas después de la inducción.

Para este experimento, debido al tratamiento complementario de fibra antioxidante que se propone, es importante la medición del estado antioxidante de las heces como una medida del estrés oxidativo en el intestino de las ratas diabéticas, ya que en las heces se encuentra un importante sistema biológico altamente activo, el cual produce una diversa gama de productos metabólicos, incluyendo radicales libres, que entran en contacto directo con una larga área de superficie del sistema digestivo.

En el cuadro 9 se pueden observar los resultados para el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de las heces, se encontró la misma tendencia en ambas determinaciones, ya que existe una disminución de los compuestos reductores en el control enfermo, así como una disminución de la capacidad antioxidante medida por el ensayo DPPH, esto comprueba de alguna forma lo mencionado anteriormente por Kakkar *et al.* (1995) al presentarse este desequilibrio con una mayor cantidad de especies oxidantes en el intestino enfermo, y se debe también a la hiperfagia presentada, ya que al haber una mayor actividad metabólica y estar disminuido el sistema antioxidante de defensa, se generan mayor cantidad de radicales libres y se presenta el estrés oxidativo.

En el grupo del subproducto de mango existe un incremento del contenido de fenoles totales en el extracto de las heces, así como una gran capacidad antioxidante en comparación con los otros grupos, comprobándose con esto un estado antioxidante reductor y la capacidad de los compuestos atrapados en la fibra de atrapar radicales libres. Por otra parte el nopal comercial también tuvo un efecto positivo, sin embargo mucho menor en comparación al efecto del

subproducto de mango. Estos resultados los podemos correlacionar con el contenido de fenoles no extraíbles cuantificados en los diferentes extractos, ya que como se puede observar en ambas determinaciones el contenido de este tipo de compuestos fue mayor en el subproducto de mango que en el nopal comercial.

Resultados similares fueron reportados por Goñi y Serrano (2005), en este estudio se administró a ratas sanas una dosis de 50 g/kg de un concentrado de fibra de semilla de uva. Se encontró un aumento en la capacidad antioxidante del contenido cecal en el grupo al cual se le administró el concentrado de semilla de uva, además de una correlación entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante en el colon. Ellos afirman que los antioxidantes a lo largo del intestino pueden por lo tanto proteger el área expuesta al daño oxidativo, además de que pueden entrar a las células de la superficie y proveer de protección interna a la célula.

10. Conclusiones:

- El subproducto de mango tienen un alto porcentaje de fibra dietaria total, y una relación deseable y balanceada entre sus fracciones soluble e insoluble, lo que se pudiera relacionar con los beneficios fisiológicos.
- La fracción indigerible del subproducto de mango resultó ser mayor al contenido de fibra dietaria, esto pudiera ser de importancia fisiológica debido a los componentes altamente fermentables que se cuantifican en esta técnica.
- El subproducto de mango tiene una mejor capacidad antioxidante *in vitro* en comparación a la del nopal comercial, lo cual se podría atribuir a la mayor cantidad de compuestos fenólicos.
- La dieta suplementada con el subproducto de mango (0.5 g de fibra/kg de peso) disminuyó la concentración de glucosa en sangre y aumentó la de insulina, sin mejorar el número de los islotes, por lo tanto, mejora la función de las células β del páncreas.
- Los tratamientos suplementados con ambos concentrados de fibra disminuyeron la concentración de triglicéridos en suero, este efecto puede atribuirse en parte a la eliminación de estos lípidos en heces.
- Los tratamientos con el subproducto de mango y el nopal comercial, al disminuir el estado oxidativo del riñón evitaron alteraciones en el funcionamiento renal.
- El consumo del subproducto de mango (0.5 g de fibra/kg de peso) tuvo un efecto positivo sobre el estado antioxidante general de ratas diabéticas, lo cual se relaciona con su alto contenido de compuestos polifenólicos.
- La ingesta del subproducto de mango (0.5 g de fibra/kg de peso), debido a su alto contenido de compuestos indigeribles y fermentables, aumentó el volumen y peso de las heces, además de generar un ambiente antioxidante a lo largo del sistema digestivo debido a su alto contenido de compuestos fenólicos no extraíbles.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Aderibigbe, O.; Emudianubhe, T. S.; Lawal, B. A. 2001. Evaluation of the antidiabetic action of *Mangifera indica* in mice. *Phytother Res.* 15: 456–458.
- Ahmed, M. U.; Brinkmann, F. E.; Degenhardt, T. P.; Thorpe, S. R.; Baynes, J. W. 1997. N-epsilon-(carboxyethyl) lysine, a product of the chemical modification of proteins by methylglyoxal, increases with age in human lens proteins. *Biochem J.* 324 (2): 565-570.
- Ajila, C. M.; Leelavathi, K.; Rao, P. 2008. Improvement of dietary fiber content and antioxidant properties in soft dough biscuits with the incorporation of mango peel powder. *J Cereal Sci.* 48: 319-326.
- Ajila, C. M.; Naidu, K. A.; Bhat, S. G.; Prasada, R. 2007. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chem.* 105: 982–988.
- Ajila, C. M.; Prasada, R. 2013. Mango peel dietary fiber: Composition and associated boundphenolics. *J funct foods.* 5: 444–450.
- Al, S. M.; Chávez, T.; Martínez, G.; Ferreira, E.; León O. S. 2004. El equilibrio redox en la diabetes y sus complicaciones. *Acta Farm. Bonaerense.* 23: 231-242.
- Alarcón, F. J.; Román, R.; Pérez, S.; Aguilar, A.; Contreras, C.; Flores, J. L. 1998. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *J Ethno Pharm.* 61(2): 101-109.
- Al-Sheraji, H.; Ismail, A.; Manap, M. Y.; Mustafa, S.; Yusof, R. M.; Hassan, F. A. 2011. Functional properties and characterization of dietary fiber from *Mangifera pajang* kort fruit pulp. *J Agric Food Chem.* 59: 3980–3985.
- Al-Wadi, N.; Azay, J.; Poucheret, P.; Cassanas, G.; Krosniak, M.; Auger, C.; Gasc, F.; Rouanet, J. M.; Cros, G.; Teissedre, P. L. 2004. Antidiabetic activity of red wine polyphenolic extract, ethanol or both in streptozotocin-treated rats. *J Agric Food Chem.* 52: 1008-1016.
- Amarowicz, R. y Pegg, R. B. 2006. Content of proanthocyanidins in selected plant as determined via n-butanol/HCl hydrolysis a colorimetric assay or by HPLC. *Pol. J Food Nutr Sci.* 15(56): 319-322.

- AOAC. 1999. Official methods of analysis of AOAC (International Association of official agriculture chemists).
- Aruoma, O. I. 2003. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plants foods. *Mut Res.* 523(24): 9-20.
- Asp, N. G.; Van, A. M.; Hautvast, J. G. 1996. Nutritional implications of resistant starch. *Nutr Res. Rev.* 9: 1-31.
- Ayadi, M. A.; Abdelmaksoud W.; Ennouri, M.; Attia, H. 2009. Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making. *Ind Crop Prod.* 30: 40-47.
- Bazari, H. 2007. Approach to the patient with renal disease. En: Goldman L., Ausiello D. 23° edición. Cecil Medicine. Philadelphia. Saunders Elsevier: Capítulo 115.
- Bennett, P. H.; Knowler, W. C. 2001. Diabetes mellitus, definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and glucose metabolism. 13° edition. C. Ronald Kahn and Gordon C. Weir. Eds. Philadelphia; Lea & Febiger. 19: 331-339.
- Bensadón, S.; Hervert, H. D.; Sáyago A. S.; Goñi, I. 2010. By-products of *Opuntia ficus indica* as a source of antioxidant dietary fiber. *Plant Foods for Human Nutr.* 65(3): 210-216.
- Biwititi, P.; Musabayane, C. T.; Nhachi, C. F. 2000. Effects of *Opuntia megacantha* on blood glucose and kidney function in streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacology.* 69: 247–252.
- Brand, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol.* 22: 25-30.
- Braunwald, E.; Fauci, A. S.; Kasper, D. L.; Hauser, S. L.; Longo, D. L.; Jameson, J. L. 1998. Principios de medicina interna. Harrison. 15° edición. Editorial Mc. Graw-Hill. p. 2467-2486.
- Bravo, L. y Saura, F. 1998. Characterization of dietary fiber and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. *Am. J Enol Vitic.* 49: 135-141.

- Broadhurst, C. L.; Polansky, M. M.; Anderson, R. A. 2000. Insuline-like activity of culinary and medicinal plant aqueous extracts *in vitro*. J Agric Food Chem. 48: 849–852.
- Brownlee, M. 2001. Review article: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature. 414: 813-820.
- Burke, F.; Amit, B. A.; Khera, V.; Rader, J. D. 2010. Polyphenols and cholesterol efflux: is coffee the next red wine?. Circ Res. 106(4): 627–629.
- Ceriello, A. 2000. Oxidative stress and glycemic regulation. Metabolism. 49:27–29.
- Céspedes, E. M.; Castillo, J. H. 1999. Lipid peroxidation in diagnosis of oxidative stress of hypertensive patient, reality or myth?. Rev Cubana Invest Biomed. 27: 1-13.
- Chang, Y. C.; Chuang, L. M. 2010. Review article: The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes, from molecular mechanism to clinical implication. Am. J Transl Res. 2: 316-331.
- Chung, Y. C.; Chang, C. T.; Chao, W. W.; Lin, C. F.; Chou, S. T. 2002. Antioxidant activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. J Agric and Food Chem. 50: 2454–2458.
- Consejo Nacional de Población (2010). Citado 22 Agosto 2013. Principales causas de mortalidad en México 1980-2007. Link: http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Principales_causas_de_mortalidad_en_Mexico_1980__2007
- Consejo Nacional de Población (2010). Citado el 14 de junio 2012. Indicadores demográficos básicos, 1990-2050. Link: http://www.conapo.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=125&Itemid=193
- Conterno, L.; Fava, F.; Viola R.; Tuohy, K. M. 2011. Obesity and the gut microbiota: does up-regulating colonic fermentation protect against obesity and metabolic disease. Genes Nutr. 6: 241–260.
- Contreras, P. M.; Gutiérrez, C. E; Valderrama, M. C.; Rojas, M. I.; Espinosa, D. G.; Suárez, V. R. 2011. Effects of drying process on the physicochemical

- properties of nopal cladodes at different maturity stages. *Plant Foods Hum Nutr.* 11: 62-65.
- Crespy, V.; Morand, C.; Besson, C. 2003. The splanchnic metabolism of flavonoids highly differed according to the nature of the compound. *Am J Physiol.* 284: G980–G988.
- Crespy, V.; Morand, C.; Besson, C.; Manach, C.; Demigne, C.; Remesy, C. 2000. Quercetin, but not its glycosides, is absorbed from the rat stomach. *J Agric Food Chem.* 50: 618–621.
- Dorta, E.; Lobo, M. G.; González, M. 2012. Reutilization of mango byproducts: study of the effect of extraction solvent and temperature on their antioxidant properties. *J Food Sci.* 77:C80-C88.
- Federación Internacional de Diabetes (FID). 2012. Citado: 22 Agosto 2013. Link: www.idf.org/diabetesatlas.
- Federación Internacional de Diabetes. Las últimas cifras sobre diabetes muestran un panorama desalentador. 20th World Diabetes Congress. Montreal, Canadá, 19 de octubre, 2009. Citado 5 de junio 2012. Link: www.idf.org.
- Figuroa, G. T.; Jiménez, I. H.; Reyes, E. M.; Mortensen, A. G.; Laursen, B.; Lin, L. W.; De León, R. A.; Fomsgaard, S. I.; Barba, R. A. 2010. Proximate composition, phenolic acids and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia spp.*). *J Food Comp Analysis.* 23: 525–532.
- Flores, S. E.; Machorro, M. V.; Garcia, A. G.; López, M. G.; Morán, M. C.; Sánchez, J. 2005. Diabetes Mellitus. “Epidemiología molecular en la diabetes mellitus y sus complicaciones”. 3° edición. Edit. MacGraw-Hill. Sección I. Cap. 3. p. 35-69.
- Foti, M. C.; Dasquino, C.; Geraci, C. 2004. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH radical in alcohol solutions. *J Org Chem.* 69: 2309-2314.
- Frankel, E. N. y Meyer, A. S. 2000. Review: The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J Sci Food Agri.* 80: 1925-1941.
- García, M. L.; García S. H.; Bello, B. P.; Sáyago, A.; Mata, M. M. 2013. Functional properties and dietary fiber characterization of mango processing by-products

- (*Mangifera indica* L., cv Ataulfo and Tommy Atkins). *Plant Foods Hum Nutr.* 68: 254–258.
- Giraldo, B.; Hernández, M. M., Angulo, P.; Fuertes, C. 2003. Actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa* Willd. D.C. (Uña de gato). *Rev Soc. Quím Perú.* 69: 229-242.
- Goñi, I.; Serrano, J. 2005. The intake of dietary fiber from grape seeds modifies the antioxidant status in rat cecum. *J Sci Food Agric.* 85: 1877–1881.
- Guillen, F. 2007. V Congreso Iberoamericano de tecnología post-cosecha y agroexportaciones Cartagena, Murcia, España. 31(5): S8-P107.
- Hanhineva, K.; Törrönen, R.; Bondia, I.; Pekkinen, J.; Kolehmainen, M. Mykkänen, H.; Poutanen, K. 2010. Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *Int J Mol Sci.* 11: 1365-1402.
- Hartzfeld, P. W.; Forkner, R.; Hunter, M. D.; Hagerman, A.E. 2002. Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *J Agric Food Chem.* 50: 1785-1790.
- Hassan, F. A.; Ismail, A.; Abdulhamid, A.; Azlan, A. 2011. Identification and quantification of phenolic compounds in bambangan (*Mangifera pajang kort*) peels and their free radical scavenging activity. *J Agric Food Chem.* 59: 9102–9111.
- Heimler, D.; Vignolini, P.; Dinia, M.; Vincierib, F.; Romanib, A. 2006. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chem.* 99: 464–469
- Hollman, P. C. y Katan, M. B. 1997. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed Pharmacother.* 51: 305–310.
- Iwata, E.; Hotta, H.; Goto, M. 2012. Hypolipidemic and bifidogenic potentials in the dietary fiber prepared from Mikan (Japanese mandarin orange citrus unshiu) albedo. *J Nutr Sci.* 58: 175-180.
- Jiménez, P. J. 2009. “Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes. Efecto de la fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos”. Tesis Doctoral, Madrid, Departamento de nutrición y bromatología I, Facultad de Farmacia, UCM.

- Johansen, J. S.; Harris, A. K.; Rychly, D. J.; Ergul, A. 2005. Review: Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes, linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol.* 4:1-11.
- Jouad, H.; Eddouks, M.; Dubois, M. A.; Lyoussi, B. 2000. Hypoglycemic effect of *Spergularia purpurea* in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *J Ethnopharmacology.* 71: 169–177.
- Kakkar, R.; Kalra, J.; Mantha, S. V.; Prasad, K. 1995. Lipidperoxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Molec Cellular Biochem.* 151: 113–119.
- Kanjana, M. 2006. Total antioxidant activity and fiber content of select florida-grown tropical fruits. *J Agric Food Chem.* 54: 7355-7363.
- Kanwar, Y. S.; Wada, J.; Sun, L.; Xie, P.; Wallner, E. I.; Chen, S.; Chugh, S.; Darnesh, F. R. 2008. Diabetic nephropathy: Mechanisms of renal disease progression. *Exp Biol Med.* 233: 4-11.
- Kaur, G.; Jabba, Z.; Athar, M.; Alam, S. 2005. *Punica granatum* (pomegranate) flower extracts possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol.* 44: 984-993.
- Kemperman, R. A.; Bolca, S.; Roger, L. C.; Vaughan, E. E. 2010. Novel approaches for analysing gut microbes and dietary polyphenols: challenges and opportunities. *Microbiology.* 156: 3224–3231.
- Larrauri, J. A.; Perez, P.; Borroto, B.; Saura-Calixto, F. 1996. Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization. *Lebensm Wiss Technol.* 29: 729–733.
- Lattimer, J. M. y Haub, M. D. 2010. Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients.* 2: 1266-1289.
- LeRoit, D.; Taylor, S. I.; Olefsky, J. M. 2003. Diabetes mellitus. Texto básico y clínico. 2^{da}. Ed. Ed. Mc-Graw Hill, Interamericana. México, D.F. pág 1331.
- Li, X.; Cui, X.; Sun, X.; Zhu, Q.; Li, W.; 2010. Mangiferin prevents diabetic nephropathy progression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Metab.* 27(3): 235-243.
- Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 79: 727-724.

- Manach, C.; Williamson, G.; Morand, C.; Scalbert, A.; Rémésy C. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. *Am J Clin Nutr.* 81: 230S– 242S.
- Maritim, A. C.; Sanders, R. A.; Watkins, J. B. 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J Biochem Mol Toxicol.* 17: 24-37.
- Martí, N.; Pérez, V. A.; García, C. 2001. Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *J Sci Food Agric.* 82: 217-221.
- Mateos, S. N. y Zacarías, C. R. 2002. Tratamiento farmacológico para la diabetes mellitus. *Rev Hosp Gral.* 5: 33-41.
- Matsui, T.; Ueda, T.; Oki, T.; Sugita, K. 2001. α -Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanidins, survey of natural pigments with potent inhibitory activity. *J Agric Food Chem.* 49: 1948–1951.
- Milagro, F.; Marques, L. I. 2002. Sistema nervioso y obesidad. *An. Sist. Sanit. Navar.*1: 41-52.
- Moreno, A. L. 2001. Epidemiología y diabetes. *Medicina actual. Rev Fac Med. UNAM.* 44: 35-37.
- Muruganandan, S.; Srinivasan, K.; Gupta, S.; Gupta, P. K.; Lal, J. 2005. Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 97: 497–501.
- Olaiz, G.; Rivera, J.; Shamah, T.; Rojas, R.; Villalpando, S.; Hernández, M.; Sepúlveda, J. 2006. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. (En línea). Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública. (Citado 10 de junio 2012). Link: www.insp.mx/encuestanacional-salud-y-nutrición-2006.html.
- Olivera, F. E. 2012. Evaluación de subproducto obtenido en la elaboración de jugos de mango y guayaba como fuente de fibra antioxidante. Tesis de maestría, México, Universidad Autónoma de Querétaro.
- OMS, Organización Mundial de la Salud, 2010. Citado 13 de octubre del 2012. Link: <http://www.worlddiabetesday.org/es>.
- OMS, Organización Mundial de la Salud, 2012. Citado septiembre 2013. Link: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>

- Osakabe, N.; Yamagishi, M.; Natsume, M.; Yasuda, A.; Osawa, T. 2004. Ingestion of proanthocyanidins derived from cacao inhibits diabetes-induced cataract formation in rats. *Exp Biol Med.* 229: 33–39.
- Ostman, E. M.; Liljeberg, H. G.; Bjorck, I. M. 2002. Barley bread containing lactic acid improves glucose tolerance at a subsequent meal in healthy men and women. *J Nutr.* 132: 1173-1175.
- Papathanasopoulos, A.; Camilleri, M. D. 2010. Dietary fiber supplements: effects in obesity and metabolic syndrome and relationship to gastrointestinal functions. *gastroenterology.* 138(1): 65–72.
- Pérez, J. J. 2007. Tesis doctoral: “Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes”. Madrid, Universidad de Madrid, Instituto del Frío (CSIC), Departamento de metabolismo y nutrición.
- Perpétuo, G. F.; Salgado, J. M. 2003. Effect of mango (*Mangifera indica, L.*) ingestion on blood glucose levels of normal and diabetic rats. *Plant Foods Human Nutr.* 58: 1–12.
- Pinent, M.; Blay, M.; Blade, M. C.; Salvado, M. J. 2004. Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. *Endocrinology.* 145: 4985–4990.
- Porter, L. J.; Hrstich, L. N.; Chan, B. G. 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistr.* 25: 223-230.
- Prior, R. L.; Wu, X.; Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem.* 53(10): 4290-4302.
- Pryor, W .A. 1994. Free radical and lipid peroxidation. En: *Natural antioxidant in human health and disease.* Nueva York: Academic Press: 1-24.
- Rahimi, R.; Nikfar, S.; Larijani, B.; Abdollahi, M. 2005. Antioxidants in the prevention of human diseases: A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed Pharmacother.* 59: 365–373.
- Ramos, M. L.; Batista, C. M.; Gómez, B. C.; Zamora, A. L. 2006. Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigación en Salud.* VIII: 7-15.

- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice, E. C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 26:1231-1237.
- Ribeiro, M. R.; Barbosa, J. H.; Queiroz, J. H.; Schieber, A. 2008. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chem.* 110: 620–626.
- Rodríguez, D. L.; Martínez, A. C.; Górriz, J. L.; Álvaro, F.; Navarro, J. G. 2012. Pathophysiological role and therapeutic implications of inflammation in diabetic nephropathy. *World J Diabetes.* 3: 7-18.
- Rodríguez, J. M.; Menéndez, J. R.; Trujillo, Y. 2001. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cubana Med Milit.* 30: 36-44.
- Roura, E.; Lacueva, A. C.; Estruch, R. Lamuela, R. M. 2006. Total polyphenol intake estimated by a modified Folin-Ciocalteu assay of urine. *Clin Chem.* 52:749-52.
- SAGARPA, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2009. Citado el 18 de junio del 2012. Link: http://w4.siap.sagarpa.gob.mx/sispro/IndModelos/SP_AG/Industria.pdf.
- Samra, R.; Anderson, G. H. 2007. Insoluble cereal fiber reduces appetite and short-term food intake and glycemic response to food consumed 75 min later by healthy men. *Am J Clin Nutr.* 86: 972-979.
- Sánchez, C. 2002. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Inter J Food Sci Technol.* 8(3): 121-139.
- Saura, C. F. 2011. Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: An essential physiological function. *J Agric Food Chem.* 59: 43–49.
- Saura, C. F. 2012. Concept and health-related properties of nonextractable polyphenols: the missing dietary polyphenols. *J Agric Food Chem.* 60: 11195-11200.
- Saura, C. F.; García, A.; Goñi, I.; Bravo, L. 2000. In vitro determination of indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. *J Agric Food Chem.* 48: 3342-3347.

- Saxena, A.; Vikram, N. K. 2004. Role of selected Indian plants in management of type 2 diabetes: a review. *J. of Alternative and Complementary Med.* 10: 369–378.
- Secretaria de Salud, 2009. Citado: 3 junio 2012. Link: <http://portal.salud.gob.mx/>.
- Sellamuthu, P. S.; Arulseivan, P.; Muniappan, B. P.; Fakurazi, S.; Kandasamy, M. 2013. Mangiferin from *Salacia chinensis* prevents oxidative stress and protects pancreatic b-cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Med Food.* 16: 719-727.
- Sepúlveda, E.; Saenz, C.; Aliaga, E.; Aceituno, C. 2006. Extraction and characterization of mucilage in *Opuntias pp.* Tesis maestría. Santiago, Chile. Dto. de Agroindustria y Enología, Facultad de Ciencias Agronomicas, Universidad de Chile.
- Serrano, J.; Puupponen, R.; Dauer, A.; Aura, A. M.; Saura, C. F. 2009. Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Mol Nutr Food Res.* 53: S310–S329.
- Serrano, J.; Saura, C. F.; Goni, I. 2007. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chem.* 101: 492-501.
- SIAP. Datos del INEGI. Publicación Común de las Estadísticas sobre Horticultura de Canadá, México y Estados Unidos. Citado el 12 de julio 2012. Link: http://webpage.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view.
- Singh, N.; Kamath, V.; Rajini, P. S. 2005. Attenuation of hyperglycemia and associated biochemical parameters in STZ-induced diabetic rats by dietary supplementation of potato peel powder. *Clinica Chimica Acta.* 353: 165–175.
- Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods enzymol.* 299: 152-178.
- Siquet, C.; Paiva, M. F.; Lima, J. L.; Reis, S.; Borges, F. 2006. Antioxidant profile of dihydroxy and trihydroxyphenolic acids, A structure-activity relationship study. *Free Rad Res.* 40: 433-442.
- Slavin, J. 2013. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients.* 5: 1417-1435.

- Sogi, D. S.; Siddiq, M.; Greiby, I.; Dolan, K. D. 2013. Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of 'Tommy Atkins' mango peel and kernel as affected by drying methods. *Food Chem.* 141: 2649–2655.
- Stentz, F.; Umpierrez, E.; Cuervo, R.; Kitabchi, A. 2004. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risks, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes.* 53: 2079-2086.
- Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action of b-cells of the rat páncreas. *Physiol Res.* 50: 537-546.
- Thomson , S. C.; Vallon, V.; Roland, C. B. 2004. Kidney function in early diabetes: the tubular hypothesis of glomerular filtration. *Am J Physiol Renal Physiol.* 286: F8-F15.
- Tiedge, M.; Lortz, S.; Drinkgern, J.; Lenzen S. 1997. Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. *Diabetes.* 46: 1733–1742.
- Tilgmann, C.; Ulmanen, I. 1996. Purification methods of mammalian catechol-O-methyltransferases. *J Chrom Biomed Appl.* 684:147–61.
- Tolhurst, G.; Heffron, H.; Lam, Y. S.; Parker, H. E.; Habib, A. M.; Diakogiannaki, E.; Cameron, J.; Grosse, J.; Reimann, F.; Gribble, M. F. 2012. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein–coupled receptor FFAR2. *Diabetes.* 61: 364-371.
- Touriño, S.; Pérez, J.; Mateos, M. L.; Fuguet, E.; Vinardell, M. P.; Cascante, M.; Torres, J. L. 2011. Metabolites in contact with the rat digestive tract after ingestion of a phenolic-rich dietary fiber matrix. *J Agric Food Chem.* 59: 5955–5963.
- Ueda, M.; Sasaki, K. S.; Utsunimiya, N.; Inaba, K.; Bayashi, Y. S. 2000. Variation of total polyphenol and polyphenol oxidase activity during maturation of mango fruit (*Mangifera Indica* L.) cultured in plastic green house. *Food Sci and Tech Res.* 6: 299–305.
- Uto, K. H.; Ayaori, M.; Ogura, M.; Nakaya, K.; Ito, M.; Suzuki, A.; Takiguchi, S. I.; Yakushiji, E.; Terao, Y.; Ozasa, H.; Hisada, T.; Sasaki, M.; Ohsuzu, F.; Ikewaki,

- K. 2010. Coffee consumption enhances high-density lipoprotein-mediated cholesterol efflux in macrophages. *Circ Res.* 106: 779-787
- Villaño, D.; Fernández, M. S.; Troncoso, A. M.; García, M. C. 2005. Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites in vitro. *Analytica Chimica Acta.* 538: 391-398.
- Vinci, G.; Rot, F.; Mele, G. 1995. Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation. *Food Chem.* 53: 211-214.
- Wada, J.; Sun, L.; Kanwar, Y. S. 2011. Discovery of genes related to diabetic nephropathy in various animal models by current techniques. *Contrib Nephrol.* 169: 161-174.
- Waltner, M. E.; Wang, X. L.; Law, B. K.; Hall, R. K.; Nawano, M.; Granner, D. K. 2002. Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *J. Bio. Chem.* 277(38): 34933-34940.
- Wang, M.; Li, J.; Raangarajan, M.; Shao, Y.; Lavoie, E. J.; Huang, T. C.; Ho, C. T. 1998. Antioxidative phenolic compounds from Sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem.* 46: 4869-4873.
- Watanabe, S.; Yamaguchi, M.; Sobue, T.; 1998. Pharmacokinetics of soybean isoflavones in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60 g baked soybean powder (kinako). *J Nutr.* 128: 1710–1715.
- Weickert, M. O.; Pfeiffer, A. F. 2008. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *J Nutr.* 138: 439–442.
- Wellen, K. E.; Hotamisligilm, G. S. 2005. Inflammation, stress and diabetes, a review. *J Clinic Invest.* 115: 111- 119.
- Wolff, S.P. 1993. Diabetes mellitus and free radicals. Free radicals, transition metals and oxidative stress in the aetiology of diabetes mellitus an complications. *Br Med Bull.* 49: 642-652.
- Yamabe, N.; Yokozawa, T.; Takeshi, O.; Kim, M. 2006. Therapeutic potential of (-)-epigallocatechin 3-o-gallate on renal damage in diabetic nephropathy model rats. *JPET.* 319: 228-236.

- Yin, P.; Zhao, S.; Chen, S.; Liu, J; Shi, L.; Wang, L.; Liu, Y; Ma, C. 2011. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of polyphenols from burs of *castanea mollissima* blume. *Molecules*.16: 9764-9774.
- Yoshikawa, M.; Nishida, N.; Shimoda, H.; Takada, M.; Kawahara, Y.; Matsuda, H. 2001. Polyphenol constituents from *Salacia* species: quantitative analysis of mangiferin with α -glucosidase and aldose reductase inhibitory activities. *Yakugaku Zasshi*. 121: 371–378.
- Young, N. L.; Lopez, D. R.; McNamara, D. J. 1988. Contributions of absorbed dietary cholesterol and cholesterol synthesized in small intestine to hypercholesterolemia in diabetic rats. *Diabetes*. 37: 1151–1156.