



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

Determinación de algunas propiedades físico-químicas del nopal
OSL (*Opuntia Streptacantha* Lemaire) en función de su etapa de
desarrollo.

Que para obtener el título de:
Licenciada en nutrición

PRESENTA:
CYNTHIA DE LIRA GARCÍA

DIRECTORA:
L.N. ALIN JAEL PALACIOS FONSECA

Santiago de Querétaro, Querétaro, Noviembre de 2006

No. Adq. H 71154

No. Título _____

Clas. TC 572.82

L768 d



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

Determinación de algunas propiedades físico-químicas del nopal
OSL (Opuntia Streptacantha Lemaire) en función de su etapa de
desarrollo.

Que para obtener el título de:
Licenciada en nutrición

PRESENTA:
CYNTHIA DE LIRA GARCÍA

DIRECTORA:
L.N. ALIN JAEL PALACIOS FONSECA

Santiago de Querétaro, Querétaro, Noviembre de 2006



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES



Determinación de algunas propiedades fisico-químicas del nopal
OSL (Opuntia Streptacantha Lemaire) en función de su etapa de
desarrollo.

Que para obtener el título de:
Licenciada en nutrición

PRESENTA:
CYNTHIA DE LIRA GARCÍA

SINODALES

L. N. Alin J. Palacios Fonseca
Director
CDra. J. Iséla Rojas Molina
Asesor

Firma

Dr. Mario E. Rodríguez García
Asesor

Firma

Dra. Olga Patricia García Obregón
Asesor

Firma

Firma

La presente investigación se llevo acabo bajo la dirección de la L. N. Alin J. Palacios Fonseca en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM Campus Juriquilla, Querétaro en el laboratorio de alimentos a cargo de el Dr. Mario Enrique Rodríguez García; con la colaboración de el laboratorio de Microscopia dirigido por la M. en I. Q. Alicia Del Real López así como el Centro de GEOCIENCIAS de la UNAM bajo la responsabilidad de L. N. Carolina Muñoz Torres.

Dedicatoria

Dedico el presente trabajo

Especialmente a mis padres Griselda García Cortes y José De Lira Zamora por su grande esfuerzo y apoyo incondicional para sacar adelante a nuestra familia a pesar de todos los tropiezos que hemos pasado, así como todo su amor y cariño hacia mí.

A Trino Armando por compartir conmigo todas sus experiencias tanto personales como educativas; además todo el amor absoluto que ha tenido hacia mí, su comprensión y cariño.

A mis hermanos Martín y Manuel por el simple hecho de ser parte de mi gran familia.

A L. N. Alin Jael que no solo es mi directora de tesis si no también una de mis mejores amigas a quien le agradezco todos sus regaños y consejos.

A todas la personas que estuvieron conmigo durante mi etapa universitaria.

Y por último a todos mis amigos por compartir conmigo todos los momentos de nuestras distintas etapas de vida.

Agradecimientos

Al personal del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada por permitirme la elaboración de esta investigación.

Al Dr. Mario E. Rodríguez, CDra Juana I. Rojas y la Dra. Olga P. García por el tiempo y dedicación para la elaboración del presente trabajo.

A L. N. Carolina Muñoz, M. I. Q. Alicia del Real y M. C. Q. Ángeles Cornejo por su apoyo para la elaboración de las pruebas de laboratorio.

A Paola García Juárez por su apoyo para la realización de esta investigación.

A Conacyt por el apoyo al proyecto CONACYT 14059 aplicaciones de harina de nopal 2006-2009.

Índice

1	Introducción	1
2	Revisión De Literatura	3
2.1	El nopal.....	4
	Morfología.....	6
	Económica Y Social.....	7
	Usos.....	7
	Como Alimento.....	8
	Propiedades Medicinales.....	8
2.2	Harina de nopal.....	9
2.3	Oxalato.....	11
2.4	Ácido Oxálico.....	11
2.5	Oxalato De Calcio.....	12
	Morfología del oxalato de calcio.....	12
	Síntesis del oxalato de calcio en la planta.....	13
	Metabolismos del oxalato de calcio en mamíferos.....	14
	Contenido de oxalato de calcio en alimentos.....	15
	Efectos del oxalato de calcio en el organismo.....	17
	Degradación de oxalato de calcio.....	20
2.6	Calcio.....	21
2.7	Fósforo.....	22
2.8	Relación Calcio/Fósforo.....	23
3	Hipótesis	24
4	Objetivos	24
4.1	Objetivo general.....	24
4.2	Objetivos específicos.....	24
5	Metodología	25
5.1	Caracterización física del nopal OSL.....	25
5.2	Elaboración de harina de nopal OSL.....	26
5.3	Distribución y morfología del oxalato de calcio en nopal OSL.....	27
	Microscopia electrónica de barrido (MEB).....	27

5.4 Contenido de oxalato de calcio de la harina de nopal OSL.....	28
Absorción atómica.....	28
5.5 Contenido de calcio en la harina de nopal OSL.....	29
5.6 Contenido de fósforo en la harina de nopal OSL.....	29
Espectroscópica de UV VIS.....	29
5.7 análisis estadísticos.....	29
6 Resultados y discusiones.....	30
6.1 Caracterización física de nopal OSL.....	30
6.2 morfología y distribución de oxalato de calcio en el nopal OSL.....	31
6.3 cuantificación de oxalato de calcio e la harina de nopal OSL.....	43
6.4 Relación Calcio/Fósforo en Harina de nopal OSL.....	44
7 Conclusiones.....	47
8 Investigaciones a futuro.....	48
9 Bibliografía.....	49
10 Anexos.....	52

INDICE DE FIGURAS

2.1.1	Morfología del nopal.....	5
2.1.2	Nopal de 60 y 200 g.....	6
2.2.1	Técnica para la realización de harina de nopal	10
2.3.1	Molécula de ácido oxálico.....	11
2.5.1	Cristales de oxalato de calcio.....	14
2.5.2	Aglomerados de cristales de oxalato de calcio monohidratado.....	14
2.5.3	Vía metabólica de producción de oxalato.....	15
2.5.4	Formación de oxalato.....	16
5.2.1	Horno de vacío.....	26
5.2.2	Nopal OSL rebanado para deshidratación.....	26
5.3.1	Fracciones de nopal OSL observados en SEM.....	27
5.3.2	Microscopio electrónico de barrido.....	28
6.2.1	Cutícula externa del nopal OSL.....	31
6.2.2	Cutícula interna del nopal OSL.....	32
6.2.3	Estructura interna del nopal OSL.....	33
6.2.4	Oxalato de calcio en nopal OSL.....	36
6.2.5	Contenido de oxalato de calcio por SEM.....	39
6.2.6	Distribución de oxalato de calcio en nopal OSL.....	40
6.2.7	Distribución de oxalato de calcio en nopal OSL.....	40
6.2.8	Estructura interna del nopal OSL 150 por SEM 300X y 1500X.....	41
6.2.9	Harina de Nopal OSL 60 y 200.....	42
6.3.1	Contenido de oxalato de calcio en 100 g de harina de nopal OSL.....	43
6.3.2	Contenido de calcio total y calcio libre en 100 g de harina de nopal OSL.	44
6.3.3	Contenido de Fósforo en 100 g de harina de nopal OSL.....	45
6.3.4	Relación Calcio/Fósforo en harina de nopal OSL.....	45
6.3.5	Relación Calcio/oxalato de calcio en harina de nopal OSL.....	46
6.3.6	Alimentos con alto contenido de calcio.....	46

INDICE DE TABLAS

2.5.1	Contenido de oxalato de calcio en alimentos.....	17
2.5.2	Causas y composición de los calculos renales.....	20
6.1.1	Dimensiones del nopal OSL.....	31

RESUMEN

El nopal es un alimento primordial del mexicano que contribuye a la salud humana por su alto contenido de fibra y minerales. La formación de cristales de CaC_2O_4 (oxalato de calcio) disminuye la absorción de calcio; el nopal así como la espinaca, la col, etc. son vegetales con mayor acumulación de estos cristales; en donde la cantidad, su distribución y morfología depende de factores ambientales y genéticos. El objetivo de esta investigación fue determinar algunas propiedades físico-químicas del nopal OSL (*Opuntia Streptacantha Lemaire*) en función de su etapa de desarrollo; tomando en cuenta el contenido de CaC_2O_4 , Ca total, Ca libre y la relación Ca/P para establecer la etapa adecuada para su consumo. Se seleccionaron 5 etapas de desarrollo del nopal considerando pencas con un peso de 60, 80, 100, 150 y 200 g como factor determinante del estado de madurez, con las cuales se elaboro harinas por secado a vacío a 40°C. Las muestras fueron analizadas por microscopía electrónica de barrido. Espectroscopía de absorción atómica y de UVvis. El análisis estadístico de datos se realizo aplicando ORIGIN versión 7.5, además de la prueba de Duncan con un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$). Los resultados obtenidos mostraron que la cantidad de Ca depende directamente del grado de maduración del nopal, incrementándose hasta 367.3 mg/100g del nopal 60 g con respecto al nopal 200 g. El P disminuyó en forma inversa hasta 187.1 mg en el nopal 200g con respecto al nopal de 60 g de la misma manera que en el contenido de CaC_2O_4 detectándose reducción de 242.33 mg/100 g en las pencas de 200 g con respecto a los de 60 g. La distribución de cristales calcio se presenta principalmente en la periferia de la penca de nopal presentándose en forma de oxalato de calcio monohidratado (whewellite). Se concluye que el nopal de 200 g son las más apropiadas para el consumo humano ya que la relación Ca/P es la más adecuada para la biodisponibilidad de ambos minerales. Una forma de reducir la ingesta de oxalato de calcio, es a través del nopal es eliminando las orillas de este y consumir solo la parte restante.

Palabras clave: nopal *Opuntia Streptacantha Lemaire*, oxalato de calcio, calcio, cristales y harina de nopal.

1. INTRODUCCIÓN

El nopal es una de las verduras prehispánicas con mayor aceptación y tradición mexicana, principalmente en la zona centro y norte del país de zona norte. Su consumo per cápita es de 6.4kg (nopal mexicano, 2005) en la Republica Mexicana, Es una de las plantas más conocidas, tanto para consumo humano, animal e industrial.

El nopal nutrimentalmente tiene un alto contenido de fibra, minerales y vitaminas. Considerado como un alimento de segunda, por lo que no ha recibido la atención necesaria en cuanto a su clasificación y manejo que les proporcione valor agregado y calidad para alcanzar mercados más competitivos las cadenas de distribución (Flores et al., 1995).

En la última década, el crecimiento de los mercados regionales y nacionales se ha incrementado como resultado del notable interés por el nopal. Nuevas investigaciones han demostrado los beneficios y utilidades de esta cactácea; de la cual prácticamente se ha empleado con fines medicinales. Frati et al. (1988, 1990) ha mostrado algunas aplicaciones terapéuticas, principalmente para prevenir o controlar enfermedades crónico degenerativas.

En los estudios realizados hasta el momento acerca de la composición fisicoquímica del nopal, no se ha considerado el estado de madurez, por lo que este trabajo estará enfocado principalmente al estudio fisicoquímico del nopal, en función de la maduración; ya que no existe ningún trabajo reportado hasta el momento relacionado con este tema.

Por otro lado, es importante señalar que debe incluirse un consumo adecuado de calcio en la dieta, ya que este mineral es considerado clave para

prevenir y controlar enfermedades asociadas con anomalías en la estructura ósea; como es la osteoporosis que es un problema de salud pública en México.

Las cactáceas, así como las verduras de hoja verde, tienen un alto contenido de calcio y fósforo, el cual se considera que depende de la madurez de la planta, esta tiene la capacidad de formar oxalato de calcio (CaC_2O_4). La biomineralización establece la función de protección al esqueleto de la planta, en donde el oxalato de calcio es uno de los biominerales que se presentan con mayor frecuencia en la planta

El oxalato de calcio podría limitar la biodisponibilidad de calcio presente en la planta. Por consiguiente, es importante realiza estudios minuciosos acerca de la biodisponibilidad de este mineral en los vegetales; especialmente en el nopal, ya que esta verdura tiene un alto contenido de calcio (87mg/100 g) (M. Muñoz y J. Ledesma, 2002, Hernández-Becerra 2003). Sin embargo los estudios en relación a su contenido y distribución de oxalato de calcio en razón de su crecimiento son muy escasos así como determinar la razón de Ca/P la cual debería ser ≤ 1 para mantener una buena salud ósea.

Como resultado de este trabajo se publicó el artículo titulado "Physicochemical and nutrimental characterization of Nopal pads (*Oppuntia Streptacanta* Lemaire) and dry vacuum nopal powders as a function of the maturation" (anexo 1), el cual ha sido aceptado en Elsevier Editorial System(tm) for Journal of Food Engineering.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El nopal

El nopal es un vegetal verde opaco de 3 a 5 m alto, con tronco leñoso y mide entre 20 y 50 cm de diámetro. Forma pencas de 30 a 50 cm de largo x 20 a 40 cm de ancho y de 2 a 3 cm de espesor (Giga, 7/06/05); este es el nombre común que recibe la cactácea del género *Opuntia*. En tiempos prehispánicos fue llamado nochtli o nopalli.

El *Opuntia* es una planta xeromorfa, la cual puede desarrollar un mecanismo de resistencia a la sequía con base *Opuntiae* en el mantenimiento de un alto potencial hídrico en base a dos mecanismos: A) aumento en cantidad y densidad de raíces para absorción de agua y B) reducción de la pérdida de agua mediante la conductancia epidermal. Este género presenta 5 subgéneros (*O. Streptacanthae*, *O. leucotricha*, *O. cantabrigiensis*, *O. lindheimeri* y *O. imbricata*), 17 series y 104 especies. El género nopaleá presenta 10 especies de las cuales la "Nopalea Cochenillifera" se utiliza como verdura, por su poca cantidad de espinas, ya que estas son utilizadas como medio de supervivencia y el nopal silvestre contiene muchas espinas.

El nopal es parte muy importante de la cultura del centro de nuestro país, para los chichimecas en el centro y norte de México, en Oaxaca para los mixtecas y zapotecas. (D. Granados, 2003 y Mayer et al. 1981). Esta cactácea forma parte de la vida económica, social y religiosa de nuestro país a tal grado que es utilizado como el símbolo del escudo nacional. El nopal fue considerado un dios (peyote o jículi) por los efectos que genera en el organismo, fue utilizado como talismán para alejar los malos espíritus y como planta medicinal.

El nopal esta dividido en tres secciones de acuerdo a su utilidad y tipo de cultivo:

1) Las Nopaleras silvestres se localizan en los Estados de Guanajuato, Jalisco, Aguascalientes, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, y Sonora (A. Flores et al, 1995).

Estas nopaleras se utilizan fundamentalmente como fuente de forraje para el ganado ovino, caprino y bovino de carne. Cortado y acarreado a las ciudades, es usado en la alimentación de bovino lechero.

2) Las nopaleras de huertos familiares se establecieron en medios rurales en los que el nopal es su principal componente alimenticio y subsistencia económica, principalmente en la región central del país.

3) Nopaleras en plantaciones. Desde el año 1950, se seleccionaron las mejores variedades para ser llevadas a las parcelas y formar un sistema de plantación. Para la producción de tuna fue en los estados de Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato, Jalisco, Aguascalientes y México (A. Flores et al, 1995).

En 1962 Velázquez estableció dos zonas nopaleras de acuerdo a su uso: para forraje en la zona norte, Coahuila, Nuevo León, y Tamaulipas; para la producción de tuna y nopal verdura zona centro (San Luis Potosí y Zacatecas).

Morfología del nopal

El nopal una presenta morfología adaptada a la escasa disponibilidad de agua, a las variaciones extremas de temperatura y a las condiciones de las zonas áridas y semiáridas.

La cactácea es de **raíz** extensa, perenne y superficial. Tiene unas raicillas secundarias provistas de pelos absorbentes, caducas (se limita a época de lluvias). La **Flor** puede ser amarilla y roja, de gran tamaño, en la cual su característica principal es que su crecimiento es solo durante las noches, además

de ser solitario. La apertura de la flor tarda en promedio 55 días después de la aparición de las yemas florales, permaneciendo abierta durante 24hrs. El **Fruto** (tuna) es verrucoso periforme, es una ovoide, cilíndrica, de pericarpio correoso, con colchones de ahuates distribuidos en tresbolillo y semillas de color variable. La **cutícula** presente en las pencas evita la deshidratación provocada por las altas temperaturas. Puede alcanzar hasta un 95% de agua en peso, (figura 2.1.1). Los **Cladodios** son conocidos como tallos planos o pencas de color verde en forma de paletas, están cubiertos de pequeños agrupamientos de pelos rígidos llamados gloquidios (**espinas o ahuates**) (figura 2.1.2) (Instituto Nacional de Ecología, 2005).

Figura No.2.1.1: Morfología de nopal

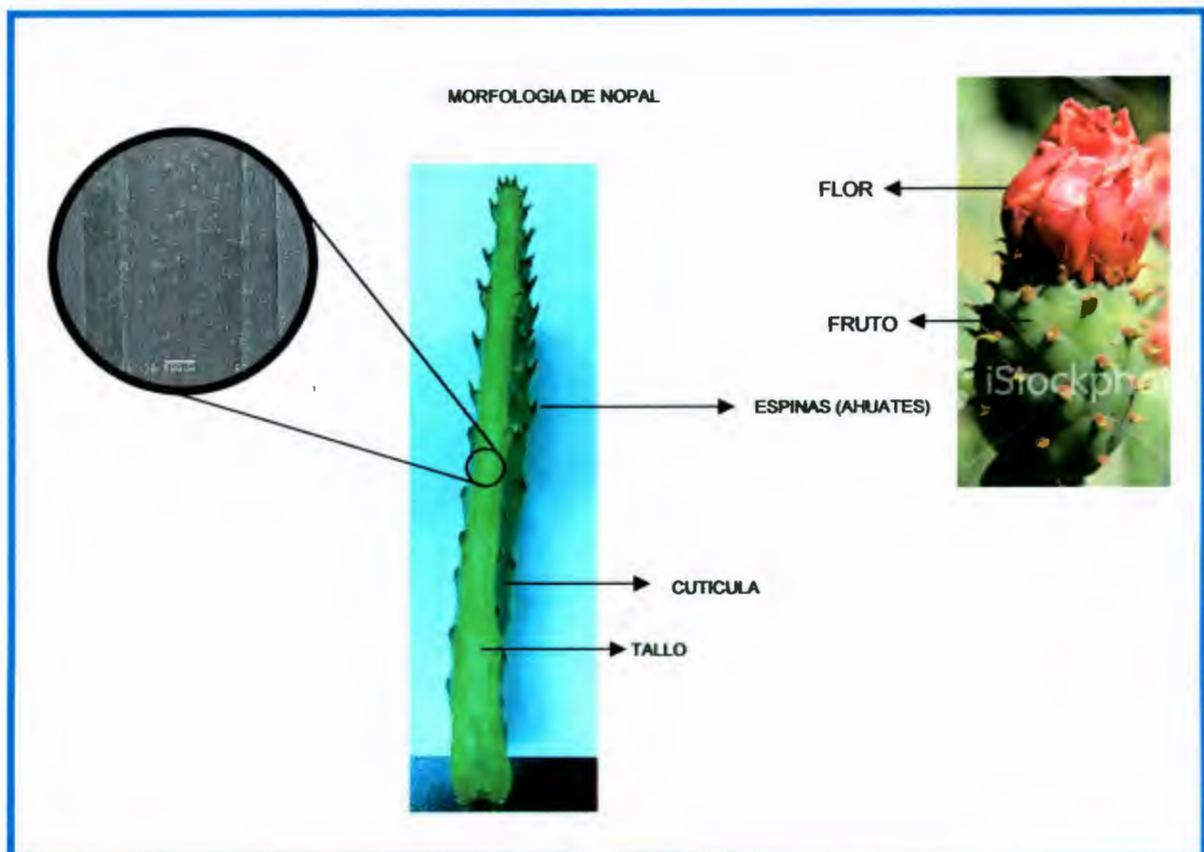


Figura No. 2: Nopal OSL de 60 y 200 g.



Importancia económica y social del nopal

La producción del nopal ha permitido que grupos marginados y de subsistencia, obtengan empleo, produzcan alimentos y generen ingresos para sus familias así como productos para su propio consumo (A. Flores, M. de luna, P. Ramírez, 1995).

En el año 2004 la producción de nopal fue de 607, 674,04 toneladas que equivalen aproximadamente a \$1, 192, 186,71 a nivel nacional. En este mismo año en la zona centro la producción fue de 554, 848,00 toneladas próximamente que equivalen a \$1, 062, 328,73. Si comparamos la producción antes mencionada con la del año 2000 que fue de 404, 459,79 toneladas equivalentes a \$720.133,23 a nivel nacional y a nivel regional fue de 364.988,50 toneladas proporcionales a

\$647.474,28, podemos observar un aumento en la producción de 203,214,25 toneladas (SAGARPA, 2004).

En México, el nopal es exportado principalmente a los Estados Unidos de América gracias a la gran demanda que presenta por la cantidad de mexicanos que viajan para generar nuevos ingresos, principalmente en la preparación de nopalitos frescos con espinas, nopalito des-espinado, nopalito procesado en salmuera o escabeche y nopalito precocido o congelado (A. Flores et al, 1995).

Usos del nopal

En la actualidad el nopal es utilizado en Perú y España como cultivo de cochinilla, en Italia y Mediterráneo como planta tunera, en México como alimento, forraje, etc.

La producción de nopal está dividida en cuatro tipos diferentes:

- a) *Productos de la industria alimentaria tradicional y tecnificada:* nopal verdura, en salmuera, escabeche, mermeladas, etc.
- b) *Productos medicinales:* nopal verdura, deshidratado, etc. para diabetes mellitas y colesterol.
- c) *Cosméticos:* jabones, cremas humectantes, shampoo, etc.
- d) *Artesanías* (A. Flores et al; 1995).

Nopal como alimento.

El nopal se puede utilizar como ensalada, sopa, guiso, asados, salmuera, jugos, salsas, cereales, botanas, etc. En los últimos tiempos se ha dado a conocer el consumo de nopal licuado combinado con jugo de frutas, para la disminución de peso y para controlar diabetes (giga, 2005).

El nopal *Opuntia Ficus Indica* es la especie más conocida como verdura. Es importante fomentar el consumo de otras especies de nopal como el *Opuntia Streptacantha*.

Para poder elaborar productos de nopal, primeramente se debe llevar a cabo la selección del nopal de la mejor calidad su desespinado, así como el acondicionamiento de la materia prima (A. Flores, M. de luna, P. Ramírez, 1995).

Propiedades medicinales del nopal.

Las propiedades medicinales del nopal se le atribuyen desde cientos de años, pero en los últimos tiempos se han incrementado por la gran cantidad de investigaciones que se han realizado acerca del mismo.

Respecto a sus utilidades medicinales en años pasados, se tiene que se tomaban el jugo de nopal para bajar la temperatura corporal, utilizaban la baba de nopal para curar los labios partidos, la pulpa curaba la diarrea, la pencas del nopal como apósito caliente para aliviar inflamaciones (García, Q., 2005) y muchos uso más. Por esta razón es que se siguen llevando a cabo investigaciones para poder encontrar nuevos y concretos beneficios respecto al consumo del nopal.

Beneficios:

- ❖ **Obesidad:** el nopal está relacionado con la reducción de peso; debido a que disminuye el apetito además de que la fibra ayuda a retardar la absorción de nutrimentos (Giga, 2005).
- ❖ **Diabetes e hiperglicemia:** el nopal incrementa los niveles y la sensibilidad a la insulina logrando estabilizar y regular el nivel de azúcar en sangre (Giga,2005).
- ❖ **Colesterol elevado:** el nopal evita que su absorción y su paso al torrente sanguíneo (García, Q., 2005).
- ❖ **ulceras gástricas:** las fibras y mucílagos controlan la producción de ácidos gástricos y protege mucosa gastrointestinal.

En los últimos años se ha aumentado el consumo de nopal debido a la gran publicidad que se le ha dado sobre los beneficios que en la salud es por eso que la industria alimentaria está generando un aumento en la elaboración de productos a base de esta cactácea, en las que se ha dado la venta y producción de pastillas, polvos, jugos, panes, galletas, tortillas, flanes de nopal, etc., generando mayor inquietud por parte de la población mexicana para la utilización de éste.

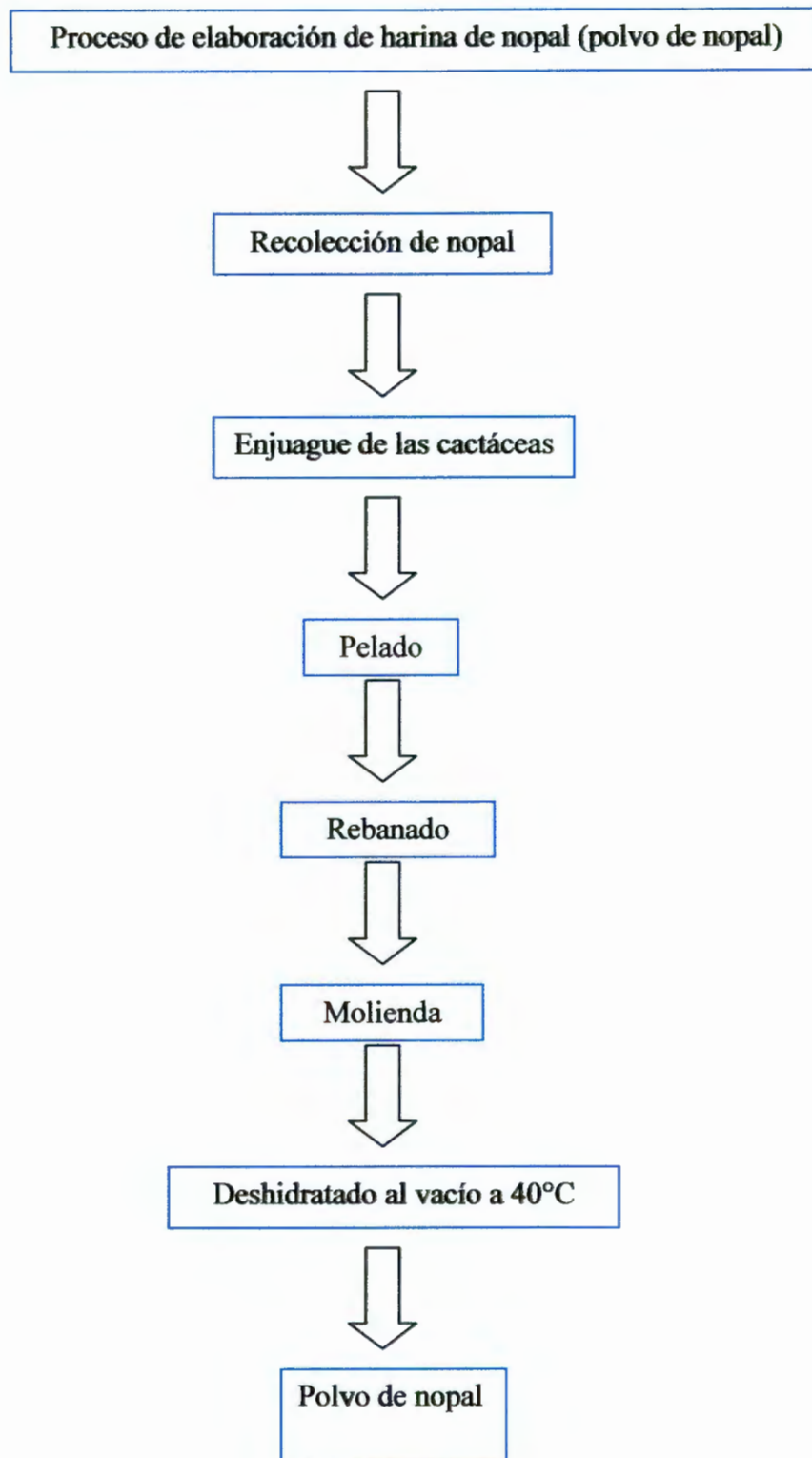
2.2 Harina de nopal

El nombre de harina de nopal se presenta después del proceso de deshidratación y molienda del mismo, obteniéndose así un polvo fino.

La harina de nopal empleada en esta investigación fue realizada por la técnica de vacío (figura 2.2.1), la cual muestra que no hay cambios en sus propiedades nutrimentales y ofrece una solución para el inconveniente del mucílago, así como el aumento de su vida de anaquel.

En la industria se ha utilizado la harina de nopal para la elaboración de cápsulas y pastilla con el objetivo de disminuir peso corporal, índice glucémico y colesterol elevado. La información que presenta la etiqueta del producto, presenta diferencias en cuanto a su composición y dosificación recomendada para su consumo. Rodríguez et al en el año 2003, realizaron un estudio microbiológico y bromatológico de cinco marcas comerciales que se distribuyen en el estado de Querétaro encontrando que no existe un control de calidad en la producción y que la harina de nopal deshidratado al vacío mantiene sus propiedades nutrimentales.

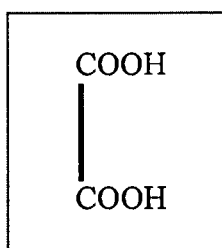
Figura No. 2.2.1: Técnica para la realización de harina de nopal



2.3 Oxalato

El oxalato es un anión del ácido oxálico (figura 2.3.1), miembro de los ácidos dibásicos que se encuentran en muchas plantas comunes (verduras de hoja verde).

Figura No. 2.3.1: Molécula del ácido oxálico



2.4 Ácido oxálico

El ácido oxálico es acumulado como un producto metabólico final en las plantas, comúnmente se encuentra unido al calcio para formar sales insolubles como es oxalato de calcio (N. sahin, 2006). se encuentran en el organismo, debido al consumo de vegetales (acelgas, espinacas), café, chocolate y té negro que son parte de la dieta diaria o producido naturalmente en el cuerpo cuando el ácido ascórbico y glicina son metabolizadas (K. Page, 2006). El ácido oxálico que es formado a partir de ácido ascórbico es depositado en las vacuolas (caliskan, 2000). El ácido oxálico y los cristales de oxalato fueron encontrados en todos los componentes de las plantas (hojas, tallos, flores, raíz) en cantidades variantes, también la distribución del oxalato en las plantas es heterogénea. La formación de oxalato de calcio es dada por el exceso de calcio y ácido oxálico en las plantas (caliskan, 2000).

2.5 Oxalato de calcio

El oxalato es un producto final del metabolismo de las plantas, la distribución de éstos es heterogénea, aunque se ha mostrado que el contenido en el tallo de la planta es bajo. La disminución de oxalatos en las plantas puede ser ocasionada por el paso de los vegetales en agua y su cocimiento. La fermentación también genera un decremento de oxalatos. (Noonan, 1999).

Mann en 1989 demostró que el crecimiento de los cristales es altamente controlado por procesos intracelulares. Los depósitos de cristales prevalecen con cristales idioblastos y la cantidad depende de la cantidad de calcio en el suelo.

Los oxalatos de calcio ya cristalizados son insolubles y se almacenan en los tallos viejos de las cactáceas; constituyen hasta el 85% de las cenizas (Granados, 2003)

El contenido de oxalato de calcio es una limitante para que el calcio en nopal pueda ser utilizado casi en su totalidad. Es bien conocido que la ingestión de alimentos que contienen oxalato ocasionan efectos corrosivos, irritación y envenenamiento al sistema digestivo, además interfiere con la biodisponibilidad de calcio reduciendo la absorción de dicho mineral así como de Magnesio.

La función principal de los cristales de oxalato de calcio es la elevada capacidad de para atrapar el calcio presente en las verduras, la cual es una función fisiológica normal. La formación de Oxalato de calcio es un proceso básico de las plantas, y se localizan en depósitos extracelulares e intracelulares. El porcentaje de acumulación de estos cristales en las plantas es de 3 a 80% en su peso seco los cuales toman un 90% del Calcio presente. La cantidad, distribución y morfología de estos cristales, así como forma y tamaño varían dependiendo de factores ambientales y genéticos, existen numerosas hipótesis respecto a la función de los cristales de oxalato de calcio en las plantas. Estas funciones

incluyen regulación de calcio, protección a la planta, destoxificación, balance iónico y reflexión y recolección de la luz. (Vincent et al, 2005).

Morfología de oxalato

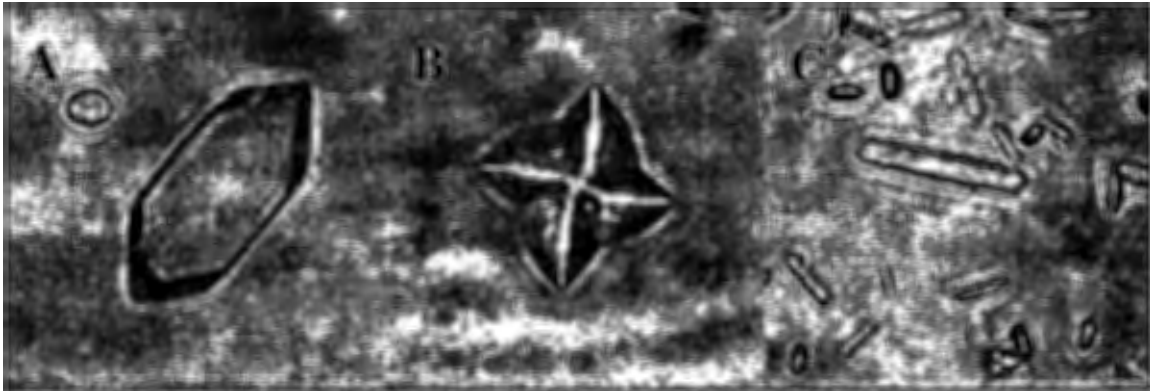
El oxalato de calcio se presenta en dos formas principales de hidratación:

- ❖ *Monohidratado* ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) también conocido como *wewellite*. Es caracterizado por dos 3 ejes oblicuos sobrepuestos; dos iguales y uno desigual. Es el más termodinámicamente estable y el menos soluble, se muestran en las figuras 2.5.1 y 2.5.2 (Thongboonkerd, 2006).
- ❖ *Dihidratado* ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ó *weddellite*. Es cristalizado en forma tetragonal o druses (Figura 3) (Thongboonkerd, 2006).
- ❖ *Truhidratado* ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) Tiene forma triclinica, generando todos sus ejes desiguales y nunca forman ángulos rectos, ver Figura 3.

Estas tres formas de hidratación se caracterizan por sus capacidades de unirse con macromoléculas (proteínas, Glicoproteínas y glicosaminoglicanos) (Thongboonkerd, 2006).

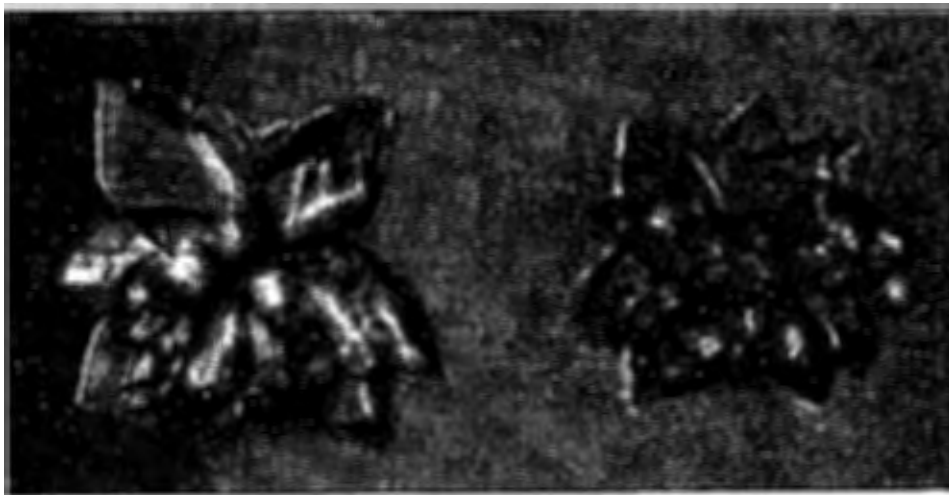
El oxalato puede ser transformado de la forma dihidratada y trihidratada a monohidratada. Por el contrario la forma monohidratada se transforma en dihidratada (Thongboonkerd, 2006).

Figura No. 2.5.1: Cristales de oxalato A) monohidratado, B) dihidratado y C) trihidratado.



Fuente: V. Thongboonkerd, 2006.

Figura No. 2.5.2: Aglomerados de cristales de oxalato monohidratado.

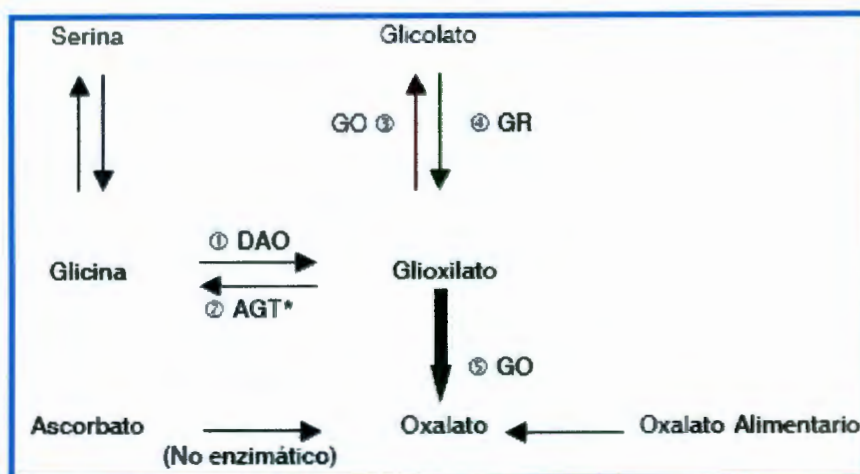


Fuente: Thongboonkerd, 2006.

Síntesis del oxalato en la planta

El glioxilato, glicolato y ácido ascórbico son los precursores de oxalato en las plantas, de los cuales el glioxilato es el más eficiente (figura 2.5.3). La glioxilato oxidasa, oxaloacetasa y oxalato descarboxilasa ayudan a sintetizar y degradar el oxalato, En la raíz no hay dichas enzimas por lo que los cristales de oxalato llegan ahí por transporte (Hitomi, 1992). La concentración de estos cristales es mayor en plantas con exposición a la luz constante que en las que se desarrollan en la oscuridad (Kitchen 1964).

Figura No. 2.5.3: Vía metabólica de la producción de oxalato

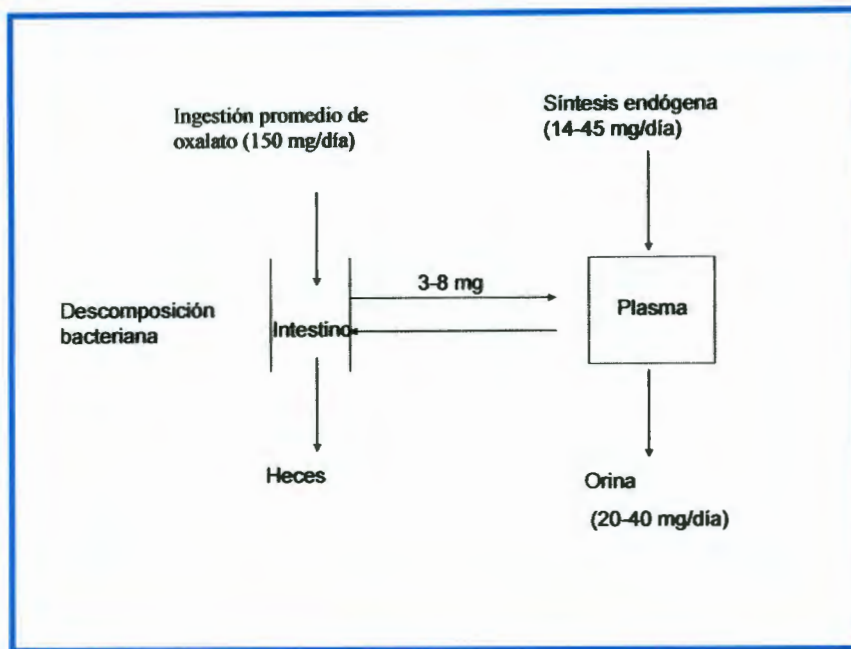


Metabolismo del oxalato en mamíferos

El oxalato se absorbe en el organismo por difusión pasiva en el colon. La absorción de oxalatos depende del contenido de grasa en los alimentos que los contienen, ya que la grasa se une al calcio en el tracto gastrointestinal y así menos calcio puede ser ligado al ácido oxálico. La disponibilidad también cambia dependiendo de la dieta de cada persona. La absorción es de 2-5% del total de oxalato de calcio consumido. La formación del oxalato (figura 2.5.4) en el

organismo se realiza por el metabolismo de ascorbato, glioxilato y glicina. Del oxalato urinario proviene un 30-50% del ascorbato, 40% de la glicina y 6-33% de caminos metabólicos de menor importancia, solo el $\leq 20\%$ es responsabilidad de los alimentos. (Martín 2000).

Figura No. 2.5.4: Formación del oxalato.



Contenido de oxalato en alimentos

Los cristales de oxalato de calcio son encontrados principalmente en verduras tales como espinacas, acelgas y ruibarbo así como nueces, chocolate, té, salvado, almendras, cacahuates y fresas, en leguminosas comunes tales como alubias, garbanzos y judías pintas. De hecho, la cantidad de calcio que se asimila de estas legumbres es la mitad de la que se asimila de las hortalizas de hoja verde. En la tabla 2.5.1 se muestra el contenido de oxalato de calcio de algunos alimentos (Kumer et al, 2004).

Tabla No.2.5.1: Contenido de oxalato de calcio en alimentos

Alimento	mg de oxalato/100 g
Espinaca cocida	750
Betarraga cocida	675
Acelga	645
Ruibarbo en lata	600
Germen de trigo	299
Mani tostado	187
Chocolate	117

Efectos en el organismo

La cantidad del oxalato en la planta depende de cada especie y puede ser transmitida al ser humano por ingestión, inhalación, contacto con la piel y ojos. El oxalato de calcio puede ocasionar algunos efectos tóxicos en el organismo con una ingestión diaria de 2-5 g. (Noonan, 1999) Dichos efectos son causados por ácido oxálico los cuales pueden ser divididos en tres fases:

- 1.- Corrosión local sobre el aparato gastrointestinal, por ejemplo: Vómito y diarrea.
- 2.- Efectos sobre el sistema nervioso, colapso cardiovascular, bajo nivel de coagulación de la sangre.
- 3.- Insuficiencia renal causada por acción tóxica directa de ácido oxálico o deposición de oxalato de calcio (B. Libert et al, 1987)

Estas tres fases presentan los siguientes síntomas: pequeñas pero múltiples hemorragias, congestión, esclerosis. También se puede encontrar un edema cerebral. También se pueden presentar bajos niveles de calcio en plasma

lo que puede ocasionar convulsiones, oxalato elevado en plasma, e interferencia en el metabolismo de carbohidratos. (Page, 2006)

En altas concentraciones, el ácido oxálico causa envenenamiento (muerte) en humanos y animales. En cantidades pequeñas, el ácido oxálico causa varios desordenes patológicos como: hiperoxaluria, deficiencia de piridoxina, cardiopatías, desordenes en la conducta cardiaca, cálculos renales. La agregación de sales de oxalato de calcio y fosfato pueden causar la formación de depósitos minerales en el riñón y tracto urinario (urolitiasis) (Sidhu, 1997). Se necesitan concentraciones muy elevadas para causar una toxicidad (consumido en su forma más pura). Las implicaciones mas graves pueden ser: perforación de boca y garganta además de dolor del tracto intestinal (Page, 2006). cuando es inhalado en altos niveles puede causar dificultad para respirar y perdida de la conciencia, si existe contacto con la piel y ojos puede llevar a corrosión y molestias dermatológicas, pudiendo crear pequeñas úlceras, también se puede generar un estroma corneal (Page, 2006).

Además de todos los signos y síntomas que ya presentamos es importante comentar que también podemos encontrar hiperoxaluria la cual es caracterizada por nefrocalcionosis y nefrolitiasis.

Hipercalcemia. Es la excreción de más de 4 mg/kg de calcio en orina de 24 hrs. Esta puede ser ocasionada por un incremento en la absorción intestinal de calcio, excesiva movilización de los depósitos óseos, un defecto en la capacidad de reabsorción tubular de calcio. Es la causante principal de la formación de cálculos de calcio debido a la disminución de inhibidores de la cristalización (Martini et al, 2000).

Tipos de cálculos renales (tabla 2.5.2): los cálculos de oxalato de calcio son los mas predominantes que pueden estar formados únicamente por dicha sal o unido a fosfato de calcio (Mahan et al, 1998), la cristalización de oxalato de calcio se debe a la excesiva concentración de promotores de cristalización o baja en inhibidores de este en orina.

Nefrolitiasis. Es generada por una elevada concentración de solutos en orina o por una disminución de sustancias inhibidoras de cristalización. Los cálculos renales son cristales mezclados con una matriz proteica, causante de la obstrucción del flujo de orina en el sistema colector del riñón, uréteres o uretra (Martini et al, 2000). El 80% de los cálculos renales son formados por oxalato de calcio el cual es insoluble en orina. Se puede ocasionar obstrucción tubular renal, necrosis y hemorragias lo que conlleva a anuria, uremia y disturbios de electrolitos. Los síntomas ocasionados son: erosión del tejido renal, hematuria y dolor debido al desplazamiento del cálculo del riñón hacia el sistema pielocalicial, uréteres o uretra, o por una obstrucción. La formación de cálculos está ligada con el aumento de solutos (oxalato, calcio, fosfatos) y disminución de volumen urinario (Rodríguez, 2003), bajo o alto pH, magnesio y citrato. La excreción normal de oxalatos es entre 40-50 mg/día (Noonan, 1999).

Los tipos de cálculos (tabla 2.5.2) incluyen los cálculos de oxalato de calcio. Estos cálculos son los más predominantes pueden estar formados únicamente por dicha sal o unido a fosfato de calcio (Mahan et al, 1998). La cristalización de oxalato de calcio se debe a la excesiva concentración de promotores de cristalización o baja en inhibidores de este en orina (Martini et al, 2000).

Tabla No. 2.5.2: Causas y composición de los cálculos renales.

Causas patogénicas	Composición del calculo
Hipercalcemia Hiperoxaluria Hiperuricosuria Hipocitraturia Hiperparatiroidismo 1°	Oxalato de calcio
Cistinuria	Cistina
Cálculos infecciosos	Struvita
pH de orina bajo Hiperuricosuria	Acido úrico
Acidosis tubular renal	Fosfato de calcio

(Martini, 2000)

Hiperoxaluria. La podemos encontrar en dos tipos distintos: Hiperoxaluria primaria tipo 1: Es una enfermedad metabólica hereditaria y se caracteriza por su excesiva síntesis de oxalato y glicolato, debido a la ineficiente actividad de la enzima piroxisomal alanita: glioxilato aminotransferasa. (Esteban, 1996). Esta enfermedad puede culminar en insuficiencia renal progresiva. (Mahan et al, 1998),

Hiperoxaluria entérica: es a consecuencia de la absorción excesiva de oxalato de calcio y está presente principalmente en personas con mala absorción a nivel de intestino delgado (Coe et al, 1992).

Degradación de oxalato de calcio

El oxalato de calcio puede ser destruidos por bacterias aeróbicas como *oxalacticus*. La degradación aeróbica de oxalato guía a la formación de iones carbonato, los cuales podrían reaccionar con liberación de calcio. La degradación de oxalato resulta con un incremento de pH el cual lleva a una precipitación de carbonato y calcio (Page, 2006).

2.6 Calcio

Es uno de los minerales más abundantes del cuerpo humano necesario para el crecimiento y desarrollo adecuado del esqueleto, y representa un 2% del peso corporal total. El total de Calcio que se encuentra en el organismo, el 99% está presente en huesos y dientes y el restante en sangre y líquidos extracelulares (Mahan et al, 1998), de ahí la importancia de un adecuado consumo de calcio para mantener al máximo el potencial de los huesos durante la etapa adulta y minimizar la pérdida de masa ósea durante la vejez. (National Institutes of Health, 1994). Además de las múltiples funciones ya mencionadas. Actúa también como estabilizador de membranas celulares, liberación de neurotransmisores en las uniones sinápticas, transmisión nerviosa y regulación de los latidos de corazón, tono muscular y controla la irritabilidad nerviosa.

El calcio en forma hidrosoluble es absorbido en el duodeno en un medio ácido, del cual se absorbe solo un 20 o 30%. Esta absorción puede ser por un sistema de transporte en el duodeno y el yeyuno proximal, es activado y controlado por la acción de la vitamina D, la cual aumenta la absorción de calcio y estimula la actividad de la enzima fosfatasa alcalina (Mahan et al, 1998).

La absorción de calcio se ve favorecida durante el crecimiento, embarazo, lactancia y ejercicio. El consumo de vitamina D es parte fundamental de la absorción de este.

La absorción de calcio se ve afectada por una deficiencia de vitamina D, presencia de ácido oxálico en los alimentos, consumo excesivo de fibra, fósforo y magnesio (Mahan et al, 1998).

Los requerimientos varían de acuerdo a la etapa de madurez en que se encuentre la persona, los cuales aumentan en la etapa de rápido crecimiento. Se recomiendan de 900 a 1200 mg para adolescentes y jóvenes.

El calcio se encuentra en mayor cantidad en vegetales de hoja verde oscura, sardinas, almejas, ostiones, salmón, frijol de soya, tomando en cuenta que los de mayor biodisponibilidad son los productos lácteos.

La deficiencia de calcio se puede presentar por bajo consumo o por una mala absorción, lo que puede ocasionar deformidades óseas (osteoporosis), a través de un trastorno metabólico en el que la cantidad ósea y la fuerza esquelética se reducen. Se pueden presentar 2 tipos de osteoporosis: 1) posmenopáusica de tipo I: la cual afecta el hueso trabecular. Las fracturas son dolorosas, progresivas y deformantes de las vértebras lumbares. 2) osteoporosis de tipo II: Donde los huesos afectados son cortical y trabecular. Existe una disminución de la estatura y deformidad raquídea. La osteomalacia: es ocasionada por una deficiencia de Vitamina D, por lo tanto hay una disminución en la absorción de calcio (Mahan et al, 1998).

2.7 Fósforo

Es el segundo macroelemento presente en el cuerpo humano, El 80% del fósforo se encuentra presente en forma de cristales de fosfato de calcio en huesos y dientes el resto esta distribuido en células del cuerpo y liquido extracelular (Mahan et al, 1998). El fosfato es absorbido en forma inorgánica. El fosfato orgánico es hidrolizado en la luz del intestino y se libera como fosfato inorgánico por medio de la acción de la fosfatasa alcalina. El pH también influye en la biodisponibilidad del fósforo, el medio ácido del duodeno es muy importante para la absorción de este mineral. Es consumido en los vegetales en forma de fitato lo que genera una absorción pobre de este mineral y es necesaria la enzima fitasa para hacer la separación del fitato, los seres humanos no tienen esta enzima, pero las bacterias intestinales presentan alguna enzima para hidrolizar una porción del fósforo (Mahan et al, 1998). Su principal vía de eliminación es el riñón.

Existe una relación entre la cantidad de proteínas y la cantidad de fósforo presentes en los alimentos. El fósforo se encuentra principalmente en la trucha, mojarra, leche de vaca, carne de res, carne de pollo, tortilla de maíz, pastas, alubias, garbanzos, chicharos (Muñoz 2002).

2.8 Relación calcio/fósforo

La relación Ca/P es muy importante para una buena absorción de calcio. Debe haber un equilibrio entre el contenido de calcio consumido y el de fósforo para poder mantener una concentración adecuada de calcio en el organismo. Whiting y colaboradores (2002) demostraron que la relación Ca/P ideal en la dieta de los humanos es de 1/1.5, para mantener la densidad mineral ósea en los varones adultos

Se sabe que estos minerales son almacenados en el hueso en forma amorfa (sales no cristalinas) o como hidroxapatita (sales cristalinas), donde las condiciones nutricionales del cuerpo son las responsables de la proporción de este almacenamiento y la relación Ca/P varía según su peso corporal entre 1.3 y 2.0 (Prentice, 1994).

Una baja ingestión de calcio y elevada de fósforo ocasionan un deficiente desarrollo deficiente de la masa ósea (Anderson, 1996), Anderson y Draper (1972) recomendaron una ingesta de Ca/P en la dieta mayor a 1:1 para que el calcio pueda ser asimilado y evitar de esta manera la pérdida de masa ósea. En el trabajo publicado por Calvo y Park (1996) también mencionan que el fósforo podría alterar de manera significativa el metabolismo del calcio.

3. HIPÓTESIS

Algunas de las propiedades fisico-químicas del nopal *Opuntia Streptacantha Lemaire* (OSL) como son el contenido de calcio, fósforo y la presencia de oxalatos de calcio se modifica en función de la etapa de desarrollo de la cactácea, por lo tanto tienen una dependencia temporal.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Determinar algunas propiedades fisico-químicas del nopal del nopal OSL (*Opuntia Streptacantha Lemaire*) en función de su etapa de desarrollo, a fin de establecer las etapas en donde las características nutrimentales de estas cactáceas sean las más adecuadas para el consumo humano.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar las características físicas del nopal OSL en diferentes etapas de crecimiento, considerando su peso total, longitud, ancho y grosor.
- Elaborar harinas de nopal deshidratado de la variedad de interés a partir de las cactáceas en 5 diferentes etapas de maduración (60, 80, 100, 150 y 200 g) para obtener las muestras experimentales.
- Estudiar mediante microscopia electrónica de barrido la morfología y la distribución de los oxalatos de calcio presentes en el nopal en función de la etapa de madurez.

- Medir el contenido de oxalatos de calcio de la harina de nopal OSL por medio de Espectrofotometría de Absorción Atómica.
- Determinar el contenido de calcio en nopal (OSL) en función de su maduración empleando pencas de nopal con un peso de 60, 80, 100, 150 y 200 g a través de Espectrofotometría de Absorción Atómica.
- Determinar el contenido de fósforo en nopal (OSL) en función de la maduración del mismo con peso de 60, 80, 100, 150 y 200 g por el método de espectrofotometría de absorción de UV vis.

5. METODOLOGÍA

Se utilizaron pencas del nopal orgánico de la variedad *opuntia steptacantha lemaire* orgánico el cual fue sembrado en la comunidad de cerritos, Tequisquiapan, Qro. en parcelas de 3x2 m, empleando condiciones de humedad controladas. El monitoreo del crecimiento de las pencas de nopal se realizó durante un periodo de 2 meses, para determinar su peso equivalente a días de crecimiento.

Se seleccionaron cinco diferentes etapas de desarrollo del nopal OSL comprendiendo un peso de 60, 80, 100, 150 y 200 g como factor determinante de su etapa de madurez, los son recolectados en el mes de noviembre (otoño) del 2005 a las 6:00 pm. Las pencas Fueron obtenidas de la misma parcela para estandarizar las muestras obtenidas y reducir el error experimental en cuanto al contenido de minerales por las variaciones que pudieran presentar las características del suelo.

5.1 Caracterización física del nopal.

Las pencas de nopal OSL se clasificaron de acuerdo a su peso empleando una báscula (Tor Rey), posteriormente se realizó la medición del largo, ancho y grosor del nopal en sus 5 etapas diferentes de maduración con un micrómetro digital Mitutoyo U.S. Pat 4743902, No. 293-761-30 excluyendo cualquier nopal con algún daño físico.

5.2 Elaboración de harina de nopal OSL

El nopal previamente seleccionado se colocó en un recipiente con dos litros de agua durante quince minutos, para llevar a cabo la limpieza y eliminación de espinas, colocando nuevamente en un recipiente con agua para eliminar residuos de espinas; se cortaron en capas delgadas (500 micras), y se distribuyó en charolas de acero inoxidable. Se dejó secar en un horno de vacío durante 15 horas a 40 °C (figura No. 5.2.1). Finalmente se realizó la pulverización de nopal por medio de un molino pulvex 200, obteniendo la harina de nopal OSL.

Figura No. 5.2.1: a) horno de vacío b) nopal rebanado



5.3 Distribución y morfología de oxalatos de calcio presentes en el nopal OSL mediante microscopia electrónica de barrido (MEB)

Esta determinación se obtuvo a partir del nopal fraccionándolo en cuatro secciones las cuales fueron denominadas A, B, C y D (figura 5.3.1). Se sustrajo una capa delgada de cada una de las secciones, misma que fue colocada en el horno de vacío y se dejó secar a temperatura ambiente durante toda la noche.

Posteriormente se colocó un fragmento de la muestra sobre la superficie de un porta- muestra cilíndrico de bronce, seguido de un depósito superficial de oro para obtener conductividad.

En seguida la muestra se introdujo dentro de la cámara de observación y se procedió a la obtención de las imágenes en un microscopio electrónico de barrido (SEM) modelo 316603 utilizando el software Spectrometer Genessi 2PC (figura 5.3.2).

Figura No.5.3.1: Fracciones de nopal observadas en MEB

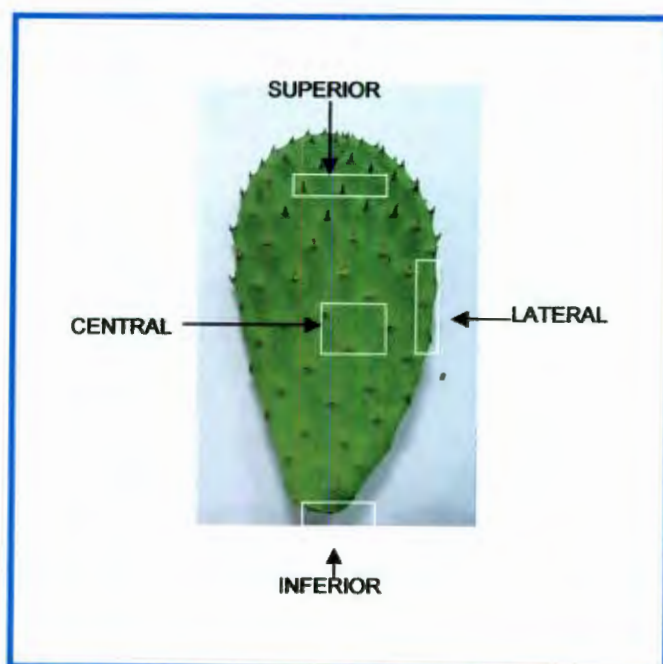


Figura No.5.3.2: Microscopio electrónico de barrido.



5.4 Determinación del contenido de oxalatos de calcio en harina de nopal OSL mediante espectrofotometría de absorción atómica

La determinación de contenido de oxalatos de calcio se realizó por medio del espectrómetro de absorción atómica (AAAnalyst 300 Perkin Elmer, USA). Se pesó un gramo de muestra y se analizó de acuerdo al método oficial de la AOAC, número 974.24 (Anexo 2), al cual se le realizó una modificación en la última sección, en la técnica se indican dos centrifugaciones consecutivas empleando 20ml de líquido de lavado y la adición de 5ml de ácido sulfúrico. Se modificó realizando un solo centrifugado y la adición de 20 ml de ácido nítrico.

La muestra fue analizada con el método 968.08 de la AOAC

5.5 Contenido de calcio en la harina de nopal OSL

El análisis de calcio se realizó a partir de la técnica de espectrofotometría de absorción atómica, por el método 968.08 de la AOAC.

Se utilizaron 0.5 g de harina de nopal OSL el cual se mezcló con 10 ml de ácido nítrico y se mantuvo en el horno de microondas a 210 °C, con una temperatura estable durante 15 min. Después de 1 hora de enfriamiento la muestra se filtro y fue aforada a 50 ml con agua desionizada. Finalmente se obtuvo la concentración de calcio con una curva de calibración.

5.6 Contenido de fósforo en la harina de nopal OSL

Se utilizaron 2 g de muestra analizados por absorción espectroscópica de UV vis, mediante la técnica de la A.O.A.C. (2000) Official Methods of Analysis of AOAC International,* 17th, Official Methods 965.17th, Gaithersburg, MD, USA. (anexo 3), Para la determinación de contenido de fósforo

5.7 Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizo con el paquete estadístico ORIGIN en la versión 7.5, para analizar los resultados; sometidos a un análisis de varianza de una sola vía y la comparación de medias utilizando la prueba de Duncan con un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo de investigación se presentan en tres secciones. En la primera de ellas se discute lo relativo a los estudios relacionados con el análisis dimensional del nopal en las diferentes etapas de crecimiento que incluye: su peso, longitud, ancho y grosor. En la segunda se muestra la morfología y su distribución de los cristales de oxalatos en el nopal. En la tercera y última parte se muestra el contenido de oxalato de calcio, calcio y fósforo.

6.1 Caracterización física de nopal

La caracterización de física del nopal comprende los parámetros dimensionales peso, largo, ancho y grosor.

En la tabla 6.1.1, se presentan los valores promedio efectuados a 20 piezas de nopal, el peso sugiere la fisiología y tamaño de la variedad del nopal. Por otro lado, se puede notar que el crecimiento del nopal es de manera lineal hasta el momento de llegar a un peso de 150 g aproximadamente, ya que al alcanzar los 200 g observamos un estancamiento en el desarrollo de las dimensiones de ancho y largo de la muestra, podemos decir que su crecimiento comienza a establecerse en función al grosor del nopal. Estos parámetros fueron considerados por Villarreal, et al y en 1963, en donde se reportaron algunas características físicas (peso, largo y ancho) en seis especies de nopales (*Opuntia* spp). Sin embargo ellos no consideran el parámetro de grosor y en la literatura no existen reportes respecto a las dimensiones del nopal. Estos autores, encontraron que *Opuntia Streptacantha* en un peso promedio de 581 g, tiene un largo de 22 cm y un ancho 18.5 cm; estos resultados coinciden en que al incrementarse el peso después de 200 g, los parámetros de largo y ancho no tienen diferencias significativas.

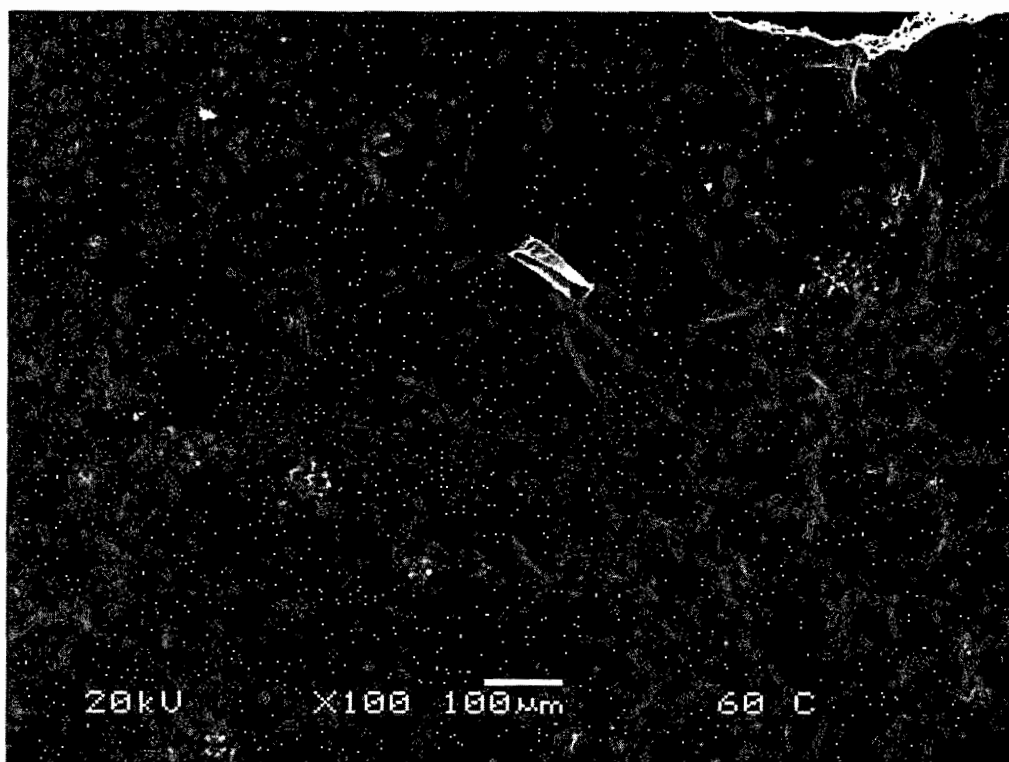
Tabla 6.1.1: Dimensiones del nopal OSL

.Nopal (g)	ANCHO (cm)	LARGO (cm)	GROSOR (mm)
60	8.335 ± 0.61	13.19 ± 1.08	7.6 ± 0.72
80	9.55 ± 0.62	15.05 ± 0.70	7.81 ± 0.69
100	10.52 ± 0.71	16.28 ± 1.14	8.3 ± 0.95
150	12.05 ± 0.80	19.60 ± 1.45	8.93 ± 0.56
200	11.18 ± 0.66	20.79 ± 1.70	8.92 ± 0.81

6.2 Morfología y distribución de oxalato en el nopal OSL

Desde el punto de vista estructural, con la finalidad de conocer la ubicación de los cristales de oxalato de calcio en el nopal, se realizó un análisis microscópico de la cutícula en la parte externa e interna (figura 6.2.1); en donde no se encontraron cristales.

Figura No. 6.2.1: Cutícula externa de nopal OSL



En la primera capa más externa de la cutícula no se encontraron cantidades significativas de cristales de oxalato de calcio, como se puede observar en la figura 6.2.2; esto fue observado en todos los estadios de desarrollo de la penca. Finalmente se examinó la parte central de del nopal (figura 6.2.3) encontrándose una mayor presencia de cristales de oxalato de calcio, Estos varían de manera significativa en todas las etapas de madurez (figura 6.2.4; A, B, C, D).

Figura 6.2.2: Cutícula interna de nopal OSL.

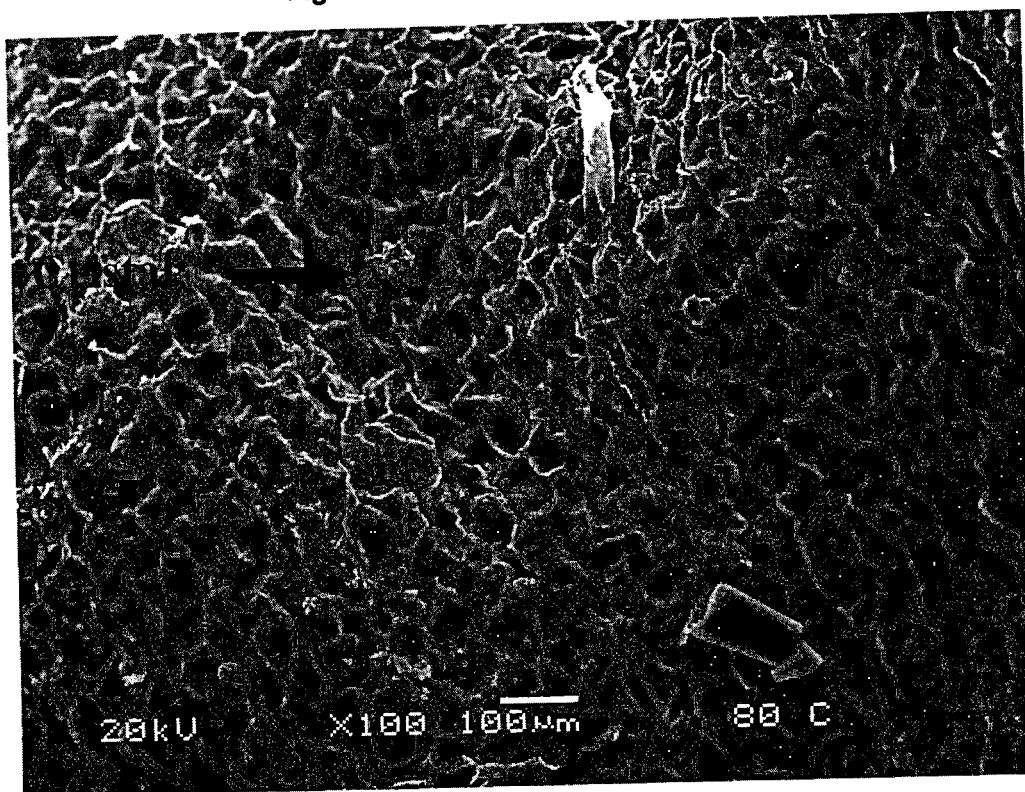
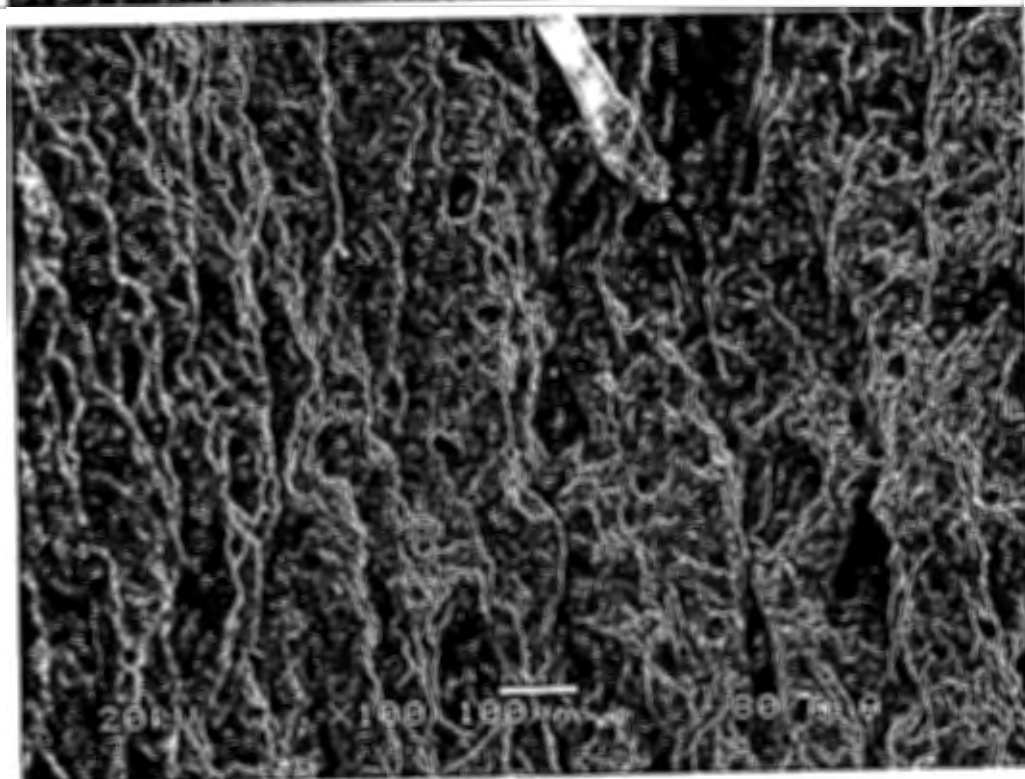
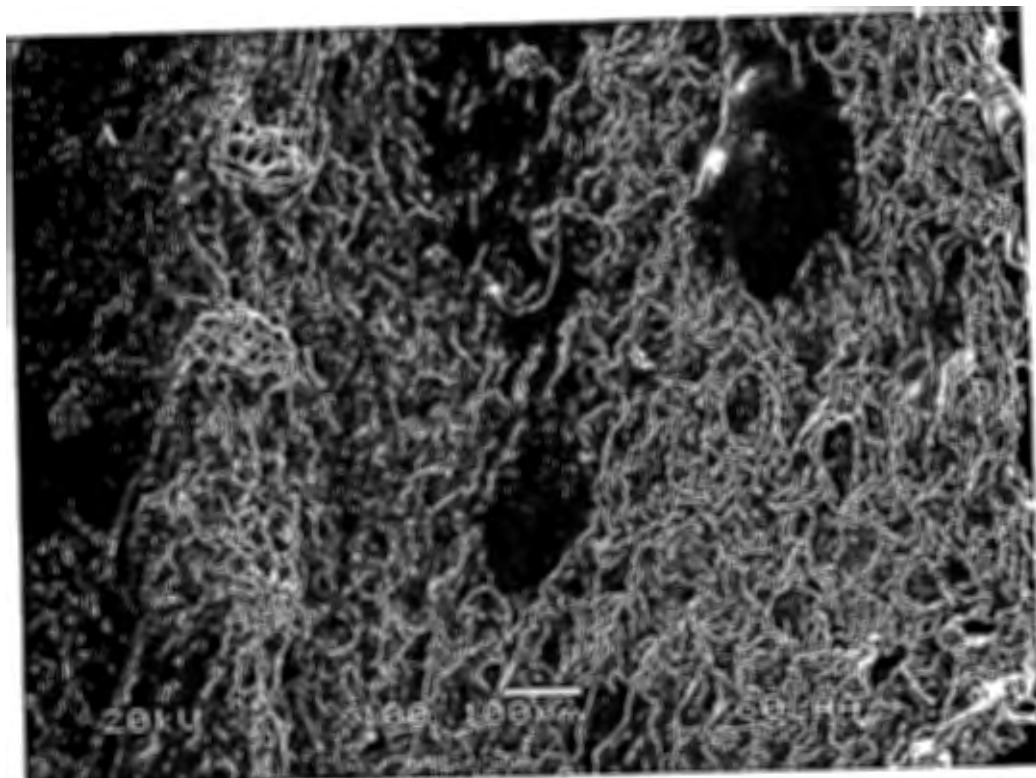
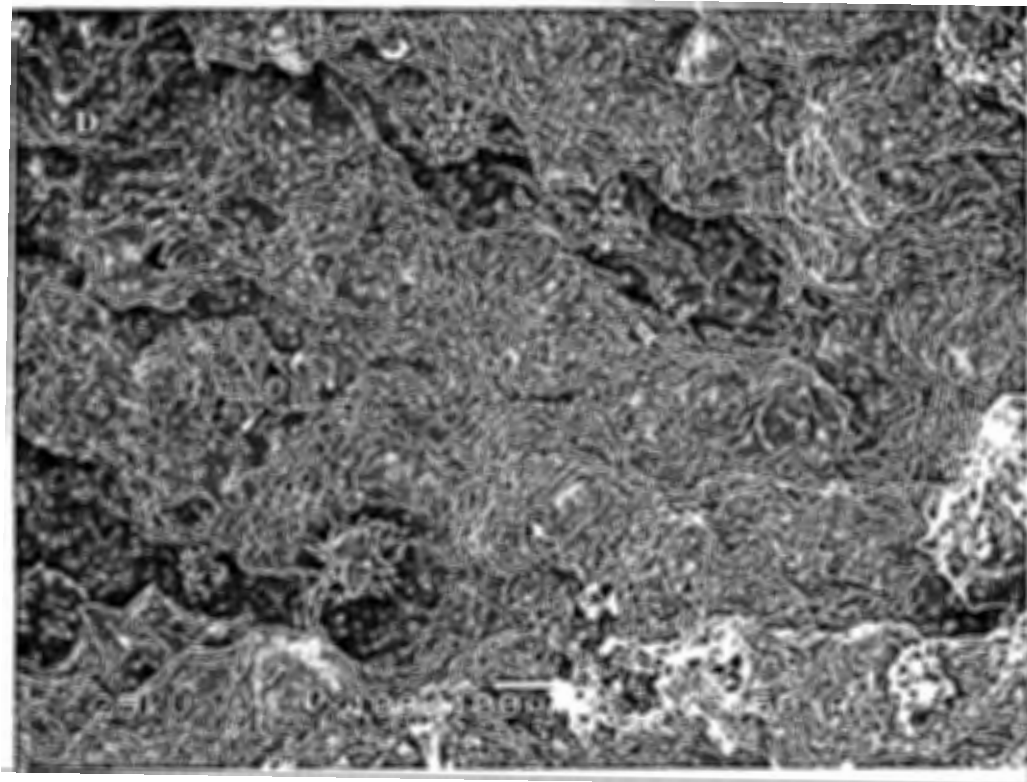
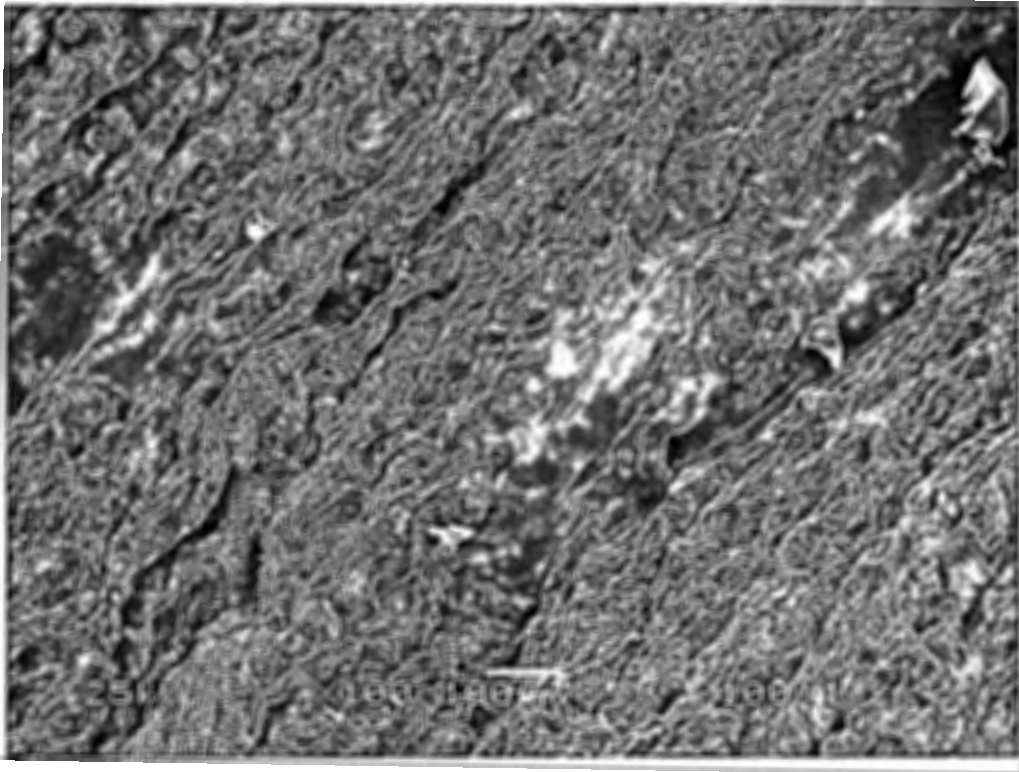
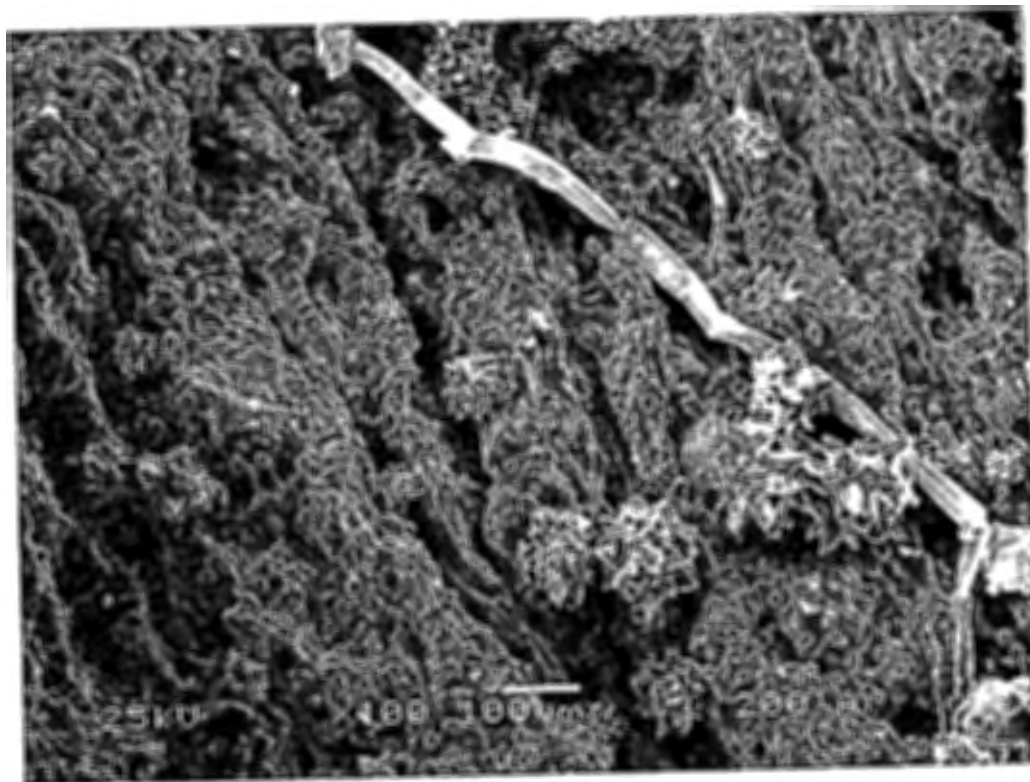


Figura No.6.2.3: Estructura interna del nopal OSL A) 60 g, b) 80 g, C) 100 g, D) 150 g y E) 200 g

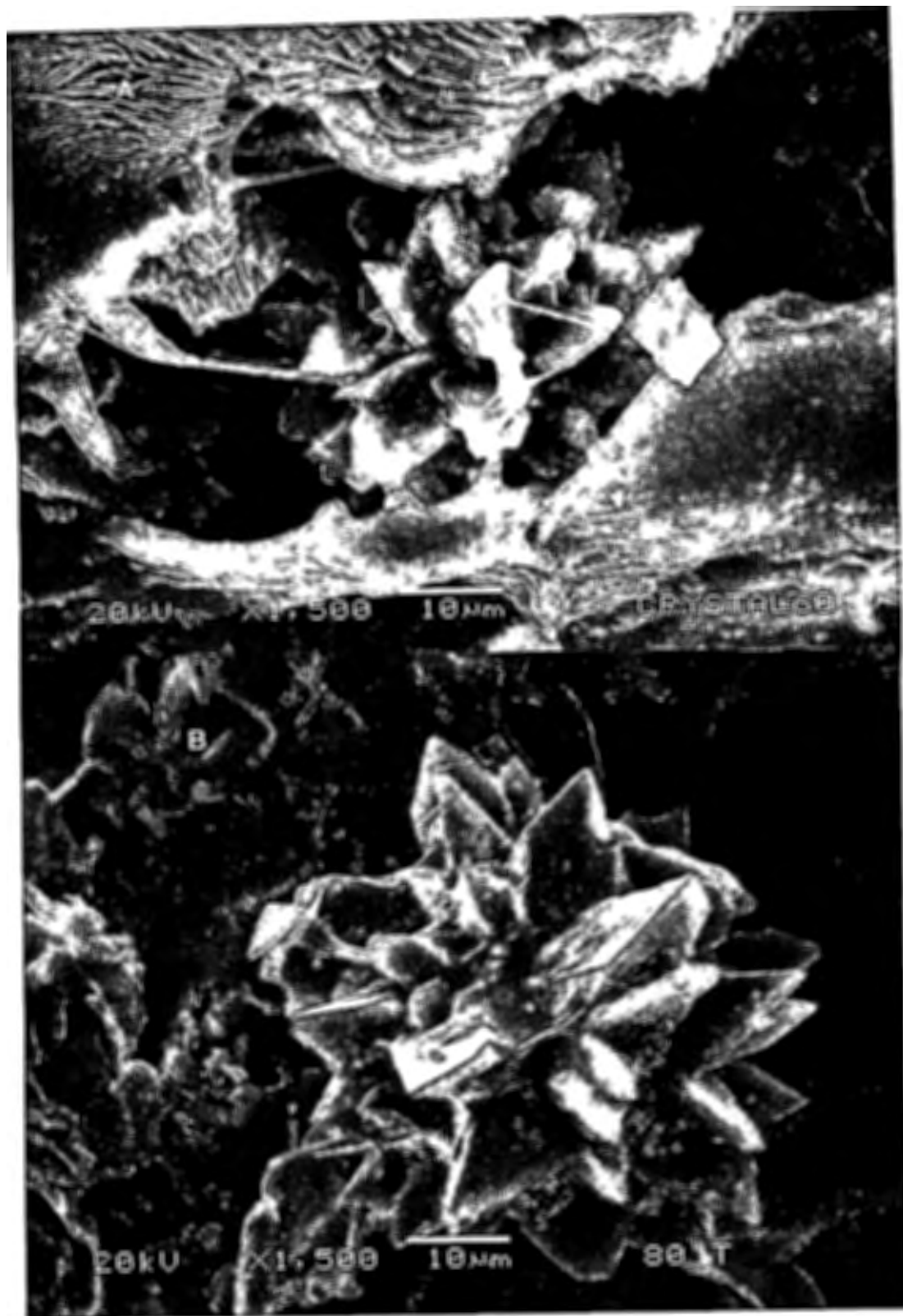




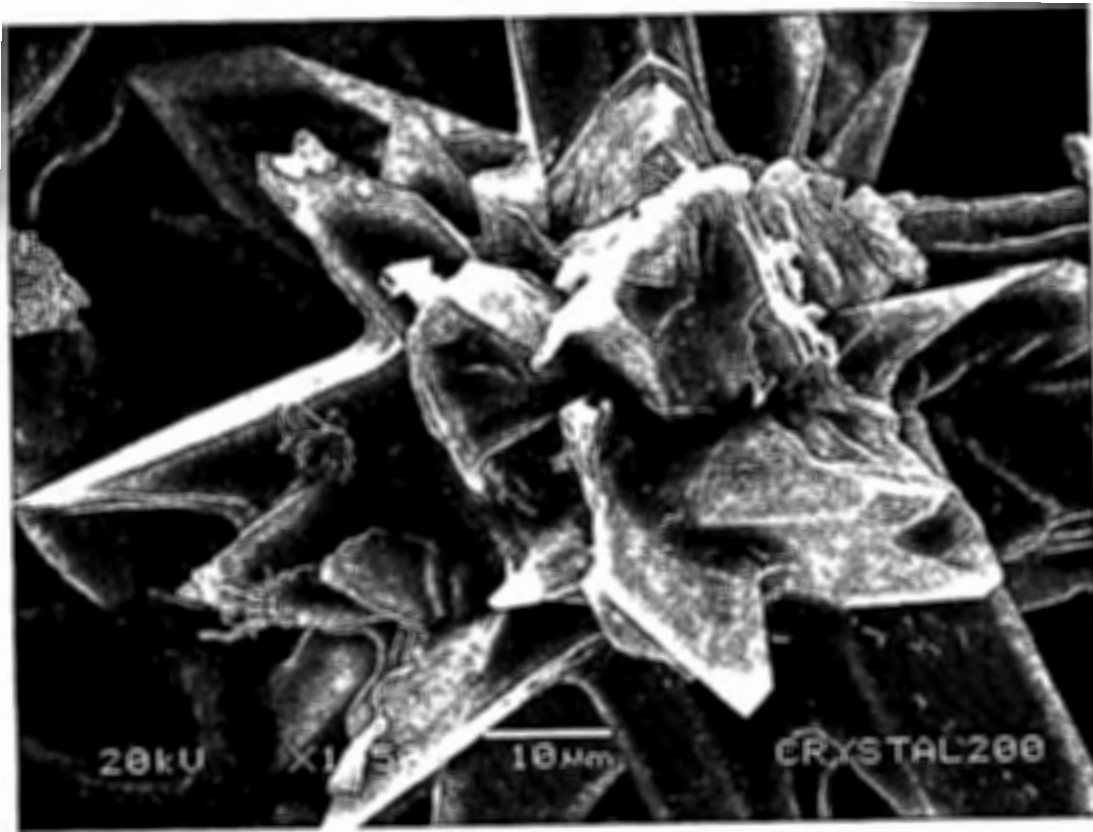


En 1979, Rivera y Smith mostraron que en el nopal *Opuntia* el oxalato de calcio se presenta como agregados de centenares de cristales. Mientras Thongboonkerd (2006) identificó la morfología y tipos de diversos cristales de oxalato de calcio. Considerando estos datos publicados por este autor, los cristales de oxalato de calcio en el nopal de estudio es del tipo monohidratado (whewellite) con una morfología de pequeños cristales individuales de punta aguda aglomerados en forma de prismático monoclinico hexagonal o dentrita. Como se puede observar en la figura 6.2.4, además se encontró un incremento en el tamaño de los cristales de oxalato de calcio en forma lineal en función de su maduración. La figura 6.2.4 (A) muestra un cristal de oxalato de calcio del nopal correspondiente a la penca de 60 g donde sus puntas son más pequeñas que el nopal 200 g (figura 6.2.4 E), y su tamaño es 2.171 veces mayor.

Figura No. 6.2.4: Oxalato de calcio en nopal a) 60 g, b) 80 g, c) 100 g, d) 150 g y E) 200 g

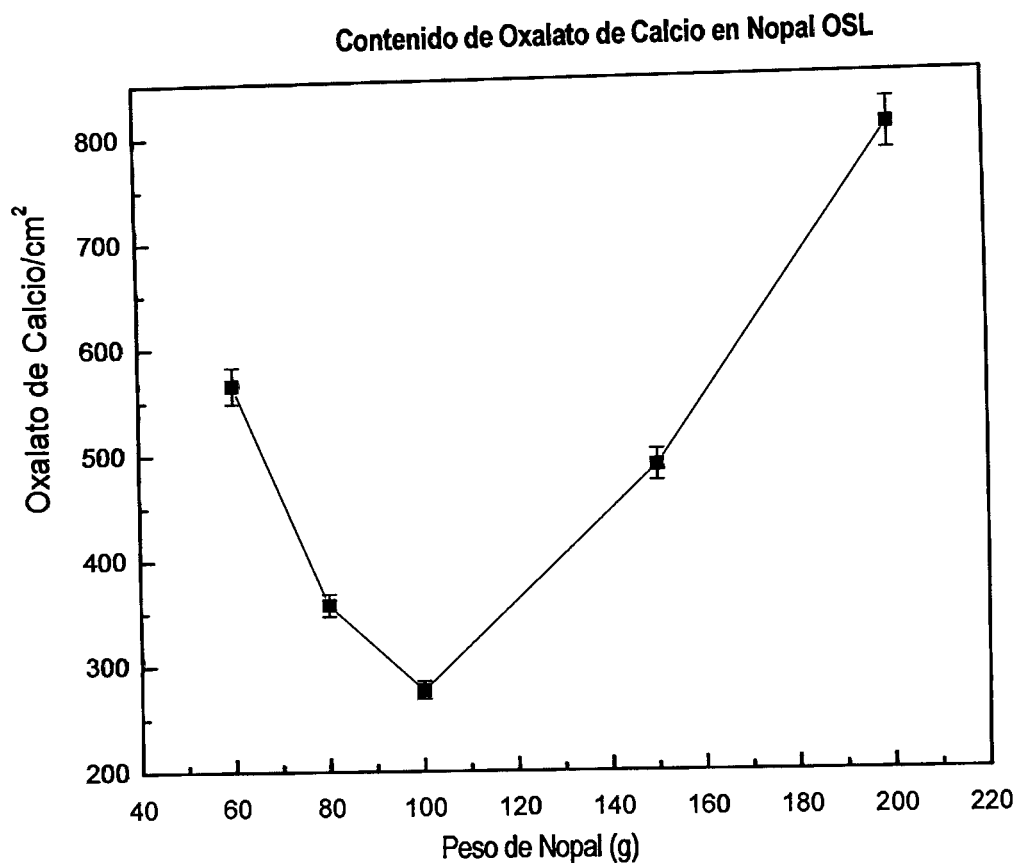






La cantidad de oxalato de calcio observada por SEM muestra como es que el nopal 100 g es el que tiene menor cantidad de oxalato de calcio por centímetro cuadrado; mientras el nopal 200 g es el que presenta mayor contenido (figura 6.2.5), esto se corrobora con los datos presentes en la tabla (6.2.1).

Figura No. 6.2.5: Número de cristales de oxalato de calcio por MEB



La distribución de oxalato de calcio en nopal OSL se realizó en cuatro zonas, como se muestra en la figura 6.2.6, encontrándose que el nopal 100 g tiene una distribución uniforme de cristales de calcio en toda la hoja, mientras que en el nopal 200 g el oxalato de calcio se localiza principalmente en la parte superior y lateral (figura 6.2.6).

Esta distribución no es al azar, es decir, se presenta en zonas específicas de la cactácea, principalmente donde dará continuidad otra hoja de nopal o fruto (figura 6.2.7).

Figura No. 6.2.6 Distribución de oxalato de calcio en nopal OSL

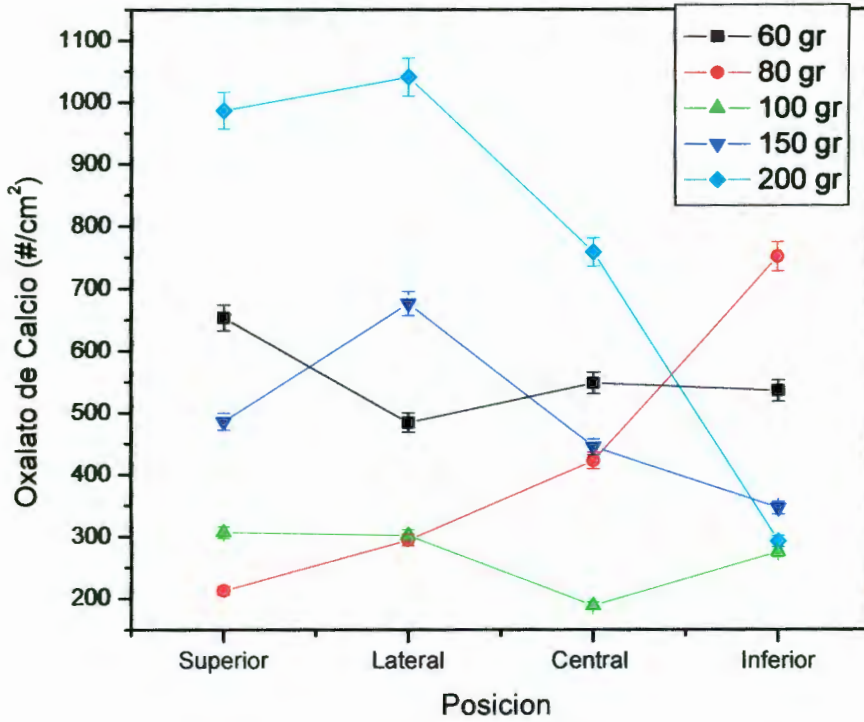
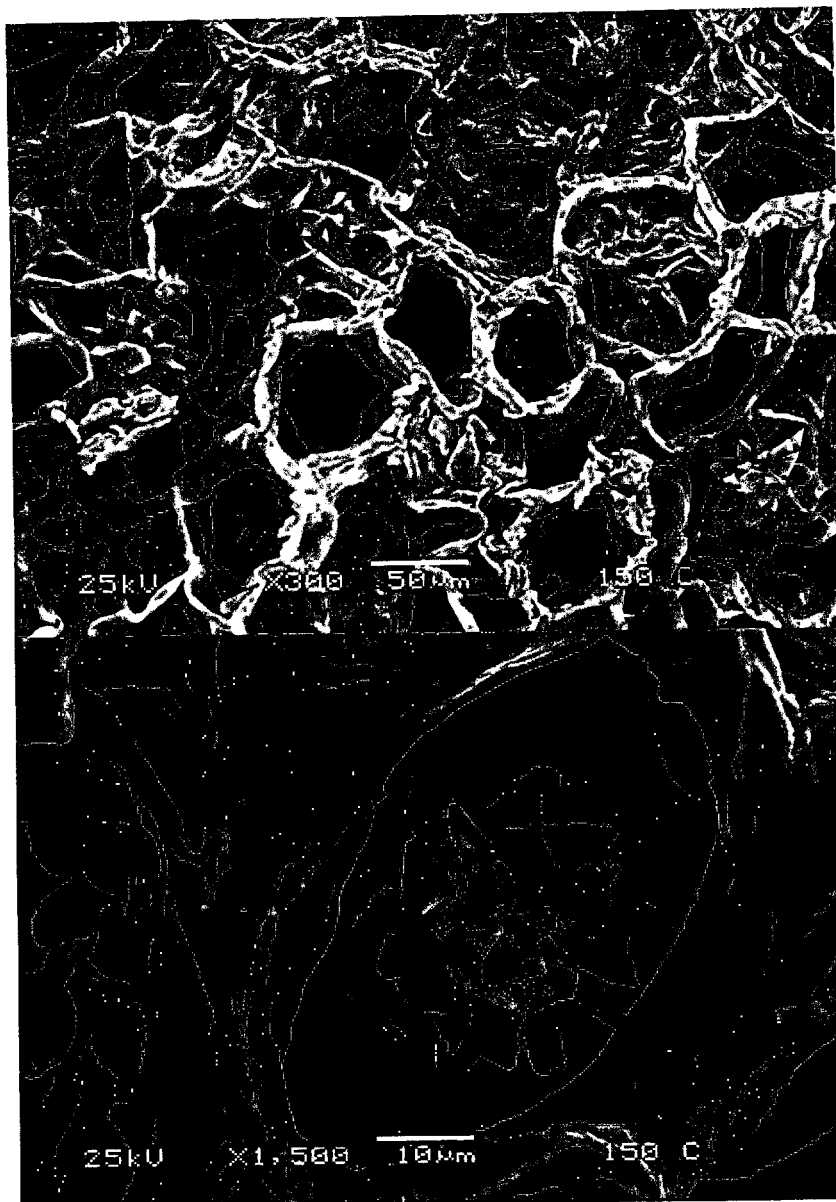


Figura No. 6.2.7: Distribución del oxalato de calcio en nopal OSL



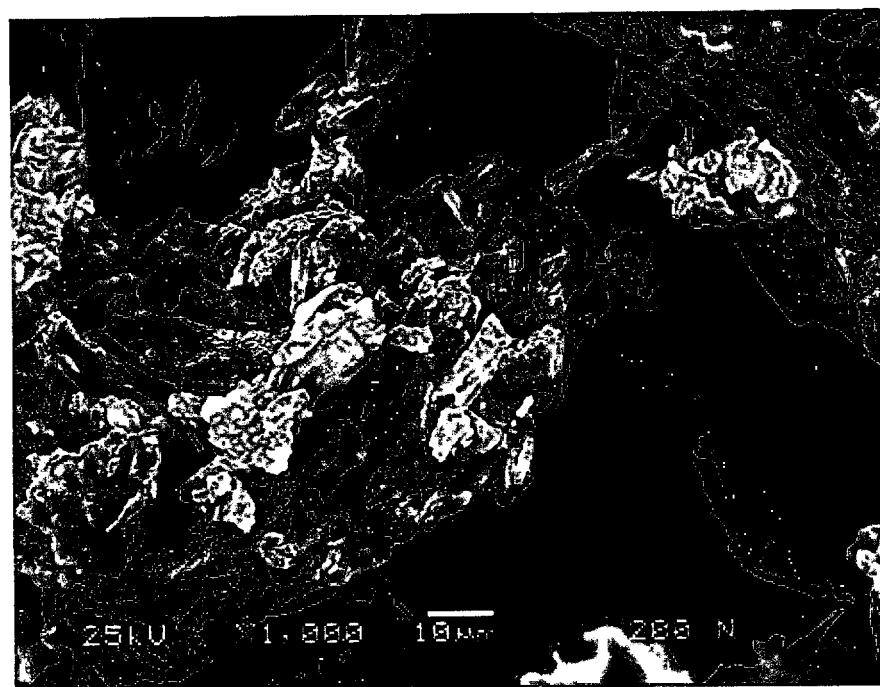
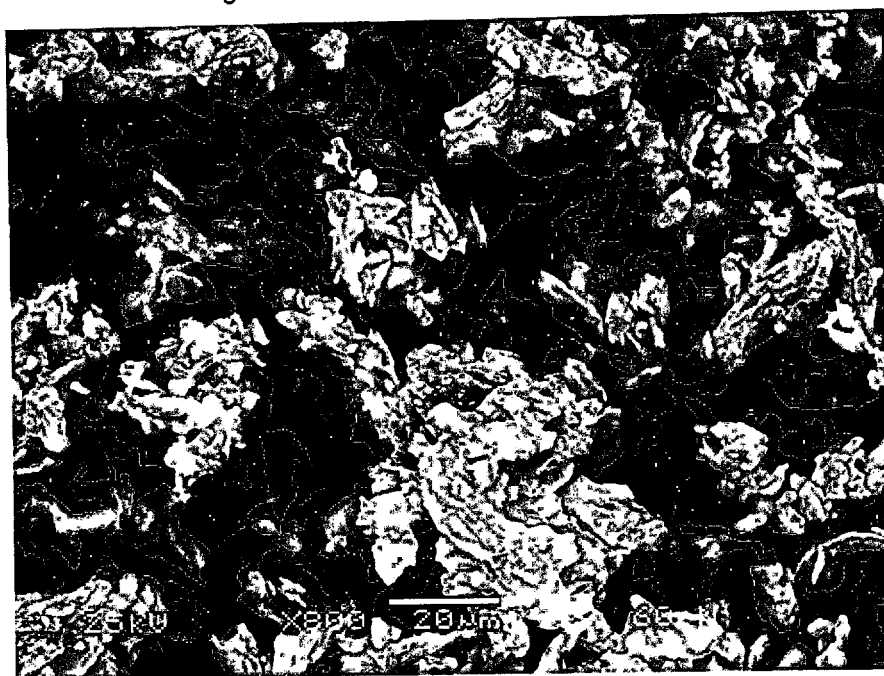
Los cristales de oxalato de calcio muestran morfologías específicas sugiriendo formación controlada genéticamente inducido por las plantas. Estos cristales son desarrollados típicamente dentro de una cámara en la vacuola llamada idioblasto en la célula, el micro-ambiente dentro de la cámara como es la macromolecula y el ion dentro de la solución va determinar la figura del cristal su tamaño y forma(Jáuregui y colaboradores, 2004). En la figura 6.2.8 el oxalato de calcio se observa en el interior de la vacuola y se encuentra en un solo cristal.

Figura No 6.2.8: Estructura interna del nopal OSL 150 g por SEM 300X y 1500X



También las harinas de nopal como producto final elaborada con pencas de nopal correspondiente a un peso de 60 y 200 g, se observaron en SEM (Figura 6.2.9) donde se visualiza una mezcla amorfa, en contraste con los cristales observados anteriormente en la figura 6.2.8 donde se muestra una morfología específica.

Figura 6.2.9 Harina de nopal OSL 60 y 200 g



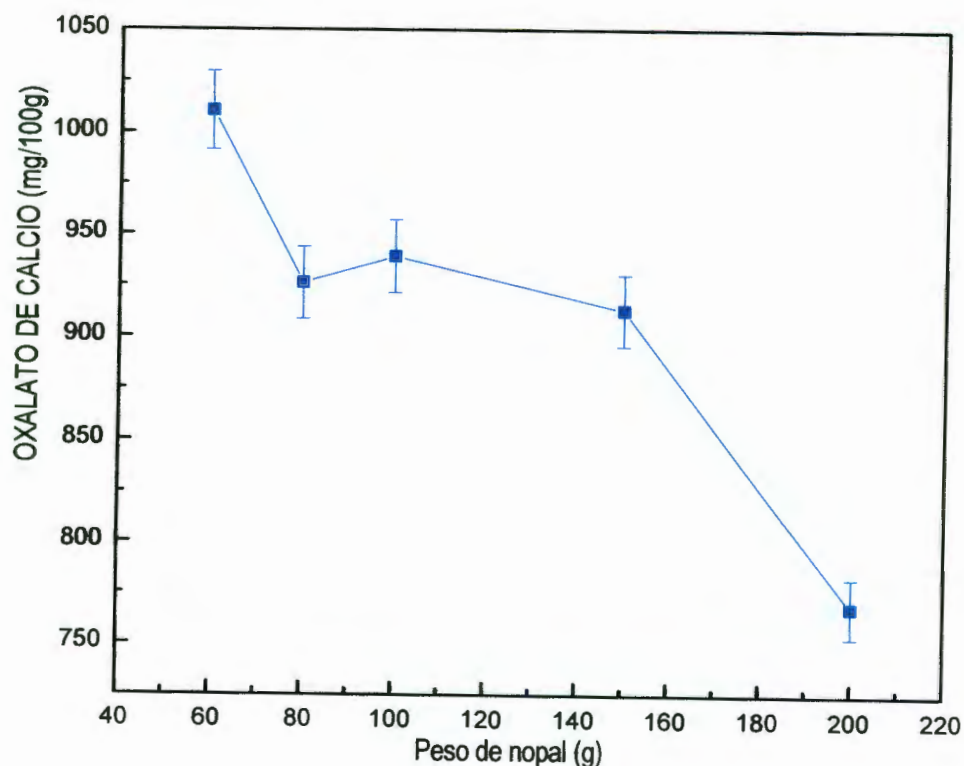
6.3 Cuantificación de oxalato de calcio en harina de nopal OSL

De acuerdo con la figura 6.3.1 se puede observar una disminución en el contenido de oxalato de calcio, al incrementarse el peso de la penca del nopal, reduciéndose hasta en un 24% en el nopal 200 g con respecto al nopal 60 g.

Hasta el momento solo McConn y Nakata (2004) han reportado contenido de oxalato en nopal, encontrándose 35.11 mg/g de oxalato de calcio en el nopal, pero sin embargo no reportan el peso ni el género del nopal empleado en su investigación.

En la literatura se reporta un mayor contenido de oxalato de calcio en la espinaca como fuente principal de dichos cristales. En la actualidad no hay publicaciones relacionadas con este tema respecto al contenido de calcio en el nopal en función de su etapa de maduración.

Figura No. 6.3.1 Contenido de oxalato de calcio en 100 g de harina de nopal OSL



6.4 Relación calcio/fósforo en nopal OSL

Las verduras de hoja de color verde, en incluyendo el nopal, contienen mayor cantidad de calcio que otras verduras, pero la formación de oxalato de calcio dificulta la absorción de este mineral. Con el objeto de aclarar este punto, se calculó el calcio libre, restando del calcio total el correspondiente al oxalato de calcio. Obteniéndose de esta manera una idea mas clara del calcio que pudiera ser biodisponible. También se determinó el contenido de fósforo, por su papel fundamental en el metabolismo del calcio.

En la figura 6.3.2 se observa que el contenido de calcio se incrementa en forma casi lineal, manteniéndose una relación directa entre el contenido de este mineral con respecto al tamaño de la penca. Por otro lado la figura 6.3.3, muestra como el contenido de fósforo decrece de una forma semi exponencial en función del peso del nopal.

Actualmente en la literatura, no se ha reportado el contenido de calcio en harina de nopal.

Figura 6.3.2 Contenido de Calcio Total y Calcio Libre en 100 g de Harina de Nopal OSL

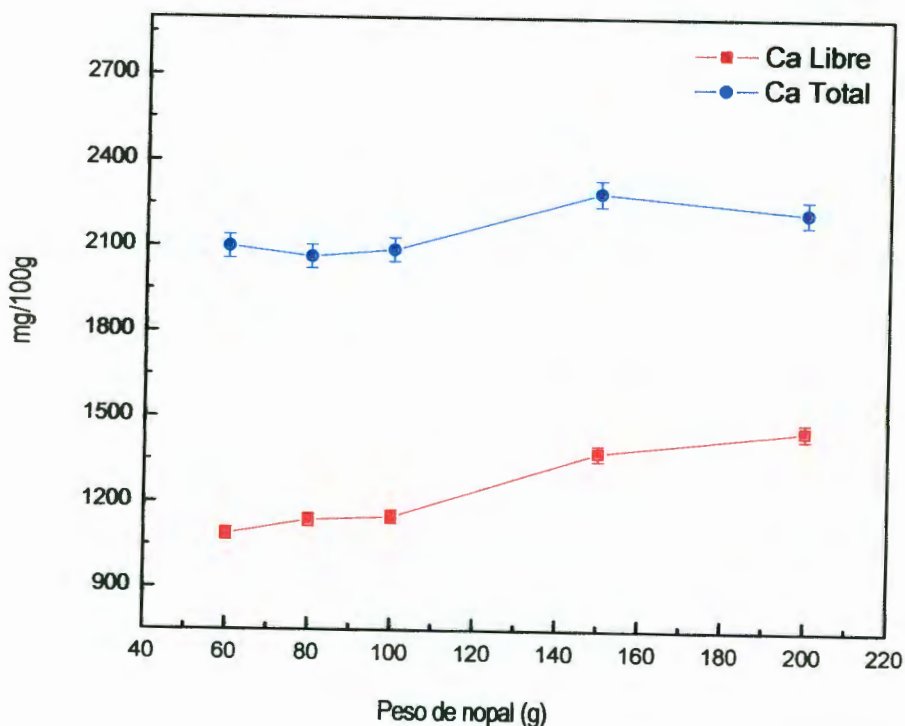
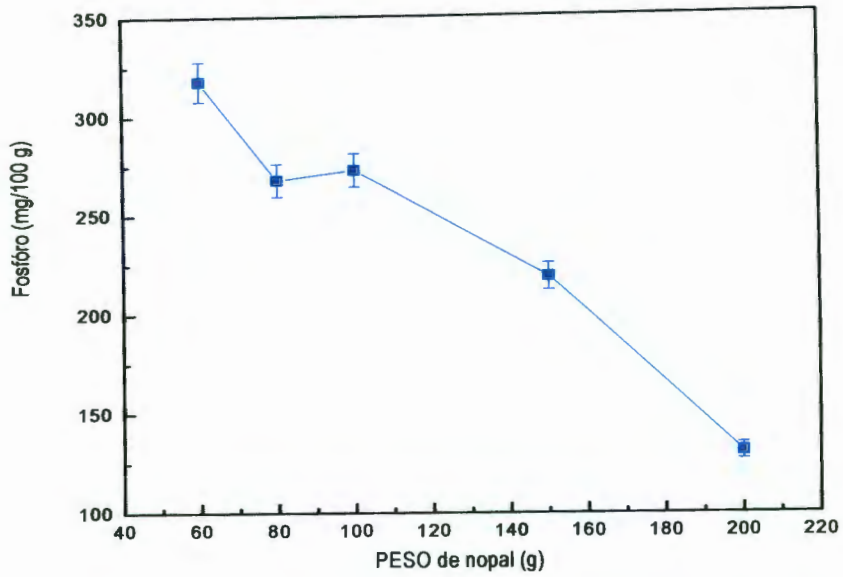


Figura 6.3.3 Contenido de fósforo en 100 g de harina de nopal



De acuerdo a la figura 6.3.4 la relación Ca/P se favorece en el nopal 200 g. Así como la relación Ca/C₂O₄ (figura 6.3.5), siendo la relación 2 a 1.

Figura 6.3.4 Relación Ca/P en Harina de Nopal

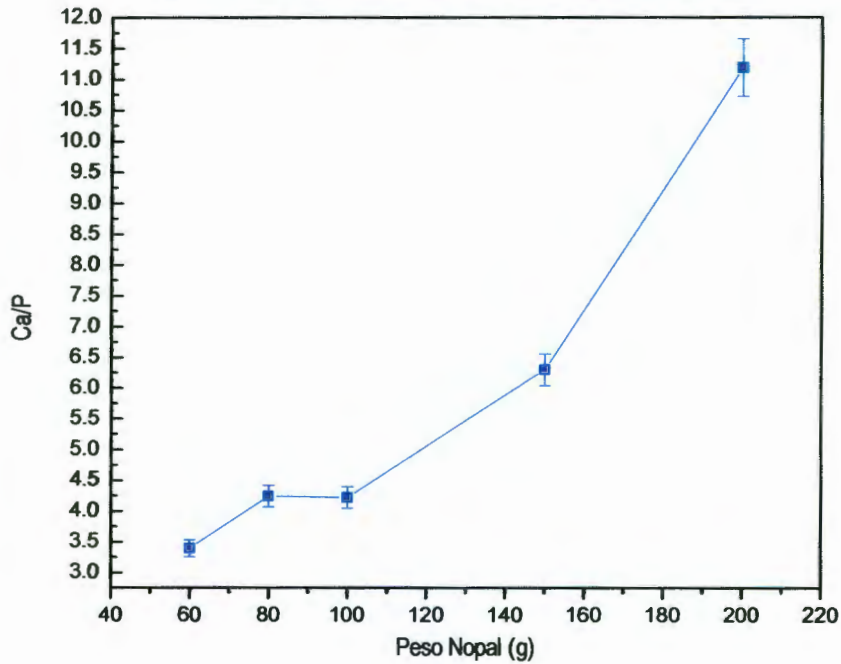
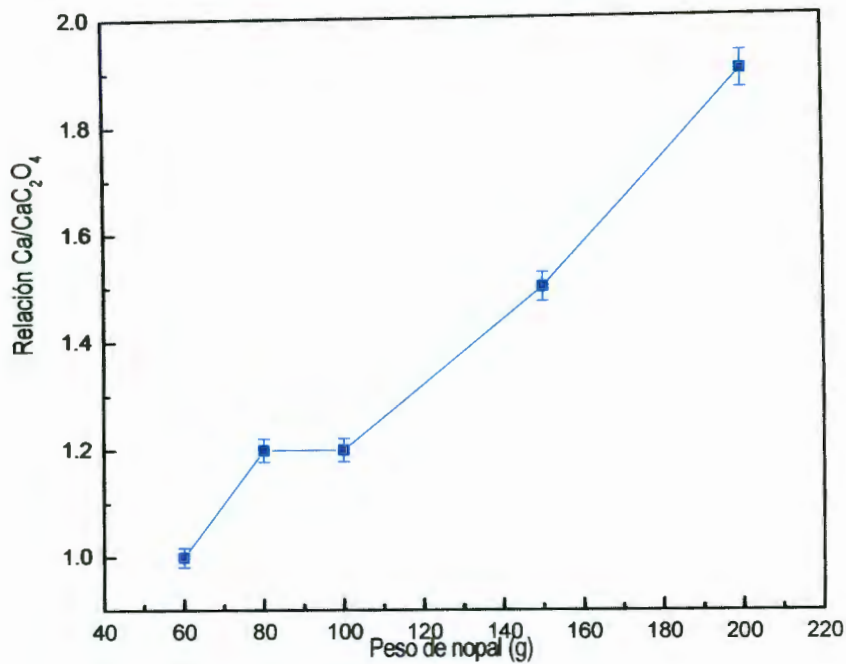
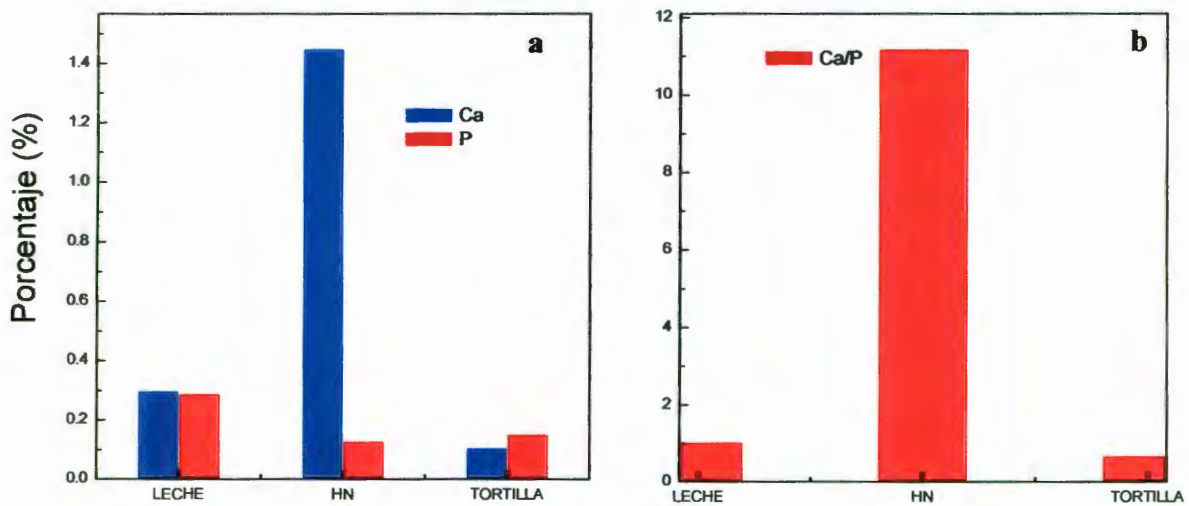


Figura 6.3.5 Relación $\text{Ca}/\text{CaC}_2\text{O}_4$ en harina de nopal OSL



Desde el punto de vista nutricional al comparar la harina de nopal 200 g con alimentos que son fuente de calcio como es la tortilla y la leche (figura 6.3.6); la harina de nopal tiene mayor contenido de calcio que la tortilla y la leche. Esto nos puede dar pauta para considerar el nopal como fuente de calcio.

Figura 6.3.6 Alimentos con alto contenido de calcio.



* Casanueva, 2000

* Bressani, 1958

7. CONCLUSIONES

El nopal puede ser una alternativa como fuente de calcio para incluirse en la dieta, tomando en cuenta su etapa de madurez (peso). Considerando los resultados mostrados se puede concluir que el nopal 200 g, presenta mejores características nutrimentales debido a que su contenido de cristales de oxalato de calcio es menor, aunado a ello tiene mayor contenido de calcio y un relación Ca/P favorable. Al ser la osteoporosis una enfermedad que afecta a millones de personas en todo el mundo, el consumo de nopal podría considerarse como coayudante para disminuir la incidencia de esta enfermedad y aumentar la densidad ósea.

El oxalato de calcio ya no sería una limitante para el consumo de nopal, se considera la eliminación del 10% de la parte superior y lateral de la hoja de nopal, esto se puede hacer durante la eliminación de las espinas para consumo humano.

La recomendación diaria de calcio es de 1000 mg (Bourgues, 2004) lo cual puede cubrirse con 68.63 g de harina de nopal de 200 g, lo que equivale a 7 cucharadas soperas.

El consumo de nopal en México se basa principalmente en el nopal tierno que está alrededor de los 100 g, pero de acuerdo a los estudios realizados en esta investigación el nopal de 200 g se podría considerar como una mejor alternativa como fuente de calcio.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Anderson, G.H. and H.H. Draper. 1972. Effect of dietary phosphorus on calcium metabolism in intact and parathyroidectomized adult rats. *J. Nutr.* 102: 1123-1132.
2. Anderson, J.J. 1996. Calcium, phosphorous and human bone development. *J. Nutr.* 126: 1153S-11158S
3. A.O.A.C. 2000 Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th, , Official Methods 974.24, 17th edition, Gaithersburg, MD, USA
4. A.O.A.C. 1998 Official Methods of Analysis. 16th edition, Official Method 968.08. Ed. by the Association of Official Analytical Chemists, Maryland, U.S.A.
5. A.O.A.C. 2000 Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th, , Official Methods 962.11, 17th edition, Gaithersburg, MD, USA
6. Bourgues B. R., E Casanueva y J. L. Rosado (2004), *Recomendaciones de Ingestión de Nutrientes para la Población Mexicana, Bases Fisiológicas Tomo I. Vitaminas y Nutrientes Inorgánicos.* Eds Ciudad de México, Edt. Médica Panamericana.
7. Bressani R., R. Paz y Paz, and Scrimshaw N. S. 1958. Chemical changes in corns during the preparation of tortilla. *J. Agric. Food Chem.* 6:770-774.
8. Caliskan M. 2000. The Metabolism of Oxalic Acid. *Turk J. Zool* 24, 103-106.
9. Calvo, M.S. and Y. K. Park. 1996. Changing phosphorus content of the U.S. diet: potential for effects on bone. *J. Nutr.* 126(4Suppl): 1168S-1180S.
10. Casanueva E., M. Kaufer, A. B. Pérez y P. Arroy. 2000. *Nutriología Médica.* Editorial panamericana. México. Pp 561-562.

11. Coe FL, Parks MBA, Asplin JR. 1922. The Pathogenesis and Treatment of Kidney Stone. *N engl J Med* 327(16):1141-52.
12. Esteban de la Rosa R. J., A. Osuna, J. A. Bravo, C. Ramirez Tortosa, M. A. Esteban de la rosa, J. M. Osorio y C. Asencio (1996): hyperoxaluria primaria tipo 1 y transplante renal: un caso poco exitoso. *Nefrologia*. Vol XVI Num. 4, 371-373.
13. Flores and P. Ramírez. 1995. Mercado Mundial de la Tuna, ASERCA, Universidad Autónoma Chapingo (UACH) y CUESTAAM. Chapingo, México.
14. Granados, D. y A. D. Castañeda. 2003. El Nopal: Historia, Fisiología, Genética e Importancia Frotícola. Edit trillas 4ª edic.
15. Hernández-Becerra, Tesis de licenciatura, Facultad de ciencias, Licenciatura en Nutrición, Universidad Autónoma de Querétaro, 2003; caracterización nutrimental de nopal verdulero.
16. Hitomi, E., and Tamaki, M. Tomoyeda. 1992: Biogenesis and Degradation of Oxalate in Spinach. *J Jap Soc Hort Sci* 61:431-435.
17. Jáuregui-Zuñiga D., J. P. Reyes-Grajeda and A. Moreno. 2005. Modifications on the morphology of synthetically-grown calcium oxalate crystals by crystal-associated proteins isolated from bean seed coats (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Science*. 168:1163-1169.
18. Kitchen, J. W., EE. Burns, R. Langston (1964): The Effects of Ligth, Temperature and Ionic Balance on Oxalate Formation in Spinach. *Proc Am Soc Hort Sci* 85:465-470.
19. Libert, B. and V. R. Franceschi. 1987. Oxalate in Crop Plants. *J Agric. Food Chem*. 35, 926-938
20. Mahan, K. and S. Escote-Stump. 1998. Minerales (Calcio). *Nutrición y Dietoterapia de Krause*. 9 ed, Mc Graw-Hill. 124-131pp.
21. Martini A. L., Ph.D. and J. Richard. 2000. ¿Se Debería Restringir el Calcio y las Proteínas a los Pacientes que Sufren de Litiasis renal (Cálculos renales)? *10 Nutrition Reviews en Español, Primera Edición* 10-16
22. McConn, M. M. and P. A. Nakata. 2004. Oxalate Reduces Calcium Availability in the Pads of the Prickly Pear Cactus Trough Formation of Calcium Oxalate Crystals. *J Agric. Food Chem*, 52, 1371-1374.

23. Muñoz, M. and J. Ledesma. 2002. Tablas de Valor Nutritivo de Alimentos, edición internacional, editorial McGraw-Hill interamericana.
24. Noonan Sc. 1999. Oxalate Content of Foods and its Effect on Humans. *Asia Pacific J Clin Nutr*, 8 (1): 64-74.
25. Prentice A. and C. J. Bates. 1994. Adequacy of dietary mineral supply for human bone growth mineralization. *Eur J. Clin Nutr.* 48:61s-77s.
26. Rivera, E. R. and B. N. Smith. 1979. Plant Morphology and ^{13}C Carbon/Carbon 12 composition of Solid Oxalate in Cacti. *Plant Physiol.* 64, 966-970.
27. Rodríguez M. E., H. Gutiérrez, R. Reynoso, I. Rojas, I. Gutiérrez y E. Segovia 2003. Caracterización de la composición nutrimental y calidad microbiológica de polvo de nopal de cinco marcas comerciales y deshidratado por la técnica de vacío. Memoria de IX Congreso nacional y VII congreso internacional sobre el crecimiento y aprovechamiento del nopal.
28. Secretaria de Salud. Norma oficial mexicana NOM-147-SSA1-1996, bienes y servicios. Cereales y sus productos. Harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales.
29. Sidhu, H., et al: *J. Microbiol.*, 35 : 350 (1997).
30. Thongboonkerd, V., T. Semangoen, S. Chutipongtanate. 2006. Factors Determining Types and Morphologies of Calcium Oxalate Crystals: Molar Concentrations, Buffering, pH, Stirring and Temperature. *Clinica Chimica Acta* 367: 120-131.
31. Villarreal F., P. Rojas, V. Arellano y G. Ramos. 1963. Estudio químico sobre 6 especies de nopales (*Opuntia SPP*). *Ciencia Méx.* 22(3): 59-65.
32. Vincent, R. and A. Nakata. 2005. Calcium Oxalate in Plants: Formation y Funtion. *Annual Review of Plant Biology.* 56:41-71.
33. Whiting S. J., J. L. Boyle, A. Thompson, R. L. Mirwald and Faulkner R. A. 2002. Dietary Protein, Phosphorus and Potassium Are Beneficial to Bone Mineral Density in Adult Men Consuming Adequate Dietary Calcium. *J Am Coll Nutr.* 21(5):402-409.

PAGINAS WEB

34. *Bonnie Kumer, R.D. y N. Hambleton. 2004. Calcio sin lácteos. Unión Vegetariana Internacional, <http://www.ivu.org/spanish/trans/tva-dairyfree.html>*
35. *García. 2005. Propiedades del Nopal. <http://www.fitness.com.mx/alimental159.htm>, 7 de junio de 2005.*
36. *El Nopal Mexicano. 2005. <http://www.uneabasto.com/modules.php?name=New&file=article&sid=138>, 20 de mayo de 2005.*
37. *Page K. (2006): Oxalate Poisoning, 2 de mayo de 2006 www.maltawildplants.com/oxil/docs/oxalate%20poinsoning2.htm*
- 38.
39. *Instituto nacional de ecología, Nopal verdura, <http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/71/nverdura.htm>, 31 de marzo de 2005.*
40. *National Institutes of Health. 1994. Optimal Calcium Intake. <http://www.nih.gov/>. October 2005.*
41. *Nopalea Mad Industrias. El Nopal. <http://www.giga.com/~mag/tratado%20Nopal.htm#Nopal>. 7 de junio de 2005.*
42. *Producción de nopal 2004. www.sagarpa.gob.mx/cgcs/, 20 de junio 2005.*
43. *<http://www.geocities.com/oxalate2000/index.html>*
44. *<http://www.profeco.gob.mx/html/precios/df/frutas.htm> 27/02/06*
45. *<http://www.profeco.gob.mx/html/precios/queretaro/frutas.htm> 27/02/06*

8. INVESTIGACIONES A FUTURO

El nopal es uno de los alimentos de mayor consumo en México por lo que es importante continuar con investigaciones para dar un mayor utilidad y valor agregado a este producto agrícola.

- ❖ Es importante realizar un estudio bromatológico sobre los diferentes tipos de nopal para conocer el más adecuado para consumo humano.
- ❖ Se recomienda realizar una evaluación bromatológica del nopal de 300, 400 y 500 g para conocer sus beneficios.
- ❖ se sugiere determinar la biodisponibilidad del calcio presente en el nopal a través de ensayo "*invitro*" e "*invivo*".
- ❖ Se propone realizar un estudio comparación del contenido de oxalato de calcio en nopal y otros vegetales consumidos con mayor frecuencia en México.
- ❖ Se considera importante estudios determinar la relación entre el consumo de nopal con enfermedades de mayor incidencia en México. En donde el nopal pueda ser considerado como un coadyudante para el tratamiento de estos padecimientos.

10. ANEXOS

ANEXO 1

Elsevier Editorial System(tm) for Journal of Food Engineering

Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Physicochemical and nutrimental characterization of Nopal pads (*Oppuntia Streptacanta* Lemaire) and dry vacuum nopal powders as a function of the maturation

Article Type: Research Article

Section/Category:

Keywords: calcium oxalates; maturation stages; *Oppuntia*; mineral content; Ca/P ratio

Corresponding Author: Dr. Mario E. Rodriguez, PhD

Corresponding Author's Institution: Center for applied physics and advance technology

First Author: Mario E. Rodriguez, PhD

Order of Authors: Mario E. Rodriguez, PhD; Cyntia De Lira, Eng.; Alin Palcios, Eng.; Isela Rojas-Molina, Dr.; Rosalia Reynoso, Dr.; Lilia C Quintero, Eng.; Angels Cornejo, M. en C.; Alicia Del Real, Dr.

Manuscript Region of Origin:

Abstract: In this paper we present the physicochemical and nutrimental characterization of fresh nopal (*Oppuntia Ficus Indica*, Redonda variety) and nopal powder produced at different maturation phases. Nopal is considered an important source of minerals and fiber, and especially in Mexico is part of the daily rural diet. Nopal is commonly consumed at the first stages of maturation (less than 60 days and 100 g of weight). Nopal powder was obtained by dry vacuum technique using 10-2 Torr and low temperature (40°C). According to these results, we found that the nutrimental and mineral composition of nopal changes as a function of the maturation. The calcium content increases, while phosphorous exhibit an opposite trend. The existence of oxalates was studied by X-ray diffraction, SEM microscopy and atomic absorption spectroscopy as a function of the maturation in order to determine the free calcium concentration, and it was

found that calcium oxalates decreases around 50% for nopal 60g to nopal 200 g. The high content of calcium exhibited in nopal is very important from a nutritional point of view. Although there is presence of oxalates, the high relationship between Ca/P in this plant (3.6 to 11) could help in the bone formation, therefore nopal could be an important source of mineral in the Mexican, Latin-American and development countries diets.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y
TECNOLOGÍA AVANZADA

Queretaro, Qro, México, March 10, 2006

Hosahalli Ramaswamy
Editor
Journal of Food Engineering

Dear Editor

Enclose you will find an original research paper entitled: Physicochemical and nutrimental characterization of Nopal pads (*Oppuntia Streptacanta* Lemaire) as a function of the maturation

by: C. de Lira, E. Hernández-Becerra, A. Palacios-Fonseca, I. Rojas-Molina, R. Reynoso, L. C. Quintero, A. Cornejo, A. Del-Real, T. A. Zepeda, Muñoz-Torres C., and M. E. Rodríguez, to be consider as an original research paper to be publish in Journal of Food Engineering. All authors have reviewed the manuscript and approved its submission to Journal of Food Science. please address any correspondence to:

Dr. Mario Enrique Rodríguez G.
Physicochemical Food Labs
marioga@fata.unam.mx

Best regards,

Mario Rodríguez

1 **Physicochemical and nutrimental characterization of Nopal pads (*Oppuntia***
2 ***Streptacanta* Lemaire) and dry vacuum nopal powders as a function of the**
3 **maturation**

4
5 C. de Lira^{1,2}, E. Hernández-Becerra³, A. Palacios-Fonseca^{1,4}, I. Rojas-Molina^{2,4}, R.
6 Reynoso³, L. C. Quintero^{1,2}, A. Cornejo^{1,5}, A. Del-Real¹, T. A. Zepeda¹, Muñoz-Torres
7 C.⁶, and M. E. Rodríguez^{1,*}

8
9 ¹Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de
10 México, Campus Juriquilla, Querétaro, C.P. 76230, A.P. 1-1010, C.P. 76000, México.

11 ²Facultad de Ciencias Naturales, Licenciatura en Nutrición, Universidad Autónoma de
12 Querétaro, Querétaro, Qro, México.

13 ³Facultad de Química, PROPAC, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las
14 campanas s/n Qro, México.

15 ⁴Posgrado en Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria,
16 México.

17 ⁵Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México,
18 Campus, Cuautitlan, México.

19 ⁶Abosrtion Atomic Spectroscopy Labs, Centro de Geociencias, Universidad Nacional
20 Autónoma de México, Campus Juriquila, Querétaro, México.

21
22 * Author for corresponding:

23 Mario E. Rodriguez Garcia, Phone 52-55 56234141, E-mail marioga@fata.unam.mx
24 Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de
25 México, Campus Juriquilla, Querétaro, C.P. 76230, A.P. 1-1010, C.P. 76000, México.

26 **Nopal characterization (...).**

27 **Section to be considered: JFS: Food Engineering and Physical Properties**

28

29

30 **Key words:** calcium oxalates, maturation stages, *Oppuntia*, mineral content, Ca/P ratio.

31

32

33 **ABSTRACT**

34 In this paper we present the physicochemical and nutrimental characterization of fresh
35 nopal (*Oppuntia Ficus Indica*, Redonda variety) and nopal powder produced at different
36 maturation phases. Nopal is considered an important source of minerals and fiber; and
37 especially in Mexico is part of the daily rural diet. Nopal is commonly consumed at the first
38 stages of maturation (less than 60 days and 100 g of weight). Nopal powder was obtained by
39 dry vacuum technique using 10^{-2} Torr and low temperature (40°C). According to these
40 results, we found that the nutrimental and mineral composition of nopal changes as a
41 function of the maturation. The calcium content increases, while phosphorous exhibit an
42 opposite trend. The existence of oxalates was studied by X- ray diffraction, SEM
43 microscopy and atomic absorption spectroscopy as a function of the maturation in order to
44 determine the free calcium concentration, and it was found that calcium oxalates decreases
45 around 50% for nopal 60g to nopal 200 g. The high content of calcium exhibited in nopal is
46 very important from a nutritional point of view. Although there is presence of oxalates, the
47 high relationship between Ca/P in this plant (3.6 to 11) could help in the bone formation,
48 therefore nopal could be an important source of mineral in the Mexican, Latin-American
49 and development countries diets.

50

51 **1. Introduction**

52 For centuries, and especially in Mexico, the nopal has proved to be one of the most
53 important allied in the human and animal diets as a vegetable and forage. Nopal is
54 consumed as vegetable at different stages of maturation, from 24 to 48 days (60 to 150 g
55 respectively), but mainly as fresh nopal ("nopalito"). The "nopalito" corresponds to the first
56 maturation stages (less than 20 days and 100 g). Nopal is considered to be an important
57 nutrient and food source in many countries around the world. Mexico, Chile, Italy and in
58 the United States. The immature nopal pads ("nopalitos") have been consumed as a
59 vegetable, in salads, soups, as well as a grilled and fried. Nopal is also a staple in
60 traditional medicines as part of traditional treatments of diabetes, gastritis and
61 hyperglycemia (Hegwood, 1990; Muñoz de Chavez et al., 1995; Trejo-Gonzalez et al.,
62 1996). According to medical reports, it has been found that the ingestion of nopal before

63 each food causes decrease of the corporal weight, as well as reduction in the cholesterol,
64 glucose and insulin (Fрати-Munari et al., 1988, Ledezma 1989). Chemical characterization
65 of nopal has shown that this plant often contains an abundance of proteins, vitamins and
66 minerals (Rodriguez-Felix et al., 1988). But in all of these scientific reports dealing with
67 the physicochemical characterization of nopal, the maturation stages have not been taken
68 into account.

69 Dairy-based food products are the main source of calcium in the diet of the Latin American
70 people (Block et al., 1985 and Berner et al., 1990). Milk and its derivate products contain a
71 high amount of calcium compared with other foods; calcium-to-phosphorus ratio in milk is
72 conductive to the bone growth and increase the bone density. But it is well known, that part
73 of the population have lactose intolerance, this fact limits the use of milk and it's derivate
74 as a calcium source (Serna -Saldivar et al., 1991).

75 Dairy foods provide 75 percent of the calcium in the U.S. diet. Nutritionists agree that the
76 best way to obtain calcium is by consumption food that naturally contains calcium. The
77 importance of calcium has increased because recent research has established that calcium is
78 not only essential for normal growth and development, also it is important for regulation of
79 cell function, nerve conduction, muscle contraction, and blood coagulation and at the
80 biochemical level it promotes insulin release. In addition, calcium plays a protective role
81 against osteoporosis, essential hypertension, gestational hypertension,
82 hypercholesterolemia, certain cancers such as colon and mammary, and possibly gallstones.

83
84 The calcium-to-phosphorus ratio is an important factor in building greater bone density.
85 Both calcium and phosphorus are required for bone development, and changes in bone
86 characteristics have been linked to have the appropriate calcium to phosphorus ratio.

87 However the calcium intake from diary products in developing countries like Mexico is
88 limited by the high cost of diary products such as milk and its derivates and some
89 vegetables. Another important problem associated with the calcium intake is the lactose
90 intolerance in some part of the population (Serna-Saldivar et al., 1991). For these reasons
91 the investigation of mineral contained in nopal, especially free-calcium and phosphorous,
92 and its bioavailability is important. Free-calcium is related to the total amount of calcium
93 present in nopal minus the calcium contained in calcium oxalates.

94 It is well known that oxalates are a common constituent of nopal: According to Arnott and
95 Pautard (1970), calcium oxalate is considered to be the most commonly occurring
96 biomineral in higher plants, and has been demonstrated that crystal growth is a highly
97 intracellular process (Mann, 1989). Calcium oxalates occurs in two hydration states in
98 plants, as monohydrates (whewellite) or as dihydrate (weddelite). Some higher plants may
99 accumulate enormous quantities of inorganic material, and this is especially true for some
100 members of cactaceae family (Franceschi and Horner, 1980).

101 Chemical proximate analysis of different nopal varieties has shown that this plant is rich in
102 fiber. Dietary fiber, water-soluble dietary fiber (WSDF) and water-insoluble dietary fiber
103 (WIDF) have been reported to have beneficial effects in the lowering glicemic level in
104 serum by retarding starch digestion, reduce glucose absorption. Dietary fiber controls
105 postprandial serum glucose levels (Brown et al., 2000) as well as the plasma levels of the
106 intestinotrophic factor, glucagons like peptide 2 (Lafrance et al., 1998) lowering the
107 insulin response and slowing glucose absorption through an effect on gastric emptying and
108 /or entrapment of materials in the viscous digesta (Baghurst et al., 1996).

109
110 In the literature there is not information related to the changes in the physicochemical and
111 nutrimental characterization of nopal as a function of maturation. It is very important
112 because its possible applications depend on these special characteristics. For this reason,
113 this paper is focused in the study of the physicochemical and nutrimental characterization
114 of nopal (*Oppuntia Streptacanta* Lemaire, Redonda variety) as function of the maturation
115 and an important point is that we present a detailed qualitative and quantitative analysis of
116 the calcium oxalate present in nopal

117

118 **2. Materials and methods**

119 **2. 1 Sample preparation**

120 Nopal (*Oppuntia Ficus Indica*, Redonda variety) was cultivated in an experimental field
121 located at the UNAM Campus, in Juriquilla Querétaro, with organic fertilizer, and
122 harvested at different maturation stages in spring and summer 2003. The nopal powders
123 were prepared by vacuum technique using 10^{-2} Torr, and 40 °C in order to avoid protein
124 and carbohydrate damage. The dehydration process was carried out in a Vacuum furnace

125 for 12 hrs, each closed pan containing 4 kg of nopal slices of 3 mm in thickness. The thorns
126 were previously removed; nopal was washed with distilled water, and disinfected using
127 sodium hypochlorite (4.5 mg/l) during 30 min. The dry material was milled using a
128 hammer mill (PULVEX 200, México D.F. México) equipped with 0.5 mm screen. Eight
129 different flours were prepared using nopal with different maturations from 24 to 96 day that
130 corresponds to weights from 40 to 400 grams respectively.

131 **2.2. Atomic absorption spectroscopy**

132 The calcium, Sodium and Potassium content of nopal powders were determined by the dry-
133 ashing procedure 968.08 (AOAC 1998). The concentration was measured with a double
134 beam atomic absorption spectrometer (AAAnalyst 300 Perkin Elmer, USA) equipped with a
135 deuterium lamp, background corrector and a hollow cathode lamp. The equipment was
136 operated with 12 psi of dry air, 70 psi of acetylene, a 422.7 nm flame, a 10 mA. lamp
137 current, and a 0.7 nm slit width. Phosphorous was determined according to AOAC official
138 method 965.17 (2000) and oxalates content was determined by using AOAC Official
139 Method 974.24 (2000).

140 **2.3. X-ray diffraction.**

141 X-ray diffraction was performed in order to obtain information regarding the presence of
142 Ca crystalline compound in nopal powders, in special oxalates formation. The powder
143 samples were densely packed into an Al frame. The X-ray diffraction patterns of the
144 samples were recorded on a diffractometer Rigaku Miniflex operating at 35 K and 15 mA,
145 with Cu K α radiation wavelength of $\lambda = 1.5406$ Angstroms. Data was collected from 4° to
146 30° on a 2 Θ scale with a step size of 0.05s. The spectrum analysis software (Diffract/AT,
147 Socavin VI-2) was used.

148 **2.4. Scanning Electron Microscopy analysis**

149 Mineral microanalysis was carried out on crystals present in unstained section of nopales.
150 These sections were obtained by cutting small pieces of fresh nopal (0.5 mm thickness) that
151 were placed on a sample holder and vacuum-dried. The mounted samples were then sputter
152 coated with gold. Scanning electron spectroscopy was used to identify the oxalate
153 formation, as well as to study quantitatively elemental chemical composition. Spectrometer
154 Genessi 2PC, model 316603 was used in this study.

155 **2.5. Sample pH values**

156 The pH values of the samples as well as the powders were determined using a pH meter
157 (Jenco model pH-vision 6071) according to approved method 44-19 (AACC 2000). The pH
158 meter was calibrated at room temperature with three different buffers (J.T. Bakder standard
159 buffers 4, 7, 10). A 10 g sample of nopal powder with different maturation stages was
160 placed in a beaker containing 100 ml of distilled and de-ionized water and stirred for 15
161 min to homogenize the sample. The resulting suspension was left to stand for 15 min, and
162 the pH level was read in the supernatant liquid, also 100 g of fresh nopal (different
163 maturation stages) were blended without water for 1 minute until uniform consistence was
164 achieved. Readings were taken on three replicate samples and averaged.

165 **2.6. Chemical proximate analysis.**

166 Four nopal flours corresponding to Nopal 60 (10 days), nopal 100 (20 days), nopal 150 (30
167 days) and nopal 200 grams (45 days) were studied. The crude protein ($N \times 6.25 = 8.61\%$)
168 in nopal was measured by the micro-Kjeldahl (Method 40-70, AACC 1983), moisture
169 (Method 30-20, AACC 1983), total ether extract (Method 44-15A, AACC 1983), insoluble
170 dietary fiber, soluble dietary fiber, total dietary fiber (AOAC, 985.29, 1986), ash, all the
171 measurements were carried out three times.

173 **3. Results and discussion**

174 The chemical proximate analysis of nopal powders produced at different nopal maturation
175 stages is shown in table. Figure 1. a, shows the nopal pads for 200 g (96 days) and 60 g
176 (26 days) and figure 1.b shows the pad weigh as a function of the maturation time in days.
177 It is clear, that the physicochemical composition of nopal is maturation dependent. This fact
178 has not been taken into account, and it could have an important impact in future nopal
179 applications. The low moisture content in the nopal powder is the result of the vacuum
180 drying process. From the microbiological point of view it is important because at this
181 moisture content the proliferation of microorganism is low. An important feature of this
182 work is related with the changes in the soluble and insoluble fiber of nopal as a function of
183 maturation. In the case of dietary soluble fiber (pectin, gums and mucilages) it was found a
184 decrease of around 27%. The opposite trend was found for insoluble fiber (cellulose,
185 hemicellulose, and lignin) which exhibits increases of 31 %. The variation in soluble and
186 insoluble fiber in nopal as a function of maturation could have strong influence in its

187 potential uses. These relevant findings will be applied in the treatment of some diseases
188 such as diabetes, hypercholesterolemia and cardiovascular disorders. The beneficial effects
189 of dietary fiber have mainly been described to the water-soluble fiber fraction, while the
190 role of water-insoluble fiber has been regarded as less convincing. Many beneficial effects
191 have been seen with pharmacological doses of isolated viscous soluble fiber, including
192 improved insulin sensitivity, decreased LDL-cholesterol levels and decreased clotting
193 factors. In contrast, insoluble non-viscous cereal fiber has not been seen to act directly on
194 risk factors when taken in refined foods such as in milled flour (Jenkins, et. al., 2000).

195

196 **3.1. Mineral content**

197 There are mineral that are required in relatively large amounts in the diet, some examples of
198 macro minerals are: calcium (Ca), phosphorus (P), potassium (K), and sodium (Na).
199 Mineral content will vary depending on plant species and soil types and also these are
200 affected by the stage of maturity, level of fertilization and harvest conditions. Season and
201 stage of maturity will also affect mineral content.

202 Figure 2 a. and 2 b. show the calcium and phosphorous content of nopal powder as a
203 function of the maturation for nopal harvested in spring and summer 2003. Calcium content
204 includes the free calcium and Ca coming from calcium oxalates. In this figure it is very
205 interesting to see that the calcium content increases as a function of the maturation and its
206 content increases around 160 %. Another important feature in this figure is that around 92
207 days of growth (200 g) there is saturation in the calcium content. The opposite trend was
208 found in the case of phosphorous; the reduction in phosphorous was around 30%.

209 The calcium content is a function of the physiological stage in plant development. During
210 the plant maturation the formation of calcium pectates in the vegetative tissues increases
211 the rigidity of the plant. As we can see, the calcium content changes also as a function of
212 season, it means that the ion availability changes as a function of the environmental
213 conditions such as: nutrimental requirements and other factors like insects' presence,
214 diseases and ground condition among others.

215 Many plant-derived sources of calcium (including soy, spinach, cereal grains and Swiss
216 chard) are inferior to dairy calcium because they contain high levels of phytate and oxalate
217 that bind calcium, rendering it much less available for absorption. Nevertheless, it is very
218 interesting to note that in the case of nopal exists a significant increase in calcium content
219 as a function of maturation.

220 Figure 3 a. and b, show the sodium and potassium content as a function of the nopal
221 maturation, for harvests made in spring and summer 2003. In the case of nopal powder is
222 noticeable that the potassium content exhibits high values at the first stages of the growth
223 and does not exhibit significantly changes for longer maturation stages. Figures 2 and 3,
224 constitute evidence that nopal powder are an excellent source of these minerals to include
225 in the human diet, where the daily mineral requirements are around 3500 mg/d. In the case
226 of sodium content in these powders, there is a decrease as a function of the maturation.

227 Figure 4, shows the Ca/P relation of nopal powder as a function of maturation, this value
228 increase from 3.6 to 11.33 for pads with 60 g to 200 g. The increase in Ca/P ratio in these
229 nopal powders as a function of maturation could be an excellent indicative of the calcium
230 bioavailability of this product. From a nutrimental point of view the Ca/P behaviors in
231 nopal open new possibilities to use it as a complement in the diets, especially in the case of
232 patients with lactose intolerance. In the other hand, its low cost makes it accessible to all
233 Mexican and Mesoamerican diets.

234 The presence of calcium oxalates in nopal powder was identified by x ray diffraction.
235 Figure 5 shows a characteristic diffractogram of nopal powders 60 and 200g. According to
236 the Chung (1975) methodology, the intensity of the characteristic lines is proportional to
237 the content of any characteristic crystalline phase, in the case of nopal powders (200 g), a
238 few decreases in the characteristic lines of oxalate was found indicating a decrease of
239 calcium oxalates content as a function of maturation. The lower intensity was found for
240 nopal flour 200, it means that calcium oxalates formation occurs in the first stages of
241 maturation and is distributed in the whole volume pads. The dash lines in this figure
242 represent the characteristic x-ray intensities for calcium oxalate Whewellite (20-0231 x-ray
243 data) Other crystalline faces such as cloromagnesite ($MgCl_2$, 37-0774 x-ray data), Calcium
244 Aluminum Oxide ($CaAl_2O_4$, 34-040) were found, in some samples KCl also was found.

245 Figure 6 a, b and c, show SEM images of dry nopal powder at different maturation stages
246 (60, 100 and 200 g). According to SEM analysis, calcium oxalates are located in the
247 external part of the pad, and these changes in shape and size as a function of the maturation
248 (Monje et al., 2002). An important feature in this figure is that calcium oxalate crystal size
249 increases as a function of maturation, Average value of the crystal size, found in 10
250 measurements per size was: 40 microns (60 g), 55 microns (100 g), 72 microns (150 g) and
251 100 microns (200 g). If we check these values, the oxalate crystal size increases in almost
252 linear way. The existence of calcium oxalates, could limit the calcium bioavailability, but
253 according to the results shown in this work, bioavailability could also have maturation
254 dependence. SEM compositional analysis performed in these samples also shows the
255 presence of Ca, K, Mg, Cl.

256 The quantification of calcium oxalates was carried out according to the AOAC
257 methodology, and it was found that the calcium oxalates decrease as function of the
258 maturity (see table 1) in around 50% from nopal 60g to nopal 200 g. If we check figure 2.a,
259 the calcium content reaches a maximum around 150 g (76 days), then the calcium
260 available limited the calcium oxalates growing and also is well known that plant uses Ca
261 for others physiological functions.

262 The pH values of fresh nopal and nopal powder as a function of maturation is shown in
263 table 1. According to the values reported in this table, there are not significant changes in
264 pH values along the maturation stages. pH values for all samples are from 4 to 4.5. The
265 vacuum process used to obtain nopal powder does not produce chemical changes in the
266 product. It is important to consider that the foods with extreme pH values are more stable
267 since the microbial point of view for longer time than those with neutral pH values, because
268 most bacteria grow best in an environment with a narrow pH range near neutrality between
269 pH 6.5 and 7.5, then low pH values interfere with or totally inhibit further growth. (Lund.
270 et al. 1999)

271

272 **4. Conclusions**

273 According to the foregoing results, it was found that the physicochemical composition of
274 nopal changes as a function of the maturation state. Calcium increases while phosphorous
275 present and opposite trend. Potassium in nopal presents high levels. An important feature of

276 this study is related with the Ca/P relationship, indicating that this vegetable could be an
277 important element to be included in the diet of the Latin America population. Considering
278 the lactose intolerance in some part of the population, nopal (200 g, 96 days of maturation)
279 could be an excellent alternative as calcium source. The oxalates content decreases as a
280 function of the maturation in a round 50% for nopal 60 to nopal 200 g. The bioavailability
281 of nopal could have more impact in diets based in old pads (200 g) that usually are not
282 include in the diets, nopal for more that 200 g can not be included, because for longer
283 maturations stages the calcium content decreases. On the other hand, the changes in the
284 total fiber as a function of maturation could increase the potential application of this
285 product in the prevention and treatment of diseases such as diabetes, and osteoporosis.

286

287 **Acknowledgments**

288 This work was supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia (CONACYT)
289 project 14059, Mexico. The authors want to thanks, Ing. Domingo Rangel and Mr. Edgar
290 Mendez for their technical support and NOPALSIN S.A Guanajuato Mexico.

291

292

293 LITERATURE CITED

- 294 A.O.A.C. (1998) Official Methods of Analysis. 16th edition, Official Method 968.08. Ed.
295 by the Association of Official Analytical Chemists, Maryland, U.S.A.
- 296 A.O.A.C. (2000) Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th, Official
297 Methods 965.17, 17th edition, Gaithersburg, MD, USA.
- 298 A. A.O.A.C. (2000) Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th, Official
299 Methods 974.24, 17th edition, Gaithersburg, MD, USA. Method 44-19 (AACC 2000).
- 300 Arnott, H. J., Pautard, P.G. E. (1970) Calcification in plants. In H. Schraer, Biological
301 calcification, Appleton-century Crofts, New York, pp 375-446.
- 302 Baghurst, P. A., Barghurst, K. I., Record, S J (1996) Dietary fiber, non-starch polysaccharides
303 and resistant starch. A review: Food Aust., 48: 1-35.
- 304 Berner, L. A., McBean, L. D. and Logfrem, P. A. (1990) Calcium and chronic disease
305 prevention: challengers to the food industry. Food Technology 44(3): 50-70.
- 306 Block, G., Dresser, C.M., Hartman, A.M., and Carroll, M.D., (1985). Nutrient sources in the

307 American Diet: quality data from the HHANES II survey. *Am. J. Epidemiol* 122: 13-16.

308 Cheng, F. H., (1975) Quantitative interpretation of x-ray diffraction patterns of mixtures III

309 simultaneous determination of a set of reference intensities, *Journal of Applied*

310 *Crystallography* 8: 17-19.

311 Franceschi, V.R., Horner, H.T. (1980). Calcium oxalates crystals in plants. *Bot Rev* 46:361-

312 427.

313 Frati-Munari, A.C., Gordillo, B.E., Altamirano, P., Araiza, C.R. (1988) Hypoglycemic

314 effect of *Opuntia streptacantha* Lemaire in NIDDM. *Diabetes Care*, 11:63-69.

315 Frati-Munari, A.C., Altamirano, B. E., Rodríguez-Barcenás, N., Ariza-Andraca, R., and

316 López-Hegwood, D. A., (1990) Human Health discoveries with *Opuntia* sp. (prickly

317 pears). *Hort Science* 25: 1515-1516.

318 Jenkins, D.J., Axelsen, M., Kendall, C.W., Augustin L.S., Vuksan, V., and Smith, U.

319 (2000). Dietary fibre, lente carbohydrates and the insulin-resistant diseases. *British*

320 *Journal of Nutrition* 83,Suppl.1:157-163.

321 Lafrance, L., Rabaasa-Lhoret, R., Poisson, D., Ducros, F., and Chiason, J.L., (1998).

322 Effects of different Glycemic index foods and dietary fiber intake on glycemic control

323 in type 1 diabetic patients on intensive insulin therapy. *Diabetes Med.*, 15: 972-978.

324 Ledesma, R. (1989) Acción hipoglucemiante de *Opuntia Streptacantha* Lemaire:

325 Investigación con extractos crudos. *Rev. Archivos de Investigación Médica. (Mex)* 20:

326 321-325.

327 Lund, B. M, Baird-Parker, A. C., and Grahame WG. 2000. *The Microbiological Safety and*

328 *Quality of Food*. 4th ed. New York: Springer. 115 p.

329 Mann, S., (1989) Crystallochemical strategies in biomineralization. In Mann, J. Webb,

330 RJP Willians, *Biomineralization*. VCH Publishers, New York, pp 35-62.

331 Monje, P. V., and Baran, E. J., (2002), *Plant biology*, 128: 707-713.

332 Muñoz de Chavez, M., Chavez, A., Valees, V., Roldán, J. A., (1995). The nopal A plant of

333 manifold qualities. In *plants in Human nutrition (World Review of nutrition and*

334 *Dietetics)*, Simopoulos, A.P. Karger Publishing: Basel, Switzerland, pp 109-134.

335 Rodríguez-Feliz A., Cantwell, M., (1988). Developmental changes in composition and

336 quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos) *Plant Foods Hum* 38: 83-89.

337 Serna-Saldivar, S.O., Rooney, L.W., and Greene, L.W., (1991). Effect of lime treatment on

338 the availability of calcium in diets of tortilla and beams: rat growth and balance studies.
339 Cereal Chem. 68(6): 555-550.

340 Trejo-Gonzalez, A., Gabriel-Ortiz, G., Puebla-Perez, A.M., Huizar-Contreas, M. D.,
341 Munguia-Mazariegos, M. R., Mejia-Arregin, S., Calva, E., (1996). A purified extract
342 from prickly pear cactus (*Opuntia fuliginosa*) controls experimentally induced diabetes
343 in rats Journal of Ethnophar 55: 27-33.

344

345 **Figure caption**

346 Figure 1a. shows the nopal pads of 200 g and 60 g and figure 1. b shows the changes in
347 pads weight as a function of the harvest day.

348 Figure 2. a and b, show the calcium and phosphorous content in nopal powder as a function
349 of the weight for spring and summer 2003, the error bars are indicated in the figures, these
350 values correspond to the average value of 5 different determinations.

351 Figure 3. a and b , shows the sodium and potassium content in nopal powder as a function
352 of the weight for spring and summer 2003, the error bars are indicated in the figures, these
353 values correspond to the average value of 5 different determinations.

354 Figure 4, shows the Ca/P relation ratio for nopal powder as a function of the weight

355 Figure 5. Shows de X-Ray diffraction pattern of nopal powders 60 and 200 g the dash line
356 represent the calcium oxalate presence according to the x-ray data.

357 Figure 6. a, b and c, shows the calcium oxalate crystals found in nopal powder 60, 100 and
358 200 g respectively

359

360

361

362 Table I.

363 Chemical composition of Nopal /100 gr (OFI, Redonda)

	Nopal 60	Nopal 100	Nopal 150	Nopal 200
Protein (%)*	14.22	13.10	12.87	11.39
Fat	3.00	2.873	2.53	1.956
Soluble Fiber	25.22	18.21	15.87	14.91
Insoluble Fiber	29.87	33.21	37.15	41.65

Moisture (%)	4.06	5.02	6.21	7.31
Ash	18.406	19.61	22.4	23.24
Free Calcium (%)	1.35	1.76	2.71	3.30
Phosphorous (%)	.3753	0.343	0.33	0.292
Sodium (%)	.208	0.169	.123	0.118
Calcium Oxalate (mg/g)	79.48	34.868	57.316	39.376
Potassium (%)	5.52	6.84	6.46	6.022
Ca/P ratio	3.60	6.393	8.24	11.33
pH (fresh nopal)	4.41	4.136	4.352	4.28
pH (powders)	4.26	4.07	4.305	4.35

364

365

366

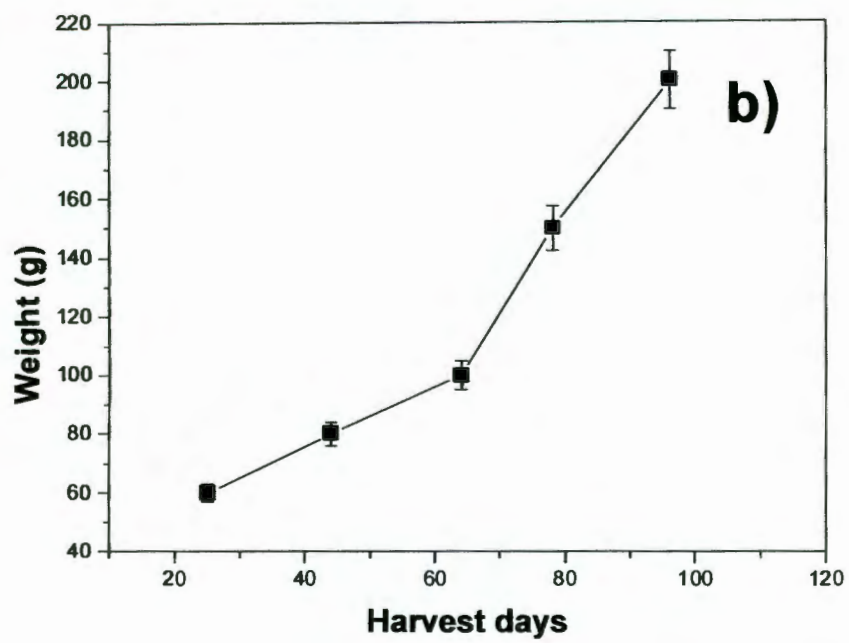
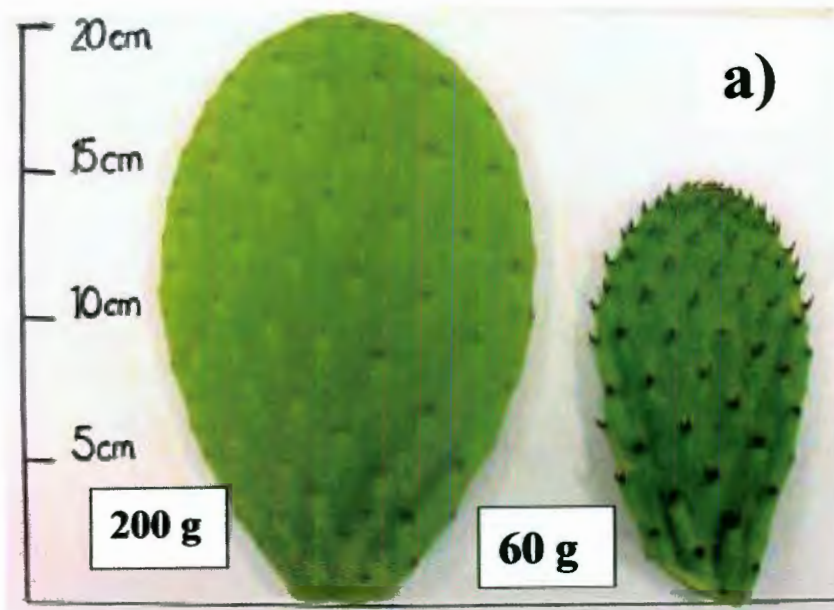


Figure 1

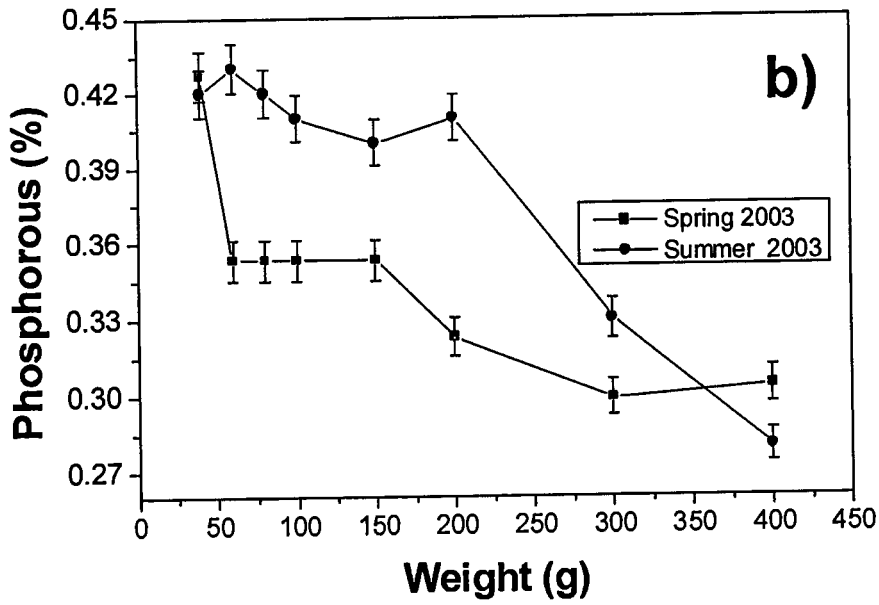
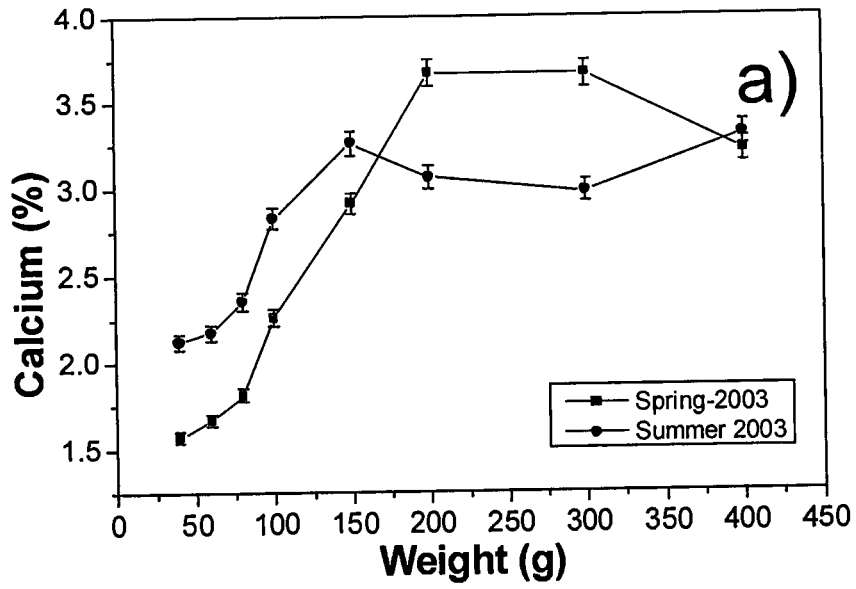


Figure 2

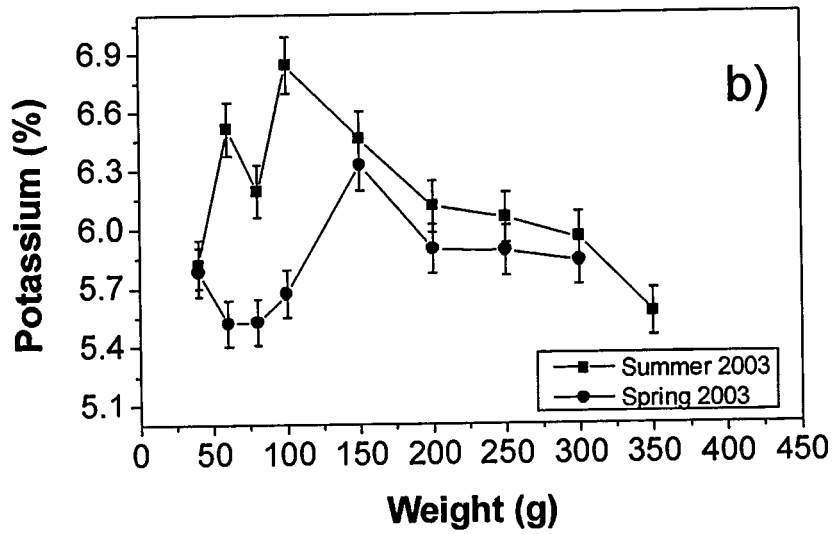
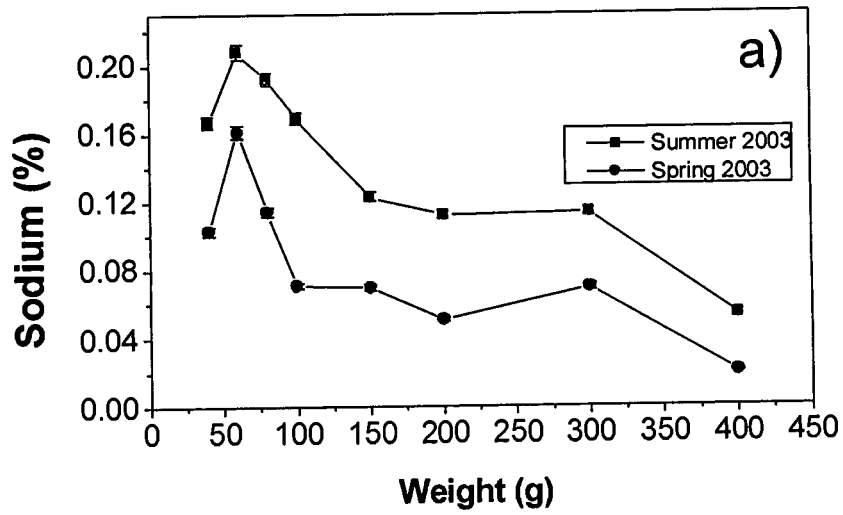


Figure 3

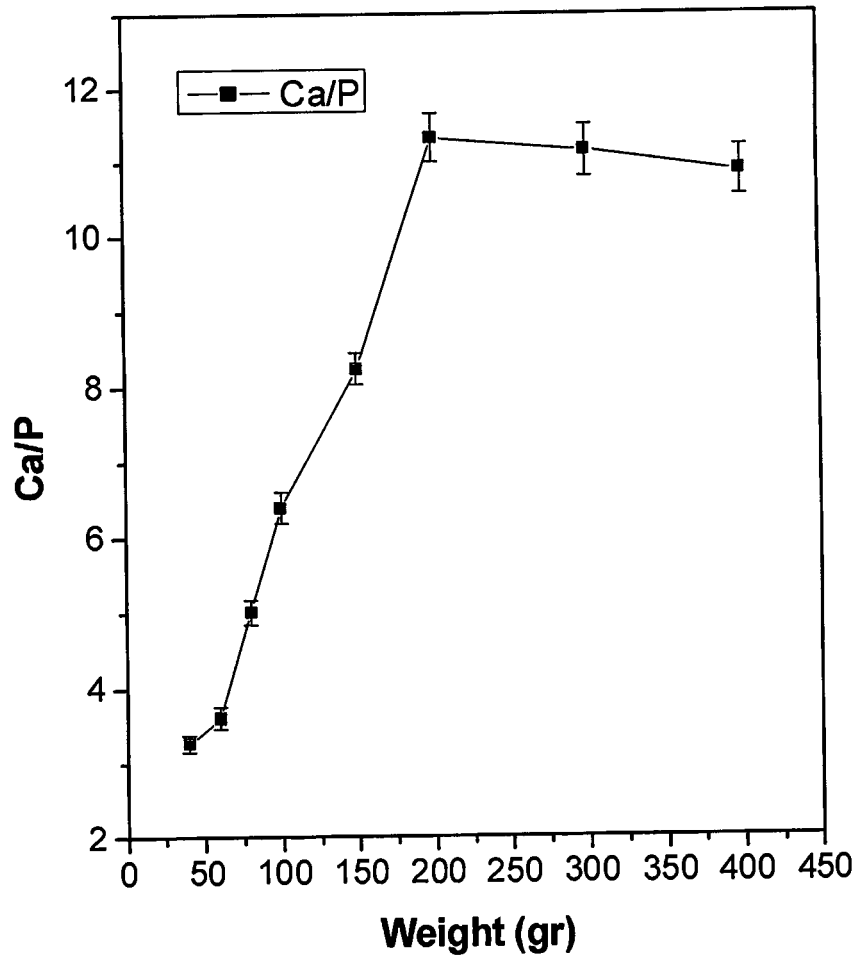


Figure 4.

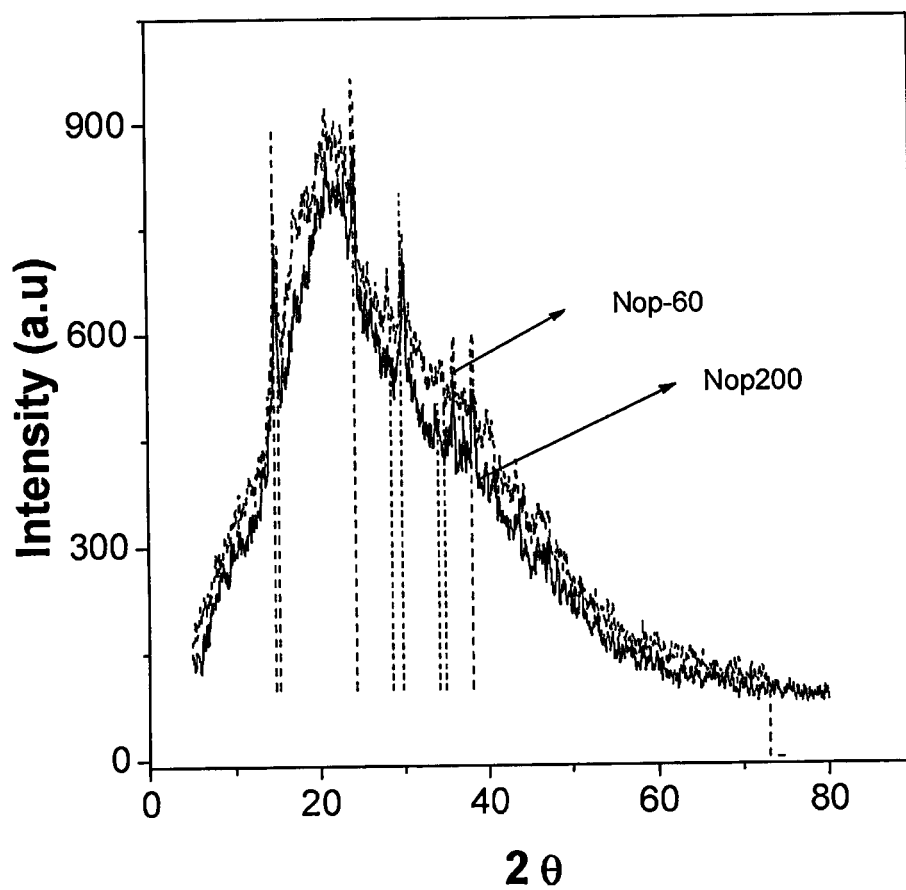


Figure 5

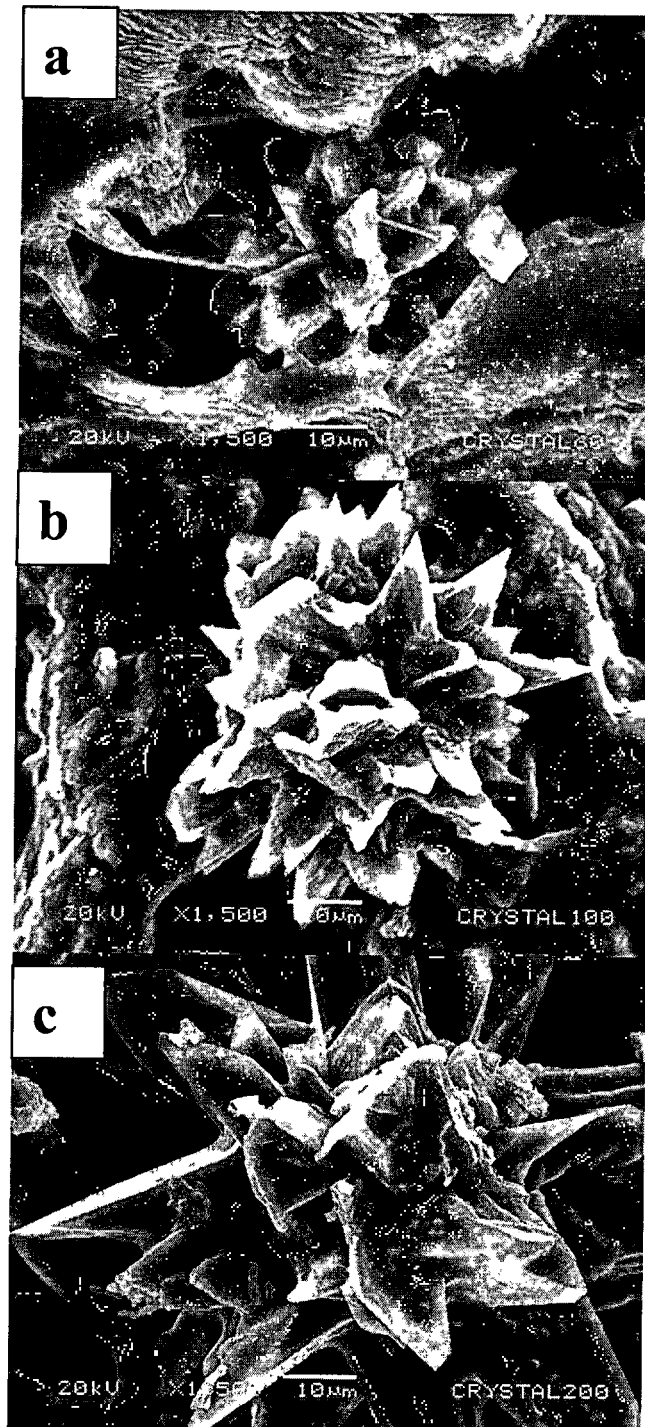


Figure 6