



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“EFECTO ANTIDIABÉTICO DEL FRUTO DEL HIGO (*Ficus carica* L.), SOMETIDO A ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

JOHANA HAZEL MONTES MUÑOZ

DIRIGIDA POR

Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“EFECTO ANTIDIABÉTICO DEL FRUTO DEL HIGO (*Ficus carica* L.), SOMETIDO A ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

JOHANA HAZEL MONTES MUÑOZ

DIRIGIDA POR

Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO

SINODALES

Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO
DIRECTOR

Dra. Ma. GUADALUPE FLAVIA LOARCA PIÑA
SINODAL

M. en C. DAVID GUSTAVO GARCÍA GUTIÉRREZ
SINODAL

M. en C. ALMA DELIA BERTADILLO JILOTE
SINODAL

ÍNDICE GENERAL

Contenido	
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	
1. ANTECEDENTES	
1.1 Definición de diabetes mellitus	1
1.2 Clasificación de la diabetes mellitus	1
1.2.1 Diabetes Tipo 1	1
1.2.2 Diabetes Tipo 2 (DMT2)	2
1.3 Diagnóstico de la diabetes mellitus	2
1.4 Complicaciones de la diabetes mellitus	2
1.5 Estrés oxidativo y su relación con la diabetes mellitus	3
1.6 Tratamiento de la diabetes mellitus	3
1.6.1 Tratamiento no farmacológico	4
1.7 Higo (<i>Ficus carica</i> L.)	5
1.7.1. Generalidades del higo (<i>Ficus carica</i> L.)	5
1.7.2 Composición química del higo (<i>Ficus carica</i> L.)	6
1.7.3 Composición nutracéutica del higo (<i>Ficus carica</i> L.)	7
1.7.4 Uso del higo (<i>Ficus carica</i> L.) en la fitoterapia	8
1.7.5 Aplicación de Altas Presiones Hidrostáticas (APH) como método de conserva del higo (<i>Ficus carica</i> L.)	11
2. HIPÓTESIS	14
3. OBJETIVOS	15
3.1 General	15
3.2 Específicos	15
4. METODOLOGÍA	16
4.1 Materiales	16
4.1.1 Material vegetal	16

4.1.2 Material químico	16
4.1.3 Material biológico	17
4.2 Metodología	17
4.2.1 Determinación de fenoles	17
4.2.1.1 Cuantificación de fenoles extraíbles	17
4.2.1.1.1 Preparación del extracto	17
4.2.1.1.2 Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu	18
4.2.1.1.3 Cuantificación de flavonoides por el método colorimétrico del tricloruro de aluminio $AlCl_3$ (Zhishen)	18
4.2.1.1.4 Cuantificación de antocianinas totales mediante el método diferencial de pH	19
4.2.1.2 Cuantificación de fenoles no extraíbles	20
4.2.1.2.1 Cuantificación de taninos condensados por hidrólisis ácida con n-butanol/HCl	20
4.2.1.2.2 Cuantificación de taninos hidrolizables	21
4.2.2 Evaluación de la capacidad antioxidante	22
4.2.2.1 Ensayo del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil)	22
4.2.2.2 Ensayo del radical ABTS (ácido 3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico)	22
4.2.3 Determinación de sólidos solubles	23
4.2.4 Evaluación de la capacidad de inhibir enzimas relacionadas con la digestión de carbohidratos y lípidos	23
4.2.4.1 Inhibición de α -amilasa	23
4.2.4.2 Inhibición de α -glucosidasa	23
4.2.4.3 Inhibición de lipasa pancreática	24
4.2.5 Evaluación del efecto hipoglucemiante del higo en ratas diabéticas	24
4.2.5.1 Inducción de DMT1 con estreptozotocina	24
4.2.5.2 Grupos de estudio	25
4.2.5.3 Dieta	25
4.2.5.4 Mediciones semanales	25
4.2.5.5 Análisis en suero	26

4.2.5.5.1 Química sanguínea de tres elementos (glucosa, urea y creatinina)	26
4.2.5.5.2 Perfil lipídico	27
4.2.6 Análisis estadístico	28
5. RESULTADOS	29
5.1 Contenido de compuestos fenólicos	29
5.2 Evaluación de la capacidad antioxidante	30
5.3 Correlación de Pearson entre capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos	31
5.4 Determinación de sólidos solubles	33
5.5 Evaluación de la capacidad de inhibir enzimas relacionadas con la digestión de carbohidratos y lípidos	34
5.6 Evaluación antidiabética del higo (<i>Ficus carica</i> L.) sometido a Altas Presiones Hidrostáticas	35
5.6.1 Determinación de la dosis de higo (<i>Ficus carica</i> L.) para administrar a las ratas diabéticas	35
5.6.2 Efecto hipoglucemiante del higo (<i>Ficus carica</i> L.) tratado con Altas Presiones Hidrostáticas.	36
5.7 Correlación de Pearson de concentración de glucosa sanguínea basal con capacidad antioxidante y con contenido de sólidos solubles del higo (<i>Ficus carica</i> L.) fresco y tratado con APH	38
5.8 Análisis en suero	39
6. DISCUSIÓN	41
7. CONCLUSIONES	47
8. REFERENCIAS	48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición química del higo (<i>Ficus carica</i> L.)	7
2	Grupos experimentales	25
3	Contenido de compuestos fenólicos del higo (<i>Ficus carica</i> L.) fresco y sometido a Altas Presiones Hidrostáticas	30
4	Capacidad Antioxidante del extracto del higo (<i>Ficus carica</i> L.) fresco y sometido a Altas Presiones Hidrostáticas.	31
5	Capacidad de inhibición de enzimas α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa pancreática de muestras de higo (<i>Ficus carica</i> L.) fresco y sometido a Altas Presiones Hidrostáticas.	34
6	Concentración de lípidos, creatinina y urea en suero de animales diabéticos alimentados con higo (<i>Ficus carica</i> L.) fresco y sometido a Altas Presiones Hidrostáticas.	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Variedad Black Mission del higo (<i>Ficus carica</i> L.)	5
2	Relación entre el contenido total de polifenoles (A), el contenido de antocianinas totales (B), el contenido de flavonoides (C), el contenido de taninos hidrolizables (D), y la capacidad antioxidante de las cuatro muestras de higo (<i>Ficus carica</i> L.) (Control 20 °C, T1, Control 40 °C y T2), expresada como concentración inhibitoria media o IC ₅₀	32
3	Contenido de sólidos solubles en el higo (<i>Ficus carica</i> L.) fresco y tratado a Altas Presiones Hidrostáticas.	33
4	Determinación de glucosa en ayuno en ratas sanas alimentadas con diferentes dosis de higo Control 20 °C.	35
5	Glucosa sanguínea en ayuno de animales alimentados con una dieta suplementada con higo fresco y sometido a diferentes tratamientos de Altas Presiones Hidrostáticas (APH) (1.4 g/kg).	37
6	Relación entre la capacidad antioxidante expresada como concentración inhibitoria media o IC ₅₀ de los extractos de higo y la concentración de glucosa de los animales diabéticos.	38
7	Relación entre el contenido de sólidos solubles expresados en grados Brix de las muestras higo y la concentración de glucosa de los animales diabéticos.	39

RESUMEN

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica de alta prevalencia en México. Esta enfermedad tiene como elemento común la hiperglucemia crónica y su control está enfocado a disminuir la glucemia. Se ha comprobado que consumir alimentos ricos en fibra dietética y antioxidantes disminuyen los niveles de glucosa y el estrés oxidativo. Entre estos alimentos se encuentra el higo (*Ficus carica* L.), sin embargo, es una fruta altamente perecedera, y se requieren buscar nuevas alternativas para conservar las características nutritivas, sensoriales, así como sus propiedades biológicas. El objetivo de este proyecto es evaluar el efecto del consumo del fruto del higo (*Ficus carica* L.) tratado con Altas Presiones Hidrostáticas (APH) sobre el control de la diabetes. Se analizó el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las muestras de higo (*Ficus carica* L.) fresco y tratado con APH encontrándose que esta tecnología produce mayor concentración de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas y taninos, principalmente en el higo tratado a 40 °C comparado con el de 20 °C. Así mismo, la capacidad antioxidante fue mayor a 40 °C. No se observó ningún efecto sobre la actividad de enzimas digestivas (α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa pancreática). Todos los tratamientos a excepción del de 20 °C sometido a Altas Presiones Hidrostáticas, incrementaron los niveles de glucosa y esto puede estar relacionado con los altos valores de °Bx, no se observó un efecto importante sobre los niveles de lípidos en sangre. El fruto de higo, no es recomendable para su consumo en un estado de diabetes.

1. ANTECEDENTES

1.1 Definición de diabetes mellitus

La Diabetes Mellitus (DM) es un síndrome heterogéneo que tiene como elemento común una hiperglucemia crónica, resultante de defectos en la secreción de insulina, acción de la insulina o ambos. La hiperglucemia crónica en la diabetes se asocia con un daño a largo plazo, disfunción y fallo de diversos órganos, principalmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos (American Diabetes Association, 2014).

1.2 Clasificación de la diabetes mellitus

La clasificación de la DM se basa fundamentalmente en su etiología y características fisiopatológicas (Organización Panamericana de la Salud, 2008; American Diabetes Association, 2014).

- Diabetes Tipo 1 (DMT1)
- Diabetes Tipo 2 (DMT2)

1.2.1 Diabetes Tipo 1

En este tipo de diabetes las células β -pancreáticas se destruyen, lo cual conduce a la deficiencia absoluta de insulina. Representa el 5–10 % de los casos y se caracteriza por la destrucción autoinmune de las células β -pancreáticas ya sea por acción de células T citotóxicas o bien, anticuerpos anti-insulina, anticélulas de islotes, entre otros (Pyörälä, 2000; American Diabetes Association, 2014).

1.2.2 Diabetes Tipo 2 (DMT2)

Este tipo de diabetes representa el 90-95 % de los pacientes con diabetes, se conoce también como diabetes no insulino-dependiente o diabetes del adulto. Hay tres factores claves involucrados en la patogénesis de la DMT2: 1) obesidad, 2) resistencia a la insulina y 3) producción decreciente de insulina por el páncreas (Hernando, 2011; American Diabetes Association, 2014).

La DMT2 se debe principalmente a factores genéticos y de estilo de vida, dentro de estos últimos se conoce que el sedentarismo, el tabaquismo, el consumo excesivo de alcohol así como la obesidad contribuyen de manera importante en el desarrollo de la misma (Abdulfatai y col., 2012).

1.3 Diagnóstico de la diabetes mellitus

Por años, el diagnóstico de la diabetes se ha basado en criterios de glucosa en plasma, ya sea glucosa plasmática en ayunas (FPG) o bien, el valor de glucosa \geq 200 mg/dL (11.1 mmol/L) dos horas después de consumir 75 g de glucosa (Prueba de tolerancia oral a la glucosa o PTOG) (American Diabetes Association, 2014).

1.4 Complicaciones de la diabetes mellitus

Cuando el control metabólico es escaso, este tipo de diabetes predispone a complicaciones microvasculares como nefropatía y retinopatía así como a un comienzo prematuro de enfermedad vascular aterosclerótica (American Diabetes Association, 2014).

La aparición y severidad de las complicaciones crónicas microvasculares (retinopatía, nefropatía y neuropatía) viene determinada en mayor medida por el grado de control glucémico, mientras que el desarrollo de complicaciones macrovasculares (cardiopatía isquémica y enfermedades cerebrovasculares)

depende más de la presencia asociada de otros factores de riesgo cardiovascular como hipertensión, dislipidemia, tabaquismo y obesidad (López y col., 2007).

1.5 Estrés oxidativo y su relación con la diabetes mellitus

La oxidación, es en general un proceso químico mediante el cual los electrones se eliminan de las moléculas, generando radicales libres altamente reactivos, que incluyen especies reactivas de oxígeno (ROS), tales como el ion superóxido y el radical hidropéroxilo, y especies reactivas de nitrógeno (RNS). Por lo tanto, los niveles excesivos de ROS y/o la reducción de defensas antioxidantes, provoca estrés oxidativo para un número de diversas enfermedades, incluyendo la DM.

Las principales fuentes de estrés oxidativo durante la diabetes mellitus incluyen la auto-oxidación de la glucosa, la sobreproducción de ROS por las mitocondrias, la glicación no enzimática y la vía de los polioles. Así mismo se ha propuesto que los niveles elevados de glucosa intracelular aumentan la transferencia de electrones a través de la cadena de transporte de electrones durante la respiración aerobia, incrementando los niveles de ROS (Teixeira y col., 2012).

Por otro lado, el desbalance entre los ROS y los antioxidantes constituye un papel importante en la resistencia a la insulina y en las complicaciones de la diabetes, esto debido a que, durante el estado de estrés oxidativo no se estimulan adecuadamente las vías de señalización mediados por esta hormona (Cruz y col., 2011).

1.6 Tratamiento de la diabetes mellitus

El tratamiento de la DM tiene como objetivo mantener el control metabólico y comprende básicamente la terapia con medicamentos y sin medicamentos. Ésta última está relacionada con las modificaciones del estilo de vida asociadas a la alimentación saludable y a la actividad física, mientras que el control clínico-metabólico incluye el control de la glucemia, presión arterial y de lípidos plasmáticos

(triglicéridos, colesterol total y fracciones), siendo éstas dos últimas, condiciones que coexisten en personas con DM y que representan factores de riesgo para enfermedad cardiovascular (Gomes y col., 2012).

1.6.1 Tratamiento no farmacológico

El tratamiento no farmacológico indicado para la DM comprende tres aspectos básicos; 1) plan de alimentación, 2) ejercicio físico y 3) hábitos saludables (Organización Panamericana de la Salud, 2008).

La alimentación saludable juega un papel importante en el manejo de la DM. Es recomendable el consumo de alimentos ricos en fibra, especialmente la soluble, pues mejora el control glucémico, reducen la hiperinsulinemia y reducen los niveles de lípidos. Considerando además, que la hiperglucemia, la hiperlipidemia y la inflamación son de las principales alteraciones metabólicas en la diabetes ya que son capaces de estimular la generación de ROS, que a su vez son causantes del desarrollo de complicaciones diabéticas; por lo tanto, la prevención con la terapia antioxidante es conveniente (Organización Panamericana de la Salud, 2008; Li y col., 2012).

En este contexto, estudios de epidemiología múltiple han demostrado que el consumo de frutas y verduras reduce el riesgo de enfermedades crónicas tales como cáncer, enfermedades cardiovasculares y diabetes. Existe evidencia de un efecto benéfico de los antioxidantes fenólicos. Se ha reportado que una dieta rica en frutas y verduras contribuye incrementando la capacidad antioxidante en suero, protegiendo contra la peroxidación lipídica (Pitsavos y col., 2005; Vinson y col., 2005).

1.7 Higo (*Ficus carica* L.)

1.7.1 Generalidades del higo (*Ficus carica* L.)

El higo común (*Ficus carica* L.) es un arbusto que pertenece a la familia *Moraceae*, es cultivado en las zonas con clima subtropical. Su fruto es una infrutescencia, es decir, un conjunto de pequeños frutitos que se encierran en el interior de un saco cóncavo denominado sicono. La base donde se asientan estos frutos se hace carnosa y se concentra de azúcares. La piel del sicono puede ser blanca, verdosa, morada o negra, según la variedad. El higo (*Ficus carica* L.) mide de 3 a 10 cm de largo y tiene un sabor dulce mucilaginoso y pesa en promedio 36 ± 19 g y se reporta el consumo per cápita anual en México de 0.07 kg, en España el consumo es de 0.4 kg y en la dieta estadounidense representa menos del 1% de la fruta total consumida (Fálder, 2003; Vinson y col., 2005; Aguilera, 2009; Hong, 2011; CONABIO, 2012; INAI, 2014).

En el mundo existen muchas variedades de higuera, Black Mission es la variedad más conocida. Se trata de una variedad tardía que produce higos y brevas de piel negra a morada y pulpa rosa pálida, mismos que son destinados al consumo en fresco o seco (Figura 1) (Fálder, 2003).



Figura 1. Variedad Black Mission del higo (*Ficus carica* L.)

En México el higo se distribuye comercialmente por todo el mercado interno como fruta fresca y confitada, en almíbar o deshidratada. Se destaca por su nivel de producción el Estado de Durango, Morelos, Veracruz, Baja California Sur y el Estado de Coahuila que en conjunto aportan más del 50% de la producción nacional (Parra, 1996).

1.7.2 Composición química del higo (*Ficus carica* L.)

El higo (*Ficus carica* L.) es especialmente rico en fibra dietética, minerales, proteínas, azúcares y ácidos orgánicos y contiene un elevado número de aminoácidos. También contiene diversos compuestos biológicamente activos, como los compuestos fenólicos que son los principales responsables de la actividad antioxidante de esta fruta (Solomon, 2006; Ercisli, 2012).

Estudios realizados en el higo (*Ficus carica* L.) reportaron que cada 100 g de higo seco contiene 9.8 g de fibra mientras que en la misma porción pero de higo fresco hay 2.9 g de fibra (Peterson y col., 2011).

En el Cuadro 1 se muestra la composición química del higo (*Ficus carica* L.) tanto del fruto fresco como del fruto seco (Gallego y col., 1996).

Cuadro 1. Composición química del higo (*Ficus carica* L.)

	Higo fresco	Higo seco
Porción		
Comestibles (g)	90	100
Agua (%)	80	11
Energía (Kcal)	80	275
Principios energéticos		
Proteínas (g)	1	2.20
Lípidos (g)	0.1	1
Carbohidratos (g)	18	62
Minerales:		
Fósforo (mg)	30	116
Magnesio (mg)	21	72
Calcio (mg)	38	170
Hierro (mg)	0.25	0.86
Zinc (mg)	0.25	0.86
Sodio (mg)	5	17
Potasio (mg)	285	983
Vitaminas:		
Ác. Ascórbico (mg)	5	-
Tiamina (mg)	0.06	0.16
Riboflavina (mg)	0.05	0.12
Ác. Nicotínico (mg)	0.5	1.70
Piridoxina (mg)	0.11	0.20
Ác. Fólico libre (µg)	0	3
Ác. Fólico total (µg)	0	9

1.7.3 Composición nutracéutica del higo (*Ficus carica* L.)

Estudios recientes han demostrado que el higo (*Ficus carica* L.) contiene compuestos fenólicos responsables de la actividad biológica que se atribuye a este fruto. El contenido total de compuestos fenólicos de acuerdo a lo descrito por Slatnar (2011) es de 74.9 y 530.2 mg eq. ácido gálico por kg de muestra, en higo fresco y seco, respectivamente. De estos compuestos destacan las antocianinas, las cuales se han cuantificado en numerosos estudios y se ha encontrado que el higo contiene desde 0.1 mg eq. Cianidina-3-glucósido/100 g hasta 27.3 mg eq. Cianidina-3-glucósido/100 g de muestra según la variedad y la parte del higo que sea evaluada (piel, pulpa, etc.)

(Solomon y col., 2006; Aguilera y col., 2009; Slatnar, 2011). En cuanto al contenido de flavonoides, se ha encontrado que el higo contiene desde 1.6 mg eq. catequina/100 g de muestra hasta 45.6 mg eq. catequina/100 g de muestra, también dependiendo de la variedad y la parte del higo en que sean cuantificados. La quercetina y luteolina con un total de 631 y 681 mg/kg de extracto, respectivamente, son los principales flavonoides que contiene el higo (*Ficus carica* L.) (Solomon y col., 2006; Slatnar y col., 2011).

1.7.4 Uso del higo (*Ficus carica* L.) en la fitoterapia

En la medicina tradicional se conocen numerosas propiedades del higo (*Ficus carica* L.), tales como emoliente, laxante y diurética; así mismo se ha utilizado como remedio para enfermedades cardiovasculares y respiratorias por sus propiedades anti-inflamatorias y antiespasmódicas (Joseph y Raj, 2011).

Estudios recientes realizados en ratas demostraron que el consumo de higo (*Ficus carica* L.) produce efecto laxante el cual se puede observar en la mejora del peso, contenido de agua fecal y cantidad de evacuaciones, así como mejoría en parámetros histológicos de grosor y área de mucina en el colon distal. Se sugiere que la celulosa, uno de los principales componentes del higo además de las propiedades antioxidantes pueden contribuir a los efectos de higo contra el estreñimiento; la celulosa aumenta la excreción fecal incrementando el contenido de agua, el volumen y la viscosidad. Además acelera los movimientos peristálticos debido a que mantiene una mayor acidez en el intestino. En adición al efecto laxante, se ha propuesto que las propiedades antioxidantes del higo (*Ficus carica* L.) pueden contribuir al efecto protector en el epitelio, lo que puede conducir a la mejora de las actividades fisiológicas intestinales (Hong y col., 2011; Hak y col., 2012)

Los fenoles contenidos en el higo (*Ficus carica* L.) pueden enriquecer las lipoproteínas en el plasma y protegerlas de la subsiguiente oxidación *in vitro*. Después del consumo de los higos secos, puede producirse un aumento significativo

en la capacidad antioxidante en el plasma humano. En relación a esto último, resultados de un estudio realizado en humanos sanos, indicaron que el consumo de higo ejerce un efecto antioxidante que supera el estrés oxidativo que provocan los azúcares contenidos en el mismo fruto y la capacidad antioxidante aumentó durante 4 horas después del consumo de higo (Vinson y col., 2005; Xiao y col., 2009).

Dentro del grupo de polifenoles que contiene el higo (*Ficus carica* L.) se encuentran las antocianinas, metabolitos secundarios de las plantas que ejercen importante actividad antioxidante. Los resultados de un estudio reportaron que la cianidina-3-rhamnoglucósido (C3R) es la principal antocianina que se encuentra en el higo (*Ficus carica* L.) y después de evaluar su efecto antioxidante, se llegó a la conclusión que C3R inhibe la peroxidación de lípidos consecuencia de la producción de radicales peroxilo, además es un fuerte quelante de iones ferrosos e inhibe los procesos apoptóticos que se inician por la oxidación de las membranas lisosómicas en células de fibroblastos. Estos resultados sugieren un potencial prometedor para prevenir el daño oxidativo en los sistemas biológicos y en el tratamiento de enfermedades que involucran la formación de radicales libres y el estrés oxidativo (Solomon y col., 2010).

Por otro lado, se conoce que elevadas concentraciones de colesterol LDL se vinculan con la aterogénesis y enfermedad coronaria; los recientes estudios sobre la reducción de colesterol en sangre recomiendan un mayor consumo de alimentos ricos en fibra para lograr una ingesta diaria total de 30 g/día. Se ha reportado que el higo contiene buenas cantidades de fibra soluble, lo que lo coloca como posible alimento eficaz para la disminución de las concentraciones de lípidos sanguíneos. Se ha reportado que cuando el higo se diluye en agua, su viscosidad aumenta y el tiempo de tránsito intestinal puede ser alargado, el vaciado gástrico retrasado, así como el tiempo de absorción de la glucosa disminuido. Estas acciones tienen el potencial de reducir las concentraciones de glucosa posprandial y disminuir las concentraciones de colesterol en sangre (Peterson y col., 2011). El efecto del consumo de higo seco en la concentración de lípidos sanguíneos en adultos

hiperlipidémicos se evaluó mediante un ensayo cruzado y se obtuvo que las concentraciones de colesterol de las lipoproteínas de baja (LDL) y alta (HDL) densidad así como los triglicéridos no mostraron cambios cuando el higo se incorporó a la dieta, a pesar del aumento de la ingesta de azúcar. Sin embargo, el colesterol total incrementó en las personas que iniciaron con su dieta habitual y posteriormente incorporaron el higo a su dieta (Peterson y col., 2011).

Para diabetes solamente se han realizado estudios con las hojas de la higuera, en el cual a partir de una decocción acuosa de las hojas, se realizó una extracción ácido-base, posteriormente la fase orgánica se administró a ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina y se observó no sólo la disminución de los niveles de colesterol total y de la relación colesterol total a HDL (CT/HDL) (importante marcador de riesgo de enfermedad cardiaca) sino que también hubo reducción de hiperglucemia. Los mecanismos así como las sustancias activas que participan en el efecto hipocolesterolemizante del extracto de las hojas de la higuera no están bien definidos, sin embargo las pruebas de tamizaje fitoquímico señalan que el extracto de hojas contiene flavonoides y taninos. A este respecto, los datos sugieren que flavonoides como la naringenina y sus análogos podrían inhibir la actividad de la 3-hidroxil-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA) y modular los lípidos en plasma e hígado. En cuanto a los taninos, se ha propuesto que inhiben la actividad de la HMG-CoA así como de la acil CoA colesterol aciltransferasa (ACAT) logrando disminuir los niveles de colesterol (Canal y col., 2000; Rassouli y col., 2010).

Así mismo, el efecto hipoglucemiante de una decocción de las hojas de la higuera fue probado en pacientes con DMT1. En dicho estudio, la infusión de las hojas se utilizó como complemento del desayuno durante un mes; a los pacientes a los que se administró la infusión presentaron niveles significativamente inferiores de glucosa posprandial con respecto al grupo control, por lo tanto, los resultados de este estudio plantean que la adición de la infusión de las hojas de la higuera a la dieta de los pacientes diabéticos puede ayudar al control glicémico posprandial (Serraclara y col., 1998).

El efecto hipoglucemiante de extractos acuosos de las hojas de la higuera se ha estudiado también en modelos animales. Así pues, en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina se evaluaron diferentes dosis de los extractos acuosos a intervalos de tiempo diferentes. Se concluyó que en un tiempo de 3, 6 y 12 h después de la administración oral del extracto acuso y a dosis de 0.1 mg/dL y 0.4 mg/dL los niveles de glucosa disminuyen significativamente comparados con el tiempo 0 de sus respectivos grupos (Rashidi y Nouredini, 2011).

1.7.5 Aplicación de Altas Presiones Hidrostáticas (APH) como método de conservación del higo (*Ficus carica* L.)

El higo es una fruta altamente perecedera, es por eso que se deben buscar alternativas que permitan conservar sus características fisicoquímicas, nutritivas, cualidades sensoriales, así como sus propiedades biológicas.

El tratamiento térmico es el método tradicionalmente más utilizado para la conservación de los alimentos, en el caso del higo se utiliza el secado al sol y secado al horno; sin embargo las nuevas tecnologías sugieren métodos más rápidos (Velazquez y col., 2005; Slatnar y col., 2011).

La Alta Presión Hidrostática (APH), también denominada alta presión o presurización, es un método empleado en la conservación de los alimentos donde el alimento está sujeto a elevadas presiones, con o sin adición de calor. De acuerdo a esto último, se conocen 3 procesos básicos donde se usan altas presiones con variaciones de temperatura:

1. Sistemas de presión isostática en frío (PIF). Las presiones aplicadas oscilan entre 50 – 600 MPa, se opera a temperatura ambiente y el tiempo de tratamiento oscila entre 1 y 30 minutos. El procesado de alimentos por este método requiere tiempos de tratamiento de 5 a 20 minutos y las presiones no suelen ser menores a los 400 MPa y no superan los 900 MPa.

Los otros dos sistemas se diferencian básicamente por el rango de temperatura aplicadas.

2. Sistemas de presión isostática templada (PIT) emplean temperaturas que oscilan entre 20 °C y 200 °C.
3. Sistemas de presión isostática caliente (PIC) utilizan temperaturas de unos 2000 °C y el medio presurizante es gas (Téllez y col., 2001).

La principal finalidad de la aplicación de APH en los alimentos es la inactivación microbiana y enzimática para garantizar la inocuidad y aumentar su vida útil. Este método se aplicó a un gel de *Aloe vera* y a pesar de que disminuyeron el contenido de fenoles totales y vitamina C cuando la presión fue de 500 MPa, este método aumentó la actividad antioxidante (Denoya y col., 2010; Vega y col., 2010).

En otro estudio en el que se comparó la actividad antioxidante, concentración de ácido ascórbico y propiedades sensoriales del jugo de tomate y jugo de zanahoria utilizando el método térmico convencional y la presurización, se reportó que el tratamiento de presurización produjo un mejor producto en cuanto a la capacidad captadora de radicales libres (capacidad antioxidante), al contenido de ácido ascórbico y a las propiedades sensoriales de los jugos de tomate y zanahoria, comparado con la pasteurización convencional ya que con el método convencional la actividad antioxidante y el ácido ascórbico disminuyen significativamente comparada con la de las muestras no tratadas. El ácido ascórbico en los jugos de tomate y zanahoria presurizados se mantuvo por encima de 45-70% después de 30 días de almacenamiento y la actividad antioxidante disminuyó menos del 10% durante el almacenamiento (Dede y col., 2007)

En el caso del higo no existe hasta el momento evidencia que sugiera el uso de las Altas Presiones Hidrostáticas en la conservación del higo, sin embargo considerando la información que proveen estudios realizados en otros alimentos percederos, la

APH es una tecnología prometedora para conservar las características fisicoquímicas, nutritivas, cualidades sensoriales, así como propiedades biológicas del higo.

2. HIPÓTESIS

El fruto del higo (*Ficus carica* L.) tratado con el método de Altas Presiones Hidrostáticas con variación de temperatura, conserva sus compuestos fenólicos y puede ser utilizado como coadyuvante en el control de la diabetes.

3. OBJETIVOS

3.1 General

Evaluar las propiedades antidiabéticas *in vivo* del fruto del higo (*Ficus carica* L.) sometido a Altas Presiones Hidrostáticas.

3.2 Específicos

- Cuantificar compuestos fenólicos en muestras de higo sometidas a Altas Presiones Hidrostáticas.
- Evaluar la capacidad antioxidante mediante la técnica de atrapamiento del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil) y atrapamiento del radical ABTS (ácido 3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico) de muestras de higo en estudio.
- Evaluar la capacidad de inhibición de α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa pancreática de muestras de higo sometidas a Altas Presiones Hidrostáticas.
- Evaluar el efecto hipoglucemiante en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina de las muestras de higo.

4. METODOLOGÍA

4.1 Materiales

4.1.1 Materia vegetal

Se utilizó el higo fresco (*Ficus carica* L.) y sometido a Altas Presiones Hidrostáticas con variación de temperatura proporcionado por el Instituto Tecnológico de Durango. Los tratamientos que se administraron a los grupos experimentales fueron los siguientes:

- H1: Higo control a 20 °C
- Tratamiento 1 (T1): Higo sometido a las condiciones de 20 °C, 350 MPa, 5 minutos.
- H2: Higo control a 40 °C
- Tratamiento 2 (T2): Higo sometido a las condiciones de 40 °C, 350 MPa, 5 minutos.

4.1.2 Material químico

- Todos los reactivos químicos, incluyendo solventes, fueron de grado analítico.
- Estreptozotocina (STZ) de la marca Sigma® para la inducción de diabetes.
- Tiras marca Accu-Check® para la determinación de glucosa sanguínea.
- Kit enzimático para determinación de glucosa en suero, marca Randox®.
- Kit enzimático para determinación de perfil lipídico en suero, marca Randox®.
- Kit enzimático para la determinación de urea y creatinina en suero, marca Randox®.

4.1.3 Material biológico

Se utilizaron 50 ratas macho de la cepa Wistar con un peso promedio de $280 \text{ g} \pm 20 \text{ g}$ adquiridas en el Laboratorio Rismart S.A de C.V, los cuales se sometieron a un periodo de adaptación de una semana, y se encontraron bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12:12 horas. El alimento y el agua se proporcionaron sin restricción durante todo el estudio experimental.

4.2 Metodología

4.2.1 Determinación de fenoles

4.2.1.1 Cuantificación de fenoles extraíbles

4.2.1.1.1 Preparación del extracto

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

4.2.1.1.2 Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

El método de Folin-Ciocalteu cuantifica la concentración total de grupos hidroxilos fenólicos presentes en la muestra sujeta a análisis. Esta técnica se basa en la oxidación de los compuestos fenólicos por el reactivo de Folin-Ciocalteu, el cual está formado por una mezcla de ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico, dicho reactivo se reduce por acción de los polifenoles, en una mezcla de óxidos azules de tungsteno y de molibdeno. La coloración azul producida absorbe a 760 nm. Se tomó una alícuota de 20 μL del extracto (A+B) del higo fresco o tratado, la cual se colocó en un tubo de ensayo y se completó el volumen a 250 μL con agua destilada, se adicionó 125 μL del reactivo de Folin Ciocalteu 1 N, se agitó en vórtex por 5 min, posteriormente se agregó 625 μL de Na_2CO_3 al 20% y se dejó reposar 2 horas en la oscuridad, transcurrido este tiempo se midió la absorbancia en un espectrofotómetro SmartSpec Plus BIO-RAD a una longitud de onda de 760 nm. La cuantificación de polifenoles se realizó por la interpolación de los resultados en una curva estándar de ácido gálico (0-0.01 mg/mL), y se expresaron como μg equivalentes de ácido gálico/g de higo (Singleton, 1999).

4.2.1.1.3 Cuantificación de flavonoides por el método colorimétrico del tricloruro de aluminio AlCl_3 (Zhishen)

Este método se basa en la capacidad del tricloruro de aluminio para formar quelatos con flavonoides orto-dihidroxiados, 3-hidroxiados y 5-hidroxiados en medio básico, los cuales presenta una coloración rosa salmón que absorbe a 510 nm. Para llevar a cabo la reacción se mezclaron 30 μL de NaNO_3 al 10 %, 60 μL de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ al 20 %, 200 μL de NaOH 1 M y 400 μL de agua destilada con 100 μL de cada muestra. Después se agitó y dejó en reposo durante 30 min, se realizaron las lecturas de absorbancia a 510 nm en un espectrofotómetro SmartSpec Plus BIO-RAD. La cuantificación se realizó por la interpolación de los resultados en una curva estándar

de (+)catequina (0-0.075 mg/mL), y se expresaron como μg equivalentes de catequina/g de higo (Puoci y col., 2011; Solomon y col., 2006).

4.2.1.1.4 Cuantificación de antocianinas totales mediante el método diferencial de pH

Las antocianinas desarrollan transformaciones estructurales reversibles con el cambio de pH manifestado por el espectro a diferentes absorbancias. A un pH igual a 1, las antocianinas predominan en su forma más colorida llamada oxónica mientras que a un pH igual a 4.5 predomina la forma hemiacetal incolora. El método diferencial se basa en esta reacción y permite medir el contenido total de antocianinas monoméricas (Giusti y Wrolstad, 2001).

En breve se pesó un gramo de higo fresco o tratado y se mezcló con 10 mL de una solución de metanol acidificado (metanol:agua:ácido fórmico, 70:28:2, v/v/v) a pH 3.45, durante 10 minutos en un ultra turrax, posteriormente se centrifugó a 10000 rpm durante 20 minutos a temperatura ambiente y se obtuvo el sobrenadante el cual se dejó reposar una hora en la oscuridad. Se prepararon dos muestras de la siguiente manera: la primera muestra se preparó mezclando 200 μL del sobrenadante con 700 μL de buffer de cloruro de potasio (0.025 M, pH 1.0) y para la segunda muestra se utilizaron 200 μL del sobrenadante con 700 μL del buffer de acetato de sodio (0.4 M, pH 4.5). Se midió la absorbancia de las dos muestras a 510 nm y 700 nm en un espectrofotómetro SmartSpec Plus BIO-RAD. Los resultados se expresan como μg equivalentes de cianidina-3-glucósido/g de higo, y fueron calculados por medio de la siguiente ecuación.

$$C (\mu\text{g/g}) = (A/\epsilon) * (\text{vol}/1000) * \text{PM} * (1/\text{peso de la muestra}) * 10^6$$

Donde:

$$A = \text{Absorbancia de la muestra} = (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4.5}$$

ϵ = Coeficiente de absorptividad molar de cianidina 3-glucósido ($26,900 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$)

vol= Volumen total del extracto de antocianinas (mL)

PM= Peso molecular de la cianidina 3-glucósido (449 g mol^{-1}) (Aguilera y col., 2009).

4.2.1.2 Cuantificación de fenoles no extraíbles

4.2.1.2.1 Cuantificación de taninos condensados por hidrólisis ácida con n-butanol/HCl

Los taninos condensados o proantocianidinas son compuestos fenólicos derivados de unidades de flavan-3,4-dioles que se caracterizan por poseer diversos grados de polimerización. Para su cuantificación se emplea una técnica que se basa en una reacción de despolimerización mediante la hidrólisis ácida de las proantocianidinas en presencia de calor dando como resultado antocianidinas estables al calor, las cuales reaccionan con sales de hierro formando compuestos coloridos que absorben a 550 nm (Amarowicz y col., 2006; Zurita y col., 2012).

Para la cuantificación de las proantocianidinas no extraíbles se utilizó el residuo del extracto empleado en la determinación de fenoles extraíbles. En un tubo con tapa de 10 mL , se agregaron 6 mL de n-butanol/HCl (95:5), 0.1 g del residuo (muestra de higo) y 0.2 mL de sulfato de amonio férrico al 2% en HCl 2 M y se mezcló en vórtex. El tubo se colocó en baño de agua a temperatura de ebullición durante 50 min y posteriormente se dejó enfriar. La solución se transfirió a un matraz volumétrico de 25 mL aforando con n-butanol/HCl (95:5). La absorbancia de la solución se midió a una longitud de onda de 550 nm utilizando un espectrofotómetro SmartSpec Plus BIO-RAD. Los resultados se expresan como unidades de absorbancia $550 \text{ nm}/100 \text{ mg}$ muestra (Amarowicz y col., 2006).

4.2.1.2.2 Cuantificación de taninos hidrolizables

Los taninos hidrolizables están formados de estéres de ácido gálico y un poliol o glucosa. Esta técnica se basa en la hidrólisis ácida de los taninos hidrolizables a metil galato, el cual se oxida con yodato de potasio dando un cromóforo que puede ser medio a 525 nm.

- a) Hidrólisis ácida (metanólisis): Se pesaron 20 mg de la muestra de higo (residuo obtenido de la preparación del extracto de fenoles extraíbles) y se le agregaron 2 mL de metanol/ H_2SO_4 (90:10), se dejó incubar a 85 °C durante 20 h. Luego se centrifugaron los tubos a 3000 rpm y el sobrenadante se ajustó a 3 mL con agua destilada; posteriormente se adicionaron 4 volúmenes de etanolamina comercial de 50 μ L cada uno, con agitación entre cada adición. A cada muestra se le agregaron 500 μ L de acetato de amonio 3.7 M y se ajustó el pH a 5.5 con etanolamina comercial. Después se llevó a un volumen de 4 mL con agua destilada y se mezcló vigorosamente. La preparación del estándar y el blanco siguió esta misma metodología, se utilizó como estándar el metil galato y el blanco se constituyó únicamente por el metanol/ H_2SO_4 (90:10).
- b) Oxidación con KIO_3 : Se transfirieron 100 μ L de la muestra metanolizada en un tubo para microcentrífuga, y se le agregaron 350 μ L de agua destilada y 1000 μ L de metanol, y se mezcló. Para preparar el blanco de cada muestra se reemplazaron los 350 μ L de agua destilada por HCl 0.3 N, y en el caso del estándar se adicionaron volúmenes de 0-100 μ L. Los tubos se taparon y se pusieron en baño de agua a 30 °C. posteriormente se agregó a cada tubo 40 μ L de KIO_3 con intervalos de tiempo entre cada uno y se mezcló. Se regresó al baño de agua a 30 °C durante 50 min e inmediatamente se leyó la absorbancia a 525 nm frente a un blanco de agua destilada en un espectrofotómetro SmartSpec Plus BIO-RAD. (Hartzfeld y col., 2002).

4.2.2 Evaluación de la capacidad antioxidante

4.2.2.1 Ensayo del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil)

Este método se basa en la reducción del radical DPPH por captación de un átomo de hidrógeno al añadir el antioxidante. El radical DPPH fue disuelto en metanol hasta obtener una absorbancia de 0.75 (± 0.03) a 515 nm. Se prepararon 10 tubos con volúmenes de 0-50 μL del extracto o estándar ((+)catequina); cada tubo se llevó a un volumen de 50 μL con metanol, se mezcló y se adicionaron 450 μL del radical DPPH previamente ajustado. Se incubó por 30 min en la oscuridad a temperatura ambiente, y posteriormente se midió la absorbancia del DPPH \cdot restante a 517 nm en un espectrofotómetro SmartSpec Plus BIO-RAD. Se determinó la Concentración Media Inhibitoria (IC_{50}) de las muestras así como del estándar, al graficar el logaritmo de la concentración contra el porcentaje de inhibición. El valor de IC_{50} , se define como la concentración de extracto requerida para neutralizar o captar el 50% del radical en las condiciones experimentales empleadas, un valor pequeño de IC_{50} corresponde a una capacidad antioxidante alta (Xiao y col., 2009; Briones y col., 2011; Puoci y col., 2011).

4.2.2.2 Ensayo del radical ABTS (ácido 3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico)

El radical ABTS a partir de la mezcla de una solución de ABTS \cdot 7 mM con persulfato de potasio 140 mM para obtener una concentración final de 2.45 mM, la cual se incubó en la oscuridad durante 12 h. Posteriormente se diluyó la solución de ABTS \cdot con amortiguador de fosfatos (pH 7.4) hasta obtener una absorbancia de 0.70 (± 0.02) a 734 nm. Se mezclaron 950 μL de la solución diluida de ABTS \cdot con 50 μL de diversas concentraciones de cada muestra o estándar y se realizó la medición de las absorbancias a 734 nm en un espectrofotómetro SmartSpec Plus BIO-RAD. La inhibición del radical ABTS fue expresado como la concentración media de inhibición máxima (IC_{50}) utilizando como estándar de comparación (+)catequina (Re y col., 1999).

4.2.3 Determinación de sólidos solubles

La determinación de sólidos solubles se realizó midiendo el índice de refracción de cada muestra, utilizando un refractómetro marca Hanna ®, modelo HI96801, los resultados fueron expresados como °Brix.

4.2.4 Evaluación de la capacidad de inhibir enzimas relacionadas con la digestión de carbohidratos y lípidos.

4.2.4.1 Inhibición de α -amilasa

La α -amilasa es una enzima secretada en la saliva o por el páncreas. Esta enzima rompe los enlaces internos α (1,4) del almidón y glucógeno. La acción de la α -amilasa comienza en la boca y continua en el intestino; degrada la amilosa a maltosa y degrada parcialmente la amilopectina y el glucógeno en dextrina (Mathews y col., 2013). Para evaluar la capacidad de inhibición de los extractos de higo, se disolvieron 0.025 g de enzima α -amilasa en una solución amortiguadora de fosfatos (40 mM, pH 6.9), 5 mL de almidón 0.4 g/L y 250 μ L del extracto (A+B) de higo utilizado para cuantificar fenoles extraíbles. La mezcla fue incubada a 37 °C durante 30 min, tras lo cual las muestras fueron diluidas en metanol (1:4) y centrifugadas a 700 rpm durante 10 min). Se realizó la cuantificación de glucosa por medio del método de glucosa oxidasa a 300 nm, expresando los resultados como porcentaje de inhibición.

4.2.4.2 Inhibición de α -glucosidasa

La α -glucosidasa cataliza la ruptura de enlaces glucosídicos α (1,6) a nivel intestinal. El resultado final de la acción de la α -glucosidasa y la α -amilasa es la degradación completa del glucógeno o almidón a maltosa y algo de glucosa (Mathews y col., 2013). Para medir la inhibición de α -glucosidas de los extractos de higo se disolvió la enzima α -glucosidasa (1.0 U/mL) en una solución amortiguadora de fosfatos (100

mM; pH 6.9) conteniendo *p*-nitrofenil- α -D-glucopiranosido 5 mM y 100 μ L de cada muestra o el control positivo (acarbosea 20 mg/mL). La mezcla fue incubada a 25 °C durante 15 min, luego se centrifugó a 700 rpm durante 10 min (Apostolidis y col., 2007). Se realizó la cuantificación de glucosa por medio del método de glucosa oxidasa a 300 nm, expresando los resultados como porcentaje de inhibición.

4.2.4.3 Inhibición de lipasa pancreática

La lipasa pancreática es la principal enzima que hidroliza los triglicéridos en ácidos grasos y monoglicéridos (Tortora y Reynolds, 2006). Para medir la acción de los extractos de higo sobre la lipasa pancreática se disolvieron 10 mg de lipasa pancreática porcina en 1 mL de agua destilada, se centrifugó a 16,000 rpm durante 5 min. Posteriormente 150 μ L del sobrenadante fueron diluidos en 400 μ L de una solución amortiguadora de Tris (100 mM; pH 8.2) conteniendo 450 μ L de *p*-nitrofenil laurato y 150 μ L de cada muestra de higo (extracto A+B utilizado para determinar fenoles extraíbles) o el control positivo (Orlistat 20 mg/mL). La mezcla fue incubada a 37 °C durante 2 horas y centrifugada a 16,000 rpm durante 2.5 min (McDougall y col., 2009). Se realizó la cuantificación de glicerol oxidado a 570 nm con un kit enzimático colorimétrico SPINREACT® expresando los resultados como porcentaje de inhibición.

4.2.5 Evaluación del efecto hipoglucemiante del higo en ratas diabéticas

4.2.5.1 Inducción de DMT1 con estreptozotocina

La inducción de la diabetes se realizó en ratas Wistar de 280 ± 20 g en un estado de ayuno previo de 12 h. Éstas fueron inyectadas vía intraperitoneal con una dosis única de estreptozotocina (STZ) de 47 mg/kg, disuelta en una solución amortiguadora de citrato de sodio 0.1 M, pH 4.5. Cuatro días posteriores a la inducción de diabetes con STZ se determinaron los niveles de glucosa en ayuno. Aquellos animales que

presentaron niveles de glucosa mayores a 140 mg/dL, se incluyeron dentro de los grupos experimentales.

4.2.5.2 Grupos de estudio

Los animales se dividieron en seis grupos de siete animales cada uno, como se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Grupos experimentales

Grupo	Descripción
Grupo 1	Control Sano
Grupo 2	Control Diabético
Grupo 3	Animales diabéticos con tratamiento de higo control 20°C
Grupo 4 o (T1)	Animales diabéticos con tratamiento de higo sometido APH 350 MPa, 20 °C, 5 min.
Grupo 5	Animales diabéticos con tratamiento de higo control 40 °C
Grupo 6 o (T2)	Animales diabéticos con tratamiento higo tratado APH 350 MPa, 40 °C, 5 min.

4.2.5.3 Dieta

Los animales fueron alimentados con una dieta estándar de croqueta comercial para rata marca nu3lab 22-5, la cual contiene un porcentaje de proteína del 22%, grasa del 5% y fibra del 6%. A los grupos tratados con higo fresco o tratado, se le dio una cantidad de 1.4 g/kg de peso corporal incorporado en el alimento de 07:00 a 07:30 horas.

4.2.5.4 Mediciones semanales

Cada semana se cuantificó la glucosa sanguínea en ayuno de la vena caudal de la rata, empleando un glucómetro ROCHE® (sensibilidad 20-600 mg/dL de glucosa) y

tiras reactivas Accu-Check. Asimismo se monitoreó semanalmente el peso corporal, el consumo de agua y alimento.

4.2.5.5 Análisis en suero

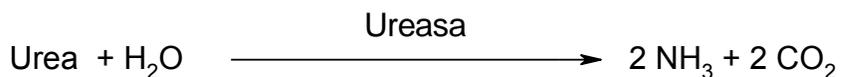
4.2.5.5.1 Química sanguínea de tres elementos (glucosa, urea y creatinina)

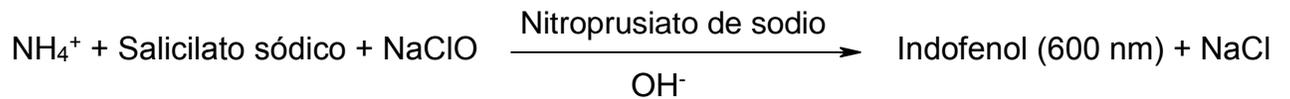
La glucosa, urea y creatinina se cuantificaron con kits enzimáticos de la marca Randox®.

Glucosa: La glucosa se determina después de una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno formado reacciona, catalizado por la peroxidasa, con fenol y 4-aminofenazona para formar un indicador de quinoneimina rojo-violeta.

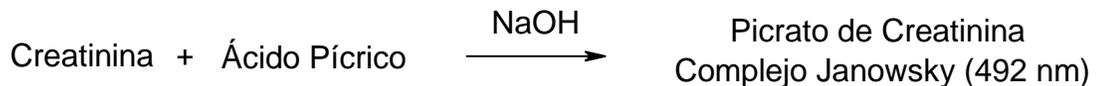


Urea: La urea es hidrolizada por la ureasa convirtiéndose en amoníaco y anhídrido carbónico. El amoníaco generado reacciona en medio alcalino con el hipoclorito de sodio y el salicilato sódico en presencia de nitroprusiato sódico, agente precursor de un cromóforo verde cuya intensidad es proporcional a la concentración de urea en la muestra.





Creatinina: La creatinina en solución alcalina reacciona con ácido pícrico para formar un complejo rojizo (complejo de Janowsky).



4.2.5.5.2 Perfil lipídico

Se cuantificaron los triglicéridos y el colesterol HDL con kits enzimáticos de la marca Randox®.

Triglicéridos: Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina fosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno por GPO. Al final, el peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminofenazona y *p*-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa dando una coloración roja.

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

4.2.6 Análisis estadístico

Los resultados de las evaluaciones *in vivo* se reportaron como la media \pm error estándar (EE) y los resultados de las evaluaciones *in vitro* se reportaron como la media \pm desviación estándar. Para la comparación de los resultados obtenidos se utilizó la prueba de Tukey. Los datos se analizaron con el paquete estadístico JMP 5.0.1.

5. RESULTADOS

5.1 Contenido de compuestos fenólicos

En el Cuadro 3 se muestran el contenido de fenoles totales, antocianinas totales, flavonoides, taninos condensados y taninos hidrolizables. Se observa que en el higo sometido a Altas Presiones Hidrostáticas se concentra el contenido de compuestos polifenólicos totales.

Respecto a los fenoles totales, se observa que tanto T1 como T2 presentan mayor concentración de estos compuestos con respecto a su control. Sin embargo, el Control 20 °C y su tratamiento (T1) no presentan diferencia significativa. De las muestras evaluadas, el higo tratado a APH (350 MPa, 40 °C, 5 min) (T2) con 606 ± 16 μg eq. GAE/g, es la que mayor cantidad de fenoles totales contiene.

La concentración de antocianinas totales se encuentra en el rango 97.5 a 131.5 μg eq. Cianidina-3-glucósido/g. Los dos tratamientos de APH (350 MPa, 20 °C, 5 min y 350 MPa, 40 °C, 5 min) son significativamente mayores ($P < 0.05$) que su respectivo control. Al igual que las antocianinas y fenoles totales, los flavonoides, taninos condensados y taninos hidrolizables tienden a incrementarse cuando el higo es sometido a Altas Presiones Hidrostáticas ya sea a 20 °C o a 40 °C, y la concentración de estos polifenoles está en un rango de 69.4 a 82.7 μg eq. (+)Cat/g para flavonoides; de 0.183 a 0.243 unidades de absorbancia 550 nm/100 mg muestra y de 170 a 260 μg eq. (+)Cat/g para taninos condensados y taninos hidrolizables, respectivamente. De estos polifenoles se observa que los taninos hidrolizables no muestran un incremento significativo cuando se compara el control con su respectiva muestra.

Cuadro 3. Contenido de compuestos fenólicos del higo (*Ficus carica* L.) fresco y sometido a Altas Presiones Hidrostáticas

	Fenoles Totales ($\mu\text{g eq. GAE/g}$)	Antocianinas Totales ($\mu\text{g eq. cyn-3-glu/g}$)	Flavonoides ($\mu\text{g eq. (+)Cat/g}$)	Taninos Condensados (Abs 550 nm/ 100 mg)	Taninos Hidrolizables ($\mu\text{g Eq (+) Cat/g}$)
Control 20 °C	512 \pm 14 ^a	86.4 \pm 1.1 ^a	56.7 \pm 2.1 ^a	0.183 \pm 0.01 ^a	170 \pm 10 ^a
Higo a APH (350 MPa, 20 °C, 5 min)	545 \pm 13 ^a	97.5 \pm 1.5 ^b	69.4 \pm 2.5 ^b	0.201 \pm 0.01 ^b	193 \pm 11 ^a
Control 40 °C	582 \pm 15 ^b	115.6 \pm 2.4 ^c	74.2 \pm 3.1 ^c	0.231 \pm 0.02 ^c	231 \pm 12 ^b
Higo a APH (350 MPa, 40 °C, 5 min)	606 \pm 16 ^c	131.5 \pm 2.2 ^d	82.7 \pm 3.6 ^d	0.243 \pm 0.02 ^d	260 \pm 21 ^b

a, b, c y d Indican diferencia estadística significativa por columna utilizando la prueba de Tukey (P<0.05).

5.2 Evaluación de la capacidad antioxidante

La actividad antioxidante de cada muestra expresada como concentración inhibitoria media (IC₅₀), se muestra en el Cuadro 4. Los resultados indican que los extractos de las cuatro muestras de higo fueron capaces de captar radicales DPPH y ABTS. El higo sometido a APH (350 MPa, 40 °C, 5 min) (T2) mostró la mejor actividad antioxidante con un IC₅₀ de 46.92 \pm 0.48 mg/mL y 40.48 \pm 0.34 mg/mL para DPPH y ABTS, respectivamente.

En general, la capacidad de los extractos de higo de captar los radicales DPPH y ABTS sigue la misma tendencia, en el sentido de que el higo tratado a Altas Presiones Hidrostáticas tanto a 20 °C como a 40 °C tienen mayor actividad antioxidante que su respectivo control (P<0.05). Sin embargo, se observa que con

respecto a la catequina, un potente antioxidante, los extractos de higo son en promedio 30 veces menos eficaces.

Cuadro 4. Capacidad Antioxidante del extracto del higo (*Ficus carica* L.) fresco y sometido a Altas Presiones Hidrostáticas.

	Captación de DPPH· (IC ₅₀ mg/mL)	Captación de ABTS· (IC ₅₀ mg/mL)
Control 20 °C	63.38 ± 0.47 ^a	55.29 ± 0.42 ^a
Higo a APH (350 MPa, 20 °C, 5 min)	56.98 ± 0.51 ^b	51.01 ± 0.31 ^b
Control 40 °C	52.48 ± 0.52 ^c	45.98 ± 0.38 ^c
Higo a APH (350 MPa, 40 °C, 5 min)	46.92 ± 0.48 ^d	40.48 ± 0.34 ^d
(+) Catequina	2.13 ± 0.14 ^e	1.31 ± 0.18 ^e

a, b, c, d y e Indican diferencia estadística significativa por columna, utilizando la prueba de Tukey (P<0.05).

5.3 Correlación de Pearson entre capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos

En la Figura 2 se muestra la asociación existente entre los diferentes compuestos polifenólicos y la capacidad antioxidante. Se observa que todas ellos tienen una alta correlación de acuerdo a la correlación de Pearson con valores de 0.9937 para fenoles totales (**A**), 0.9880 para antocianinas (**B**), 0.9935 para flavonoides (**C**) y 0.9881 para taninos hidrolizables (**D**). La asociación existente es negativa, es decir, que la concentración de polifenoles es inversamente proporcional al valor de IC₅₀, esto es, que a mayor concentración de los polifenoles ya sea fenoles totales, antocianinas, flavonoides o taninos hidrolizables menor es el valor de IC₅₀, lo cual significa una mejor capacidad antioxidante.

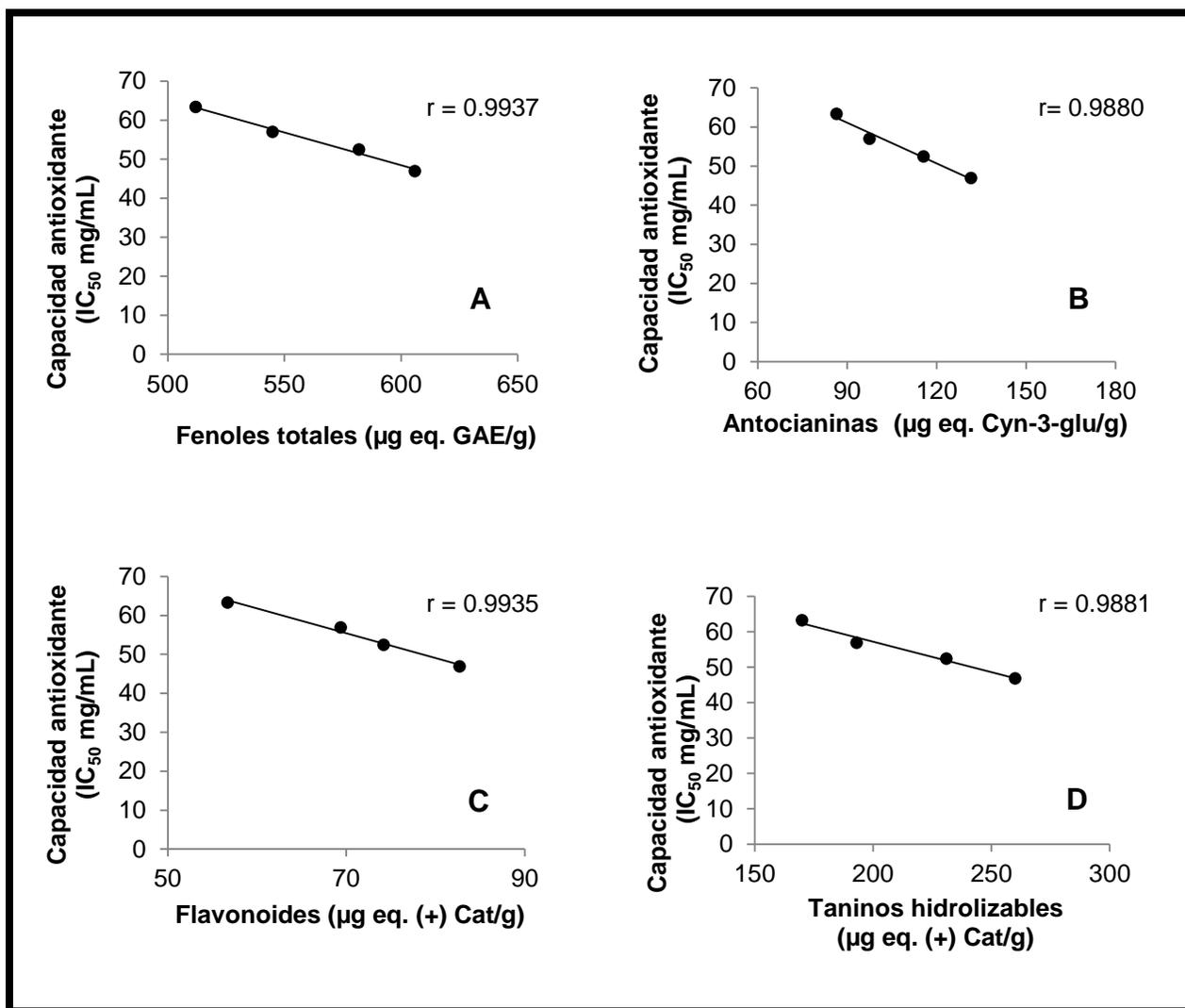


Figura 2. Relación entre el contenido total de polifenoles (A), el contenido de antocianinas totales (B), el contenido de flavonoides (C), el contenido de taninos hidrolizables (D), y la capacidad antioxidante de las cuatro muestras de higo (*Ficus carica* L.) (Control 20 °C, T1, Control 40 °C y T2), expresada como concentración inhibitoria media o IC₅₀.

5.4 Determinación de sólidos solubles

En la Figura 3 se muestra el contenido de sólidos solubles en el higo fresco y tratado con Altas Presiones Hidrostáticas. El higo control 20 °C presenta un promedio de 22.8 °Brix, el higo sometido a APH (350 MPa, 20 °C, 5 min.) 20.1 °Brix, el higo control 40 °C y el higo sometido a APH (350 MPa, 40 °C, 5 min.) contienen 23.6 y 23.3 °Brix, respectivamente. Se observa que el higo que fue tratado con APH ya sea a 20 o a 40 °C tiene un contenido significativamente menor ($P \geq 0.05$) de sólidos solubles que su respectivo control.

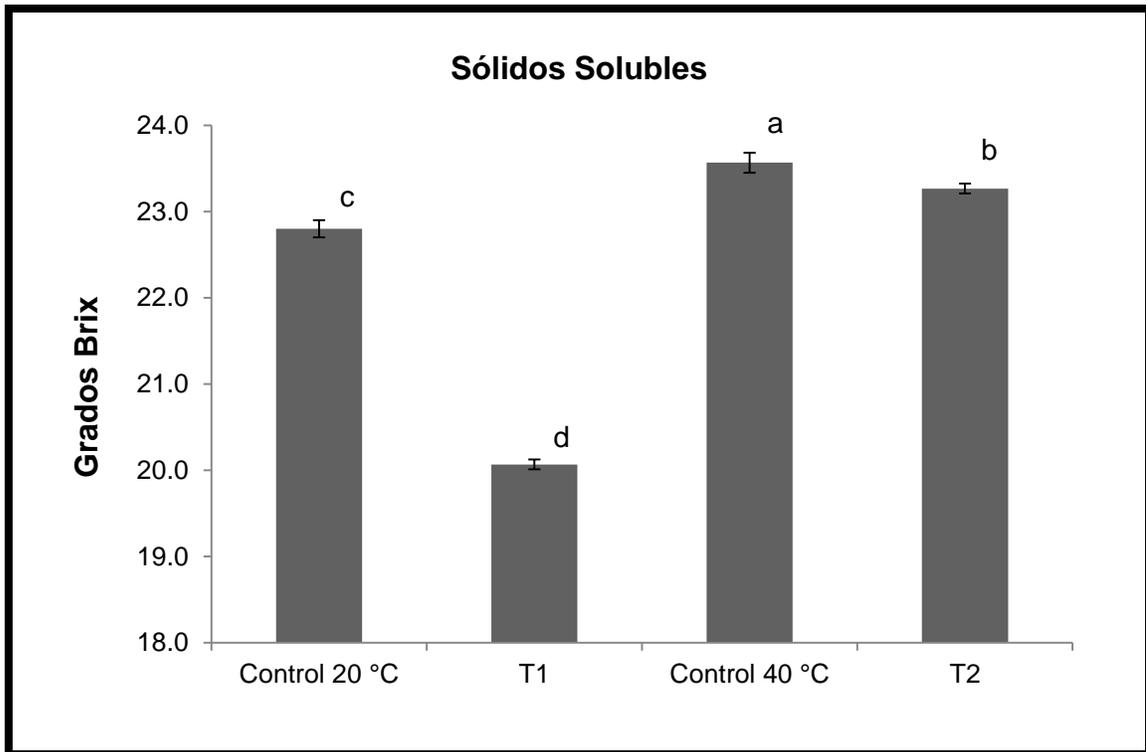


Figura 3. Contenido de sólidos solubles en el higo (*Ficus carica* L.) fresco y tratado a Altas Presiones Hidrostáticas. ^{a, b, c y d} Indican diferencia estadística significativa utilizando la prueba de Tukey ($P \geq 0.05$). T1= Higo sometido APH 350 MPa, 20 °C, 5 min. T2= Higo sometido APH 350 MPa, 40 °C, 5 min.

5.5 Evaluación de la capacidad de inhibir enzimas relacionadas con la digestión de carbohidratos y lípidos

En el Cuadro 5 se muestra la capacidad de los extractos de higo para inhibir diversas enzimas (α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa pancreática), los resultados se expresan en porcentaje de inhibición; se observa que la capacidad de inhibir a cualquiera de las tres enzimas evaluadas no es significativa y se encuentra en un rango de 0.38 a 1.48% para α -amilasa, de 5.31 a 7.38% para α -glucosidasa y de 4.53 a 9.58% para lipasa pancreática; mientras que el medicamento acarbosa muestra un porcentaje de inhibir a α -amilasa y α -glucosidasa de 88.11 ± 6.36 y $81.94 \pm 6.67\%$, respectivamente y el orlistat inhibe un $93.7 \pm 5.3 \%$ a la lipasa pancreática.

Cuadro 5. Capacidad de inhibición de enzimas α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa pancreática de muestras de higo (*Ficus carica* L.) fresco y sometido a Altas Presiones Hidrostáticas.

	Inhibición de α -amilasa (% inhibición)	Inhibición de α -glucosidasa (% inhibición)	Inhibición de lipasa pancreática (% inhibición)
Control 20 °C	1.48 ± 0.28^b	5.31 ± 0.44^a	4.53 ± 0.35^a
Higo a APH (350 MPa, 20 °C, 5 min)	1.09 ± 0.31^b	5.65 ± 0.32^a	6.71 ± 0.41^b
Control 40 °C	0.38 ± 0.52^b	6.73 ± 0.47^a	7.49 ± 0.45^b
Higo a APH (350 MPa, 40 °C, 5 min)	0.54 ± 0.06^b	7.38 ± 0.55^a	9.58 ± 0.48^c
Acarbosa	88.11 ± 6.36^a	81.94 ± 6.67^b	-
Orlistat	-	-	93.7 ± 5.3^d

^{a, b, c y d} Indican diferencia estadística significativa por columna, utilizando la prueba de Tukey (P<0.05).

5.6 Evaluación antidiabética del higo (*Ficus carica* L.) sometido a Altas Presiones Hidrostáticas

5.6.1 Determinación de la dosis de higo (*Ficus carica* L.) para administrar a las ratas diabéticas

En la Figura 4 se observa la concentración de glucosa sanguínea en ayunas de cuatro grupos de ratas sanas determinada al tiempo cero, y al cabo de 30, 60, 90, 120 y 180 minutos después de administrar agua (control) y tres diferentes dosis de higo control 20 °C (0.3 g/kg, 0.9 g/kg y 1.4 g/kg). Se puede observar que el grupo al que se le administró agua llega a la concentración máxima de glucosa a los 60 minutos y se normaliza después de 90 minutos de haber administrado el agua. En el caso de los grupos a los que se administró higo, se observa que conforme se incrementó la dosis, aumentaron también los niveles de glucosa, sin embargo, al cabo de 180 minutos los niveles de glucosa vuelven al estado inicial.

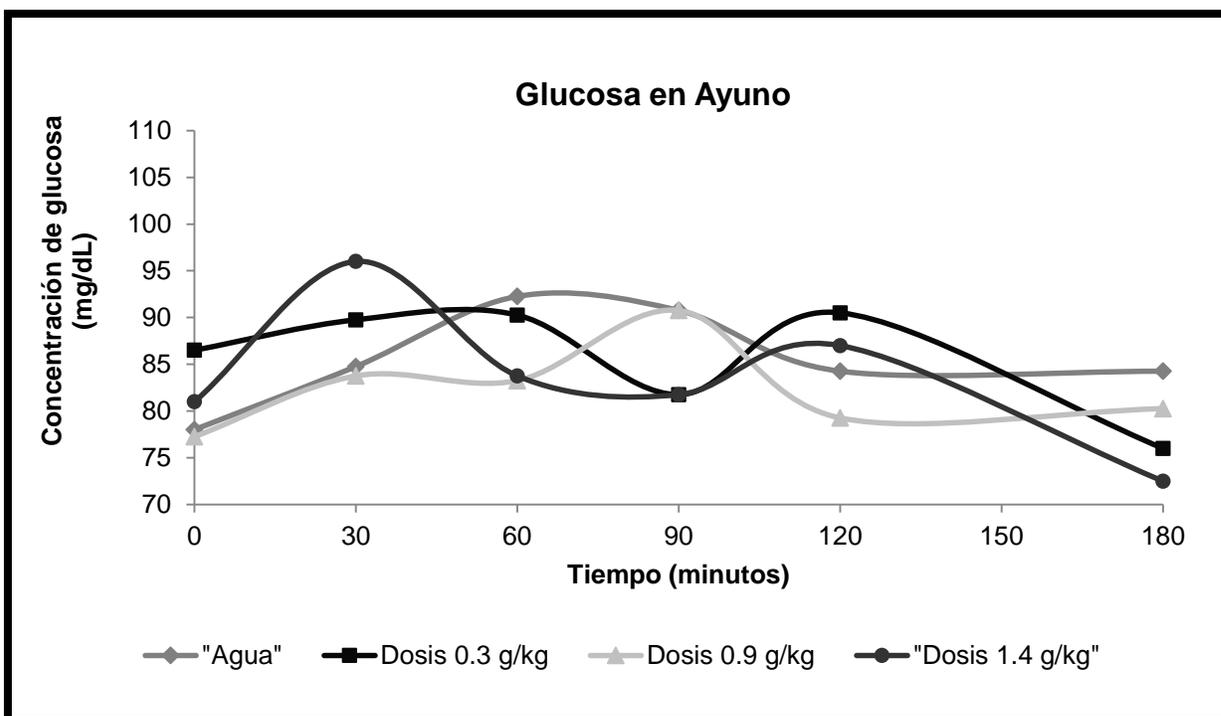


Figura 4. Determinación de glucosa en ayuno en ratas sanas alimentadas con diferentes dosis de higo control 20 °C.

5.6.2 Efecto hipoglucemiante del higo (*Ficus carica* L.) tratado con Altas Presiones Hidrostáticas

Los resultados para glucosa basal se muestran en la Figura 5; en la semana inicial 4 días después de la inducción (semana 0), tanto el control diabético como los animales diabéticos alimentados con higo presentaron niveles significativamente ($P \geq 0.05$) superiores al control sano de hasta 1.6 veces, el cual presentó concentraciones de glucosa basales normales (85.2 ± 2.5 mg/dL). En las semanas 1, 2 y 3, todos los animales diabéticos con tratamientos presentaron niveles de glucosa en sangre ligeramente mayor que el control diabético, a excepción del grupo alimentado con higo tratado con APH (350 MPa, 20 °C, 5 min) o T1, sin embargo, estos datos no mostraron diferencia estadística significativa.

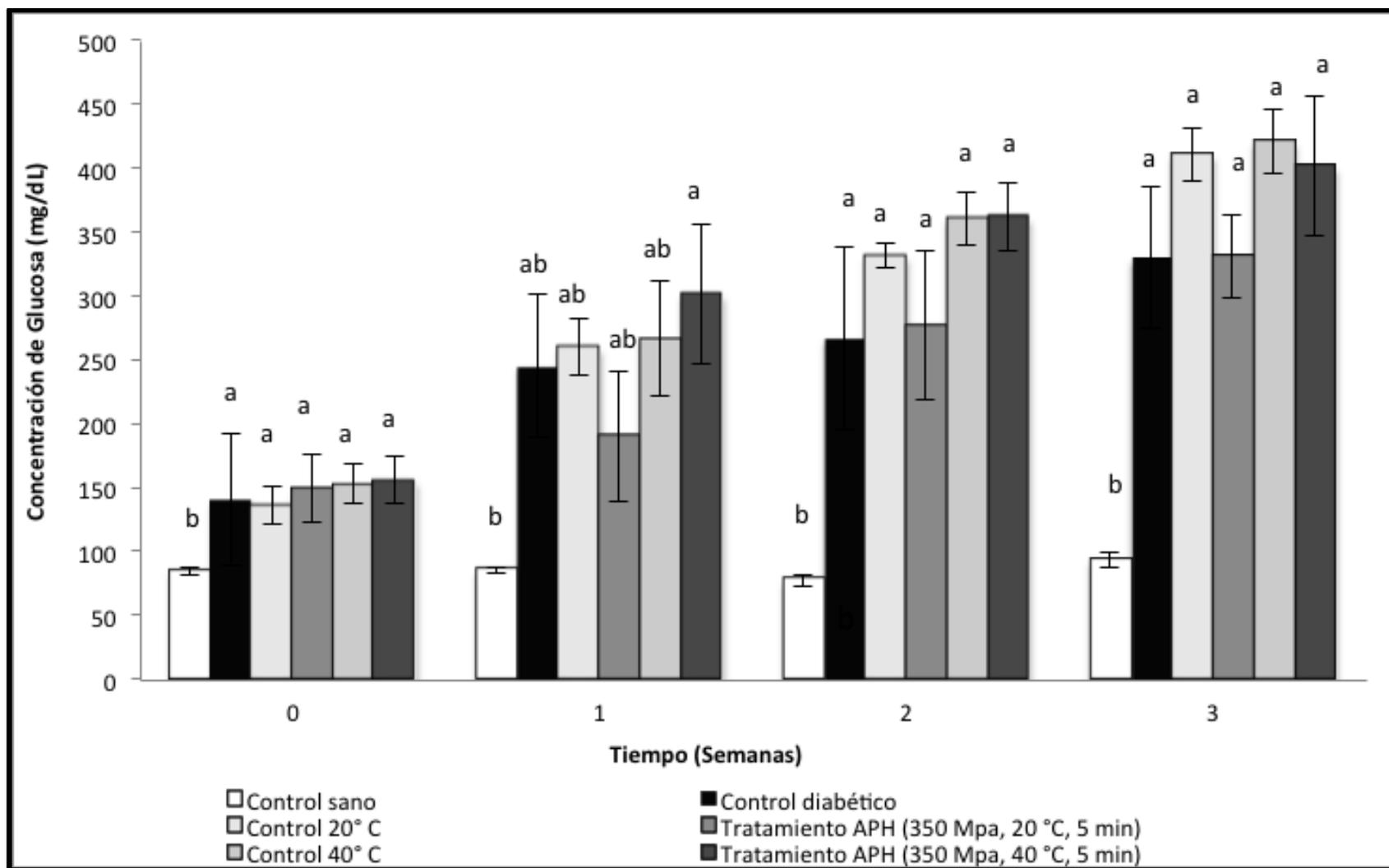


Figura 5. Glucosa sanguínea en ayuno de animales alimentados con una dieta suplementada con higo fresco y sometido a diferentes tratamientos de Altas Presiones Hidrostáticas (APH) (1.4 g/kg). Letras diferentes en las barras indican diferencia estadística significativa con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

5.7 Correlación de Pearson de concentración de glucosa sanguínea basal con capacidad antioxidante y con contenido de sólidos solubles del higo (*Ficus carica* L.) fresco y tratado con APH

En las Figuras 6 y 7 se muestran los resultados de la asociación existente según la correlación de Pearson entre la concentración de glucosa sanguínea basal de los animales diabéticos y la capacidad antioxidante de los extractos de higo así como la correlación existente entre la concentración de glucosa sanguínea basal de los animales diabéticos y el contenido de sólidos solubles de las muestras de higo, respectivamente. Como se puede observar, el coeficiente de correlación de capacidad antioxidante fue bajo ($r=0.3999$), lo cual implica que la concentración de glucosa en los animales diabéticos no está relacionada con la capacidad antioxidante de los extractos de higo; sin embargo, el coeficiente de correlación es alto ($r=0.9914$) para sólidos solubles totales, lo cual puede explicar el efecto que tuvo la ingesta de higo sobre las concentraciones de glucosa de los animales diabéticos, ya que los animales que consumieron el higo con menor cantidad de sólidos solubles tuvieron las concentraciones de glucosa más bajas, comparadas con el resto de los tratamientos.

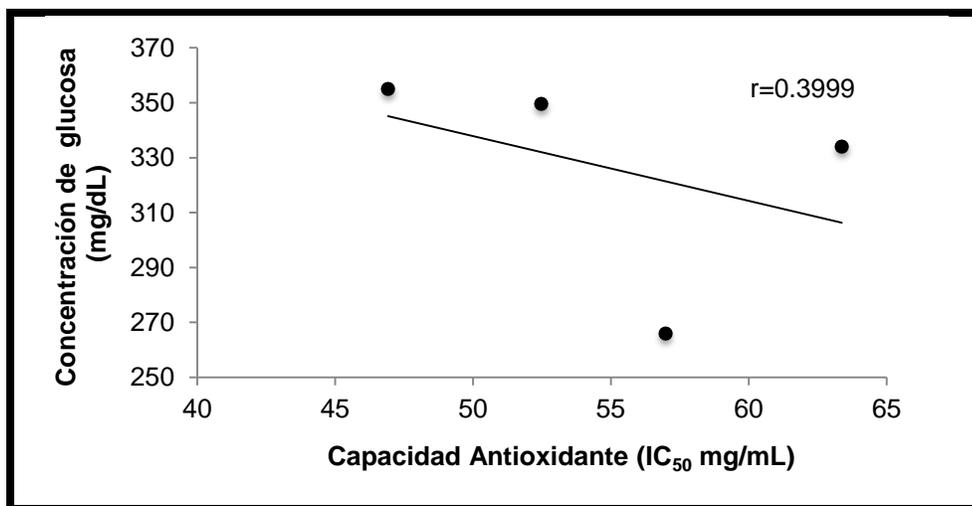


Figura 6. Relación entre la capacidad antioxidante expresada como concentración inhibitoria media o IC₅₀ de los extractos de higo y la concentración de glucosa de los animales diabéticos.

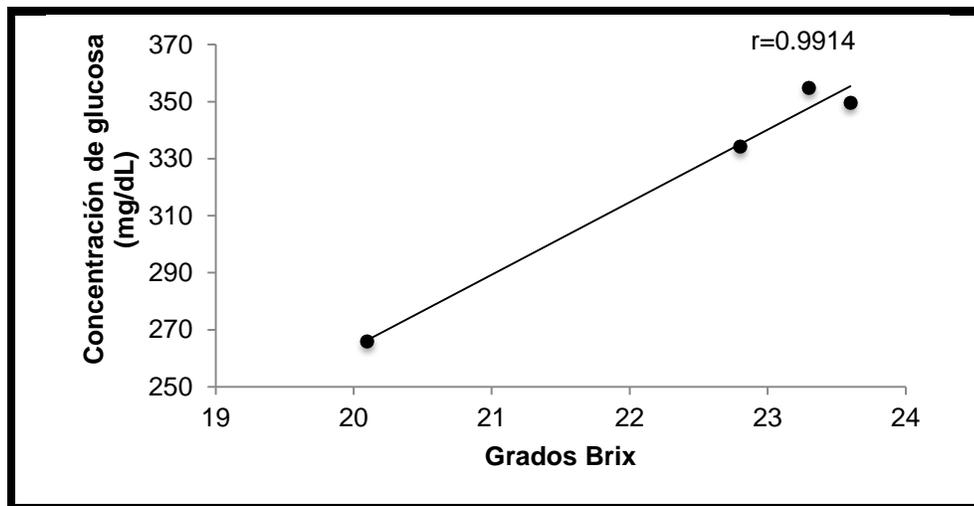


Figura 7. Relación entre el contenido de sólidos solubles expresados en grados Brix de las muestras higo y la concentración de glucosa de los animales diabéticos.

5.8 Análisis en suero

El perfil lipídico de los animales alimentados con higos sometidos a diferentes condiciones se muestra en el Cuadro 6. El nivel de colesterol total en suero de animales sanos y diabéticos fue similar, sin embargo, los animales alimentados con dietas suplementadas con higo (T1, Control 40 °C y T2), incrementaron significativamente las concentraciones de colesterol respecto al control sano. Para el colesterol HDL los animales del control diabético presentaron concentraciones significativamente menores ($P < 0.05$) en un 46% respecto al grupo sano mientras que los grupos tratados con higo (grupos Control 20 °C, T1 y T2) incrementaron las concentraciones de colesterol HDL a valores similares al control sano.

En cuanto a los niveles séricos de triglicéridos, los animales del grupo control diabético tenían hasta tres veces más concentración que el grupo control sano, mientras que en los animales tratados con higo (grupos T1 y T2) estos valores disminuyeron hasta en un 23% comparado con el control diabético.

Los niveles de creatinina y urea en suero se muestran en el Cuadro 6. Los valores para creatinina fueron significativamente mayores (64%) para el control diabético comparado con el control sano. Similar comportamiento fue observado para urea con un aumento de hasta 2 veces con respecto al control sano. Se observó también que los niveles de creatinina disminuyeron en el grupo control 20 °C, teniendo una concentración similar al control sano y para los niveles de urea se presentó una disminución del 32% en el grupo T1, pero sin diferencia estadística significativa.

Cuadro 6. Concentración de lípidos, creatinina y urea en suero de animales diabéticos alimentados con higo (*Ficus carica* L.) fresco y sometido a Altas Presiones Hidrostáticas.

Tratamiento	Triglicéridos (mg/dL)	HDL (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Urea (mg/dL)
Control Sano	43 ± 2 ^a	46 ± 3 ^a	0.34 ± 0.08 ^a	59 ± 1 ^b
Control diabético	149 ± 12 ^c	25 ± 7 ^b	0.56 ± 0.07 ^b	113 ± 9 ^a
Control 20 °C	138 ± 3 ^c	48 ± 9 ^a	0.37 ± 0.04 ^a	82 ± 9 ^{a,b}
Tratamiento APH (350 MPa, 20 °C, 5 min)	121 ± 4 ^b	44 ± 5 ^a	0.47 ± 0.03 ^b	80 ± 7 ^{a,b}
Control 40 °C	146 ± 18 ^c	38 ± 0.4 ^a	0.56 ± 0.07 ^b	93 ± 4 ^a
Tratamiento APH (350 MPa, 40 °C, 5 min)	115 ± 7 ^b	37 ± 1 ^a	0.72 ± 0.23 ^b	97 ± 12 ^a

Los datos se representan como la media ± EE (n=7). ^{a, b} y ^c. Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (P<0.05) con la prueba de Tukey.

6 DISCUSIÓN

Los resultados reflejan que las Altas Presiones Hidrostáticas favorecen la liberación de compuestos fenólicos en el higo (*Ficus carica* L.), tanto a 20 °C como a 40 °C comparados con su control, siendo los fenoles totales los de mayor contenido en las muestras de higo; el contenido fenólico total se encuentra en el intervalo de 512 a 606 µg eq. GAE/g. Estos resultados son similares a lo reportado por diversos autores para higo, por citar algunos; Caliskan y col., (2011) reportan una cantidad de 286 a 2119 µg eq. GAE/g; mientras que Slatnar y col., (2011) reportan un contenido de fenoles totales de 74.9 µg eq. GAE/g de higo fresco a 530.2 µg eq. GAE/g de higo seco y Solomon y col., (2011) reportan un contenido de 370 a 4630 µg eq. GAE/g.

En cuanto al contenido de antocianinas, flavonoides, taninos condensados e hidrolizables las APH también favorecen la liberación de estos compuestos en el higo tratado con APH tanto a 20 °C como a 40 °C comparado con su control ya que en todos los casos la concentración de estos compuestos fenólicos es mayor. Aguilera y col., (2009) reportaron que el tejido epidérmico del higo contiene 162 mg de cyn-3-glucósido /100 g mientras que Solomon y col. (2011) reportan un intervalo desde 1 hasta 273 µg de cyn-3-glucósido/g. Solomon y col., (2011) también reportan el contenido flavonoides para el higo el cual está en el intervalo de 1.6 mg eq. catequina/100 g de muestra hasta 45.6 mg eq. catequina/100 g.

La diferencia entre los resultados obtenidos y lo que se encuentra reportado puede atribuirse a la variedad de higo, la genética, la parte del higo que se haya evaluado (piel, pulpa, etc.) así como los diferentes procesos a los que sea sometido, por ejemplo, el secado al sol y el secado al horno. Al respecto, se han realizado estudios donde se determinaron las concentraciones en piel, pulpa y fruto maduro de los diferentes compuestos polifenólicos en seis variedades de higo (Mission, Chechik, Brown-Turkey, Bursa, Brunswick y Kadota), las cuales se caracterizan por tonalidades diferentes en la piel del fruto, que van del púrpura oscuro al amarillo. En

este estudio se concluyó que las variedades de higo con pieles púrpuras oscuras como la variedad Mission contienen una mayor cantidad de compuestos polifenólicos como los fenoles totales, antocianinas y flavonoides en comparación con variedades con pieles más claras (amarillas) como la variedad Kadota (Solomon y col., 2006). De igual manera Ercisli y col., (2012) reportan el contenido de fenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante de diversos genotipos que dan lugar a las diferentes coloraciones de la piel del higo por ejemplo, púrpura oscuro, púrpura claro, amarillento, verde claro, entre otras. En este estudio también se concluyó que los higos con pieles color púrpura oscuro y negro contienen mayor cantidad de compuestos fenólicos que los genotipos de piel amarillenta y verde claro.

Por otro lado, Slatnar y col., (2011) compararon el contenido de compuestos fenólicos entre el higo fresco y cuando es secado por dos métodos diferentes; el secado al sol y el secado al horno. En este estudio concluyeron que los higos secados al horno son más ricos en compuestos fenólicos que los higos frescos y secados al sol.

El hecho de que las muestras de higo que fueron sometidas a Altas Presiones Hidrostáticas, tanto a 20 °C como a 40 °C, tuvieran mayor concentración de los diferentes compuestos polifenólicos puede ser explicado por el efecto que ejerce la presurización en las membranas celulares, ya que aumenta la permeabilidad de las mismas; además la diferencia de presión en el interior y exterior de las membranas celulares cuando son sometidas a APH, es tan grande que permite una permeación instantánea de solutos lo cual favorece la extracción de los compuestos fenólicos y permite una mayor biodisponibilidad (Xi y col., 2006).

Por otra parte, la capacidad antioxidante evaluada por la propiedad de captar radicales DPPH y ABTS de las muestras de higo, sigue la misma tendencia que en el caso de los polifenoles, ya que las muestras tratadas con APH a 20 °C y a 40 °C exhiben mayor capacidad antioxidante que sus respectivos controles. La capacidad antioxidante y el contenido de los diferentes compuestos polifenólicos están

altamente correlacionados según el coeficiente de correlación de Pearson (Figura 2), por lo tanto, se sugiere un incremento de la capacidad antioxidante debido a que los compuestos fenólicos se encuentran más biodisponibles en el higo tratado con APH. Estos resultados concuerdan con lo que reportan Briones y col., (2011) quienes concluyen que las APH aplicadas en manzanas liberan compuestos con acciones antioxidantes que aumentan la capacidad antioxidante cuando se compara con las muestras que no fueron tratadas.

Dentro de la terapia farmacológica para la diabetes se utilizan los inhibidores de diversas enzimas relacionadas con la digestión de carbohidratos, entre los que se encuentran los inhibidores de α -amilasa y α -glucosidasa que impiden la absorción intestinal de carbohidratos después de una comida, disminuyendo por tanto, la hiperglucemia (Zárate y col., 2010). La capacidad de los extractos de higo para inhibir las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa se muestra en el Cuadro 5, y como se puede observar dicha capacidad no es significativa, por lo que esto no influye en la mejora de la hiperglucemia de los animales que consumieron el higo tratado con APH (T1).

En cuanto a la evaluación antidiabética, el consumo per cápita del higo en México es de 0.07 kg anualmente y considerando que el peso del higo es de 20–40 g, esto equivale al consumo de menos de un higo al día. El higo se ha propuesto como un fruto nutracético, debido a su contenido de compuestos fenólicos (Solomon y col., 2006), por lo tanto, para realizar la evaluación se consideraron consumos mayores, equivalentes a 1, 3 y 5 frutos por día por una persona adulta. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que el higo es un fruto con una cantidad elevada de sólidos solubles (Figura 3), y en consecuencia, no sería recomendable evaluar una mayor cantidad de dicho fruto.

En la Figura 4 se observa que no hubo cambios en los niveles de glucosa de animales sanos tratados con 0.3, 0.9 y 1.4 g/kg del higo Control 20 °C. Estos resultados sugieren que el aporte de carbohidratos simples (glucosa) por parte del higo fue baja.

En base a lo anterior se realizó un estudio con animales diabéticos tratados con 1.4 g/kg de higo, equivalente al consumo diario de 5 frutos. Como puede observarse en la Figura 5, los animales diabéticos alimentados con una dieta suplementada con higo presentaron mayor concentración de glucosa sanguínea comparada con el control diabético, a excepción del grupo T1 (higo tratado con APH 350 MPa, 20 °C, 5 min). De acuerdo al coeficiente de correlación de Pearson, la mejora de la hiperglucemia, aunque no significativa, tiene poca relación con el contenido de compuestos fenólicos ($r=0.3999$, Figura 6).

La ingesta de azúcar (glucosa) en los pacientes diabéticos no es recomendado ya que al no poder ingresarla a las células, produce un efecto hiperglucemiante, es por ello que se determinó la cantidad de azúcar presente en las muestras siendo el higo con menor concentración de sólidos solubles (azúcar) el que fue tratado con APH (350 MPa, 20 °C, 5 min) o T1, con 20.1 °Brix (Figura 3); cabe mencionar que los animales alimentados con este tratamiento incrementaron en menor medida los niveles de glucosa comparando con las demás muestras, mientras que las mayores concentraciones de glucosa se presentaron en los animales alimentados con las muestras de higo con mayor contenido de sólidos solubles (Control 20 °C con 22.8 °Brix, higo Control 40 °C con 23.6 °Brix y T2 con 23.3 °Brix). Según el coeficiente de correlación de Pearson ($r=0.9914$, Figura 7), existe una asociación positiva entre el contenido de sólidos solubles del higo y la concentración de glucosa sanguínea basal en los animales diabéticos, lo que sugiere que la ingesta de higo con mayor cantidad de azúcares tiene como consecuencia un aumento en los niveles de glucosa sanguínea.

El efecto hipoglucemiante del higo solamente ha sido reportado para las hojas de la higuera, este efecto se evaluó en pacientes dependientes de insulina y en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina, los resultados mostraron una disminución

de los niveles de glucosa posprandial en ambos casos (Serraclara y col., 1998; Canal y col., 2000).

En cuanto al perfil lipídico, los animales diabéticos tratados con higo sometido a diferentes condiciones incrementan la concentración de triglicéridos. Los animales tratados con las muestras de higo sometidas a Altas Presiones Hidrostáticas (T1 y T2), presentaron un efecto similar al de los higos no tratados. A pesar del contenido de azúcar del higo, se presentó una mejora en los niveles de colesterol HDL, ya que al consumir higo ya sea fresco o sometido a APH se incrementaron los niveles de colesterol HDL, lo cual representa un efecto positivo debido a que este tipo de lipoproteína se encarga de devolver el exceso de colesterol de los tejidos al hígado para su metabolismo o excreción (Mathews y col., 2013).

Se ha reportado que el consumo de higo seco por humanos hiperlipidémicos no produce efectos sobre los lípidos en la sangre a excepción del colesterol total, el cual incrementó por efecto del tratamiento, pero no disminuyó el colesterol LDL ni los niveles de triglicéridos, tampoco se observaron efectos sobre la HDL. El efecto sobre el colesterol total lo atribuyen a que el incremento en la ingesta de azúcar (aproximadamente 38% al administrar higo) puede estimular la síntesis de VLDL, consecuentemente, el aumento de VLDL puede conducir a un incremento en la formación de LDL y por lo tanto, el aumento de los niveles de colesterol total (Peterson y col., 2011).

El incremento de urea y creatinina en los animales diabéticos respecto al control sano, sugiere que podría haber una alteración renal, ya que la urea y la creatinina son productos del catabolismo de aminoácidos y fosfato de creatinina en el músculo esquelético, respectivamente. Su cuantificación en sangre proporciona información acerca de la función renal debido a que éstos compuestos son excretados en la orina, por lo tanto, niveles elevados de urea y/o creatinina en sangre, en general indica una

deficiencia renal (Tortora y Reynolds, 2006). El tratamiento con las diferentes muestras de higo no presentaron ninguna mejora en el daño renal.

Se ha reportado que la mejora del funcionamiento renal puede ser atribuida a una disminución de los niveles de glucosa o a una mejora del estrés oxidativo. En la diabetes el aumento en los niveles de glucosa extracelulares, tiene como consecuencia un aumento de la absorción de glucosa por el riñón, lo cual conduce a la formación de productos de glicación que estimulan la producción local de radicales libres, los cuales oxidan a los lípidos de las membranas de las células renales, afectando la función glomerular. Por lo tanto, los terapias que incluyen la ingesta de alimentos ricos en compuestos con propiedades antioxidantes como son los polifenoles puede ayudar prevenir la progresión de las complicaciones renales del diabético (Bhatti y col., 2004; Cruz y col., 2011). A pesar del contenido de fenoles presentes en el higo, estos no mostraron ningún efecto en el riñón.

7 CONCLUSIONES

La aplicación de Altas Presiones Hidrostáticas al higo no sólo favorece la conservación de sus compuestos bioactivos (polifenoles), sino que favorecen la liberación de estos compuestos, lo cual permite una mayor biodisponibilidad que se ve reflejada en el aumento de la concentración de los polifenoles y capacidad antioxidante.

El higo tratado con APH tanto a 20 °C como a 40 °C, contiene menor cantidad de sólidos solubles que su respectivo control y a su vez los animales que consumieron el higo tratado con APH tuvieron menor concentración de glucosa basal que su respectivo control, sugiriendo que los productos tratados con esta tecnología son los que presentan los mejores beneficios.

A pesar de que las APH conservan e incrementan la cantidad de compuestos bioactivos del higo, esto no tiene ningún efecto antidiabético que sugiera su consumo, al contrario, no se recomienda el consumo de higo en pacientes diabéticos ya que no sólo no disminuye los niveles de glucosa en sangre, sino que debido a la cantidad de azúcar, favorece la hiperglucemia.

La ingesta de higo contribuye a un incremento de colesterol y triglicéridos, promoviendo algunas de las complicaciones más comunes en los pacientes con diabetes, como son lo son la hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia.

8 REFERENCIAS

ADA. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. **2012**;35:S64- S71.

ADA. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in diabetes – 2012. *Diabetes Care*. **2012**;35:S11.

Abdulfatai O, Olusegun O, Lateefat O. Type 2 Diabetes Mellitus: a review of current trends. *Oman Medical Journal* **2012**;27:269-273.

Aguilera-Ortiz M. Caracterización y estabilidad de las antocianinas de Higo *Ficus carica* variedad *Misión*, cultivado en Ciudad Lerdo Durango, México. Tesis que para obtener el Grado de Doctor en ciencias con acentuación en alimentos. Durango, México. Universidad Autónoma de Nuevo León **2009**: 68-69, 89, 91.

Amarowicz R, Pegg RB. Content of proanthocyanidins in selected plant extracts as determined via n-butanol/HCl hydrolysis and a colorimetric assay or by HPLC. *Pol J Food Nutr. Sci.* **2006**;15/56: 319-322.

Apostolidis E, Know YI, Shetty K. Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innov Food Sci and Emerg Technol.* **2007**; 8:46-54.

Bhatti F, Mankhey RW, Asico L, Quinn MT, Welch WJ, Maric C. Mechanisms of antioxidant and pro-oxidant effects of α -lipoic acid in the diabetic and nondiabetic kidney. *Kidney International.* **2004**;67:1371-1380.

Briones-Labarca V, Venegas-Cubillos G, Ortiz-Portilla S, Chacana-Ojeda M, Maureira H. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility, as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. *Food Chem.* **2011**;128:520-529.

Caliskan O, Polat AA. Phytochemical and antioxidant properties of selected fig (*Ficus*

carica L.) accessions from the eastern Mediterranean region of Turkey. *Scientia Horticulturae* **2011**; 128:473–478.

Canal JR, Torres MD, Romero A, Pérez C. A chloroform extract obtained from a decoction of *Ficus carica* leaves improves the cholesterolaemic status of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Acta Physiol Hung* **2000**;87:71-76.

CONABIO, Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad, **2012** [consultado 2014 abril 18]. Disponible en: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/50morac5m.pdf

Cruz-Hernández J, Licea-Puig ME, Hernández-García P, Abraham Marcel EA, Yanes-Quesada M. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *Rev Mex Patol Clin* **2011**;58:4-15.

Dede S, Alpas H, Bayindirli A. High hydrostatic pressure treatment and storage of carrot and tomato juices: antioxidant activity and microbial safety. *J Sci Food Agric* **2007**;87:773-782.

Denoya GI, Del Castillo LL, Pirola PM, Sanow CL, Vaudagna SR, Benítez CE. Aplicación de Altas Presiones Hidrostáticas en duraznos mínimamente procesados. World Congress & Exhibition engineering, Argentina. 17-20 octubre **2010** [consultado 2012 septiembre 13]. Disponible en: http://www.apiperu.com/argentina/trabajos/ippia_057_denoya_gabriela_ines.pdf

Ercisli S, Tosun M, Karlidag H, Dzubur A, Hadziabulic S, Aliman Y. Color and antioxidant characteristics of some fresh fig del higo (*Ficus Carica* L.) genotypes from Northeastern Turkey. *Plant Foods Hum Nutr* **2012**;67:271-276.

Fálder-Rivero A. Enciclopedia de los alimentos. Distribución y consumo **2003**;69:98-102.

Gallego MC, Angulo R, Serrano S, Jodral M. Estudio espacio-temporal del consumo de higos. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* **1996**;1:43-48.

Gomes-Villas Boas L, Foss MC, Freitas MCF, Pace AE. Relación entre apoyo social, adhesión al tratamiento y control metabólico de personas con diabetes mellitus. *Rev Lat Am Enfermagem* **2012**;20:52-58.

Giusti M, Wrolstad RE. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **2001**. [consultado 2012 octubre 24] Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142913.faf0102s00/abstract;jsessionid=DB046DDA805E510F7C13DF31A44F0DAC.f03t04>

Hak-Yong L, Jung-Hoon K, Han-Wool J, Cha-Uk L, Do-Sung K, Bo L, Geum-Hwa L, Myung-Soon S, Ki-Chan H, Hyang-Im B, Sun-Young K, Soo-Hyun P, Mi-Ra O, Min-Gul K, Ji-Young J, Yong-Jin I, Min-Ho H, Byung-Ok S, Sook-Jeong S, Wan-Hee Y, Hyung-Ryong K, Han-Jung C, Soo-Wan C. Effects of *Ficus carica* paste on loperamide-induced constipation in rats. *Food and Chemical Toxicology* **2012**;50:895-902.

Hartzfeld PW, Forkner R, Hunter MD, Hagerman AE. Determination of hidrolizable tannins (Gallotannins and Ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *J Agric Food Chem.* **2002**; 50:1785-1790.

Hassan FA, Ismail A, Abdulhamid A, Azlan A. Identification and quantification of phenolic compounds in Bambang (*Mangifera pajang* Kort.) peels and their free radical scavenging activity. *J Agric Food Chem.* **2011**; 59: 9102–9111.

Hernando R. Etiología y fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Mex Cardiol* **2011**;22:39-43.

Hong-Geun O, Hak-Yong L, Min-Young S, Young-Rye K, Jung-Hoon K, Jung-Woo P, Ok-Jin K, Hyang-Im B, Sun-Young K, Mi-Ra O, Soo-Hyun P, Min-Gul K, Ji-Young J, Min-Ho H, Sook-Jeong S, Soo-Wan C. Effects of *Ficus carica* paste on constipation induced by a high-protein feed and movement restriction in beagles. *Lab Anim Res* **2011**;27:275-281.

Joseph B, Raj SJ. Pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn- An overview. *International Journal of PharmTech Research* **2011**;3:8-12.

Li B., Liu S, Miao L, Cai L. Prevention of diabetic complications by activation of Nrf2: diabetic cardiomyopathy and nephropathy. *Experimental Diabetes Research* **2012**:2012;1-7.

López-Hernández JL, Morillo-Garay F, Solas-Gaspar O, Giralt-Muiña P. Plan integral de diabetes mellitus de Castilla-La Mancha 2007-2010. **2007**:38.

Mathews CK, Van Holde KE, Appling DR, Anthony-Cahil SJ. Bioquímica. 4ª edición. Madrid: Pearson Educación S.A., **2013**:562, 712-716.

McDougall GJ, Kulkarni NN, Stewart D. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. Food Chem. **2009**;115:193-199.

OPS. Organización Panamericana de la Salud. Guías de la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD) de Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2. **2008**:11.

Parra-Lerma J. Estudio fenológico de un huerto de higuera (*Ficus carica* L.) en el ejido Francisco Villa, Municipio de Comondu, Baja California Sur. Tesis que para obtener el título de ingeniero agrónomo. Xalisco Nayarit **1996**: 3-7.

Peterson JM, Montgomery S, Haddad E, Kearney L, Tonstad S. Effect of consumption of dried California Mission figs on lipid concentrations. Ann Nutr Metab **2011**;58:232-238.

Pitsavos C., Panagiotakos DB, Tzima N, Chrysohoou C, Economou M, Zampelas A, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. Am J Clin Nutr **2005**;82:694-699.

Puoci F, Iemma F, Spirzzirri UG, Restuccia D, Pezzi V, Sirianni R, Manganaro L, Curcio M, Parisi OI, Cirillo G, Picci N. Antioxidant activity of a Mediterranean food product: Fig syrup. Nutrients **2011**;3:317-329.

Pyörälä K. Ensayos cardiovasculares en la diabetes: pasado y presente. Rev Esp Cardiol **2000**;53:1553-1560.

Rashidi AA, Nouredini M. Hypoglycemic effect of the aromatic water of leaves of *Ficus Carica* in normal and streptozotoin induced diabetic rats. Pharmacologyonline **2011**;1:372-379.

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

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. **1999**; 26:1231-1237.

Serraclara A, Hawkins F, Pérez C, Domínguez E, Campillo JE, Torres MD. Hypoglycemic action of an oral fig-leaf decoction in type-I diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* **1998**;39:19-22.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods enzymol.* **1999**; 299: 152-178.

Slatnar A, Klančar U, Stampar F, Veberic R. Effect of drying of figs (*Ficus carica* L.) on the contents of sugar, organic acids, and phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem* **2011**;59:11696-11702.

Solomon A, Golubowicz S, Yablowicz Z, Bergman M, Grossman S, Altman A, Kerem Z, Flaishman MA. Protection of fibroblasts (NIH-3T3) against oxidative damage by Cyanidin-3-rhamnoglucoside isolated from fig fruits (*Ficus carica* L.). *J. Agric. Food Chem.* **2010**;58:6660-6665.

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

Teixeira de Lemos E, Oliveira J, Pinheiro JP, Reis F. Regular physical exercise as a strategy to improve antioxidant and anti-inflammatory status: benefits in Type 2 Diabetes Mellitus. *Oxidative medicine and cellular longevity* **2012**;2012:1-15.

Téllez-Luis SJ, Ramírez JA, Pérez-Lamela C, Vázquez M, Simal-Gándara J. Aplicación de la alta presión hidrostática en la conservación de los alimentos. *Cien. Tecnol. Aliment.* **2001**;3:66-80.

Tórtora GJ, Reynolds-Grabowski S. Principios de anatomía y fisiología. 9ª edición. México: Oxford. **2006**: 860, 953.

Vega-Gálvez A, Miranda M, López J, Tabilo-Munizaga G, Pérez-Won M. Effect of high hydrostatic pressure on antioxidant activity, total phenolic and vitamin C content of Aloe vera gel (*Aloe barbadensis miller*). *Food Innova* **2010**. Chillán, Chile. 25-29 octubre:1-4.

Velazquez G, Vázquez P, Vázquez M, Torres JA. Aplicaciones del procesado de alimentos por alta presión. *Cien Tecnol Aliment* **2005**;4:343-352.

Vinson JA, Zubik L, Bose P, Samman N, Proch J. Dried fruits: excellent *in Vitro* and *in Vivo* antioxidants. Journal of American College of Nutrition **2005**;24:44-50.

Xi-J, Shouqin-Z. Antioxidant activity of ethanolic extracts of propolis by high hydrostatic pressure extraction. International Journal of Food Science and Technology **2006**: 1-7.

Xiao-ming Y, Wey Y, Zhong-ping O, Hai-le M, Wei-ming L, Xue-lin J. Antioxidant and immunity activity of water extract and crude polysaccharide from *Ficus carica* L. fruit. Plant Foods Hum Nutr **2009**;64:167-173.

Zárate A, Basurto L, Saucedo R, Hernández-Valencia M. Guía para seleccionar el tratamiento farmacológico en diabetes 2. Rev Med Inst Mex Seguro Soc **2010**;48:293-296.

Zurita J, Díaz-Rubio ME, Saura-Calixto F. Improved procedure to determine non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods. International Journal of Food Sciences and Nutrition **2012**;63:963-939