

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

“Efectos del jugo de tunas sobre el metabolismo energético de ratas sanas”

PRESENTA:

Q.F.B. Alejandra Monserrat Monreal Montes

DIRECTORA DE TESIS:

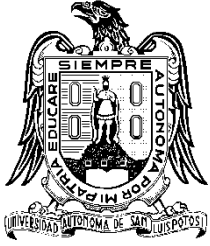
Dra. Bertha Irene Juárez Flores

ASESORES:

Dr. Juan Rogelio Aguirre Rivera

Dra. Ma. Catalina Alfaro de la Torre

AGOSTO 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA
PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

“Efectos del jugo de tunas sobre el metabolismo energético de ratas sanas”

PRESENTA:

Q.F.B. Alejandra Monserrat Monreal Montes

COMITÉ TUTELAR:

DIRECTORA: Dra. Bertha Irene Juárez Flores

ASESOR: Dr. Juan Rogelio Aguirre Rivera

ASESOR: Dra. Ma. Catalina Alfaro de la Torre

Three horizontal lines with handwritten signatures in black ink above them. The signatures are: Bertha Irene Juárez Flores, Juan Rogelio Aguirre Rivera, and Ma. Catalina Alfaro de la Torre.

SINODALES

PRESIDENTA: Dra. Bertha Irene Juárez Flores

SECRETARIO: Dr. Juan Rogelio Aguirre Rivera

VOCAL: Dr. Juan Antonio Reyes Agüero

Three horizontal lines with handwritten signatures in black ink above them. The signatures are: Bertha Irene Juárez Flores, Juan Rogelio Aguirre Rivera, and Juan Antonio Reyes Agüero.

CRÉDITOS INSTITUCIONALES

PROYECTO REALIZADO EN:

**Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma
de San Luis Potosí.**

CON FINANCIAMIENTO DE:

Fundación Produce de San Luis Potosí, A.C.

A TRAVÉS DEL PROYECTO DENOMINADO:

“Evaluación de la pulpa de variantes de tuna como alimento funcional (antioxidante,
carbohidratos, glucémicos)”

AGRADEZCO A CONACYT EL OTORGAMIENTO DE LA BECA-TESIS

Becario No. 486022

**ASÍ COMO POR EL OTORGAMIENTO DE LA BECA MIXTA PARA REALIZAR LA
ESTANCIA DE INVESTIGACIÓN EN:**

Universidad de Córdoba, España

**LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO ATRAVÉS
DEL PROGRAMA NACIONAL DE POSGRADOS DE CALIDAD (PNPC)**

AGRADECIMIENTOS

- * Agradezco a mi familia que siempre me brindaron su apoyo y cariño durante este trayecto.
- * Dra. Bertha Irene Juárez Flores por su apoyo, motivación, confianza y por las oportunidades brindadas.
- * Dr. Juan Rogelio Aguirre y Dra. Ma. Catalina Alfaro de la Torre por su dirección en el proyecto.
- * Gabriela Zenteno por estar a mi lado en la elaboración experimental, no solo fuiste mi compañera de trabajo sino una gran amiga.
- * Eduardo Zenteno, chicos del verano (Alejandro, Celma y Alexandra) y jóvenes del servicio social (David, Carlos y Luis) por apoyo en la elaboración del proyecto.
- * Dr. Oros por compartir sus conocimientos y trabajo en este proyecto.
- * Q.F.B. Evelyn Regalado por su motivación y confianza.
- * Dr. Juan Antonio Rendón Huerta y Dr. Gregorio Álvarez por sus recomendaciones y participación en el análisis de datos.
- * A mis profesores de la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP por brindarme siempre sus conocimientos y sé que siempre contare con ustedes ya que fueron para mí una gran ayuda.
- * Indudablemente agradezco a la Dra. Julieta Mérida de la Universidad de Córdoba (UCO) España por haberme recibido y fue una gran experiencia el haber colaborado en su equipo de trabajo.
- * Dra. María y Keka de la UCO estoy infinitamente agradecida con ustedes no sólo por haberme brindado sus conocimientos y su apoyo en el trabajo experimental, sino por haberme hecho sentir como en casa.
- * Javier Hungría muchas gracias por haberme hecho feliz todas las mañanas durante mi estancia en Córdoba y por brindarme tu apoyo.
- * Al Dpto. Química Agrícola y Edafología de la UCO por haber hecho que mi estancia con ustedes fuera magnífica.
- * A la Q. Socorro Jasso y Q.F.B. Josefina Acosta por el apoyo técnico en el laboratorio.
- * A la Fundación Produce de San Luis Potosí, A.C. Por el financiamiento otorgado. al proyecto "Evaluación de la pulpa de variantes de tuna como alimento funcional (antioxidante, carbohidratos, glucémicos)" a cargo de la Dra. Bertha Irene Juárez Flores.
- * La materia prima (frutos de todas las variantes), fueron proporcionados por el Ing. Roberto Garfías Cánovas, presidente del Sistema Producto Nopal de San Luis Potosí.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Importancia del género <i>Opuntia</i> en México	1
1.2. Alimento funcional	5
1.3. El nopal tunero como fuente de alimento funcional.....	8
1.4. Radicales libres	10
1.4.1. Formas reactivas del oxígeno	10
1.4.2. Síntesis de radicales libres	11
1.4.3. Teoría oxidante de la enfermedad.....	12
1.4.4. Antioxidantes.....	12
1.5. Los compuestos fenólicos en las plantas.....	13
1.5.1. Compuestos fenólicos no flavonoideos	14
1.5.2. Compuestos fenólicos flavonoideos.	15
1.5.2.1. Flavonoles	15
1.5.2.2. Flavonas	16
1.5.2.3. Antocianos	16
1.5.2.4. Flavan-3-ol.....	17
1.5.2.5. Taninos.....	18
1.6. Actividad antioxidante de los compuesto fenólicos.....	19
2. OBJETIVOS	19
3. HIPOTESIS.....	20
4. JUSTIFICACION	20
5. METODOLOGÍA	21
5.1. Elección de las variantes de nopal	21
5.2. Recolección y preparación del material vegetal	21

5.3.	Extracción del jugo.....	21
5.4.	Medición de antioxidantes.....	21
5.4.1	Preparación de la muestra para cuantificar compuestos fenólicos.....	21
5.4.2	Identificación y análisis de compuestos fenólicos por HPLC.....	21
5.4.3.	Determinación de color y cuantificación de betalaínas.....	22
5.4.4.	Análisis ácido ascórbico	23
5.5.	Modelo animal	24
5.6.	Elección de la dosis del jugo de tuna.....	24
5.7.	Diseño experimental, evaluación de tratamientos y análisis estadístico	25
5.8.	Estimaciones de parámetros bioquímicos.....	25
5.8.1.	Glucosa	25
5.8.2.	Colesterol total.....	26
5.8.3.	Lipoproteínas de alta densidad (HDL)	26
5.8.4.	Triglicéridos.....	26
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
6.1.	Compuestos fenólicos.....	27
6.2.	Color y contenido de betalaínas.....	31
6.3.	Ácido ascórbico	33
6.4.	Efecto en el metabolismo energético al administrar los jugos de tuna en ratas sanas	35
6.4.1.	Efecto de los jugos de tuna en el cambio de peso de ratas sanas	35
6.4.2.	Efecto de los jugos de tuna en los niveles plasmáticos de glucosa y lípidos de ratas sanas	36
7.	CONCLUSIONES.....	39
	BIBLIOGRAFÍA	40
	ANEXOS	46
	Anexo 1	46
	Anexo 2	47
	Anexo 3	48
	Anexo 4	50

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales variedades de nopal tunero cultivadas en México, según Flores y Gallegos (1993).....	3
Cuadro 2. Composición química de la pulpa de frutos de <i>Opuntia ficus-indica</i> (Feugang <i>et al.</i>, 2006).....	8
Cuadro 3. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de ácidos fenólicos en jugos de tuna liofilizados.....	28
Cuadro 4. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de flavan-3-oles en jugos de tuna liofilizados.....	30
Cuadro 5. Color de los jugos liofilizados de 10 variantes de tuna.....	31
Cuadro 6. Cuantificación de betaxantinas y betacianinas en jugos de tuna liofilizado.....	33
Cuadro 7. Cambios de quincenales de peso (g) de ratas sanas durante 12 semanas de experimentación	35
Cuadro 8. Efecto de los jugos de tuna en los niveles serológicos de glucosa, HDL colesterol, colesterol total y triglicéridos de ratas sanas.....	37
Cuadro 9. Porcentaje de azúcares totales utilizados para ponderar la dosis de jugo, obtenidos por medio HPLC.....	46
Cuadro 10. Gradiente de elusión utilizado para la cuantificación de ácidos fenólicos por medio del HPLC.....	48
Cuadro 11. Gradiente de elusión utilizado para la cuantificación de flavonoles por medio del HPLC.....	48
Cuadro 12. Gradiente de elusión utilizado para la cuantificación de flavan-3-oles por medio del HPLC.....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Cadena de transporte de electrones. (Adaptada de Brownlee, 2001).....	11
Fig. 2. Estructura base de los ácidos hidroxibenzoicos (Márquez, 2012).....	14
Fig. 3. Estructura base de los ácidos hidroxicinámicos (Márquez, 2012).....	14
Fig. 4. Esqueleto base de los compuestos flavonoideos (Márquez, 2012).....	15
Fig. 5. Estructura base de los flavonoles (Márquez, 2012).....	16
Fig. 6. Estructura base de las flavonas (Márquez, 2012).....	16
Fig. 7. Estructura base de las antocianinas y antocinainidinas (Márquez, 2012).....	17
Fig. 8. Estructura base de los flavan-3-oles (Márquez, 2012).....	18
Fig. 9. Porcentaje de intensidad colorante de los jugos de tuna liofilizados de 10 variantes de nopal.....	32
Fig. 10. Cuantificación de ácido ascórbico en los jugos de tuna liofilizados.....	34
Fig. 11. Curvas de tolerancia a la glucosa con las dosis de 150, 300 y 450 mL a) jugo de tuna Torreja, b) jugo de tuna Amarilla Monteza.....	47

RESUMEN

Introducción. El género *Opuntia* está conformado por 189 especies silvestres, de las cuales 83 son mexicanas; de ellas, 29 se distribuyen en la Altiplanicie Meridional. El interés por su fruto se ha incrementado por el tipo de sustancias que contiene. Su efecto antioxidante, sus nutrientes y sus propiedades multifuncionales permiten que pueda ser considerado como alimento funcional. En este trabajo se identificaron y cuantificaron compuestos antioxidantes (fenoles, betalaínas y ácido ascórbico) en los jugos de tuna liofilizados. Además se evaluó el efecto del consumo de los jugos de tuna sobre el metabolismo energético de ratas sanas. **Metodología.** Las variantes evaluadas fueron: Rojo pelón (*O. ficus-indica*), Blanca (*O. albicarpa*), Amarilla Monteza, Pico chulo, Torreoja, Sangre de toro (*O. megacantha*), Cardona y Charola (*O. streptacantha*), Tapona y Tapón rojo (*O. robusta*). La identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos se llevó a cabo en un cromatógrafo de líquidos acoplado a un detector de arreglo de diodos, por comparación con los tiempos de retención obtenidos con estándares. La cuantificación del ácido ascórbico se hizo en un cromatógrafo de líquidos acoplado a un detector UV. Además, se midió el color con los parámetros CIELAB y las betalaínas. Para evaluar el efecto del consumo de los jugos de tuna sobre el metabolismo energético se utilizaron ratas sanas macho de la cepa Wistar. Los animales recibieron diariamente agua y alimento convencional para roedores y el jugo de tuna correspondiente. El periodo experimental fue de 12 semanas. La dosis administrada fue ponderada con base en el porcentaje de azúcares totales de cada variante de tuna. Se cuantificó de glucosa, colesterol, HDL y triglicéridos en el suero sanguíneo. **Resultados y discusión.** Se identificaron ácido gálico, ácido protocatéquico, ácido siríngico y ácido elágico. Los flavan-3-oles que se identificaron fueron catequina, epicatequina, procianidina B1 y procianidina B2. La variante Sangre de toro presentó la mayor concentración de ácido ascórbico seguida por Pico chulo, con 1708 y 891 µg/ g de jugo liofilizado, respectivamente. Con base en los resultados de color, la mayoría de las variantes resultaron definidas como rojas obteniendo la mayor cantidad de betacianinas, y como amarillas las restantes con mayor contenido de betaxantinas. En el modelo animal, Cardona y Charola disminuyeron los niveles de glucemia mientras que Cardona, Sangre de toro y Rojo pelón redujeron las concentraciones de los lípidos. El resto de las tunas no modificaron los niveles de glucosa ni de lípidos. Los efectos observados pueden deberse a los compuestos presentes en el jugo de la tuna, en especial a los fenólicos, ya que se ha observado que provocan un decremento de los niveles de glucosa y lípidos por su efecto antioxidante. **Conclusión.** En individuos sanos el consumo cotidiano del jugo de tuna de estas variantes no altera su metabolismo energético y beneficia la salud por los componentes antioxidantes que aporta.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Opuntia* está conformado por 189 especies silvestres, de las cuales 83 son mexicanas; y de ellas, 29 se distribuyen en la Altiplanicie Meridional ubicada en el centro-norte de México. Además de las especies silvestres, existe una gran riqueza de variantes cultivadas de *Opuntia* con diferente grado de domesticación, desde las recolectadas o plantadas como cercos vivos y bordes de taludes de parcelas y las propias de solares, hasta las plantaciones comerciales (Reyes *et al.*, 2005). Su efecto antioxidante, su contenido nutrimental y sus propiedades multifuncionales hacen a la tuna un fruto potencial para ser considerado como alimento funcional. Los alimentos funcionales se describen como productos alimentarios de origen animal o vegetal, consumidos en la dieta diaria, que además de aportar nutrientes poseen componentes bioactivos. Estos compuestos modulan funciones terapéuticas en el cuerpo que resultan benéficas para la salud o reducen el riesgo de enfermedad (Drago, 2006).

Se evaluó la tuna como alimento funcional, esto es, si los componentes presente en los jugos de la tuna son una alternativa para disminuir la activación de otras vías metabólicas origen de las alteraciones que causan la enfermedad (Rafter, 2002). Así, el objetivo de este estudio fue identificar algunos antioxidantes que contiene el jugo de tuna, así como evaluar el efecto del consumo del jugo de 10 variantes de tuna sobre la glucemia y parámetros metabólicos relacionados, en ratas sanas, como una alternativa para mejorar la salud humana.

1.1. Importancia del género *Opuntia* en México

La familia Cactaceae es endémica del continente americano donde prospera sobre todo en las regiones áridas y semiáridas. El género *Opuntia* está conformado por 189 especies silvestres, de las cuales 83 son mexicanas; y de ellas, 29 se distribuyen en la Altiplanicie Meridional ubicada en el centro-norte de México (Reyes *et al.*, 2005). Debido a esta diversidad, México es considerado como el centro de diversificación de *Opuntia* (Flores *et al.*, 1995).

El género *Opuntia* se encuentra distribuido desde la provincia de Alberta, en Canadá, hasta la Patagonia Argentina, pero se encuentra principalmente en zonas desérticas de Estados Unidos, México y América del Sur. El nopal tunero fue llevado por los colonizadores españoles a Europa y de ahí fue introducido a diferentes partes del mundo, ahora es cultivado en España, Portugal, Italia, Israel, Sudáfrica, Argelia, Jordania, entre otros países (Flores *et al.*, 1995).

Se estima que en México existen alrededor de 3 000 000 ha de nopaleras silvestres con suficiente densidad como para ser aprovechadas económicamente, localizadas en los estados de Guanajuato, Jalisco, Aguascalientes, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas y Sonora (García *et al.*, 2003).

En México, las nopaleras cultivadas ocupan más que 210 000 ha, de las cuales 150 000 ha se destinan a forraje, 50 000 ha para tuna, 10 000 ha para producir nopalitos y unas 100 ha para producir grana de cochinilla (García *et al.*, 2003).

México es el país que presenta el mayor desarrollo de la pequeña y mediana industria de productos derivados del nopal y la tuna. En cuanto a la producción de tuna, en México existe la mayor superficie de producción del mundo con 72 500 ha y el que presenta la mayor variedad de tuna, ofreciendo al mercado tunas amarillas, blancas, rojas y anaranjadas (Sáenz *et al.*, 2007). En el Cuadro 1 se muestran las principales variantes cultivadas de nopal tunero en México, con sus nombres regionales.

Taxonomía del nopal tunero (Flores *et al.*, 1995).

Reino Vegetal

Subreino Embryophita

División Magnoliophyta

Clase Magnoliopsida

Subclase Dialipetalas

Orden Opuntiales

Familia Cactaceae

Subfamilia Opuntioideae

Tribu Opuntiae

Genero *Opuntia*

Cuadro 1. Principales variedades de nopal tunero cultivadas en México (Flores y Gallegos, 1993).

VARIANTE	ESPECIE	COLOR DE PULPA	ZONA DE PRODUCCIÓN
Villanueva	<i>O. albicarpa</i>	Blanca	Puebla
Fafayuca	<i>O. albicarpa</i>	Blanca	Zacatecas, San Luis Potosí, Jalisco y Aguascalientes
Burrona	<i>O. albicarpa</i>	Blanca	Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato y Jalisco
Cristalina	<i>O. albicarpa</i>	Blanca	Zacatecas, Jalisco y Aguascalientes
Reyna	<i>O. albicarpa</i>	Blanca	Hidalgo y Estado de México
Gavia	<i>O. albicarpa</i>	Blanca	San Luis Potosí
Esmeralda	<i>O. albicarpa</i>	Blanca	Guanajuato y Querétaro
Rojo pelón	<i>O. ficus-indica</i>	Roja	Guanajuato, Zacatecas y San Luis Potosí
Torreoja	<i>O. megacantha</i>	Roja	Jalisco, Zacatecas y Aguascalientes.
Amarilla	<i>O. megacantha</i>	Amarilla	Zacatecas, San Luis Potosí y Guanajuato
Monteza	<i>O. megacantha</i>	Anaranjada	Zacatecas, San Luis Potosí, Jalisco y Aguascalientes
Pico chulo	<i>O. megacantha</i>	Anaranjada	Zacatecas, San Luis Potosí, Jalisco y Aguascalientes
Cardón	<i>O. streptacantha</i>	Roja	Zacatecas, Durango, Jalisco, San Luis Potosí, Guanajuato y Aguascalientes

Los mexicanos a lo largo de la historia han utilizado el nopal y la tuna en distintas formas, y han desarrollado un gran número de usos y aplicaciones de esta planta, como se describen enseguida:

Como fruta: la tuna es una fruta importante en el mercado nacional, principalmente en los estados del centro Norte y Norte de México, esta se está exportando, principalmente a los Estados Unidos y en cantidades menores a Canadá y Japón.

Como verdura: el nopalito es ingrediente común de la comida mexicana del centro del país y su oferta es abundante durante casi todo el año. El nopalito también se exporta a Estados Unidos especialmente en las ciudades donde existe mayor población mexicana.

Como forraje: es el uso más importante por su volumen, particularmente de ganado en pastoreo, pero su uso es principalmente en la época seca o en periodos de sequía.

Como cerco: la utilización de variantes espinosas para formar cercos en los huertos familiares y en las fincas ganaderas es común y se ha practicado por mucho tiempo en México.

Como substrato para la producción de grana de cochinilla: la obtención de colorante carmín, producto de la cochinilla (*Dactilopus coccus* Costa) que parasita el nopal, está volviendo a tener importancia en los estados de Oaxaca y Chiapas (Flores *et al.*, 1995).

Como planta medicinal: el consumo de nopalitos y del fruto del xoconostle se ha comprobado que disminuye los niveles de azúcar y colesterol de la sangre (Cassiana *et al.*, 2010), por lo que la gente las consume cocinadas, así como en cápsulas y comprimidos. Las especies de *Opuntia* comúnmente usadas en México para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, con estudios clínicos o farmacológicos que respaldan este uso, son: *O. ficus-indica*, *O. lindheimeri*, *O. megacantha*, *O. robusta*, *O. streptacantha* y *O. fuliginosa* (Hernández y Olaíz, 2002).

Como materia prima en la producción de cosméticos: en México se fabrican jabones, cremas, champú y enjuagues, a base de nopal.

Como materia prima industrial: en México se procesa el nopalito como alimento (en salmuera y escabeche) principalmente para el mercado de exportación; de la tuna se ha experimentado la obtención de mermeladas, jugos, néctares, colorantes, pectinas y fructosa (Figueroa, 1984). Además, de manera tradicional, la tuna del nopal cardón (*O. streptacantha*) es recolectada para consumo en fresco o para ser procesada rústicamente en pequeñas industrias familiares y obtener queso de tuna (pasta), melcocha (mermelada) y colonche (bebida fermentada) (García *et al.*, 2003).

En la conservación del suelo: el nopal se utiliza para proteger el suelo; es una planta que puede formar “setos” que ayudan a controlar la erosión del suelo, es también usada para la conformación de terrazas en los campos de cultivo.

Para abatir la contaminación atmosférica: el nopal, por ser planta tipo CAM (metabolismo ácido crasuláceo), consume CO₂ por la noche en grandes cantidades, por lo que es recomendable su uso masivo en los camellones de las ciudades con problemas de contaminación y aun como plantas de ornato en el interior de las casas habitación (Flores *et al.*, 1995).

Entre otros productos del proceso de la tuna se encuentran:

Jugo de tuna. Es un producto reciente que se elabora utilizando la tuna como materia prima, con un potencial productivo muy alto. Si se desarrolla el mercado de este producto, la rentabilidad obtenida será de las más altas. Su potencial de mercado incluye a Texas, en donde ya existe mercado para jugo de tuna blanca y roja (García *et al.*, 2003).

Mermelada de tuna. En muchos lugares en donde se produce tuna se usa para fabricar mermelada de tuna. Este producto es de distribución local y muy restringida. Su producción también se realiza en Chile, Argentina, Italia, Israel y Sudáfrica. En Estados Unidos también se produce mermelada de nopal y de tuna (García *et al.*, 2003).

A pesar de la gran riqueza de productos que se obtienen tanto de la tuna como del nopal, aún sigue siendo bajo el porcentaje del cultivo que se destina a industrialización, Corrales y Flores (2004) hacen hincapié precisamente en la rentabilidad y sostenibilidad de la agroindustria relacionada con la tuna y nopal.

Importancia económica y social del nopal y la tuna. La importancia económica y social del cultivo del nopal en México radica sobre todo en la gran superficie ocupada por nopales tanto silvestres como cultivadas, en el tipo y número de productores involucrados, en el tipo de regiones donde se cultiva nopal y en la diversidad de los productos generados (García *et al.*, 2003).

Para evaluar la importancia del nopal tunero en la economía agrícola del país, se puede tomar en cuenta que en el 2007 fue la producción mundial de tuna de 973,400 t, siendo México el principal productor aportando el 36 % del total, seguido de Túnez con 12.8 % y Argentina 7.7 % (Ochoa y Guerrero, 2010).

La importancia social del nopal reside en que su producción ha permitido que grupos marginados y de subsistencia obtengan empleo, se arraiguen en el campo, produzcan alimentos y generen ingresos para sus familias. La superficie dedicada a la producción de tuna y nopal involucra a gran número de productores: 20 300 productores de tuna y 8905 productores de nopalito (Flores *et al.*, 1995).

Lo anterior ha sido posible al producir con base en una planta que se adapta a condiciones semiáridas. También es resultado de que la población en México ha utilizado y mejorado el nopal durante milenios, de manera que actualmente se cuenta con excelentes variantes para producir fruta, verdura, forraje o grana de cochinilla (García *et al.*, 2003).

1.2. Alimento funcional

Las plantas son la materia prima más importante para la obtención de drogas quimioterapéuticas, ya que algunos de sus compuestos presentan efectos farmacológicos aplicables para el tratamiento de diferentes tipos de infecciones y enfermedades crónicas degenerativas, como diabetes y cáncer. Por ello, en algunos órganos vegetales utilizados como alimentos se ha buscado la presencia de compuestos benéficos para la salud distintos a los nutrientes, con efectos específicos en el consumidor para ser reconocidos como alimentos funcionales (Drago, 2006).

Un alimento puede considerarse como funcional si se demuestra satisfactoriamente que afecta favorablemente una o más funciones del cuerpo, más allá de efectos nutricionales

adecuados, de una manera que es relevante para que la salud y el bienestar humano sean mejorados, o para reducir el riesgo de una enfermedad. Debe ser un alimento que compruebe sus efectos en cantidades normales de consumo en la dieta, no es una píldora o cápsula, sino que forma parte de la pauta normal de alimentos (Roberfroid, 2002).

Un alimento puede hacerse funcional al seguir alguna de las siguientes estrategias o sus combinaciones (Roberfroid, 2002):

1. Eliminar componentes perjudiciales presentes en el alimento (alérgenos).
2. Incrementar la concentración de un componente presente de forma natural en el alimento hasta alcanzar niveles que puedan inducir los beneficios esperados (fortificación con micronutrientes), o aumentar la concentración de una sustancia no nutritiva hasta los niveles con efecto beneficioso.
3. Añadir un componente ausente de forma natural en el alimento y que no es necesariamente un macronutriente o un micronutriente, pero cuyos efectos beneficiosos son reconocidos (prebióticos o antioxidantes no vitamínicos por ejemplo).
4. Sustituir un componente, generalmente un macronutriente (grasas), cuyo consumo excesivo tenga efectos perjudiciales, por un componente de reconocido efecto beneficioso.
5. Incrementar la biodisponibilidad o estabilidad de un componente que se sepa que es capaz de producir un efecto funcional o de reducir un potencial riesgo de enfermedad del propio alimento.

Estos efectos beneficiosos deben demostrarse científicamente con el objetivo de validar sus efectos y poder aprobar las declaraciones nutricionales en su etiqueta (Roberfroid, 2002). El sistema regulatorio japonés, FOSHU (alimentos de uso exclusivo para la salud), describe 11 categorías de ingredientes con actividad fisiológica (Cortés, 2005):

- Fibras alimentarias
- Oligosacáridos
- Alcoholes derivados de azúcares
- Ácidos grasos poliinsaturados
- Péptidos y proteínas
- Glucósidos, isoprenoides y vitaminas
- Alcoholes y fenoles
- Colinas
- Bacterias del ácido láctico
- Minerales

Entre los propósitos y beneficios fundamentales del consumo de los alimentos funcionales destacan los siguientes (Silveira, 2003):

Desarrollo fetal y primeros años de vida

- Crecimiento
- Desarrollo
- Diferenciación

Aparato digestivo

- Modificación y equilibrio de la microflora colónica
- Inmunidad
- Incremento de la biodisponibilidad de nutrientes
- Mejora de motilidad
- Proliferación celular
- Fermentación

Aparato cardiovascular

- Homeostasis de lipoproteínas
- Integridad endotelial
- Antitrombogénesis

Metabolismo de macronutrientes

- Reducción de la resistencia a la insulina
- Rendimiento óptimo de la actividad física
- Mantenimiento del peso ideal

Una de las áreas para el desarrollo de alimentos funcionales se fundamenta en la posibilidad de moderar los sistemas redox y antioxidante del organismo (Roberfroid, 2002). Por esta razón, en la actualidad muchos alimentos funcionales tienen como finalidad incrementar el aporte de antioxidantes naturales en la dieta.

La generación de formas reactivas de oxígeno (ERO) es una característica general de cualquier organismo aeróbico durante un desarrollo normal o patológico. Los ERO pueden dañar macromoléculas como el DNA, lípidos y proteínas al generar un estrés oxidativo. Muchas de estas reacciones químicas participan en una gran variedad de enfermedades crónicas degenerativas, como artritis, disfunciones cardiovasculares, diabetes, etc. Una clave elemental para mantener la salud y reducir el riesgo de una enfermedad es mantener el balance entre la producción y destrucción de ERO. En mantener este equilibrio en la producción de ERO los alimentos funcionales preservan la estructura y funcionalidad de las lipoproteínas, ADN y proteínas.

Entre los mejores alimentos funcionales para equilibrar el estrés oxidativo están las vitaminas (especialmente tocoferol, ácido ascórbico y carotenoides) y polifenoles como los flavonoides (Roberfroid, 2002).

1.3. El nopal tunero como fuente de alimento funcional

El nopal (*Opuntia* spp.) ha sido una especie importante en la alimentación de los mexicanos; en los códices de la Cruz-Badiano, Florentino y Mendocino se acredita la importancia de las cactáceas en la vida de los indígenas mexicanos, como alimento y medicina (Arias, 1997), y en la actualidad en torno al nopal giran innumerables actividades económicas del campo y la industria. Además, el nopal puede ser considerado como alimento funcional (Valencia, 2010), debido a sus componentes químicos.

La tuna es fuente interesante de compuestos como la fibra, mucílagos, pigmentos (betalaínas y carotenoides destacados por su poder antioxidante), minerales, y algunas vitaminas, como la C, es buscada entre otras cosas por sus propiedades antioxidantes. Todos estos compuestos son muy apreciados desde el punto de vista de una dieta saludable y también como ingredientes para el diseño de nuevos alimentos funcionales (Sáenz *et al.*, 2007).

La pulpa de la tuna está compuesta por agua principalmente (84-90%) y azúcares (10-15%), pero es rica en vitaminas, aminoácidos y betalaínas. La vitamina C es la más abundante en la tuna, pero contiene trazas de vitamina B1, B6, niacina, riboflavina y ácido pantoténico. En varios estudios realizados a la pulpa del fruto se han registrado diferentes minerales, especialmente calcio, potasio y magnesio (Stintzing, 2001; Piga, 2004 y Lee 2005). La presencia de fenoles ha sido detectada en la pulpa de la fruta (Feugang *et al.*, 2006). En el Cuadro 2 se muestra la composición química general de *Opuntia ficus-indica*.

Cuadro 2. Composición química de la pulpa de los frutos de *Opuntia ficus-indica* (Feugang *et al.*, 2006).

Componente	Porción de la tuna comestible (base peso húmedo)
Humedad (%)	84-90
Proteína (g/100 g)	0.21-1.6
Grasa (g/100 g)	0.09-0.7
Fibra (g/100 g)	0.02-3.15
Azúcares reductores (%)	10-15
Ácido ascórbico (mg/100 g)	12-81
Ca (mg/100 g)	12.8-59
Mg (mg/100 g)	16.1-98.4
K (mg/100 g)	90-220

Los contenidos de proteína, grasa y fibra son similares a los de otros frutos. El valor calórico de la pulpa de la tuna varía entre 31-50 kcal/100g comparable con frutos como la manzana, pera, durazno y naranja, se ha registrado un alto contenido de taurina en frutos de *O. ficus-*

indica, 323.6 a 572.1 mg/L; la presencia de este aminoácido en las plantas es poco común, y en el humano es muy importante ya que ayuda al desarrollo de la retina y la síntesis de ácidos biliares (Sáenz *et al.*, 2007).

Según su solubilidad en agua, la fibra se clasifica en soluble e insoluble; la primera conforman mucílagos, gomas, pectinas y hemicelulosas, y la insoluble esta compuesta principalmente por celulosa, lignina y una gran fracción de hemicelulosa (Sáenz *et al.*, 2007). Tanto los cladodios como el fruto del nopal contienen fibra soluble e insoluble. De acuerdo con Lamghari *et al.* (1998), la pulpa de la tuna de *O. ficus-indica* es rica en pectina (14.4%). El consumo de fibra soluble, compuesta principalmente por pectina y mucílago, mejora el control glucémico, disminuye la hiperinsulinemia, y disminuye las concentraciones plasmáticas de lípidos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (Chandallia *et al.*, 2000; Paiz *et al.*, 2010). Debido a que la fibra insoluble tiene capacidad para atrapar agua y formar geles, produce un efecto laxante, pero además reduce la absorción de carbohidratos, y genera una sensación de saciedad (Silveira, 2003).

Existen evidencias del efecto hipoglucemiante de *Opuntia* spp. tanto en animales como en humanos. Trejo-Gonzales *et al.* (1996) demostraron la capacidad de los extractos de *O. fuliginosa* para regular los niveles de glucosa en ratas; así, las ratas diabéticas administradas con *Opuntia* e insulina en la octava semana presentaron fuerte estado de hipoglucemia, mientras que con el grupo que sólo recibió *Opuntia* registró en la septima semana valores normales de glucosa.

En un estudio realizado en humanos por Frati-Munari *et al.* (1988) donde utilizaron extractos de cladodios de *O. streptacantha* en pacientes diabéticos no insulino dependientes, observaron una reducción significativa en los niveles de glucosa e insulina sérica a los 180 min de la ingesta del cladodio.

Andrade-Cetto y Wiedenfeld (2011) identificaron (4-Hidroxy)- fenil ácido acético en cladodios de *O. streptacantha*, al cual le atribuyen la propiedad hipoglucemiante encontrada en ratas con diabetes inducidas con estreptozotocina.

Investigaciones realizadas por Shiota (1998), en modelos animales señalan que el consumo de cantidades pequeñas de fructosa (<5.0 g/kg de peso) mejoran el control glucémico postprandial en situaciones de hiperglucemia, debido a que de la fructosa estimula la actividad de la glucoquinasa (enzima que en el hígado estimula la recaptura de glucosa y la síntesis de glucógeno durante el período posprandial). La estimulación de la glucoquinasa por la fructosa, provoca la conversión de glucosa a glucógeno y con ello la captación hepática de más glucosa sanguínea, disminuyendo de esta manera la hiperglucemia. Sin embargo, el consumo de fructosa, sobre todo en grandes cantidades, también ha sido relacionado con alteraciones metabólicas como hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa, hipertensión, arteriosclerosis, obesidad y diabetes, entre otras. Sin embargo, que los efectos metabólicos de la fructosa dependen de la dosis de fructosa ingerida, el estado patológico del individuo y la forma como se administra (García *et al.*,

2009). Por ello, se ha propuesto que la fructosa presente en los jugos de la tuna puede ser una vía alterna para proporcionar energía a la célula cuando sea incapaz de recibir glucosa, y con ello evitar la activación de otras vías metabólicas que originan alteraciones, sobre todo en pacientes diabéticos (Rafter, 2002).

Además, Lamghri *et al.* (1998) y Galati *et al.* (2002), encontraron que la pulpa de las tunas presenta compuestos fenólicos y otros antioxidantes como biotioles, los cuales tienen un efecto positivo en el equilibrio redox de los seres humanos, debido principalmente a la reducción de los niveles de LDL hidroxiperóxida. Estos beneficios nutraceuticos de la tuna han sido atribuidos al efecto sinérgico de los flavonoides y betalaínas (Galati *et al.*, 2002; Stintzing *et al.*, 2002). Los flavonoides, como kaempferol-3-O-rutinósido, isoramnetina-3-O-rutinósido e isoramnetina-3-O-glucósido se han registrado en los jugos de todas las variantes de *O. ficus-indica* (Stintzing *et al.*, 2002). Los diferentes tipos de compuestos fenólicos se han asociado con el color y sabor de los alimentos (Maga, 1978). Varios ensayos *in vitro* han demostrado el beneficio de los fenoles y betalaínas. Esto normalmente ha sido atribuido a la capacidad de los antioxidantes para neutralizar las formas reactivas de oxígeno, como, el ion súper óxido y el peróxido de hidrogeno, o mediante la supresión del sistema xantina/xantina oxidasa, en el cual todos estos oxidantes generan una lesión celular, principalmente peroxidación de lípidos (Magloire, 2006).

1.4. Radicales libres

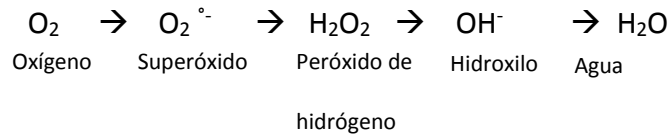
Los radicales libres (RL) son formas de compuestos químicos con un electrón desapareado en su orbital más externo, lo que le da una configuración especial inestable y, por lo tanto, una gran capacidad de reaccionar con otras sustancias. Estas formas se generan de manera fisiológica como parte de las reacciones orgánicas naturales de óxido-reducción y su producción se acelera en tejidos lesionados.

Los RL del oxígeno (O_2) tienen un peso molecular bajo y se forman como consecuencia de reducciones univalentes subsecuentes del oxígeno; presentan una vida media corta y además pueden reaccionar con macromoléculas orgánicas que modifican su estructura y función, por lo que son potencialmente citotóxicos y clastogénicos. Durante estas reacciones químicas se forman además, compuestos que no son RL del O_2 , pues no presentan electrones no apareados, pero que son sus precursores intermediarios de su formación y que son también dañinos. Los RL del O_2 y estas últimas sustancias se denominan, en conjunto, formas reactivas del oxígeno (Cruz *et al.*, 2011).

1.4.1. Formas reactivas del oxígeno

La primera ERO que se forma a partir del O_2 es el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el cual es un RL, que puede actuar en medios hidrofóbicos como en membranas celulares además puede dar lugar a otros ERO. La reducción de $O_2^{\cdot-}$ genera peróxido de hidrógeno H_2O_2 , compuesto que es un ERO, pero no un RL, y a partir del cual se puede generar el radical hidroxilo OH^{\cdot} (Cruz *et al.*, 2011).

A continuación se muestra un esquema donde aparece representada la cadena de reacciones que pueden ocurrir a partir del O₂:



1.4.2. Síntesis de radicales libres

Los RL se generan en nivel intracelular y extracelular, y provienen de fuentes enzimáticas y no enzimáticas (Cruz *et al.*, 2011):

Enzimáticas

- Enzimas oxidantes como la xantina-oxidasa, la indolamindioxigenasa, la triptofanodioxigenasa, la mieloperoxidasa, la galacto-oxidasa, la lipooxigenasa, la monoamino-oxidasa y la NADPH oxidasa.
- Sistemas de transportadores de electrones en el retículo endoplásmico y membranas nucleares.
- Peroxisomas.

Respiración celular. La oxidación intracelular de la glucosa inicia en el citoplasma donde se genera NADH y piruvato. El NADH citoplasmático puede donar electrones a la cadena respiratoria mitocondrial de dos manera, una al reducirse el piruvato a lactato, la otra al ser oxidado en el Ciclo de Krebs en el cual se produce dióxido de carbono, agua y cuatro moléculas de NADH y una FADH₂. El NADH y el de FADH₂ proporcionan energía como ATP a través de la cadena de transporte de electrones, donde el superóxido se forma (Figura 1). El aumento de superóxido activa la enzima superóxido dismutasa (SOD), la cual neutraliza los ERO (Brownlee, 2001).

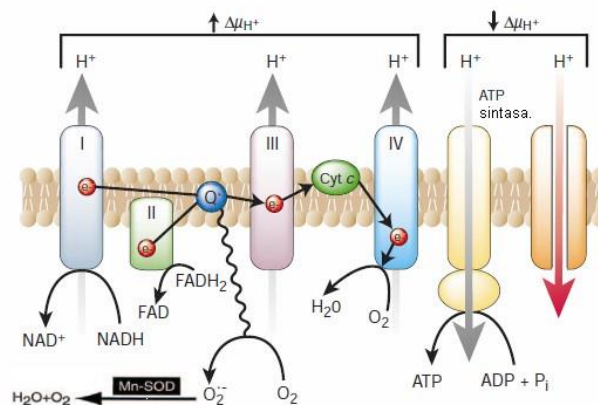


Fig. 1. Cadena de transporte de electrones. (Adaptada de Brownlee, 2001).

No enzimáticos

- Factores ambientales como la exposición a radiación ionizante, ozono, bióxido de nitrógeno, dióxido sulfúrico, estreptozotocina, doxorubicina, lluvia ácida, plaguicidas, humo, etc. generan el aumento de los radicales libres (Webb, 2006).

1.4.3. Teoría oxidante de la enfermedad

Los radicales libres son capaces de reaccionar con muchos componentes celulares como el ADN, proteínas y lípidos; estas reacciones pueden provocar modificaciones al funcionamiento normal de estas moléculas iniciando así cambios patológicos, como por ejemplo los siguientes:

- Los radicales libres pueden producir roturas en la cadena del ADN y también cambios en las bases. Estas mutaciones podrían iniciar la carcinogénesis.
- La oxidación de los residuos ácidos grasos poliinsaturados en las proteínas del colesterol-LDL pueden aumentar su potencial de inducir arteriosclerosis e incrementar el riesgo de enfermedades cardiovasculares.
- El ácido hialurónico es un polisacárido complejo que se encuentra en el tejido conjuntivo y líquido sinovial. Los RL pueden degradar este ácido y los procesos inflamatorios producen la reducción de este líquido en las articulaciones (Webb, 2006).

El daño oxidativo acumulado a largo plazo debido a los radicales libres se postula como una causa importante de muchas enfermedades crónicas degenerativas como el cáncer, diabetes mellitus, arteriosclerosis, artritis, las cataratas, y la degeneración muscular. También se ha sugerido que el daño provocado por los RL puede ser el responsable de los cambios del envejecimiento.

1.4.4. Antioxidantes

Los radicales libres son metabolitos secundarios normales pero dañinos, de los procesos celulares. Por ello el organismo ha generado mecanismos antioxidantes para limitar las lesiones que puedan producir en los tejidos.

Un antioxidante es aquella sustancia que retarda o previene la oxidación de un sustrato oxidable como una biomolécula. El antioxidante al interactuar con el RL cede un electrón, se oxida y se transforma en un RL débil no tóxico por lo que impide que otras moléculas se unan al RL (Cruz *et al.*, 2011). Existen varios sistemas antioxidantes presentes en el organismo y estos son:

Superóxido dismutasa (SOD). Tiene una amplia distribución en el organismo humano. Presenta cofactores diferentes como Zn, Cu, Fe, Mn o Ni. Cataliza la reacción de anión superóxido el cual lo transforma en peróxido de hidrógeno.

Catalasa (CAT). Su presencia es abundante en hígado y riñón, pero escasa en tejido conectivo y epitelio. Se localiza en mitocondrias, peroxisomas y citosol. Reduce el peróxido de hidrógeno a agua y oxígeno molecular.

Glutación peroxidasa (GPX). Enzima de localización mitocondrial, citosólica y lisosómica que cataliza el peróxido de hidrógeno a agua en presencia de glutación reducido y selenio. La actividad de esta enzima contribuye a proteger a los lípidos de la membrana celular de la peroxidación.

Glutación reductasa. Reconvierte el glutación oxidado en su forma reducida, necesaria para la función glutación-peroxidasa.

En personas sanas y bien nutridas, estos mecanismos antioxidantes contrarrestan los efectos de los RL. En el caso de enfermedad esto se ve reducido y la producción de RL se ve aumentada generando daño tisular. Ciertas circunstancias podrían generar el aumento de las lesiones por RL que pueden ser dietas pobres en vitaminas y minerales esenciales en los mecanismos fisiológicos antioxidantes como la vitamina E, Vitamina C, selenio o zinc (Webb, 2006).

Situaciones que podrían minimizar el daño debido a los RL y lentificar los cambios degenerativos normales asociados con el envejecimiento de tejidos o reducir su formación acelerada en caso de enfermedad, es el consumo adecuado de antioxidantes en la dieta que se encuentra en los alimentos como:

Vitamina E. Reduce la formación de radicales lipídicos transformándose en radical tocoferol, que vuelve a su forma reducida por la vitamina C. su presencia es esencial para protección de membranas celulares.

Vitamina C. Al actuar en medio acuoso puede reaccionar con varias formas de oxígeno (radical hidroxilo y superóxido)

Compuestos fenólicos. Los flavonoides se han caracterizado como de las mejores moléculas para equilibrar el proceso oxidativo y utilizarlos en la realización de alimentos funcionales (Roberfroid, 2002).

1.5. Los compuestos fenólicos en las plantas

Los compuestos fenólicos son una familia de moléculas presentes en el reino vegetal bajo estructuras diversas, estos compuestos son los responsables de ciertas características en las plantas como color y características sensoriales (sabor, astringencia, dureza).

En la naturaleza existen alrededor de unos 800 compuestos fenólicos, que poseen como estructura común un anillo bencénico con al menos un sustituyente hidróxilo, acorde a su estructura química se han clasificado desde diversos puntos de vista, pero en una primera

diferenciación se pueden distinguir dos tipos de compuestos: no flavonoideos y flavonoideos (Márquez, 2012).

1.5.1. Compuestos fenólicos no flavonoideos

Los principales fenoles no flavonoides de importancia alimentaria son los ácidos fenólicos, en los cuales se encuentran los ácidos hidroxibenzoicos, los ácidos hidroxicinámicos y los estilbenos.

Los ácidos hidroxibenzoicos tienen siete átomos de carbono con una estructura C_6-C_1 , compuesta por un único anillo bencénico sobre el que se une una cadena alifática (Figura 2).

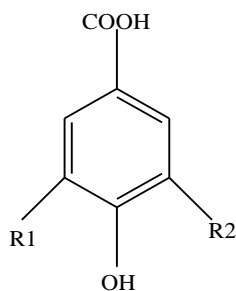


Fig. 2. Estructura base de los ácidos hidroxibenzoicos (Márquez, 2012).

Los ácidos hidroxicinámicos tienen una estructura química que se basa en un anillo bencénico con una cadena alifática de tres carbonos y uno o varios grupos hidroxilos (Figura 3). Los ácidos hidroxicinámicos más importantes son los ácidos cafeico, *p*-cumárico y ferúlico.

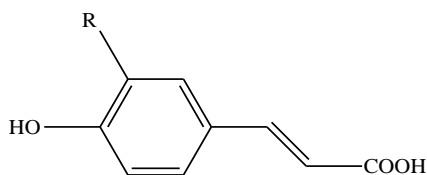


Fig. 3. Estructura base de los ácidos hidroxicinámicos (Márquez, 2012).

Los estilbenos son compuestos con una estructura química que corresponde a la fórmula $C_6-C_2-C_6$, con dos anillos bencénicos unidos por un puente etileno y que son producidos por las plantas como respuesta a ataques fúngicos, bacterianos o víricos.

1.5.2. Compuestos fenólicos flavonoideos.

Los flavonoides son los compuestos fenólicos más abundantes, los cuales presentan una diversidad de funciones, implicados en procesos de protección frente a la radiación ultravioleta, así como en la pigmentación y en la resistencia frente a diferentes ataques patógenos (Márquez, 2012).

Dentro de la familia de los flavonoides se agrupan numerosos compuestos fenólicos formados todos por 15 átomos de carbono en el esqueleto base (Figura 4), de acuerdo a una estructura $C_6-C_3-C_6$, que está formada por dos anillos aromáticos (A y B) unidos por un puente de tres carbonos (anillo C).

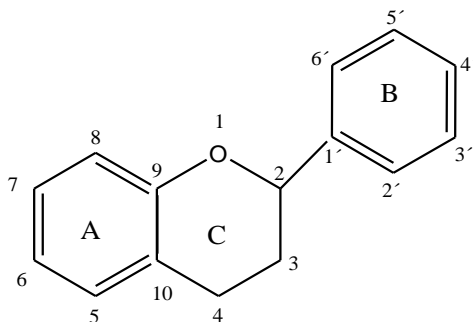


Fig. 4. Esqueleto base de los compuestos flavonoideos (Márquez, 2012).

El anillo A se encuentra normalmente dihidroxilado en las posiciones 5 y 7, mientras que el B puede estar mono, di o trihidroxilado y presentar diferentes grados de metoxilación. Dependiendo del grado de insaturación de su anillo C, aparecen las distintas familias de flavonoides, tales como flavonoles, flavonas, flavanoles, flavan-3-oles, calconas, dihidrocalconas y antocianidinas.

La mayor parte de los compuestos flavonoideos existen en forma glicosilada, con diferente naturaleza del azúcar, según la especie química.

1.5.2.1. Flavonoles

La principal característica de los flavonoles es la presencia de un doble enlace entre los átomos C_2 y C_3 , además de un grupo hidroxilo en C_3 (Figura 5), y aproximadamente el 90% de ellos están hidroxilados en posición 3, 5 y 7, por lo que en ocasiones se denominan 3,5,7 trihidroxiflavonas (Márquez, 2012). Dentro de esta familia fenólica se encuentran las agliconas quercetina, kaempferol, isorhamnetina, miricetina, laricitrina y siringetina, las cuales pueden encontrarse unidas a moléculas de azúcar dando lugar a los glucósidos, glucurónidos, galactósidos y diglucósidos (Márquez, 2012).

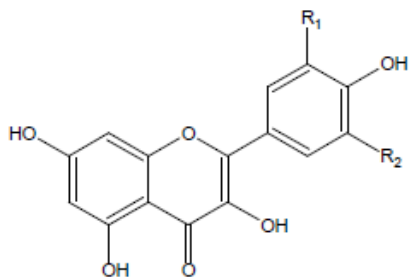


Fig. 5. Estructura base de los flavonoles (Márquez, 2012).

Se ha reportado en los jugos de *Opuntia* spp. La presencia de flavonoles de quercetina e isorhamnetina (Stintzing *et al.*, 2001). Además estudios realizados por Moussa-Ayoub (2011b) en frutos *O. ficus-indica* identificaron principalmente glucósidos de isoramnetina siendo el mayoritario isoramnetina-3-O-rutinósido lo cual concuerda con los estudios realizados por Galati *et al.* (2003).

1.5.2.2. Flavonas

Su principal característica es la presencia de un doble enlace entre los carbonos C₂ y C₃ y por la ausencia de grupo hidroxilo en posición 3 (Figura 6). Las flavonas están ampliamente distribuidas en las plantas, siendo la luteolina, la apigenina y la tricina las agliconas principales encontradas en vegetales, y han sido descritos por tener importantes actividades farmacológicas (Márquez, 2012).

Las isoflavonas son isómeros de las flavonas en las que el anillo aromático B se encuentra en posición 3.

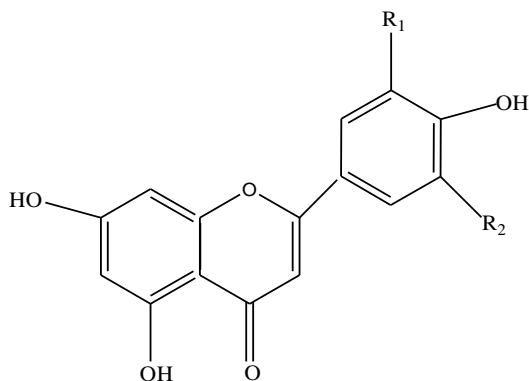


Fig. 6. Estructura base de las flavonas (Márquez, 2012).

1.5.2.3. Antocianos

Los antocianos o antocianinas son heterósidos polihidroxilados y/o metoxilados que derivan del ion flavilio o fenol-2- benzopirilio (Figura 7). La deficiencia electrónica del catión flavilio produce la elevada reactividad de las agliconas libres (llamadas antocianidinas), de tal manera que en la naturaleza se encuentran unidos a azúcares, formando así los heterósidos, pudiendo estar a su vez los azúcares esterificados con ácidos orgánicos.

Los antocianos o antocianinas se forman a partir de antocianidinas, que son las agliconas, mediante la unión con una molécula de azúcar, siendo mucho más estables bajo la forma heterosídica que bajo la forma aglicona.

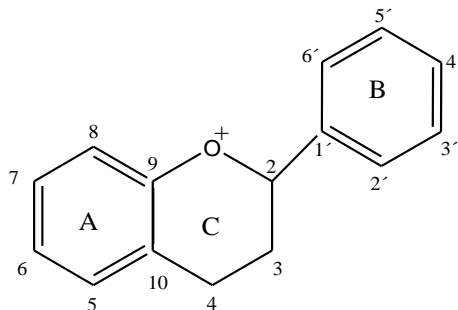


Fig. 7. Estructura base de las antocianinas y antocianidinas (Márquez, 2012).

Existe una sustitución excluyente entre la presencia de los antocianos y las betalainas. Las betalainas son pigmentos nitrogenados solubles en agua contenido en las vacuolas de las células vegetales en las plantas con actividad antioxidante (Gallardo *et al.*, 1996). Existen dos tipos de betalainas: betaxantina que son derivados del ácido betalámico se encuentra unido con diferentes aminas y aminoácidos, el segundo tipo son las betacianinas donde el ácido betalámico se halla condensado con cyclo-dihydroxyphenylalanina estas son moléculas con una fuerte actividad antioxidante, en el caso de *Opuntia* spp. se ha registrado la presencia de betalainas como betanina, neobetanina, indicaxantina, miraxantina II, vulgaxantina I y II (Stintzing *et al.*, 2001).

1.5.2.4. Flavan-3-ol

Los flavan-3-ol, flavan-3-oles o flavanoles son compuestos flavonoideos con un anillo pirano como heterociclo central de la estructura base, una cadena carbonada entre C₂ y C₃, un grupo hidroxilo en posición 3 y no presentan grupo carbonilo en posición 4 (Figura 8).

Dentro de esta familia existen varios compuestos con 1, 2 ó 3 grupos hidroxilos en el anillo B, que no están nunca metoxilados, de los cuales los que se encuentran más frecuentemente en la naturaleza son los pares de estereoisómeros catequina y epicatequina, y galocatequina y epigalocatequina. Las dos primeras están ortohidroxiladas en posición 3 y 4 del anillo B respectivamente, mientras que la galocatequina y la epigalocatequina poseen un grupo hidroxilo más sobre el carbono 5'.

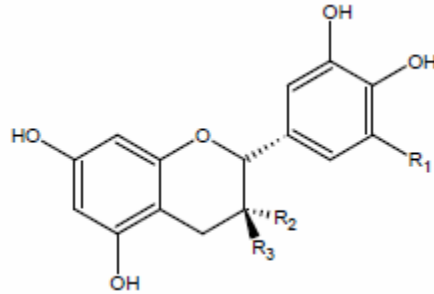


Fig. 8. Estructura base de los flavan-3-oles (Márquez, 2012).

1.5.2.5. Taninos

Los taninos son sustancias capaces de establecer combinaciones estables con las proteínas, pero también pueden combinarse con los polisacáridos, alcaloides y la gelatina, siendo responsables de fenómenos como la astringencia.

La configuración espacial de los taninos está en relación con su reactividad, en el sentido de que es necesario que estos compuestos sean lo suficientemente voluminosos para establecer combinaciones estables con las proteínas, pero si son demasiado grandes, pueden originarse impedimentos estéricos que no les permitan aproximarse lo suficiente a los sitios activos de las proteínas y, consecuentemente, no pueden reaccionar con ellas.

Según la naturaleza de las moléculas elementales, se pueden distinguir taninos hidrolizables, taninos condensados y taninos complejos o mixtos.

Los taninos hidrolizables son polifenoles complejos que pueden ser degradados por cambios de pH o por hidrólisis enzimática o no enzimática. La unidad básica de los taninos hidrolizables es el ácido gálico o el ácido hexahidroxidifénico y sus derivados, especialmente el ácido elágico.

Los taninos condensados son compuestos flavonoides polimerizados, cuya estructura está formada por unidades de flavan-3-ol. Los taninos condensados también se conocen con el nombre de taninos catéquicos o proantocianidinas, dado que cuando se calientan en medio ácido dan lugar a antocianos.

Los taninos complejos o mixtos se encuentran en las plantas y están formados por taninos hidrolizables y taninos condensados, formados por uniones covalentes entre elagitaninos y flavanoles (Márquez, 2012).

Los compuestos fenólicos son muy estudiados por sus propiedades antioxidantes, la característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Márquez, 2012). Pueden actuar como captadores de radicales libres, como quelatantes de metales, que son el motivo de sus posibles implicaciones en la salud humana, en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes mellitus o incluso enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer. Los compuestos fenólicos de la tuna podrían prevenir el desarrollo de lesiones vasculares mediante la protección contra las lipoproteínas de baja densidad (LDL).

1.6. Actividad antioxidante de los compuesto fenólicos

Los principales mecanismos por los cuales los compuestos fenólicos pueden actuar como antioxidantes son los siguientes (Rice-Evans *et al.*, 1997):

Captadores de radicales libres. Estos compuestos pueden actuar como donantes de hidrógeno o electrones en reacciones de terminación que rompen el ciclo de generación de nuevos radicales libres. Así las características estructurales que determinan la capacidad de los compuestos fenólicos para captar los radicales son:

- Presencia de grupos hidroxilo en posición *orto* (3,4) en el anillo B (ejemplo quercetina, catequina).
- Presencia de dos grupos hidroxilo en posición *meta* (5, 7) en el anillo A.

Quelantes metálicos. Esta acción requiere presencia de grupos hidroxilos cercanos al anillo aromático (García, 2005).

- Presencia de grupos hidroxilo en posición *orto*
- Presencia del grupo 4-ceto y grupo hidroxilo en posición 5 y/o 3
- Presencia de un gran número de grupos hidroxilo.

Además de las características estructurales ya mencionadas existen otros factores que pueden afectar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos como número y posición de grupos hidroxilo, grado de polimerización o la presencia de azúcares que determinarán la solubilidad y la tendencia a ceder electrones o átomos de hidrógeno.

En el caso del grado de polimerización de los compuestos fenólicos tienen un marcado efecto sobre la actividad antioxidante. Los compuestos poliméricos presentan mayor actividad antioxidante que los monómeros (García, 2005).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos puede variar en función de su solubilidad en fase acuosa o lipofílica. Cuando estos compuestos ingresan al organismo los compuestos fenólicos que sean más hidrofóbicos tendrán su destino en sitios lipídicos y los más hidrofílicos quedará en medios más acuoso (Parr y Bolwell, 2000). Por este motivo, los compuestos fenólicos con más afinidad por los ambientes lipídicos del organismo podrían tener una mayor relevancia en la prevención de enfermedades cardiovasculares. Los compuestos fenólicos de carácter liposoluble y capaces de unirse a lípidos previenen la oxidación de la LDL (Zhu *et al.*, 2000).

2. OBJETIVOS

Identificar y cuantificar antioxidantes en los jugos de la tuna.

Evaluar el efecto del jugo de diferentes variantes de tuna sobre la glucemia y otros parámetros metabólicos en ratas sanas.

3. HIPOTESIS

El efecto del jugo de tuna sobre los parámetros bioquímicos depende de la variante de tuna así como de su composición fenólica en ratas sanas.

4. JUSTIFICACION

Actualmente los pobladores rurales del país en general y de las zonas áridas y semiáridas en particular, están padeciendo graves problemas en su calidad de vida a causa del deterioro del ambiente en que habitan; poseen menos tierra fértil para sus cultivos y sus agostaderos sobrepastoreados se vuelven desiertos; en consecuencia, la disminución de la productividad del suelo ha ocasionado la emigración de los campesinos y una marcada dependencia de las regiones más desarrolladas (García *et al.*, 2003).

El sistema nopal-tuna ha destacado como uno de los más importantes de varias regiones de México, sobre todo en lo que corresponde a las zonas áridas y semiáridas, ya que estas especies están presentes en la mayoría de las condiciones ecológicas y en cerca de 30 millones de hectáreas (García *et al.*, 2003). El nopal es un recurso que reúne un alto potencial para ser promovido en la población rural, principalmente de zonas áridas como sustento de ingresos y de alimentación. Además ha adquirido gran importancia desde el punto de vista socioeconómico y agroecológico debido al uso integral que se puede hacer de él (García *et al.*, 2003).

Estas cactáceas han tomado un papel importante para frenar la degradación de suelos forestados. Si se considera la porción de superficie terrestre árida o semiárida apta para cultivar esta especie que requiere pocas cantidades de agua, se comprende su importancia agronómica en estos sitios. Además ante el alto grado de perturbación ambiental, el nopal puede ser una alternativa para captar parte del incremento de CO₂ ya que es una de las pocas especies que pueden establecerse con éxito en sitios semiáridos (Sáenz *et al.*, 2007).

Así, se propone evaluar la tuna como alimento funcional, esto es que los componentes presentes en los jugos de la tuna sean una alternativa para disminuir la activación de otras vías metabólicas que dan origen a las alteraciones que causan la enfermedad, por lo cual el contenido de antioxidantes en la tuna puede disminuir esto. Al generar esto se contribuye al valor agregado para el nopal y la tuna, la rentabilidad obtenida será más alta, generado mayores beneficios para las poblaciones de zonas áridas y semiáridas al mejorar su la calidad de vida y mejorar la salud humana.

5. METODOLOGÍA

5.1. Elección de las variantes de nopal

Las variantes se seleccionaron por su abundancia, valor comercial actual de sus frutos, color y gradiente de domesticación. Las variantes cultivadas elegidas fueron: Rojo pelón o Liso forrajero (RP, *O. ficus-indica*), Blanca (BC, *O. albicarpa*), Amarilla Monteza (AM), Pico chulo (PC), Torreoja (TORR) y Sangre de toro (ST) (*O. megacantha*) y las silvestres: Cardóna (CA, *O. streptacantha*), Charola (CH, *O. streptacantha* ssp. *aguirrana*), Tapona (TA, *O. robusta*) y Tapón rojo (TR, *O. robusta*).

5.2. Recolección y preparación del material vegetal

Las tunas se recolectaron en su estado de maduración comercial, caracterizado por el mayor crecimiento de la pulpa del fruto, la mayor cantidad de solutos solubles y una coloración plena (Reyes *et al.*, 2005). Los frutos de cada variante se conservaron a 4°C hasta ser procesados.

5.3. Extracción del jugo

A los frutos se les eliminaron las espinas (gloquidios o aguates) y la cáscara; la pulpa fue sometida a un proceso de separación del jugo a través de una licuadora industrial de acero inoxidable (International, México). Los jugos se filtraron con la finalidad de eliminar restos de semillas estériles, los filtrados se colocaron en recipientes estériles de diferentes volúmenes (1000, 500, 250 y 15 mL) y se mantuvieron en congelación a -20°C, hasta su análisis y utilización.

5.4. Medición de antioxidantes

5.4.1 Preparación de la muestra para cuantificar compuestos fenólicos

Se liofilizó 50 mL de jugo de tuna en un liofilizador (Freezer dryers Ilshin, Corea) a una temperatura de -50 °C. Para extraer los compuestos fenólicos se utilizó el método modificado por Rodarte *et al.* (2007). Se pesaron 2 g de muestra liofilizada de jugo de tuna y se mezclaron con 3 mL de metanol acidificado (0.1% ácido clorhídrico), se sónico en un baño de agua durante 10 min, el sobrenadante se recolectó y el precipitado fue tratado nuevamente con el procedimiento anterior realizando un total de seis extracciones. Los sobrenadantes fueron recolectados y centrifugados por 10 min a 5000 rpm, la fracción obtenida del centrifugado se concentró a vacío en un rotavapor termostatzado a 30 °C (Heidolph, Alemania) y se reconstituyó con 2 mL de metanol. Todas las muestras fueron filtradas con filtros nylon de 0.45 µm.

5.4.2 Identificación y análisis de compuestos fenólicos por HPLC

La identificación y cuantificación de ácidos fenólicos y flavonoles se llevó a cabo en un cromatógrafo de líquidos (Spectra-Physics UV6000LP), con una columna LiChrospher 100 RP-18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm de tamaño de partícula). Como fase móvil se utilizó ácido

fórmico al 10% en agua (disolvente A) y acetonitrilo/agua/ácido fórmico (45:45:10) (disolvente B), con un flujo de 1 mL/min.

La identificación se realizó por comparación de los correspondientes tiempos de retención, así como de los espectros UV-Vis obtenidos por un sistema de detección Diodo-Array (Thermo scientific, USA), con patrones estándar.

Para los ácidos fenólicos se trabajó a una longitud de onda de 280 nm para cuantificar ácidos hidroxibenzoicos y a 315 nm para cuantificar esteres de ácidos hidroxicinámicos. Los flavonoles se trabajaron a una longitud de onda de 360 nm. Las condiciones de los gradientes de elusión que se utilizaron para los ácidos fenólicos y flavonoides se muestran en la sección de anexos (ver anexo 3).

Las rectas de calibrado utilizadas fueron las siguientes:

Ácido gálico: $y = 31500.8x - 437526$ $r = 0.9987$

Ácido protocatéquico: $y = 154728.8x + 29714.08$ $r = 0.9999$

Ácido siríngico: $y = 3366253x + 35897.78$ $r = 0.9999$,

Ácido elálgico: $y = 316113x - 467108.2$ $r = 0.9789$

Los flavan-3-oles se identificaron y cuantificaron en un cromatógrafo HPLC (Thermo Spectra Physic Series P100, USA) acoplado a un detector de fluorescencia (Perkin Elmer Series 200^a, USA), utilizando una columna LiChrospher 100 RP-18 (250 mm x 4.6 mm i.d., 5 μ m de tamaño de partícula). Como fase móvil se utilizó acetonitrilo (disolvente A) y ácido acético 5% (disolvente B), con un flujo de 1.4 mL/min. Para el análisis de flavanoles se utilizó $\lambda_{exc} = 280$ nm y $\lambda_{em} = 320$ nm. En este estudio las procianidinas se han cuantificado como catequinas. El programa de elusión se describe en el área de anexos (ver anexo 3). Las rectas de calibrado obtenidas fueron:

Catequina: $y = 9 \times 10^6 x + 12608$ $r = 0.9990$

Epicatequina: $y = 8 \times 10^6 x + 85337$ $r = 0.9992$

5.4.3. Determinación de color y cuantificación de betalaínas

El espectro UV-visible se obtuvo en una amplitud de 250-780 nm, con agua como blanco de referencia. La absorbancia a 420 nm se utilizó como índice de pardeo. Se establecieron los parámetros CIELAB a^* (rojo-verde), b^* (amarillo-azul), L^* (claridad), h^*_{ab} (tonalidad), C_{ab} (cromaticidad), A_{620} (azul), A_{520} (rojo) y A_{420} (amarillo) de acuerdo con las recomendaciones de la Comisión Internacional de la Iluminación (CIE, 2004), utilizando el iluminante D65 y el observador estándar 10°, y calculados mediante programa Colvin (v. 1.00.04) de Perkin Elmer.

Todas las medidas espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25 (USA), empleando cubetas de cuarzo de 10 mm de paso de luz tras la filtración por papel HA-0.45 µm (Millipore, Canadá).

Para medir las betalaínas se utilizó el método modificado de García-Cruz *et al.* (2012). Se pesaron 100 mg de jugo de tuna liofilizado y se añadieron 10 mL de metanol al 80%, acidificado con HCL 0.5%, esta mezcla fue expuesta al sonido por 15 min y se filtró utilizando filtro nylon de 0.45 µm (Agilent Technologies, Alemania). Se realizó un barrido espectrofotométrico de 400 a 700 nm utilizando un espectrofotómetro Agilent 8453 UV-visible (Agilent Technologies, Alemania) en el cual se identificaron los picos de máxima absorción de betalaínas a 547 y 490 nm. Para la conversión de las unidades de absorbancia a unidades de concentración se utilizó la expresión:

$$B(\text{mg/g}) = (A * FD * PM * V) / (\epsilon * P * L)$$

Donde:

B: Betacianina o betaxantinas,

A: Absorbancia a 547 nm para betacianina y 490 nm para betaxantina,

FD: Factor de dilución realizado en el momento de leer en el espectrofotómetro,

PM: Peso molecular (Betanina=550g/mol e Indicaxantina= 308 g/mol),

V: Volumen del extracto,

ε: Coeficiente de extinción molar (betanina= 60 000 L/mol.cm, indicaxantina= 48 000 L/mol.cm) y

L: Longitud de la celda (1 cm).

5.4.4. Análisis ácido ascórbico

La medición de ácido ascórbico se llevó a cabo utilizando el método modificado de Sdiri *et al.* (2012). Para ello 0.1 g del jugo liofilizado fue homogeneizado con 2 mL de ácido metafosfórico al 4.5%; esta mezcla fue expuesta al sonido en un baño de agua por 2 min, centrifugada por 10 min a 5000 rpm y pasadas por filtros nylon de 0.45 µm. La cuantificación del ácido ascórbico se llevó a cabo en un cromatógrafo HPLC (Thermo Spectra Physic Series P100) acoplado a un detector UV (Thermo Finnigan Spectra System UV2000), con una columna LiChrospher 100 RP-18 (250 mm x 4.6 mm i.d., 5 µm de tamaño de partícula). Como fase móvil se utilizó KH₂PO₄ (0.2 M a un pH=2.3-2.4) con un flujo de 1.0 mL/min durante 15 min a λ=243 nm y un volumen de inyección de 20 µL. La recta de calibrado para este compuesto obtenido fue:

Ácido ascórbico: $y = 76165x - 161251$; $r = 0.9993$

El análisis estadístico de los datos de compuestos fenólicos consistió de análisis de variación y comparación múltiple de medias (prueba de Tukey) con el PROC GLM de SAS (SAS, versión 8.0; SAS Institute, Cary, North Carolina).

5.5. Modelo animal

Como unidades experimentales se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, con ocho semanas de edad y un peso entre 200-250 g, las cuales se mantuvieron en cajas de acrílico individuales, en una habitación con condiciones controladas de temperatura y humedad, y con ciclo de luz oscuridad 12/12. Después de un periodo de cinco días de adaptación, se aplicaron los modelos tratamientos. Todos los animales se mantuvieron de acuerdo con las recomendaciones éticas de la Norma Oficial Mexicana de especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).

5.6. Elección de la dosis del jugo de tuna

Para establecer la dosis óptima del jugo de tuna de cada variante que se administraría a las unidades experimentales, se realizó un ensayo preliminar donde se utilizaron 12 ratas con las características descritas previamente. Se utilizó como referencia la cantidad de azúcares totales de cada variante de tuna (Anexo 1), obtenida en un estudio previo realizado en el IIZD (datos no publicados). Con base en el contenido el de azúcares totales, se eligieron las variantes con mayor y menor concentración de azúcares (Torreaja y Amarilla Monteza, respectivamente); con estos jugos se realizaron curvas de tolerancia a la glucosa. Se usaron tres dosis de jugo (150, 300 y 450 mL calculados para un individuo sano de 65 kg de peso corporal y ajustados al peso de la rata). La glucemia se midió con un glucómetro portátil (ACCU-CHEK Performa®, Roche®) a los 0, 30, 60 y 120 min después de la administración del jugo de esas tunas a las ratas sanas (n=3). De acuerdo con los resultados de la curva de tolerancia a la glucosa, se seleccionó la dosis de 300 mL ya que a los 60 min la concentración de glucosa en el suero fue similar al tratamiento con agua, y así causar el menor riesgo de alteraciones metabólicas (Anexo 2).

Una vez seleccionada la dosis de 300 mL se pudo determinar el volumen de jugo de tuna a administrar a cada animal. Para calcularla, se tomó como referente el porcentaje de azúcares totales en el jugo de cada variante de tuna, el peso del animal, y la aportación de azúcares totales de la porción recomendada de un jugo comercial de arándano (Kirkland®); la cantidad de azúcares de esta porción se utilizó como referente para establecer el volumen de jugo de cada variante de tuna con el contenido equivalente de azúcares. Con este procedimiento se evitó alterar los niveles normales de glucemia en las ratas sanas, debido a que son los azúcares de la tuna presentan un impacto inmediato sobre los niveles de glucosa.

5.7. Diseño experimental, evaluación de tratamientos y análisis estadístico

El experimento se estableció de acuerdo con un diseño completamente aleatorio, con once tratamientos y seis repeticiones cada uno, los cuales fueron:

- 1)** Animales suplementados con agua.
- 2)** Animales suplementados con jugo de tuna Rojo pelón (*Opuntia ficus-indica*)
- 3)** Animales suplementados con jugo de tuna Blanca (*O. albicarpa*)
- 4)** Animales suplementados con jugo de tuna Amarilla Monteza (*O. megacantha*)
- 5)** Animales suplementados con jugo de tuna Pico chulo (*O. megacantha*)
- 6)** Animales suplementados con jugo de tuna Torreoja (*O. megacantha*)
- 7)** Animales suplementados con jugo de tuna Sangre de toro (*O. megacantha*).
- 8)** Animales suplementados con jugo de tuna Cardón (*O. streptacantha*)
- 9)** Animales suplementados con jugo de tuna Charola (*O. streptacantha* ssp. *aguirrana*)
- 10)** Animales suplementados con jugo de tuna Tapona (*O. robusta*)
- 11)** Animales suplementados con jugo de tuna Tapón rojo(*Opuntia robusta*)

El periodo experimental fue de 12 semanas, durante las cuales a los animales sanos se les suministró una vez al día agua y alimento comercial *ad libitum*; los jugos de tuna fueron administrados por vía oral con cánula esofágica. Antes de iniciar la fase experimental y al final del estudio, con 12 horas de ayuno se extrajo una muestra de sangre de la vena caudal. Las muestras fueron procesadas para evaluar el efecto de los tratamientos sobre los parámetros bioquímicos siguientes: concentración de glucosa, colesterol total, HDL, y triglicéridos. Además, durante estos tres meses se midió el peso corporal de cada animal cada quince días.

El análisis estadístico de las estimaciones bioquímicas y del peso de las ratas sanas se realizó por medio de un análisis de variación conforme al diseño completamente al azar con mediciones repetidas en el tiempo, con el programa PROC MIXED de SAS (SAS, versión 8.0; SAS Institute, Cary, North Carolina).

5.8. Estimaciones de parámetros bioquímicos

5.8.1. Glucosa

La glucosa sérica se midió con en el método de glucosa oxidasa (GOD); la glucosa es oxidada en presencia de GOD, y el peróxido de hidrógeno formado, reacciona en presencia de peroxidasa (POD) con fenol y 4 aminoantipirina para formar un complejo rojo-violeta de quinona, el cual se midió espectrofotométricamente (EXCEL Chemistry Analyzer, STANBIO®, USA). La intensidad de color es proporcional a la concentración de glucosa. Para ello se utilizaron kits enzimáticos comerciales, de acuerdo con las indicaciones del fabricante (STANBIO®, Glucosa Liquicolor®, USA), y controles BIO-RAD®.

5.8.2. Colesterol total

La cuantificación de colesterol total en el suero se basó en el método colesterol esterasa. La colesterol esterasa (CE) hidroliza los ésteres para originar colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre así producido más el colesterol preformado se oxida en presencia de colesterol oxidasa (Cox) para dar colest-4-en-3ona y peróxido de hidrógeno. Un cromógeno de quinonaimina, con absorción máxima de 500 nm, se produce cuando el fenol se acopla oxidativamente con 4 aminofenazona, en presencia de peroxidasa (POD) con peróxido de hidrógeno. La intensidad del color rojo final es proporcional a la concentración total de colesterol. La intensidad del color se midió en un espectrofotómetro (EXCEL Chemistry Analyzer, STANBIO®, USA) utilizando kits enzimáticos comerciales, de acuerdo con las indicaciones del fabricante (STANBIO®, Colesterol Liquicolor®, USA), y controles BIO-RAD®.

5.8.3. Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

Para las estimaciones de estos compuestos se utilizó el método Stanbio Colesterol HDL Directo LiquiColor® (STANBIO®, USA), el cual mide directamente la concentración de colesterol HDL en el suero sanguíneo. El método emplea un sistema de dos reactivos. El primer reactivo (R1) contiene una combinación de detergentes, compuestos del ácido fosfórico orgánico e inorgánico, los cuales se unen específicamente a LDL, VLDL y quilomicrones, liberando y exponiendo así las partículas de HDL. El segundo reactivo (R2) contiene enzimas, las cuales reaccionan con el colesterol HDL presente en la muestra. Consecuentemente, sólo el colesterol HDL es el que se cuantifica. Se genera un complejo de color violeta el cual se midió espectrofotométricamente (EXCEL Chemistry Analyzer, STANBIO®, USA). La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de colesterol HDL. Se trabajó utilizando el kit enzimático comercial de acuerdo con las indicaciones del fabricante y controles BIO-RAD®.

5.8.4. Triglicéridos

Los triglicéridos al incubarse con lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos. El glicerol es fosforilado en glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP, en presencia de glicerol quinasa (GK), para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP); el G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno por la GPO.

Al final, el peróxido de hidrógeno reacciona con 4 aminofenazona y *p*-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD), dando una coloración roja-naranja, la cual se midió espectrofotométricamente (EXCEL Chemistry Analyzer, STANBIO®, USA). La intensidad de dicho color es proporcional a la concentración de triglicéridos en el suero. Se utilizó el kit enzimático comercial, de acuerdo con las indicaciones del fabricante (SPINREACT®, España) y controles BIO-RAD®.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Compuestos fenólicos

El Cuadro 3 muestra los valores de concentración de ácidos fenólicos obtenidos en las 10 variantes de tuna. Se encontraron diferencias significativas entre las tunas estudiadas ($P < 0.0001$). El ácido gálico se registró en todas las variantes excepto en la Tapona, y fue el principal compuesto fenólico en la mayoría de ellas. La menor concentración de este ácido se obtuvo en Rojo pelón y la mayor en Cardona (32.6 y 81.2 $\mu\text{g/g}$ respectivamente). Los ácidos siríngico y elágico están presentes en la mayoría de las variantes, excepto el ácido siríngico en Torreoja y Cardona y el elágico en Blanca, Sangre de toro y Tapón rojo. El ácido protocatéquico sólo se registró en Pico chulo.

En relación con el contenido de ácidos fenólicos totales, la en la variante Pico chulo se registraron los cuatro ácidos, por lo que presentó la concentración más alta de ácidos (176 $\mu\text{g/g}$). En cambio en la variante Blanca se presentó el menor contenido de ácidos fenólicos totales (79.4 $\mu\text{g/g}$).

Cuadro 3. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de ácidos fenólicos en jugos de tuna liofilizados.

<i>Compuesto</i>	<i>RP</i>	<i>BC</i>	<i>AM</i>	<i>PC</i>	<i>TORR</i>	<i>ST</i>	<i>CA</i>	<i>CH</i>	<i>TA</i>	<i>TR</i>
Ácido gálico	32.6±0.6 ^g	53.7±0.6 ^e	74.8±3.6 ^{bc}	63.6±0.6 ^d	49.7±1.8 ^e	42.4±0.5 ^f	81.2±0.7 ^a	78.3±1.0 ^{ab}	n.d.	71.5±0.1 ^c
Ácido protocatéquico	n.d.	n.d.	n.d.	41.6±2.4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido siríngico	29.2±0.9 ^d	25.6±0.4 ^e	13.6±0.3 ^h	20.0±2.7 ^f	n.d.	66.5±0.1 ^a	n.d.	16.9±0.3 ^g	45.3±1.1 ^b	38.4±0.3 ^c
Ácido elágico	25.0±0.9 ^e	n.d.	33.5±0.1 ^d	50.5±2.3 ^b	41.9±1.9 ^c	n.d.	26.7±0.4 ^e	73.2±1.5 ^a	68.3±4.1 ^a	n.d.
Total ácidos	86.9±2.3^e	79.4±0.8^e	122.0±3.8^b	176±7.9^a	91.6±3.6^d	109.0±1.2^c	108.0±1.0^c	168.0±2.2^a	114.0±5.2^{bc}	110.0±1.2^c

Media \pm SD, n=3, RP= Rojo pelón, BC=Blanca, AM=Amarilla Monteza, PC=Pico chulo, TORR= Torreja, ST=Sangre de toro, CA=Cardona, CH=Charola, TA=Tapona, TR=Tapón rojo, n.d.= no detectado. Las medias con diferente literal son estadísticamente diferentes por fila (P<0.05)

La metodología utilizada en presente estudio no permitió evaluar flavonoles; sin embargo, autores como Moussa-Ayoub *et al.* (2011a y b) y Galati *et al.* (2003), identificaron glucósidos principalmente isorhamnetina-3-*O*-rutinósido en frutos *O. ficus-indica* y *O. macrorhiza*; además, los últimos autores registraron pequeñas cantidades de isorhamnetina-3-glucósido, rutina y kaempferol-3-rutinósido. Por otro lado, Fernández *et al.* (2010) identificaron quercetina ($90.0 \pm 4.5 \mu\text{g/g}$ peso fresco) en *O. ficus-indica*.

El Cuadro 4 muestra las concentraciones de los derivados del flavan-3-ol en todas las variantes de tuna estudiadas. La cantidad de estos compuestos fue significativamente diferente entre ellas ($P < 0.0001$). Se cuantificaron cuatro compuestos, los isómeros catequina y epicatequina y las procianidinas B1 y B2. Los cuatro derivados fueron cuantificados en todas las variantes, excepto la catequina en la tuna Blanca. La catequina fue el derivado minoritario en todas las variantes excepto Charola, donde la epicatequina fue la de menor concentración. Entre variantes, Taponá presentó los valores mayores de este compuesto. Los derivados registrados con mayor concentración fueron la epicatequina o la procianidina B2 según la variante. Las mayores concentraciones de epicatequina fueron en Taponá, y las menores en Cardona, con valores de 90.8 y $17.2 \mu\text{g/g}$, respectivamente. Respecto al contenido de los derivados del flavan-3-ol total, la tuna Taponá presentó la concentración más grande de estos compuestos ($223 \pm 6.09 \mu\text{g/g}$), debido a que presentó los mayores valores de cada derivado. En cambio, Cardona fue la más pobre en estos derivados ($73.7 \mu\text{g/g}$).

Cuadro 4. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de flavan-3-oles en jugos de tuna liofilizados.

<i>Compuesto</i>	<i>RP</i>	<i>BC</i>	<i>AM</i>	<i>PC</i>	<i>TORR</i>	<i>ST</i>	<i>CA</i>	<i>CH</i>	<i>TA</i>	<i>TR</i>
Catequina	13.30 \pm 0.63 ^{de}	n.d.	14.23 \pm 0.69 ^{cd}	14.87 \pm 0.6 ^{cd}	19.63 \pm 0.94 ^b	19.61 \pm 1.60 ^b	10.44 \pm 0.18 ^e	27.25 \pm 0.95 ^a	27.89 \pm 0.97 ^a	17.56 \pm 1.14 ^{bc}
Epicatequina	19.26 \pm 1.68 ^f	60.94 \pm 1.26 ^b	37.40 \pm 0.16 ^c	24.58 \pm 0.02 ^e	32.10 \pm 0.39 ^d	61.93 \pm 0.77 ^b	17.15 \pm 0.45 ^f	17.97 \pm 0.98 ^f	90.81 \pm 2.18 ^a	19.16 \pm 0.30 ^f
Procianidina B1	16.71 \pm 0.13 ^f	32.50 \pm 1.49 ^d	21.03 \pm 0.74 ^{ef}	23.59 \pm 1.25 ^e	25.40 \pm 0.87 ^e	40.67 \pm 1.40 ^c	22.41 \pm 0.51 ^e	47.06 \pm 2.19 ^b	59.47 \pm 0.90 ^a	24.67 \pm 1.56 ^e
Procianidina B2	28.36 \pm 0.38 ^e	38.76 \pm 0.43 ^c	33.93 \pm 0.55 ^d	29.51 \pm 1.19 ^d	20.37 \pm 0.40 ^f	51.62 \pm 1.31 ^a	23.68 \pm 1.08 ^f	44.45 \pm 0.28 ^b	45.20 \pm 2.05 ^b	23.63 \pm 1.81 ^f
Total Flavan-3-oles	77.6\pm1.30^f	132\pm3.18^c	107\pm4.82^d	92.5\pm1.86^e	97.5\pm1.80^{de}	174\pm1.88^b	73.7\pm2.21^f	137\pm4.40^c	223\pm6.09^a	85.1\pm4.21^{ef}

Media \pm SD, n=3 RP= Rojo pelón, BC=Blanca, AM=Amarilla Monteza, PC=Pico chulo, TORR= Torreja, ST=Sangre de toro, CA=Cardona, CH=Charola, TA=Tapona, TR=Tapón rojo, n.d.= no detectado. Las medias con diferente literal son estadísticamente diferentes por fila (P<0.05)

6.2. Color y contenido de betalínas

El Cuadro 5 muestra las estimaciones de los parámetros CIELAB obtenidas en los jugos liofilizados de todas las variantes de tuna estudiadas. Las diez tunas varían de color desde blanco hasta rojo. Blanca, Amarilla Monteza y Pico chulo presentaron colores verde-amarillo, aunque la primera registró la a^* más baja y las dos últimas la b^* más alta; las demás variantes son de colores rojos, Rojo pelón la a^* más alta. El jugo de tuna Tapona presentó el valor de L^* muy bajo, lo cual indica que prácticamente era negra, pues además sus valores cercanos de los parámetros a^* y b^* fueron cercanos a cero. De acuerdo con Stintzing *et al.* (2005), esta coloración está directamente relacionada con el contenido de betalínas. Además, dichos autores registraron la presencia de indicaxantina y betaxantinas en cantidades de 84 y 100 mg/kg, respectivamente, en tunas amarillas, mientras que en las rojas encontraron betacianinas en concentraciones de 400 mg/kg (Stintzing *et al.*, 2005).

Cuadro 5. Color de los jugos liofilizados de diez variantes de tuna.

Tuna	L^*	a^*	b^*
Rojo pelón	32.03±0.68	67.20 ± 0.96	53.90 ± 1.17
Blanca	79.90±0.64	-9.07 ± 0.54	50.70 ± 0.95
Amarilla Monteza	63.80±1.70	51.50 ± 1.08	106.20 ± 2.74
Pico chulo	68.80±0.63	39.1 ± 0.839	109.30 ± 1.37
Torreoja	13.50±0.15	46.90 ± 0.21	23.20 ± 0.21
Sangre de toro	1.05±0.21	7.18 ± 1.43	1.80 ± 0.36
Cardona	12.80±0.00	45.30 ± 0.00	22.10 ± 0.05
Charola	14.40±0.26	47.70 ± 0.46	24.80 ± 0.49
Tapona	0.39±0.08	2.64 ± 0.49	0.67 ± 0.13
Tapón rojo	24.10±0.52	59.70 ± 0.81	41.40 ± 0.92

Media ± SD, n=3, L^* (claridad), a^* (rojo-verde), b^* (amarillo-azul)

En relación con el color, expresado como porcentajes de rojo, amarillo y azul (A520, A420 y A620, respectivamente), la Figura 9 muestra que las variantes Blanca, Amarilla Monteza y Pico chulo, presentaron mayor proporción de A420, ya que los colores de estas variantes son amarillo verdosos. El resto de variantes tuvieron mayores porcentajes de A520, lo que indica que son tunas con una coloración roja intensa.

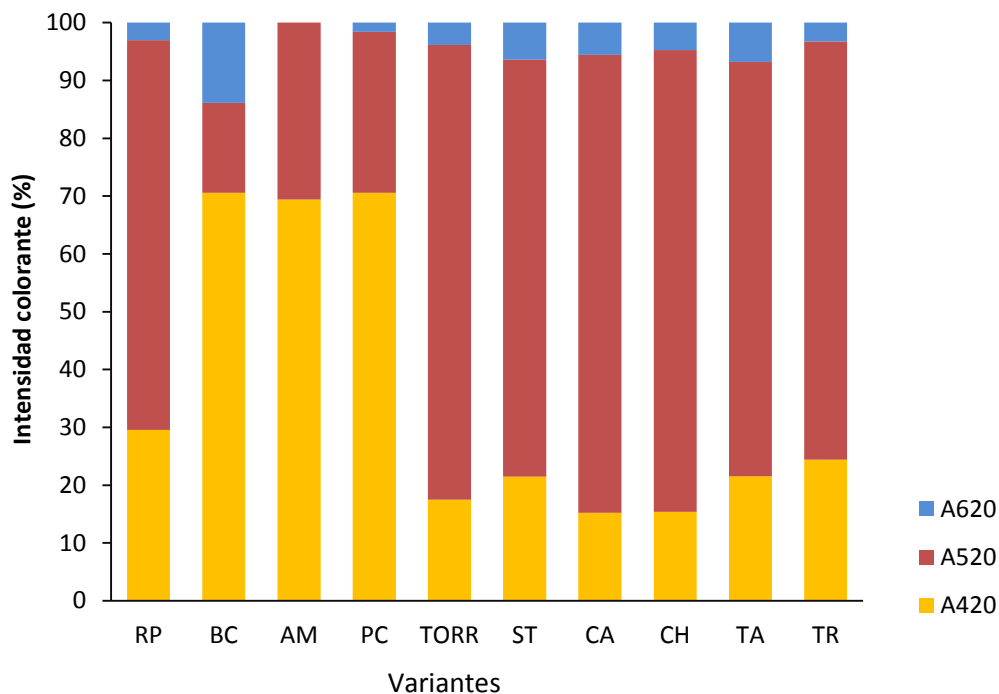


Fig. 9. Porcentaje de intensidad colorante de los jugos de tuna liofilizados de diez variantes de nopal.

RP= Rojo pelón, BC=Blanca, AM=Amarilla Monteza, PC=Pico chulo, TORR=Torreaja, ST=Sangre de toro, CA=Cardona, CH=Charola, TA=Tapona, TR=Tapón rojo, A620 (azul), A520 (rojo), A420 (amarillo)

La tuna es considerada como una fuente importante de betaxantinas y betacianinas. De acuerdo con Stintzing *et al.* (2005), la coloración de las tunas es debida a las betalaínas pues dichos autores registraron indicaxantina y betaxantinas en tunas amarillas-naranjas, mientras que en las tunas rojas identificaron betacianinas como los compuestos químicos responsables de este color (Stintzing *et al.*, 2005).

Según nuestros resultados los jugos de tuna de coloración roja presentan mayor contenido de betacianinas, mientras que en las amarillas predominan las betaxantinas (Cuadro 6), lo cual coincide con otros estudios (Stintzing *et al.*, 2005; Chavez *et al.*, 2009; Yahia y Mondragón, 2011). El jugo de tuna Tapona presentó la coloración roja más intensa y el mayor contenido de betacianinas, y a pesar de contener mayor cantidad de betaxantinas que los jugos de tuna amarilla, el efecto debido a las betacianinas (color rojo) predomina en este jugo de tuna. En *O. megacantha* se presenta jugo de tuna de color rojo (Torreaja y Sangre de toro), pero también amarillo-naranja en el jugo de tuna Pico chulo y Amarilla Monteza, los cuales presentaron el mayor contenido de betaxantinas. Mientras que en *O. albicarpa*, el jugo de tuna Blanca estuvo casi desprovisto de betalaínas, en coincidencia con lo registrado por Castellanos-Santiago y Yahia (2008) en esta misma especie.

Chavez *et al.* (2009) calcularon un índice de color E, basado en los parámetros de CIELAB, $E = (L^2 + a^2 + b^2)^{1/2}$, con el cual correlacionaron el contenido de betalaínas; estos autores obtuvieron correlaciones negativas entre el índice de color E y el contenido de betaxantinas (-0.705) y de betacianinas (-0.773). Sin embargo en este presente trabajo las correlaciones

entre las estimaciones de los parámetro de CIELAB a* (rojo-verde) y b* (amarillo-azul) con el contenido de betacianinas y betaxantinas, respectivamente resultaron no significativas.

Cuadro 6. Cuantificación de betaxantinas y betacianinas en jugos de tuna liofilizado.

Tuna	Color del jugo de tuna	Betaxantinas (mg/g peso seco)	Betacianinas (mg/g peso seco)
Rojo pelón	Rojo	0.148±0.005 ^f	0.149 ± 0.010 ^g
Blanca	Verde-amarillo	0.018±0.003 ^g	0.021 ± 0.004 ^h
Amarilla Monteza	Amarillo-naranja	0.120±0.007 ^f	0.011 ± 0.001 ^h
Pico chulo	Amarillo-naranja	0.085±0.017 ^f	0.019 ± 0.004 ^h
Torreoja	Rojo	0.313±0.029 ^e	0.358 ± 0.034 ^f
Sangre de toro	Rojo	0.810±0.007 ^c	1.587 ± 0.038 ^c
Cardona	Rojo	0.423±0.039 ^d	0.795 ± 0.009 ^d
Charola	Rojo	0.289±0.008 ^e	0.657 ± 0.026 ^e
Tapona	Rojo	1.454±0.018 ^a	2.620 ± 0.031 ^a
Tapón rojo	Rojo	1.234±0.042 ^b	2.385 ± 0.067 ^b

Media ± SD, n=3, las medias con diferente literal son estadísticamente diferentes por columna (P<0.05)

6.3. Ácido ascórbico

El mayor compuesto antioxidante encontrado en los jugos de tuna liofilizado fue el ácido ascórbico (AA). La vitamina C es un término general para referirse a este ácido y al ácido dehidroascórbico (DHAA). En este estudio sólo se midió el contenido de ácido ascórbico, sin realizar la reducción de DHAA a AA para obtener el contenido total de vitamina C (Sdiri *et al.*, 2012).

La concentración de AA fue estadísticamente diferente entre los jugos de tuna liofilizados (P<0.0001). El mayor contenido de ácido ascórbico se presentó en la variante Sangre de toro seguido por Pico chulo con una cantidad de 1708 y 891 µg/ g de jugo liofilizado respectivamente, mientras que Cardona contiene la menor cantidad de AA (177.10 µg/ g), y en Rojo pelón no se pudo cuantificar ya que la muestra fue insuficiente (Figura 10).

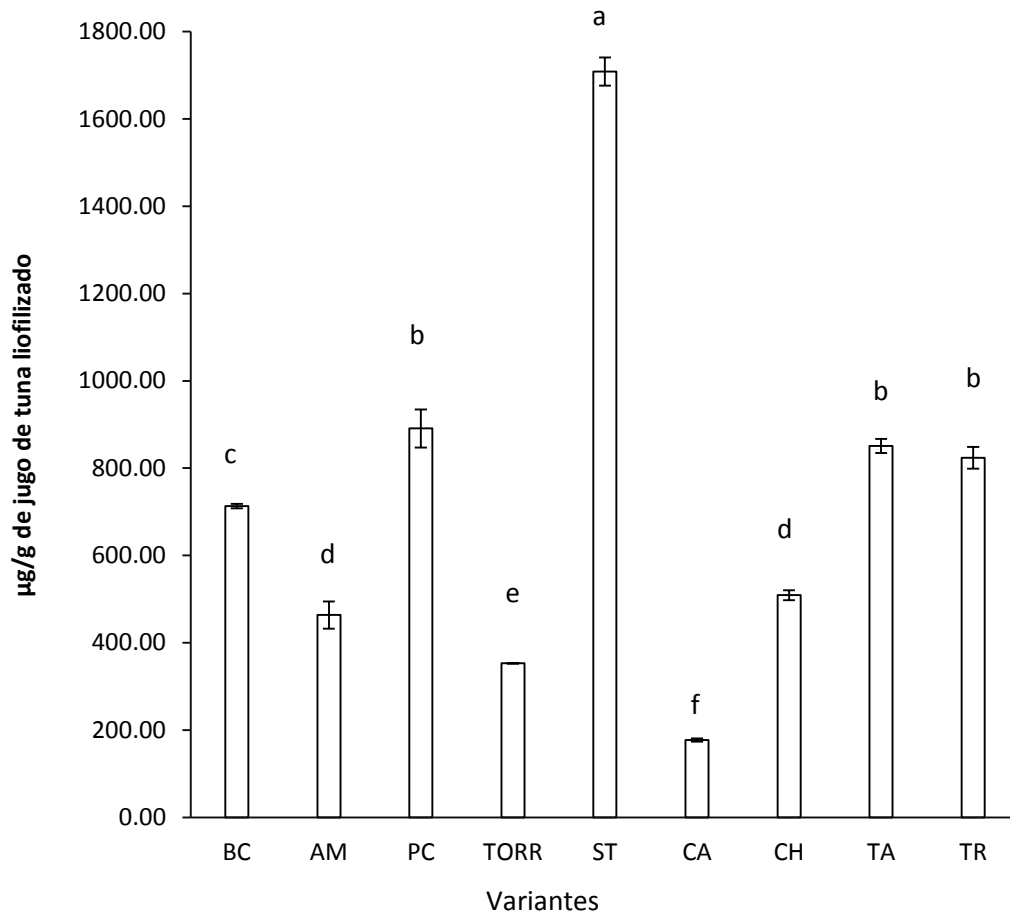


Fig. 10. Cuantificación de ácido ascórbico en los jugos de tuna liofilizados.
 BC=Blanca, AM=Amarilla Monteza, PC=Pico chulo, TORR= Torreja, ST=Sangre de toro,
 CA=Cardona, CH=Charola, TA=Tapona, TR=Tapón rojo, $P < 0.05$, EEM = 13.14.

Yahia y Mondragón (2011) encontraron que la mayor concentración de AA en los jugos de tuna Camuesa (*O. robusta*) seguida de Cardona (*O. streptacantha*), con 4000 y 2100 µg/ 100 g de materia fresca, respectivamente, mientras que la menor concentración fue en Naranjona (*O. megacantha*) con valores de 1200 a 1400 µg/ 100 g de materia fresca. El DHAA mostró un patrón similar en los jugos de estas tunas. Mientras otros estudios señalan que los niveles de ácido ascórbico en la tuna (*Opuntia* spp.) varían de 12 a 81 mg/100 g de materia fresca (Feugang *et al.*, 2006). La tuna presenta mayor cantidad de ácido ascórbico (1.0 mg/ g peso seco comestible), que la uva, manzana y pera (0.5, 0.3 y 0.2 mg/ g peso seco comestible, respectivamente), pero presenta menor cantidad que la guayaba y el kiwi (9.4 y 4.9 mg/ g peso seco comestible, respectivamente); sin embargo, la tuna puede cubrir la cantidad mínima requerida en la dieta humana de ácido ascórbico (84 mg) (Sáenz *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2008).

Cabe destacar que ninguna de las variantes pertenecientes a las dos especies con mayor grado de domesticación sobresalieron en abundancia de los compuestos antioxidantes evaluados, lo cual sí ocurrió en variantes con domesticación incipiente y en las silvestres.

6.4. Efecto en el metabolismo energético al administrar los jugos de tuna en ratas sanas

6.4.1. Efecto de los jugos de tuna en el cambio de peso de ratas sanas

El Cuadro 7 muestra los cambios de peso (cambio de peso 1= peso 2- peso 1, etc.) registrados en las ratas sanas; todos los cambios registrados fueron positivos, es decir, no se registraron pérdidas de peso en ningún tratamiento. Estadísticamente sólo son diferentes los cambios de peso 1 y 2 ($P < 0.0001$, $P < 0.037$ respectivamente). En el cambio de peso 1 la mayor ganancia de peso se observó con el tratamiento de agua, mientras que con Sangre de toro, Tapón rojo y Rojo pelón se presentaron las menores ganancias de peso. Durante todo el periodo experimental, todos los jugos de tuna provocaron una disminución en la ganancia de peso corporal. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Trejo *et al.* (1996), Fernandes *et al.* (2009) y Fatma y Hassan (2011), quienes suministraron jugo de tuna de *O. fuliginosa* y *O. ficus indica* a ratas sanas y observaron una disminución la ganancia de peso con respecto a las ratas sanas sin jugo de tuna.

Cuadro 7. Cambios quincenales de peso (g) de ratas sanas durante 12 semanas de experimentación.

Tratamiento	Quincena				
	1	2	3	4	5
Agua	85.8	55.8	39.2	17.5	25.8
Rojo pelón	31.5	24.5	33.7	10.5	5.2
Blanca	73.3	42.5	27.5	30.0	23.3
Amarilla Monteza	72.5	47.5	35.3	4.4	23.7
Pico chulo	54.2	25.8	43.3	23.3	12.5
Torroja	60.0	50.8	25.2	22.5	13.8
Sangre de toro	22.8	39.5	29.8	0.2	7.7
Cardona	57.5	50.8	27.5	19.2	13.3
Charola	69.2	42.5	26.7	23.0	9.9
Tapona	67.5	41.6	20.9	23.0	23.9
Tapón rojo	29.2	32.8	32.0	23.0	6.7
Valor de P	<0.0001	<0.037	=0.6557	=0.1444	=0.064
EEM=7.21, n=6					
Media, EEM = Error estándar de la media					

6.4.2. Efecto de los jugos de tuna en los niveles plasmáticos de glucosa y lípidos de ratas sanas

En el Cuadro 8 se muestran las concentraciones de glucosa y lípidos en suero sanguíneo de ratas sanas. Con respecto a la glucosa, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0.05$), después de 90 días de suministrar los jugos. Los jugos de las tunas Charola y Cardona provocaron la mayor disminución de los niveles de glucemia, seguida por el de Pico chulo. Con el resto de los jugos, se observaron valores similares a los iniciales; es decir, que se mantuvieron los niveles normales de glucemia en las ratas de experimentación (50-135 mg/dL) (Gad, 2007). Estos últimos resultados son similares a los obtenidos por Abdallah (2008), quien administró el jugo de la tuna de *O. dillenii* a ratas sanas sin observar cambios significativos en los niveles de glucosa, al igual que los registrados por Trejo *et al.* (1996), al administrar *O. fuliginosa* a ratas sanas. En cambio, Liu *et al.* (2010) si demostraron un efecto hipoglucemiante de los polisacáridos de la tuna en ratas diabéticas. Respecto a *O. streptacantha* es bien conocido el efecto hipoglucemiante de sus cladodios, tanto en humanos como en ratas (Ibañez-Camacho y Roman Ramos, 1979; Ernst, 1997; Andrade-Cetto y Heinrich, 2005), pero aparentemente, este efecto de sus tunas solo se conocía tradicionalmente.

Con respecto al HDL, a los 90 días de tratamiento se presentó una disminución significativa ($P<0.0001$) con el jugo de las tunas Blanca, Rojo pelón, Amarilla Monteza, Sangre de toro, Cardona, Charola y Tapón rojo. Sin embargo, los valores registrados se encuentran dentro de los niveles normales de HDL en ratas (40 ± 8 mg/dL, ideal HDL >40 mg/dL) (Sharp y Villano, 2012). En cuanto al jugo de las tunas Pico chulo, Torreoja y Tapón rojo se registró un incremento en las concentraciones de HDL, pero sin ser significativo con respecto al tratamiento con agua.

Al finalizar el experimento, los jugos de la tuna Cardona y Sangre de toro disminuyeron las concentraciones de colesterol total, mientras que los de las tunas Rojo pelón, Blanca y Tapón rojo aumentaron los niveles de colesterol total ($P<0.0001$), pero sin sobrepasar los valores considerados como normales (68.4 ± 12.3 mg/dL; 119 ± 9 mg/dL) (Ranasinghe *et al.*, 2012; Hernandez *et al.*, 2012); con el jugo de las tunas restantes los niveles de colesterol total al final de experimento fueron similares a los iniciales.

Con respecto a los triglicéridos, los jugos de tuna de Sangre de toro, Rojo pelón y Cardona disminuyeron significativamente ($P<0.001$) las concentraciones de triglicéridos en ratas sanas al finalizar el periodo de experimentación. A pesar de que las ratas que recibieron los jugos de tuna Blanca, Amarilla Monteza y Tapona mostraron un aumento en los niveles séricos de triglicéridos, éstos se mantuvieron dentro de los valores normales (131 ± 56

mg/dL) (Hernandez *et al.*, 2012). Con los jugos de Pico chulo, Torreoja, Charola y Tapón rojo se registraron valores similares a los basales.

Estos resultados obtenidos con los lípidos son similares a los registrados por Abdallah (2008) al administrar el jugo de tunas de *O. dillenii* a ratas sanas, sin cambios significativos en su concentración. Lo mismo observaron Fatma y Hassan (2011) al administrar el jugo de *O. ficus-indica*. Li *et al.* (2005), mostraron que *Opuntia* spp. puede regular los niveles de lípidos tanto en ratas sanas como en ratas con hiperlipidemia, con efectos más notorios en las ratas hiperlipidémicas que en las normales. Nuevamente es destacable que los jugos de tuna de dos variantes silvestres redujeran los niveles de glucosa sanguínea, y que una de ellas (Cardona) además provocara la disminución de concentración de colesterol y triglicéridos, junto con una de las variantes con domesticación incipiente. Esas variantes silvestres son tradicionalmente preferidas para su consumo fresco o procesadas en conservas (queso o pan de tuna y melcocha) en la región y en contraste la tuna Blanca, la de efectos menos favorables, es una de las de mayor venta en el país.

Cuadro 8. Efecto de los jugos de tuna en los niveles serológicos de glucosa, HDL colesterol, colesterol total y triglicéridos de ratas sanas.

Tratamiento	Glucosa (mg/dL)		HDL (mg/dL)		Colesterol total (mg/dL)		Triglicéridos (mg/dL)	
	Día 0	Día 90	Día 0	Día 90	Día 0	Día 90	Día 0	Día 90
Agua	89.0	77.6	47.7	60.0**	78.0	67.7	74.6	112.0
Rojo pelón	124.2	123.5	49.3	43.0	66.0	88.4	121.8	95.0**
Blanca	98.5	101.3	57.0	35.1	80.4	102.0	67.4	99.5
Amarilla Monteza	103.7	103.8	55.4	48.0	64.4	76.5	75.1	103.0
Pico chulo	118.3	107.9	31.2	39.0	54.3	55.6	75.9	61.0
Torreoja	107.6	103.3	27.6	33.0	61.6	55.0	76.3	67.6
Sangre de toro	107.6	107.5	45.7	33.0	80.7	68.0**	106.6	78.1**
Cardona	109.8	92.6*	47.2	35.0	78.0	53.0**	77.8	53.7**
Charola	99.8	77.6*	33.1	27.2	40.3	44.0	69.4	62.8
Tapona	113	117.5	36.2	43.0	72.4	69.2	73.8	97.3
Tapón rojo	106.8	109.0	43.9	41.5	59.7	76.3	91.4	89.0
EEM	9.5		3.9		8.9		10.4	

Media, EEM = Error estándar de la media, n=6, HDL= lipoproteínas de alta densidad, valor de P para tratamientos de glucosa *(P<0.05); HDL colesterol total ** (P<0.0001); triglicéridos ** (P<0.001)

Los mecanismos de acción puntuales de los efectos provocados por el consumo de *Opuntia* son desconocidos (Frati-Murani *et al.*, 1988); sin embargo, los efectos registrados en este trabajo se deben atribuir a los componentes presentes en el jugo de la tuna. Así, los jugos contienen compuestos fenólicos, los cuales se sabe que provocan disminución de los niveles de glucosa y lípidos por su efecto antioxidante en el organismo (Webb, 2006). En efecto, los

compuestos fenólicos disminuyen las concentraciones de glucosa al estar relacionados con la promoción de la entrada de glucosa a las células, o con la inhibición de enzimas como las glucosa-6-fosfatasa en el hígado (Fernandes *et al.*, 2009). Para la epicatequina (1mM), un flavan-3-ol, se han sugerido como los posibles mecanismos de hipoglucemia la inhibición de la AMPc fosfodiesterasa y la estimulación de la biosíntesis de la insulina en los islotes de Langerhans en ratas (Marles y Farnsworth, 1995). Es bien conocido que los compuestos fenólicos tienen influencia sobre el metabolismo de los lípidos, ya que varios autores han registrado la disminución de colesterol con los flavonoides (Galati *et al.*, 2003). En un estudio realizado por Monforte *et al.* (1995) se muestra que la hesperidina, una flavonona glucosilada, puede reducir los niveles de lípidos en ratas con hiperlipidemia. Además, el ácido gálico, un ácido fenólico, en dosis de 100, 50 y 25 mg/kg administradas a ratas con diabetes inducida con estreptozotocina, provoca una disminución en los niveles de lípidos y glucosa (Patel y Ramesh, 2011). El mismo efecto ocurre al administrar 50 y 100 mg/ kg de peso corporal de ácido elálgico a ratas con diabetes inducida con estreptozotocina, debido a que este ácido probablemente regula las enzimas de la glucogenogénesis a través del AMPc (Malini *et al.*, 2011). En cuanto a las procianidinas, al agregar el 0.5% de procianidina B2 a una dieta alta en colesterol, se observó su disminución en el plasma de ratas (Osakabe y Yamagishi, 2009). Las betalaínas son compuestos antioxidantes presentes en la tuna, los cuales pueden brindar protección oxidativa al colesterol-LDL; así, Tesoriere *et al.* (2004), al administrar 500 g de pulpa de *O. ficus-indica* con un contenido de 28 mg de indicaxantina y 16 mg de betanina a pacientes sanos, registraron una disminución en las concentraciones de LDL 5 h después de consumirse el fruto. Como se ha mencionado, la tuna tiene una gran cantidad de ácido ascórbico (Sáenz *et al.*, 2007). Este compuesto contribuye a disminuir los niveles de colesterol por mecanismos donde intervienen reacciones de hidroxilación; estas reacciones transforman el colesterol en ácido biliar el cual constituye la ruta principal de excreción del colesterol (Ginter, 1975). Cabe señalar que la tuna es fuente de fibra soluble, la cual es el compuesto principal al que se ha atribuido la capacidad hipoglucemiante e hipolipemiante de esta fruta (Fрати-Munari *et al.*, 1988; Fernández *et al.*, 1994; Becerra y Andrade-Cetto, 2012); la fibra puede aumentar la sensación de saciedad al dilatarse en el estómago, sobre todo la fibra soluble. Además, la fibra tiene la capacidad de entorpecer y hacer más lenta la absorción de glucosa y colesterol en el intestino delgado, al retrasarse el vaciado gástrico (Casanueva *et al.*, 2008); estos mecanismos también favorecen la reducción de peso (Slavin, 2005). Estudios de Becerra y Andrade-Cetto (2012) comprueban que los extractos de *O. streptacantha* con mucílago y pectina no alteran la hidrólisis de disacáridos ni afectan las alfa glucosidasas, y dichos autores sugieren que el mecanismo de hipoglucemia puede deberse a que los componentes del extracto generan una barrera entre la enzima hidrolítica y el sustrato. Según Wolfram *et al.* (2002), al administrar pectina de *O. robusta* en pacientes con hiperlipidemia se provoca la disminución de lípidos

plasmáticos. Por otro lado, Fernández *et al.* (1992) muestran que la pectina presente en *Opuntia* spp. puede reducir el colesterol en el plasma sanguíneo sin afectar la absorción del colesterol, por lo cual el mecanismo de hipocolesterolemia puede deberse a una alteración en el metabolismo homeostático del hígado en la síntesis del colesterol.

La mayoría de los azúcares presentes en la tuna son de tipo reductor (glucosa y fructosa). Cabe señalar que la glucosa es el único metabolito energético utilizable por las células cerebrales y nerviosas, y que en la tuna está presente como azúcar libre, por lo que es directamente absorbido por el cuerpo. La fructosa mejora el sabor de la tuna, debido a su mayor dulzor (comparado con el de la glucosa y la sacarosa), es de fácil absorción en el organismo y proporciona energía al metabolismo (Sáenz *et al.*, 2007).

Finalmente, cabe destacar la mejora del control de peso en las ratas sanas administradas con los jugos de tuna, lo cual está estrechamente relacionado con el control glucémico y lipídico más adecuado (Fatma y Hassan, 2011).

7. CONCLUSIONES

Se confirma la riqueza de la tuna en compuestos antioxidantes particularmente ácido ascórbico, ácidos fenólicos, betalaínas y flavan-3-oles.

El jugo de las tunas Cardona y Charola disminuyó significativamente los niveles de glucemia en ratas sanas, mientras que los de Cardona y Sangre de toro redujeron estadísticamente las concentraciones de lípidos en suero sanguíneo. Cabe destacar que las dos primeras son silvestres y estos resultados abonan a su revaloración y conservación y conservación.

Al registrarse niveles séricos normales de glucosa, triglicéridos, HDL y colesterol total en los animales suplementados con las tunas restantes (Blanca, Amarilla Monteza, Torreaja, Taponá y Taapón rojo), es probable que el consumo de jugo de estas variantes por individuos sanos mantenga sin cambios su metabolismo energético.

Es necesario realizar más estudios para poder considerar a la tuna como alimento funcional.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdallah, Z. 2008. Evaluation of hypoglycemic activity of *Opuntia dillenii* Haw fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. *EJHM*. 33: 544-558.
- Andrade-Cetto, A., and H. Wiedenfeld. 2011. Anti hyperglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lem. *J. Ethnopharmacol.* 133: 940-943.
- Andrade-Cetto, A., and M. Heinrich. 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *J. Ethnopharmacol.* 99(3): 325–48.
- Becerra, J., and A. Andrade-Cetto. 2012. Effect of *Opuntia streptacantha* Lem. On alpha-glucosidase activity. *J. Ethnopharmacol.* 139: 493-496.
- Brownlee, M. 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 414: 813-820.
- Casanueva, E., M. Kaufer, B. Pérez, y P. Arroyo. 2008. *Nutriología médica*. 3a. ed. Panamericana. México. 443 p.
- Cassiana P. R., B. I. Juárez F., J. R. Aguirre R., N. C. Cárdenas O., J. A. Reyes A., E. García C., and G. Álvarez F. 2010. GLucose-lowering effect of xoconostle (*Opuntia joconostle* A. Web., Cactaceae) in diabetic rats. *J. Med. Plant. Res.* 4(22): 2326-233.
- Castellanos-Santiago E., y M. Yahia. 2008. Identification and quantification of betalains from the fruit of 10 mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 56: 5758-5764.
- Chavez, R., J. Gutierrez, and S. Serna. 2009. Phenolic composition, antioxidant capacity *an In Vitro* cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia* spp.) juices. *Plant Foods Hum Nutr.* 64: 146-152.
- Cortés, R. 2005. Alimentos funcionales: una historia con mucho presente y futuro. *Vitae*. 12: 4–14.
- Drago, M. 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *RMCF*. 1: 58–68.
- Ernst, E. 1997. Plants with hypoglycemic activity in humans. *Phytomedicine*. 4(1): 73-78.
- Fatma, A., and A. Hassan. 2011. Nutritional value and hypoglycemic effect of prickly cactus pear (*Opuntia Ficus-Indica*) fruit juice in alloxan-induced diabetic rats. *Aust. J. Basic & Appl. Sci.*, 5(10): 356-377.

- Fernandes, A., E. Barbosa, A. Fernandes, and C. Machado. 2009. Effect of naringerin on biochemical parameters in the streptozotocin-induced diabetic rats. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 52(1): 51-59.
- Fernández, A.J., L. Almela, J.M. Obón, and R. Castellar. 2010. Determination of antioxidant constituents in cactus pear fruit. *Plant Food Hum Nutr.* 65: 253-59.
- Fernández, M., E.C. Lin, A. Trejo, and D.J. McNamara. 1992. Prickly pear (*Opuntia* spp.) pectin reverses low density lipoprotein receptor suppression induced by a hypercholesterolemic diet in guinea pigs. *J. Nutr.* 122: 2330-40.
- Fernández, M., E.C. Lin, A. Trejo, and D.J. McNamara. 1994. Prickly pear (*Opuntia* spp.) pectin alters hepatic cholesterol metabolism without affecting cholesterol absorption in guinea pigs fed a hypercholesterolemie diet. *J. Nutr.* 124: 817-824.
- Feugang, J.M., P. Konarski, D. Zou, F.C. Stintzing, and C. Zou. 2006. Nutritional and medicinal use of cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front. Biosci.* 11: 2574-89.
- Figueroa H., F. 1984. Estudio de las nopaleras cultivadas y silvestres sujetas a recolección para el mercado en el altiplano potosino-zacatecano. Tesis profesional. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, México. 171 p.
- Flores, C.A., J.M. Luna, y P.P. Ramírez. 1995. Mercado mundial de La tuna. ASERCA, UACH, CIESTAAM, México. 116 p.
- Flores, V.C.A. y C. Gallegos V. 1993. Situación y perpectivas de la producción de tuna en la Región Centro Norte de México. CIESTAAM-CRUCEN, Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. 44 p.
- Fрати-Munari, A.C., B.E. Gordillo, P. Altamirano, and R.C. Ariza. 1988. Hypoglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lemaire in NIDDM. *Diabetes care.* 11(1): 63-66.
- Gad, S. 2007. Animal models in toxicology. 2nd edition. CRC. New York. 196 p.
- Galati, E.M., M. Mondello, D.G. Giacomo, N. Miceli, S. Pergolizzi, and M.F. Taviano. 2003. Chemical characterization and biological eeffects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4903-4908.
- Galati, E.M., M.M. Tripodo, A. Trovato, N. Miceli, and M.T. Monforte. 2002. Biological effect of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae) waste matter. Note I: diuretic activity. *J. Ethnopharmacol.* 79(1): 17-21.
- Gallardo, M.G., F.E. Prado y J.A. González. 1996. Efecto de la radiación sobre la producción de pigmentos betalámicos en quinua (*Chenopodium quinoa Willd*). *Agricultura.* 78: 50-55.

- García P., L. G., B. I. Juárez F., J. R. Aguirre R., J. M. Pinos R., J. F. Martínez, and M. E. Santoyo. 2009. Effects of *Agave Salmiana* Otto ex Salm-Dick high-fructose syrup on non-diabetic and streptozotocin-diabetic rats. *J. Med. Plant. Res.* 3(11): 932-940.
- García, E., I. Hernández, J. Becerra, F. Carrada, I. Cedillo, O. Martínez, F.J. Pastor, M.E. Torres, y M. 2003. Programa estratégico de necesidades de investigación y transferencia de tecnología en el estado de San Luis Potosí. etapa II: caracterización de la cadena agroalimentaria del nopal tunero e identificación de sus demandas tecnológicas. Colegio de Posgraduados. México. 253 p.
- García, F.J. 2005. Evaluación in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. Tesis doctoral. Universidad de Murcia. Murcia, España. 202 p.
- García-Cruz L., Y. Salinas y S. Valle. 2012. Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en pitaya de mayo (*Stenocercus griseus* H.). *Rev. Fitotec. Mex.* 35(5): 1-5.
- Ginter, E. 1975. Ascorbic acid in cholesterol and bile metabolism. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 258: 410-421.
- Hernández, M., y G. Olaíz. 2002. La diabetes y el mexicano: un reto para la salud pública. *Ciencia.* 53(3): 8-17.
- Hernandez, O., M.A. Aparico, J.L. Ble-Catillo, J.M. Muñoz, y L. Rodríguez. 2012. Efecto del almidón resistente de banano (*Musa Cavendish* AAA) sobre el control metabólico en ratas wistar con dieta alta en sacarosa. *Universidad y ciencia.* 28(1): 51-56.
- Ibáñez-Camacho, R., and R. Roman-Ramos. 1979. Hypoglycemic effect of *Opuntia* Cactus. *Arch Invest Med.* 10(4): 223-30.
- Lamghri, R., V. Christian, B. Essadiq, S. Yves, and M. Luc. 1998. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.). *Plant Foods Hum Nutr.* 52: 263-270.
- Li, C.Y., X.S. Cheng, M.Z. Cui, and Y.G. Yan. 2005. Regulative effect of *Opuntia* powder on blood lipids in rats and its mechanism. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 30:694-6.
- Liu, H.G., Q.Y. Liang, H.L. Meng, and H.X. Huang. 2010. Hypoglycemic effect of extract of cactus pear fruit polysaccharide in rats. *Zhong Yao Cai.* 33(2): 240-2.
- Maga, J. 1978. Simple phenol and phenolic compounds in food flavor. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 10: 323-372.
- Malini, P., G. Kanchana, and M. Rajadurai. 2011. Antidiabetic efficacy of ellagic acid in streptozotocin-induced diabetes mellitus in albino wistar rats. *Asian J Pharm Clin Res.* 4(11): 124-128.

- Marles, R.J, and N.R. Farnsworth. 1995. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomed.* 2: 137–89.
- Márquez A., M. Serratosa P., A. Lopez, and J. Merida. 2011. Color and phenolic compounds in sweet red wines from merlot and tempranillo grapes chamber-dried under controlled conditions. *Food Chem.* 130: 111-120.
- Márquez, A. 2012. Estudio del secado en condiciones controladas y procesos de vinificación de uvas tintas destinadas a la obtención de vinos dulces andaluces de calidad. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba. Córdoba, España. 469 p.
- Monforte, M.T., A. Trovato, S. Kirjavainen, A.M. Forestieri, E.M. Galati, and R.B. Lo Curto. 1995. Biological effects of hesperidin, a *Citrus* flavonoid. (note II): Hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rats. *Il Farmaco.* 50(9): 595-599.
- Moussa-Ayoub, T., S. El-Samahy, S. Rohn, and L. Kroh. 2011a. Flavonols, betacyanins content and antioxidant activity of cactus *Opuntia macrorhiza* fruits. *Food Research International.* 44: 2169-2174.
- Moussa-Ayoub, T., S. El-Samahy, S. Rohn, and L. Kroh. 2011b. Identification and quantification of flavonol aglycons in cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit using a commercial pectinase and cellulose. *Food Chem.* 124: 1177-1184.
- Ochoa, C.E., y J.A. Guerrero. 2010. La tuna, una perspectiva de su producción, propiedades y métodos de conservación. *TSIA.* 4-1: 49-63.
- Osakabe, N., and M. Yamagishi. 2009. Procyanidins in *Theobroma cacao* reduce plasma cholesterol levels in high cholesterol-fed rats. *Clin. Biochem. Nutr.* 45: 131-136.
- Parr, A., and G.P. Bolwell. 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J. Sci. Food Agric.* 80: 985-1012.
- Patel, S., and K.G. Ramesh. 2011. Cardioprotective effects of gallic acid in diabetes-induced myocardial dysfunction in rats. *Pharmacognosy Res.* 3(4): 239-245.
- Pérez, A., B. Palacios, y A.L. Castro. 2008. Sistema mexicano de alimentos equivalentes. 3a ed. Ogali. México. 108 p.
- Rafter, J. 2002. Scientific basis of biomarkers and benefits of functional foods for reduction of disease risk: cancer. *Br J Nutr.* 88(2): 219-24.

- Ranasinghe, P., P. Sanja, M. Gunatilake, E. Abeywardene, N. Gunapala, S. Premakumara, K. Perera, D. Lokuthetty, and P. Katulanda. 2012. Effects of *Cinnamomum zeylanicum* (Ceylon cinnamon) on blood glucose and lipids in diabetic and healthy rat model. *Pharmacognosy Res.* 4(2): 73-79.
- Reyes A., J.A., J. R. Aguirre R., and J.L. Flores F. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la Altiplanicie Meridional de México. *Interciencia.* 30:476-484.
- Rice-Evans, C., N. Miller, and G. Paganga. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* 2:152-159.
- Roberfroid, M. 2002. Global view on functional foods: European perspectives. *Br J Nutr.* 88: 133S-138S.
- Rodarte, A., I. Eichholz, S. Rohn, L. Kroh, and S. Huysken-Keil. 2007. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. *Food Chem.* 109: 564-572.
- Sáenz, C., H. Berger, J. Corrales J., I. Galletti, V. García, I. Higuera, C. Mondragón, A. Rodríguez, E. Sepúlveda, y M.T. Varnero. 2007. Utilización agroindustrial del nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Italia. 165 p.
- Sdiri, S., P. Navarro, A. Monterde, B. Jameledine, and A. Salvador. 2012. Effect of postharvest degreening followed by a cold-quarantine treatment on vitamin C, phenolic compounds and antioxidant activity of early-season citrus fruit. *Postharvest Biol. Tec.* 65: 13-21.
- Serratos P., M., A. Marquez, A. Lopez, M. Medina, and J. Merida. 2011. Changes in hydrophilic and lipophilic antioxidant activity in relation to their phenolic composition during the chamber drying of red grapes at a controlled temperature. *J. Agric. Food Chem.* 59(5): 1882-1892.
- Sharp, P., and J. Villano. 2012. *The laboratory rat.* Second edition. CRC. USA. 399 p.
- Shiota, M., P. Galassetti, M. Monohan, D.W. Neal, and A.D. Cherrington. 1998. Small amounts of fructose markedly augment net hepatic glucose uptake in the conscious dog. *Diabetes,* 47(6): 867-73.
- Silveira, M., S. Monereo y B.B. Molina. 2003. Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿Cerca o lejos?. *Rev. Esp. Salud Pública.* 77(3):317-331.
- Slavin, J. 2005. Dietary fiber and body weight. *Nutrition.* 21: 411-418.
- Stintzing, F., A. Schieber, and R. Carle. 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *Eur Food Res Technol,* 212(4): 396-407.

- Stintzing, F., A. Schieber, and R. Carle. 2002. Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem*, 50(8): 2302-7.
- Stintzing, F., K. Herbach, M. Mosshammer, R. Carle, W. Yi, S. Sellappan, C. Akoh., R. Bunch, and P. Felker. 2005. Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Clones. *J. Agric. Food Chem*. 53: 442-451.
- Tesoriere, L., M. Allegra, D. Butera, and M.A. Livrea. 2004. Absorption, excretion, and distribution in low density lipoproteins of dietary antioxidant betalains. Potential health effects of betalains in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 80:941-945.
- Trejo G., A., G.G. Ortiz, A.M. Puebla, M.D. Huízar, M.R. Munguía, S. Mejía, and E. Calva. 1996. A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntia fuliginosa*) controls experimentally induced diabetes in rats. *J. Ethnopharmacol.* 55:27-33.
- Valencia S., K. 2010. Evaluación del nopal verdura como alimento funcional mediante opciones reales. *Agrociencia*, 44: 955-963.
- Webb, G. 2006. Complementos nutricionales y alimentos funcionales. Acribia. Zaragoza, España. 300 p.
- Wolfram, R.M., H. Kritz, Y. Efthimiou, J. Stomatopoulos, and H. Sinzinger. 2002. Effect of prickly pear (*Opuntia robusta*) on glucose- and lipid-metabolism in nondiabetics with hyperlipidemia: a pilot study. *Wien Klin Wochenschr.* 114: 840–6.
- Yahia, E., and C. Mondragón. 2011. Nutritional components and anti-oxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). *Food Research International*. 44: 2311-2318.
- Zhu, Q.Y., Y. Huang, and Z.Y. Chen. 2000. Interaction between flavonoids and alpha-tocopherol in human low density lipoprotein. *J. Nutr. Biochem.* 11(1): 14-21.

ANEXOS

Anexo 1

En el Cuadro 9 se muestran los resultados del contenido de azúcares totales de las diferentes variantes de tuna. Estos datos fueron obtenidos en un estudio previo realizado por el equipo de investigación (datos no publicados). Para este análisis se utilizó un cromatógrafo Agilent HP serie 1100 (Waldbronn, Alemania) con una columna no polar Zorbax C₈ específica para carbohidratos (4.6mm i.d. x 230 mm x 5 µm de tamaño de partícula) y acetonitrilo agua 75:25 (v/v) como fase móvil polar.

Cuadro 9. Porcentaje de azúcares totales utilizados para ponderar la dosis de jugo, obtenidos por medio HPLC.

Tuna	Azúcares totales (%)
Rojo pelón	11.6
Blanca	11.84
Amarilla Monteza	5.92
Pico chulo	10.93
Torreoja	13.66
Sangre de toro	12.7
Cardona	11.5
Charola	12.21
Tapona	10.59
Tapón rojo	15.1

Anexo 2

Elección de dosis

El objetivo de este experimento preliminar fue asegurar que la dosis de jugo que recibieron los animales provocara un efecto fisiológico en las unidades experimentales. Como ya se mencionó, se eligieron los jugos de la tuna Torreoja (mayor concentración de azúcares totales) y Amarilla (menor concentración de azúcares totales). Como la variación en la concentración de glucosa plasmática se puede monitorizar inmediatamente, se tomó como referencia. Se realizaron las mediciones de glucosa plasmática antes de administrar el jugo (basal o tiempo 0), a los 30, 60 y 120 min después de la administración. Como se puede observar en la Figura 11a (Torreoja) y 11b (Amarilla Monteza), la dosis de 300 mL (dosis calculada para un individuo de 65 Kg de peso corporal), provocó un incremento de la glucosa plasmática después de 30 min de administrado el jugo, pero después de 60 min las concentraciones de glucosa tuvieron un comportamiento similar a cuando fue suministrada agua como tratamiento.

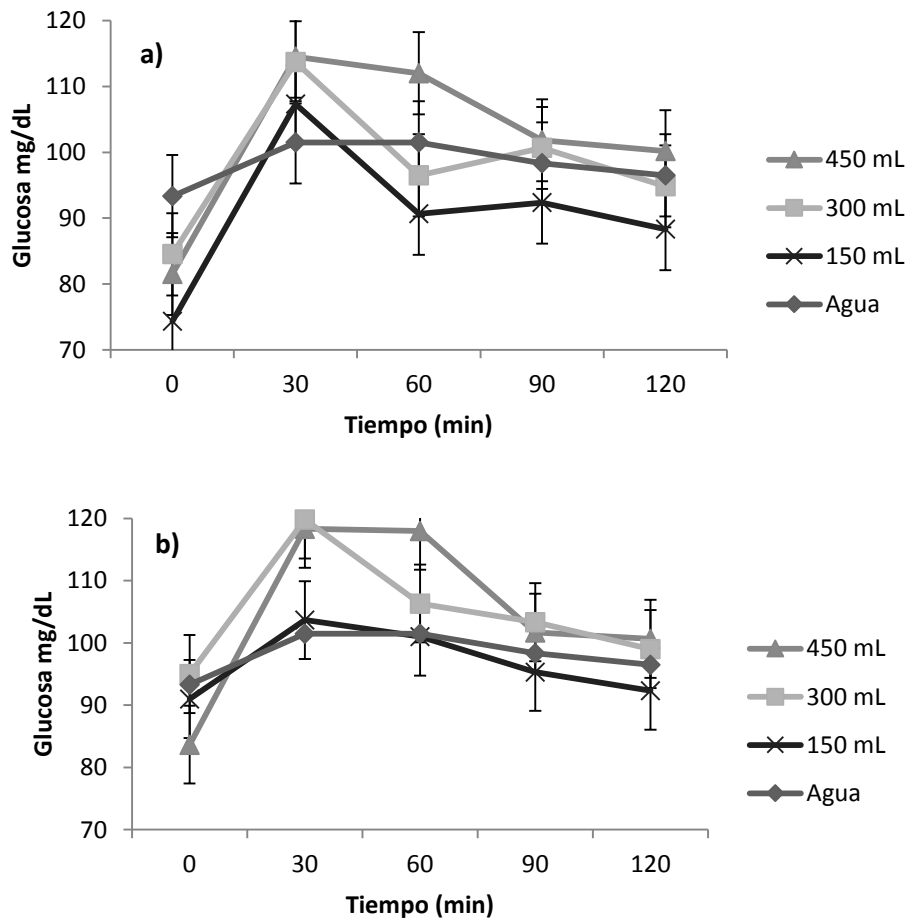


Fig. 11. Curvas de tolerancia a la glucosa con dosis 150, 300 y 450 mL. a) jugo de tuna Torreoja b), jugo de tuna Amarilla Monteza. Para a) jugo de tuna Torreoja EEM (error estándar de la media) = 6.23, tiempo $P=0.0001$; para b) jugo de tuna Amarilla Monteza, EEM=6.26, tiempo $P=0.00014$.

Anexo 3

Condiciones de HPLC.

En la siguiente tabla se presentan las condiciones de gradiente de elusión utilizadas para el análisis de ácidos fenólicos (Cuadro 10), flavonoides (Cuadro 11) de acuerdo a la metodología de Serratosa *et al.* (2011) y flavan-3-oles (Cuadro 12) acorde a Márquez *et al.* (2011) utilizando el HPLC.

Cuadro 10. Gradiente de elusión utilizado para la cuantificación de ácidos fenólicos por medio del HPLC.

Fracción de ácidos fenólicos	λ (nm)	Tiempo (min)	Disolvente A (%)	Disolvente B (%)
Ácidos hidroxibenzoicos	280	0	95	5
		35	90	10
		45	80	20
Ácidos hidroxicinámicos	315	55	70	30
		65	0	100
		70	0	100
		71	95	5
		80	95	5

Disolvente A: ácido fórmico al 10% en agua, disolvente B: acetonitrilo/agua/ácido fórmico (45:45:10)

Cuadro 11. Gradiente de elusión utilizado para la cuantificación de flavonoles por medio del HPLC.

Tiempo (min)	Disolvente A (%)	Disolvente B (%)
0	95	5
35	70	10
45	60	20
55	20	30
65	0	100
70	0	100
71	95	5
80	95	5

Disolvente A: ácido fórmico al 10% en agua,

Disolvente B: acetonitrilo/agua/ácido fórmico (45:45:10)

Cuadro 12. Gradiente de elusión utilizado para la cuantificación de flavan-3-oles por medio del HPLC.

Tiempo (min)	Disolvente A (%)	Disolvente B (%)
0	9	91
22	25	75
30	100	0
32	100	0

Disolvente A: acetonitrilo, disolvente B: ácido acético 5%

Anexo 4

Insertos de controles Bio-rad y de las pruebas de glucosa y lípidos

Se agregan los insertos de controles utilizados para llevar a cabo el control de calidad del análisis de los parámetros bioquímicos, se anexan los insertos con los procedimientos a seguir para realizar las pruebas bioquímicas de glucosa y lípidos.



Lyphocheck® Assayed Chemistry Control, Levels 1 and 2

ITALIANO

USO PREVISTO

Il Lyphocheck Assayed Chemistry Control è un siero di controllo qualità, saggiato, e formulato per monitorare la precisione delle procedure di analisi di laboratorio per gli analiti elencati nel presente inserto.

SOMMARIO E PRINCIPIO

L'uso dei materiali di controllo della qualità è indicato come valutazione oggettiva della precisione dei metodi e delle tecniche in uso e costituisce parte integrante delle buone pratiche di laboratorio. Per permettere di controllare le prestazioni nell'ambito di tutto l'intervallo clinico sono disponibili due livelli di controllo.

REATTIVO

Questo prodotto è stato preparato utilizzando siero umano con aggiunta di sostanze biochimiche purificate (estratti di tessuto di origine umana e animale), sostanze chimiche, farmaci terapeutici, conservanti e stabilizzanti. Questo controllo è fornito in forma liofilizzata per aumentare la stabilità.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo prodotto rimane stabile fino alla data di scadenza quando viene conservato, non aperto, a 2-8°C. Una volta che il controllo è ricostituito, tutti gli analiti sono stabili per 7 giorni quando il controllo è conservato, ben chiuso, a 2-8°C con le seguenti eccezioni: fosfatasi acida e fosfatasi alcalina prostatica saranno stabili per 30 giorni se conservati ben chiusi a 2-8°C.

Una volta ricostituito e congelato, tutti gli analiti sono stabili per 30 giorni quando il controllo è conservato, ben chiuso, a -10°/-20°C, con l'eccezione di Tobramicina che è stabile 20 giorni in contenitore ben chiuso a -10°/-20°C. Una volta scongelato, non ricongelare il controllo e gettare quanto rimasto.

Il prodotto viene spedito in normali condizioni ambientali.

RICOSTITUZIONE

Con una pipetta volumetrica, ricostituire ogni fialone con 5,0 ml di acqua distillata o deionizzata. Chiudere e lasciare riposare il prodotto per circa 20 minuti, agitando di tanto in tanto. Prima dell'uso, agitare delicatamente il fialone diverse volte per garantirne l'omogeneità. Non mescolare per inversione nelle analisi dei metalli in traccia.

PROCEDURA

Questo prodotto deve essere trattato allo stesso modo dei campioni in esame ed usato secondo le istruzioni che accompagnano lo strumento, il kit o il reattivo in uso. Chiudere bene dopo ogni utilizzo.

Eliminare eventuali materiali residui nel rispetto delle norme locali sullo smaltimento dei rifiuti. Nel caso di danni alla confezione, contattare gli uffici Bio-Rad o l'agente di zona.

LIMITI

1. Questo prodotto non deve essere usato dopo la data di scadenza.
2. In caso di evidente contaminazione microbica o di una eccessiva torbidità nel controllo ricostituito, eliminare il fialone.
3. Questo prodotto non è concepito per l'uso come standard.

ASSEGNAZIONE DEI VALORI

I valori medi riportati in questo inserto sono il risultato di analisi in replicato e sono specifici per questo lotto di prodotto. Le analisi elementari sono state effettuate dal produttore e/o da laboratori indipendenti utilizzando reagenti forniti dal produttore ed una campionatura rappresentativa di questo lotto di controllo. Le medie di ciascun laboratorio dovrebbero rientrare nel corrispondente intervallo di accettabilità; tuttavia i valori medi del laboratorio possono variare rispetto a quelli dichiarati per il periodo di validità del presente controllo. Le variazioni nel tempo e tra laboratori possono essere causate da differenze nelle metodologie, nelle strumentazioni o nei reagenti di ogni laboratorio, o da modifiche metodologiche dei produttori. Ogni laboratorio deve stabilire le proprie medie e i relativi intervalli di accettabilità ed utilizzare i valori pubblicati sull'inserto solo come guida.

Consultare il sito www.qcnet.it per informazioni sull'aggiornamento dell'inserto.

CARATTERISTICHE

Questo prodotto è un prodotto liofilizzato, preparato sotto un rigido controllo standard di qualità. Per ottenere una consistente uniformità di risultati da fialone a fialone, si raccomanda una corretta conservazione ed un corretto uso, come descritto.

ESPAÑOL

USO INTENCIONADO

Lyphocheck Assayed Chemistry Control tiene un uso intencionado como suero valorado para el control de la calidad y con el fin de supervisar la precisión de los procedimientos de análisis del laboratorio y para los análisis que se anumanan en este prospecto.

INTRODUCCIÓN Y PRINCIPIO

El uso de materiales de control de la calidad está indicado para la evaluación objetiva de la precisión de los métodos y las técnicas en uso, y forma parte integral de las buenas prácticas del laboratorio. Existen dos niveles de control para permitir supervisar el funcionamiento dentro del rango clínico.

REACTIVOS

Este producto está preparado a partir de suero humano al que se añaden constituyentes bioquímicos purificados (extractos de tejido de origen humano y animal), sustancias químicas, drogas terapéuticas, conservantes y estabilizadores. El control se suministra liofilizado para aumentar su estabilidad.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este producto permanecerá estable hasta la fecha de caducidad, siempre que esté almacenado sin abrir a una temperatura entre 2 y 8°C. Una vez reconstruido el control, si se almacena bien tapado entre 2 y 8°C, todos los análisis permanecerán estables durante 7 días, excepto Fosfatasa Ácida y Fosfatasa Ácida Prostatica, que permanecerán estables durante 30 días siempre que se almacene bien tapado entre 2 y 8°C. Una vez reconstruido y congelado el control, siempre que se almacene bien tapado entre -10 y -20°C, todos los análisis permanecerán estables durante 30 días, excepto Tobramicina, que permanecerá estable durante 20 días siempre que se almacene bien tapado entre -10 y -20°C. No vuelva a congelar el control una vez descongelado. Desheche el material sobrante.

Este producto se transporta a temperatura ambiente.

RECONSTITUCIÓN

Utilizando una pipeta volumétrica, reconstituya cada vial con 5,0 ml de agua destilada o desionizada. Vuelva a taparlo y deje reposar el control durante unos 20 minutos, girándolo en círculos de vez en cuando. Antes del muestreo, gire el vial en círculos con suavidad para garantizar su homogeneidad. Si está realizando un análisis para la detección de metales traza, no lo inviarta para mezclarlo.

PROCEDIMIENTO

Este producto debe tratarse de la misma forma que las muestras de pacientes y debe ser ensayado conforme a las instrucciones incluidas con el instrumento, kit o reactivos utilizados. Téjelo bien después de cada uso.

Elimine todo material desechable de acuerdo con las normativas locales vigentes sobre la gestión de residuos. En el caso de que el envoltorio haya sufrido daños, póngase en contacto con la oficina de ventas o con el Servicio Técnico local de Bio-Rad.

LIMITACIONES

1. Este producto no debe utilizarse después de la fecha de caducidad.
2. Si hubiese indicios de contaminación microbiana o exceso de turbidez en el producto reconstruido, desheche el vial.
3. Este producto no está previsto para ser utilizado como estándar.

ASIGNACIÓN DE VALORES

Los valores medios que figuran en este prospecto se obtuvieron a partir de la replicación de análisis y son específicos de este lote de producto. Las pruebas fueron realizadas por el fabricante o por laboratorios independientes que utilizaron reactivos admitidos por el fabricante y una muestra representativa de este lote de control. Las medias de cada laboratorio deben estar comprendidas en el correspondiente rango aceptable, pero pueden apartarse de los valores indicados mientras dure este control. Las variaciones a lo largo del tiempo y entre laboratorios pueden deberse a diferencias en las técnicas del laboratorio, su instrumental y sus reactivos, o a modificaciones introducidas en el método de medida del fabricante. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propias medias y rangos aceptables y utilicen los que aquí se proporcionan sólo como orientación.

Puede consultar las actualizaciones de prospectos en la página web www.qcnet.com.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL PREPARADO

Este es un producto liofilizado que ha sido fabricado según las más estrictas normas de control de la calidad. Para que obtenga valores de ensayo coherentes entre viales, será necesario almacenar y manipular el control según se indica.

PORTUGUÊS

UTILIZAÇÃO

O Lyphocheck Assayed Chemistry Control destina-se a ser utilizado como soro de controlo da qualidade para controlar a precisão dos procedimentos laboratoriais de análise para os analitos listados neste folheto informativo.

SUMÁRIO E PRINCÍPIO

A utilização de materiais de controlo da qualidade é indicada como uma avaliação objectiva da precisão dos métodos e técnicas aplicadas e constitui uma parte integrante das boas práticas laboratoriais. Encontram-se disponíveis dois níveis de controlo para permitir avaliar o desempenho dentro dos limites clínicos.

REAGENTE

Este produto é preparado a partir de soro humano acrescido de constituintes de bioquímicos purificados (extractos de tecidos de origem humana e animal), químicos, fármacos terapêuticos, conservantes e estabilizadores. O controlo é fornecido sob forma liofilizada para maior estabilidade.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este produto permanecerá estável até ao fim do prazo de validade desde que seja armazenado por abrir a uma temperatura de 2 a 8°C. Depois de o controlo ter sido reconstruído, todas as substâncias a analisar permanecerão estáveis durante 7 dias desde que o produto seja armazenado com a tampa firmemente apertada a uma temperatura de 2 a 8°C, com as seguintes exceções: A fosfatase ácida e fosfatase ácida prostática permanecerão estáveis durante um período de 30 dias quando armazenadas com a tampa firmemente apertada a uma temperatura de 2 a 8°C.

Depois de reconstituir e congelar o controlo, todas as substâncias a analisar permanecerão estáveis durante 30 dias desde que sejam armazenadas com a tampa firmemente apertada a uma temperatura de -10 a -20°C com as seguintes exceções: A tobramicina permanecerá estável durante um período de 20 dias quando o controlo é armazenado com a tampa firmemente apertada a uma temperatura de -10 a -20°C. Depois de o controlo ter sido descongelado, não deve voltar a ser congelado; elimine qualquer material restante.

Este produto é enviado em condições de temperatura ambiente.

RECONSTITUIÇÃO

Utilizando uma pipeta volumétrica, reconstitua cada frasco com 5,0 ml de água destilada ou desionizada. Reponha a tampa e deixe o controlo a temperatura ambiente durante 20 minutos, agitando o frasco de vez em quando. Antes de efectuar a recolha da amostra, agite suavemente o frasco várias vezes para assegurar a homogeneidade. Caso esteja a efectuar uma análise dos vestígios de substâncias metálicas, não deve homogeneizar por meio de inversão.

PROCEDIMENTO

Este produto deve ser tratado da mesma forma que as amostras de pacientes e analisado de acordo com as instruções que acompanham o instrumento, o dispositivo ou o reagente que está a ser utilizado. Após cada utilização reponha imediatamente a tampa.

Elimine quaisquer materiais descartados de acordo com as disposições locais em vigor para a eliminação de resíduos biológicos. Na eventualidade de observar danos na embalagem, contacte a Bio-Rad Laboratories.

LIMITAÇÕES

1. Este produto não deve ser utilizado após o fim do prazo de validade.
2. Se existir evidência de contaminação microbiana ou se se observar um aspecto turvo excessivo no controlo reconstruído, elimine o frasco.
3. Este produto não deve ser utilizado como padrão.

VALORIZAÇÕES

Os valores médios impressos neste folheto derivam de análises repetidas e são específicos para este lote do produto. Os testes listados foram executados pelo fabricante e/ou por laboratórios independentes utilizando reagentes suportados pelo fabricante e uma amostra representativa deste lote de controlo. As médias laboratoriais individuais devem estar dentro dos limites correspondentes aceitáveis; no entanto, as médias laboratoriais podem variar dos valores listados durante o tempo de duração deste controlo. Variações ao longo do tempo e entre laboratórios podem dever-se a diferenças de técnicas, instrumentos ou reagentes, ou a modificações nas técnicas de teste pelo fabricante. Recomendamos que cada laboratório estabeleça as suas próprias médias e limites aceitáveis e utilize os que são fornecidos apenas como guias.

Consulte o site www.qcnet.com para obter informações sobre atualizações de folhetos informativos.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMENTO

Este produto é um produto liofilizado, fabricado de acordo com padrões rígidos de controlo da qualidade. Para obter valores de análise consistentes de frasco para frasco, o controlo deve ser manuseado e armazenado de acordo com o descrito.

SVENSKA

AVSEDD ANVÄNDNING

Lyphocheck Assayed Chemistry Control är avsedd att användas som ett analyserat kvalitetskontrollserum för övervakning av precisionen i laboratoriets analysettor, för de analyser som anges i denna bilaga.

SAMMANFATTNING OCH PRINCIP

Användning av kvalitetskontrollmaterial är indicerat för objektiv utvärdering av precisionen i använda metoder och tekniker och ingår i god laboratorisäkerhet. Två kontrollnivåer finns tillgängliga för kontroll av prestandan inom det kliniska målnområdet.

REAGENS

Denna produkt är framställd av humant serum med tillsats av rena biokemiska substanser (humant och animaliskt vävnadsextrakt), kemikalier, läkemedel samt konserveringsmedel och stabiliseringsmedel. Kontrollen tillhandahålls i frystarkard form för ökad stabilitet.

FÖRVARING OCH STABILITET

Denna produkt är stabil fram till utgångsdatum vid förvaring i öppnad förpackning vid 2-8°C. Efter att kontrollen har rekonstruerats och vid förvaring i tät försluten flaska vid 2-8°C är alla analyser stabila i 7 dagar, med följande undantag: Sura fosfataser och prostatica sura fosfataser är stabila i 3 dagar vid förvaring i tätslutande förpackning vid 2 till 8°C.

Efter att kontrollen rekonstruerats och frysts är alla analyser stabila i 30 dagar vid förvaring i tätslutande förpackning vid -10 till -20°C, dock med följande undantag: Tobramycin är stabil i 20 dagar när kontrollen förvaras i tätslutande förpackning vid -10 till -20°C. Produkten får ej återfrysas efter att den har linats. Kassera återstående material.

Denna produkt transporterats vid omgivningstemperatur.

REKONSTITUERING

Använd en volumetrisk pipett och rekonstruera varje flaska med 5,0 ml destillerat eller avjoniserat vatten. Sätt på proppen igen och låt kontrollen stå i 20 minuter, och snurra den då och då för hand. Snurra flaskan försiktigt flera gånger för hand så att innehållet blandas ordentligt före användning. Vid spårmetallanalys ska innehållet inte blandas genom att flaskan vänds upp och ner.

FÖRFARANDE

Denna produkt skall behandlas på samma sätt som patientprover och användas enligt anvisningarna för de instrument, kit och reagenser som används. Försätt flaskan ordentligt efter varje användning.

Kasserat material skall bortskaffas enligt de avfallsbestämmelser som utformats av lokala myndigheter. Om förpackningen är skadad kontrollera närmaste Bio-Rad Laboratories försäljningsavdelning eller teknisk serviceavdelning.

BEGRÄNSNINGAR

1. Denna produkt skall inte användas efter utgångsdatum.
2. Vid tecken på mikrobiell kontamination eller om den rekonstruerade produkten är mycket grumlig skall flaskan kasseras.
3. Denna produkt får inte avsedd att användas som standard.

NOMINELLA VÄRDEN

De medelvärden som anges i denna bipacksedel har tagits fram genom replikatanalyser och är specifika för denna produktbatch. De angivna testerna har utförts av tillverkaren och/eller oberoende laboratorier med användning av reagens som stöds av tillverkaren och representativa prover av denna kontrollbatch. Medelvärdena på det enskilda laboratoriet bör ligga inom motsvarande acceptabla områden; laboratoriets medelvärden kan dock skilja sig från de angivna värdena under kontrollens livstid. Variationer över tid och från laboratoriet till laboratoriet kan bero på skillnader i laboratorietechnik, instrument och reagens, eller på modifieringar av laboratoriens testmetoder. Vi rekommenderar att varje laboratorium fastställer sina egna medelvärden och acceptabla områden och endast betraktar de här angivna värdena som vägledande.

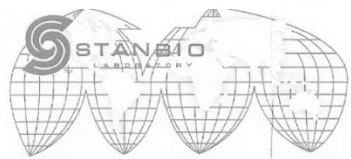
Besök www.qcnet.com för aktuell bipacksedelsinformation.

SPECIFIKA PRODUKTEGENSKAPER

Denna produkt är en frystarkard produkt som framställs enligt strikta kvalitetskontrollstandarder. För jämna analysresultat från flaska till flaska skall kontrollen förvaras och hanteras korrekt enligt anvisningarna.

	Units	Level 1 - 14401		Level 2 - 14402		SI	Level 1 - 14401		Level 2 - 14402	
		Mean	Range	Mean	Range		Mean	Range	Mean	Range
CARBON DIOXIDE (CO₂)										
Genzyme Diagnostics (Enzymatic)	mEq/L	29.0	23.0 - 35.0	19.0	14.0 - 24.0	mmol/L	29.0	23.0 - 35.0	19.0	14.0 - 24.0
Pointe Scientific (PEPCNAOH)	mEq/L	44.0	35.0 - 53.0	27.0	19.0 - 35.0	mmol/L	44.0	35.0 - 53.0	27.0	19.0 - 35.0
Synermed IR500-II (Enzymatic)	mEq/L	31.3	25.1 - 37.5	21.2	17.0 - 25.4	mmol/L	31.3	25.1 - 37.5	21.2	17.0 - 25.4
Teco Diagnostics TC-Matrix (Enzymatic, Modified Forrester)	mEq/L	37.4	29.9 - 44.8	23.2	18.6 - 27.9	mmol/L	37.4	29.9 - 44.8	23.2	18.6 - 27.9
CHLORIDE										
ISE Indirect (6)	mEq/L	99.7	89.8 - 110	86.7	78.0 - 95.4	mmol/L	99.7	89.8 - 110	86.7	78.0 - 95.4
Synermed IR500-II (ISE Direct)	mEq/L	97.1	77.8 - 116	84.0	67.3 - 101	mmol/L	97.1	77.8 - 116	84.0	67.3 - 101
Teco Diagnostics TC-Matrix (Mercuric Thiocyanate)	mEq/L	96.9	77.5 - 116	89.7	71.7 - 108	mmol/L	96.9	77.5 - 116	89.7	71.7 - 108
CHOLESTEROL, HIGH DENSITY LIPOPROTEIN (HDL) (3)										
Direct measure (6)	mg/dL	64.3	51.4 - 77.1	24.3	19.4 - 29.1	mmol/L	1.66	1.33 - 2.00	0.629	0.503 - 0.755
Synermed IR500-II (Direct measure)	mg/dL	54.5	43.6 - 65.4	19.4	15.6 - 23.3	mmol/L	1.41	1.13 - 1.69	0.502	0.401 - 0.603
Teco Diagnostics TC-Matrix (Direct Homogeneous)	mg/dL	50.5	40.4 - 60.6	34.7	27.7 - 41.6	mmol/L	1.31	1.05 - 1.57	0.899	0.717 - 1.08
Wako L-Type (Roche Hitachi)	mg/dL	65.8	52.6 - 79.0	31.1	24.9 - 37.3	mmol/L	1.70	1.36 - 2.05	0.805	0.645 - 0.966
CHOLESTEROL, LOW DENSITY LIPOPROTEIN (LDL)										
Synermed IR500-II (Direct measure)	mg/dL	128	103 - 153	53.5	42.8 - 64.0	mmol/L	3.32	2.67 - 3.96	1.39	1.11 - 1.66
Teco Diagnostics TC-Matrix (Direct)	mg/dL	121	96.9 - 145	52.2	41.7 - 62.6	mmol/L	3.14	2.51 - 3.77	1.35	1.08 - 1.62
Wako L-Type (Roche Hitachi)	mg/dL	137	110 - 164	55.3	44.2 - 66.4	mmol/L	3.55	2.85 - 4.25	1.43	1.14 - 1.72
CHOLESTEROL, TOTAL										
Catachem Inc.	mg/dL	▲		▲		mmol/L	▲		▲	
CHOD-PAP (6)	mg/dL	257	206 - 308	100	80.2 - 120	mmol/L	6.56	5.33 - 7.99	2.60	2.08 - 3.11
Genzyme Diagnostics (Enzymatic)	mg/dL	259	220 - 298	103	88.0 - 118	mmol/L	6.71	5.70 - 7.72	2.67	2.28 - 3.06
Pointe Scientific (Endpoint)	mg/dL	269	231 - 307	105	90.0 - 120	mmol/L	6.97	5.98 - 7.95	2.72	2.33 - 3.11
Synermed IR500-II (Enzymatic)	mg/dL	262	210 - 314	106	85.0 - 127	mmol/L	6.79	5.44 - 8.13	2.75	2.20 - 3.29
Teco Diagnostics TC-Matrix (Enzymatic Liquid)	mg/dL	252	202 - 303	102	81.3 - 122	mmol/L	6.53	5.23 - 7.84	2.63	2.11 - 3.16
CHOLINESTERASE (1)										
Butyrylthiocholine (6)	37°C U/L	8233	6587 - 9880	2672	2138 - 3207	µmol/Lsec	137	110 - 165	44.6	35.7 - 53.6
COPPER (1)										
Atomic Absorption	µg/dL	98.2	78.5 - 118	71.4	57.1 - 85.6	µmol/L	15.4	12.3 - 18.5	11.2	8.96 - 13.4
CREATINE KINASE (CK)										
Catachem Inc.	37°C U/L	▲		▲		µmol/Lsec	▲		▲	
Genzyme Diagnostics (NAC activated)	37°C U/L	156	125 - 187	532	426 - 638	µmol/Lsec	2.61	2.09 - 3.12	8.88	7.11 - 10.7
IFCC 2002 (6)	37°C U/L	144	115 - 172	502	402 - 602	µmol/Lsec	2.40	1.92 - 2.88	8.38	6.71 - 10.1
Pointe Scientific (Kinetic)	37°C U/L	129	104 - 154	448	358 - 538	µmol/Lsec	2.15	1.74 - 2.57	7.48	5.98 - 8.98
Synermed IR500-II (Enzymatic UV)	37°C U/L	144	115 - 173	490	392 - 588	µmol/Lsec	2.40	1.92 - 2.89	8.18	6.55 - 9.82
Teco Diagnostics TC-Matrix (NAC, Kinetic Liquid)	37°C U/L	139	111 - 166	464	371 - 557	µmol/Lsec	2.32	1.85 - 2.78	7.75	6.20 - 9.30
CREATININE										
Alkaline picrate-kinetic (6)	mg/dL	1.94	1.55 - 2.32	5.85	4.68 - 7.02	µmol/L	171	137 - 205	517	414 - 621
Catachem Inc.	mg/dL	▲		▲		µmol/L	▲		▲	
Enzymatic (6)	mg/dL	1.36	1.09 - 1.63	5.35	4.28 - 6.42	µmol/L	120	96.2 - 144	473	379 - 568
Genzyme Diagnostics (Enzymatic)	mg/dL	1.27	1.07 - 1.47	5.37	4.30 - 6.44	µmol/L	112	94.6 - 130	475	380 - 569
Genzyme Diagnostics (Jaffe, Kinetic)	mg/dL	2.00	1.60 - 2.40	5.70	4.60 - 6.80	µmol/L	177	141 - 212	504	407 - 601
Pointe Scientific (Initial Rate)	mg/dL	2.40	2.00 - 2.80	6.30	4.90 - 7.70	µmol/L	212	177 - 248	557	433 - 681
Synermed IR500-II (Alkaline picrate-kinetic)	mg/dL	1.91	1.53 - 2.29	5.74	4.60 - 6.88	µmol/L	169	135 - 202	507	407 - 608
Teco Diagnostics TC-Matrix (Jaffe Kinetic)	mg/dL	2.00	1.58 - 2.38	5.70	4.60 - 6.90	µmol/L	177	140 - 210	504	407 - 610
DIGOXIN										
Syva EMIT 2000	ng/mL	1.18	0.944 - 1.42	2.66	2.13 - 3.19	nmol/L	1.51	1.21 - 1.81	3.40	2.72 - 4.09
GAMMA GLUTAMYLTRANSFERASE (GGT)										
Catachem Inc.	37°C U/L	▲		▲		µmol/Lsec	▲		▲	
Genzyme Diagnostics (IFCC)	37°C U/L	64.0	51.0 - 77.0	147	118 - 176	µmol/Lsec	1.07	0.852 - 1.29	2.45	1.97 - 2.94
IFCC 2002 (6)	37°C U/L	68.3	54.6 - 81.9	161	129 - 193	µmol/Lsec	1.14	0.912 - 1.37	2.69	2.15 - 3.23
Pointe Scientific (SZASZ, Kinetic)	37°C U/L	55.0	43.0 - 67.0	133	104 - 162	µmol/Lsec	0.919	0.718 - 1.12	2.22	1.74 - 2.71
Synermed IR500-II (IFCC)	37°C U/L	55.4	44.4 - 66.4	156	125 - 187	µmol/Lsec	0.925	0.741 - 1.11	2.61	2.09 - 3.12
Teco Diagnostics TC-Matrix (Kinetic Liquid)	37°C U/L	55.4	44.3 - 66.4	122	97.9 - 147	µmol/Lsec	0.925	0.739 - 1.11	2.04	1.63 - 2.45
GENTAMICIN										
Syva EMIT 2000	µg/mL	1.49	1.19 - 1.79	8.34	6.67 - 10.0	µmol/L	3.11	2.49 - 3.74	17.4	13.9 - 20.9
GLUCOSE										
Catachem Inc.	mg/dL	▲		▲		mmol/L	▲		▲	
Genzyme Diagnostics (Hexokinase)	mg/dL	93.0	84.0 - 102	315	284 - 347	mmol/L	5.16	4.66 - 5.66	17.5	15.8 - 19.3
Hexokinase (6)	mg/dL	83.9	67.1 - 101	288	230 - 345	mmol/L	4.65	3.72 - 5.59	16.0	12.8 - 19.2
Pointe Scientific (GOD/POD, Endpoint)	mg/dL	94.0	79.0 - 109	308	259 - 357	mmol/L	5.22	4.38 - 6.05	17.1	14.4 - 19.8
Synermed IR500-II (Glucose oxidase)	mg/dL	89.7	71.8 - 108	301	241 - 361	mmol/L	4.98	3.98 - 5.99	16.7	13.4 - 20.0
Teco Diagnostics TC-Matrix (Glucose Oxidase Liquid)	mg/dL	87.2	69.7 - 105	285	228 - 342	mmol/L	4.84	3.87 - 5.80	15.8	12.6 - 19.0
Teco Diagnostics TC-Matrix (Hexokinase Liquid)	mg/dL	90.7	72.6 - 109	276	221 - 331	mmol/L	5.03	4.03 - 6.04	15.3	12.2 - 18.4
GLUTAMATE DEHYDROGENASE (GLDH) (1)										
Standard Method without Correction for the Non-Specific Creep Reaction (6)	37°C U/L	15.5	12.4 - 18.6	36.7	29.3 - 44.0	µmol/Lsec	0.259	0.207 - 0.310	0.612	0.490 - 0.735
HAPTOGLOBIN (1)										
Immunoturbidimetric (6)	mg/dL	116	92.9 - 139	77.6	62.1 - 93.1	g/L	1.16	0.929 - 1.39	0.776	0.621 - 0.931
IMMUNOGLOBULIN A (IgA) (1)										
Immunoturbidimetric (6)	mg/dL	196	157 - 235	133	106 - 160	g/L	1.96	1.57 - 2.35	1.33	1.06 - 1.60
IMMUNOGLOBULIN G (IgG) (1)										
Immunoturbidimetric (6)	mg/dL	898	719 - 1078	631	505 - 758	g/L	8.98	7.19 - 10.8	6.31	5.05 - 7.58
IMMUNOGLOBULIN M (IgM) (1)										
Immunoturbidimetric (6)	mg/dL	85.7	68.6 - 103	62.0	49.6 - 74.3	g/L	0.857	0.686 - 1.03	0.620	0.496 - 0.743
IRON										
Catachem Inc.	µg/dL	▲		▲		µmol/L	▲		▲	
Ferrozine (6)	µg/dL	247	197 - 296	63.7	50.9 - 76.4	µmol/L	44.1	35.3 - 53.0	11.4	9.12 - 13.7
Genzyme Diagnostics (Ferene)	µg/dL	232	197 - 267	60.0	51.0 - 69.0	µmol/L	41.5	35.3 - 47.8	10.7	9.13 - 12.4
Pointe Scientific (Ferrozine, Endpoint)	µg/dL	257	222 - 292	63.0	54.0 - 72.0	µmol/L	46.0	39.7 - 52.3	11.3	9.67 - 12.9

	Units	Level 1 - 14401		Level 2 - 14402		SI	Level 1 - 14401		Level 2 - 14402		
		Mean	Range	Mean	Range		Mean	Range	Mean	Range	
IRON (continued)											
Synermed IR500-II (Ferene)	µg/dL	218	175 - 261	234	187 - 281	µmol/L	39.0	31.3 - 46.7	41.9	33.5 - 50.3	
Teco Diagnostics TC-Matrix (Ferrozine)	µg/dL	227	181 - 272	59.0	47.2 - 70.8	µmol/L	40.6	32.5 - 48.7	10.6	8.45 - 12.7	
IRON-BINDING CAPACITY, TOTAL (TIBC) (1)											
Genzyme Diagnostics (TIBC Calculated)	µg/dL	348	278 - 418	211	179 - 243	µmol/L	62.3	49.8 - 74.8	37.8	32.0 - 43.5	
IRON-BINDING CAPACITY, UNSATURATED (UIBC) (1)											
Genzyme Diagnostics (UIBC)	µg/dL	116	93.0 - 139	151	121 - 181	µmol/L	20.8	16.6 - 24.9	27.0	21.7 - 32.4	
Synermed IR500-II (Ferene)	µg/dL	137	110 - 164	161	129 - 193	µmol/L	24.5	19.7 - 29.4	28.8	23.1 - 34.5	
LACTATE (LACTIC ACID)											
Enzymatic (6)	mg/dL	41.4	33.1 - 49.7	11.9	9.55 - 14.3	mmol/L	4.59	3.67 - 5.51	1.33	1.06 - 1.59	
LACTATE DEHYDROGENASE (LDH)											
Catachem Inc.	37°C	U/L	▲	▲		µmol/L/sec	▲		▲		
Genzyme Diagnostics (Modified Wacker Tris, Kinetic)	37°C	U/L	179	143 - 215	411	349 - 473	µmol/L/sec	2.99	2.39 - 3.59	6.86	5.83 - 7.90
JFCC 2002 (6)	37°C	U/L	178	142 - 214	405	324 - 486	µmol/L/sec	2.97	2.38 - 3.57	6.76	5.41 - 8.11
Pointe Scientific (Lactate to Pyruvate, Kinetic)	37°C	U/L	165	136 - 194	371	305 - 437	µmol/L/sec	2.76	2.27 - 3.24	6.20	5.09 - 7.30
Synermed IR500-II (Lactate to Pyruvate)	37°C	U/L	158	127 - 189	355	284 - 426	µmol/L/sec	2.64	2.12 - 3.16	5.93	4.74 - 7.11
Teco Diagnostics TC-Matrix (Modified Wacker/Tris, Liquid)	37°C	U/L	158	127 - 190	362	290 - 435	µmol/L/sec	2.64	2.11 - 3.17	6.05	4.84 - 7.26
LIPASE											
Catachem Inc.	37°C	U/L	§	§		µmol/L/sec	§		§		
Colorimetric (6)	37°C	U/L	149	119 - 178	292	233 - 350	µmol/L/sec	2.48	1.98 - 2.98	4.87	3.90 - 5.85
Enzymatic, colorimetric (6)	37°C	U/L	32.5	26.0 - 39.0	70.9	56.8 - 85.1	µmol/L/sec	0.543	0.435 - 0.652	1.18	0.948 - 1.42
Genzyme Diagnostics (1, 2 Diglycerole)	37°C	U/L	32.0	24.0 - 40.0	83.0	66.0 - 100	µmol/L/sec	0.534	0.401 - 0.668	1.39	1.10 - 1.67
LITHIUM											
Flame Photometry	mEq/L	0.592	0.527 - 0.657	1.86	1.67 - 2.04	mmol/L	0.592	0.527 - 0.657	1.86	1.67 - 2.04	
MAGNESIUM											
Atomic Absorption	mg/dL	§		§		mmol/L	§		§		
Catachem Inc.	mg/dL	▲		▲		mmol/L	▲		▲		
Genzyme Diagnostics (Xylydyl blue)	mg/dL	2.00	1.80 - 2.20	4.30	3.90 - 4.70	mmol/L	0.823	0.741 - 0.905	1.77	1.60 - 1.93	
Pointe Scientific (Calmagite, Endpoint)	mg/dL	2.00	1.70 - 2.30	4.40	3.80 - 5.10	mmol/L	0.823	0.699 - 0.946	1.81	1.56 - 2.10	
Synermed IR500-II (Xylydyl blue) (Magon Sulfonate)	mg/dL	2.08	1.67 - 2.49	4.51	3.61 - 5.41	mmol/L	0.856	0.687 - 1.02	1.86	1.49 - 2.23	
Teco Diagnostics TC-Matrix (Calmagite)	mg/dL	2.20	1.78 - 2.67	4.60	3.70 - 5.50	mmol/L	0.905	0.732 - 1.10	1.89	1.52 - 2.26	
Xylydyl blue (6)	mg/dL	1.98	1.58 - 2.38	4.37	3.50 - 5.24	mmol/L	0.815	0.652 - 0.978	1.80	1.44 - 2.16	
OSMOLALITY (1)											
Freezing Point Depression	mOsm/kg	566	453 - 679	495	396 - 594	mmol/kg	566	453 - 679	495	396 - 594	
PHENOBARBITAL											
Syva EMIT 2000	µg/mL	12.5	10.0 - 15.0	49.4	39.5 - 59.3	µmol/L	53.9	43.1 - 64.7	213	170 - 255	
PHENYTOIN											
Syva EMIT 2000	µg/mL	12.2	9.76 - 14.6	25.8	20.6 - 31.0	µmol/L	48.3	38.6 - 58.0	102	81.7 - 123	
PHOSPHORUS											
Catachem Inc.	mg/dL	▲		▲		mmol/L	▲		▲		
Genzyme Diagnostics (Phosphomolybdate reduction)	mg/dL	3.50	3.00 - 4.00	7.50	6.80 - 8.30	mmol/L	1.13	0.969 - 1.29	2.42	2.20 - 2.68	
Phosphomolybdate-UV (6)	mg/dL	3.42	3.07 - 3.76	7.37	6.64 - 8.11	mmol/L	1.10	0.993 - 1.21	2.38	2.14 - 2.62	
Pointe Scientific (Phosphomolybdate-UV, Endpoint)	mg/dL	3.40	2.70 - 4.00	7.50	6.20 - 8.90	mmol/L	1.10	0.872 - 1.29	2.42	2.00 - 2.87	
Synermed IR500-II (Phosphomolybdate-UV)	mg/dL	3.87	3.10 - 4.64	8.53	6.83 - 10.2	mmol/L	1.25	1.00 - 1.50	2.76	2.21 - 3.29	
Teco Diagnostics TC-Matrix (Molybdenum UV)	mg/dL	3.40	2.74 - 4.10	6.90	5.50 - 8.30	mmol/L	1.10	0.885 - 1.32	2.23	1.78 - 2.68	
POTASSIUM											
Flame Photometry	mEq/L	3.77	3.40 - 4.15	6.28	5.65 - 6.91	mmol/L	3.77	3.40 - 4.15	6.28	5.65 - 6.91	
Synermed IR500-II (ISE Direct)	mEq/L	3.81	3.05 - 4.57	6.06	4.85 - 7.27	mmol/L	3.81	3.05 - 4.57	6.06	4.85 - 7.27	
Teco Diagnostics TC-Matrix (Turbidimetric)	mEq/L	3.50	2.82 - 4.24	5.90	4.70 - 7.10	mmol/L	3.50	2.82 - 4.24	5.90	4.70 - 7.10	
PROTEIN, TOTAL											
Biuret, no serum blank, end point (6)	g/dL	6.46	5.17 - 7.75	4.17	3.34 - 5.00	g/L	64.6	51.7 - 77.5	41.7	33.4 - 50.0	
Biuret, serum blank, end point (6)	g/dL	6.82	5.45 - 8.18	4.30	3.44 - 5.16	g/L	68.2	54.5 - 81.8	43.0	34.4 - 51.6	
Catachem Inc.	g/dL	▲		▲		g/L	▲		▲		
Genzyme Diagnostics (Biuret)	g/dL	7.00	6.30 - 7.70	4.50	4.10 - 5.00	g/L	70.0	63.0 - 77.0	45.0	41.0 - 50.0	
Pointe Scientific (Biuret, Endpoint)	g/dL	7.10	6.40 - 8.00	4.40	4.00 - 4.80	g/L	71.0	64.0 - 80.0	44.0	40.0 - 48.0	
Synermed IR500-II (Biuret)	g/dL	6.87	5.50 - 8.24	4.27	3.42 - 5.12	g/L	68.7	55.0 - 82.4	42.7	34.2 - 51.2	
Teco Diagnostics TC-Matrix (Biuret)	g/dL	7.60	6.10 - 9.16	4.90	3.90 - 5.90	g/L	76.0	61.0 - 91.6	49.0	39.0 - 59.0	
SALICYLATE											
Syva EMIT 2000	mg/dL	7.00	5.60 - 8.40	18.0	14.4 - 21.6	mmol/L	0.507	0.405 - 0.608	1.30	1.04 - 1.56	
SODIUM											
Flame Photometry	mEq/L	144	130 - 159	128	115 - 141	mmol/L	144	130 - 159	128	115 - 141	
Synermed IR500-II (ISE Direct)	mEq/L	144	115 - 173	126	101 - 151	mmol/L	144	115 - 173	126	101 - 151	
THEOPHYLLINE											
Syva EMIT 2000	µg/mL	8.50	6.80 - 10.2	24.1	19.3 - 28.9	µmol/L	47.2	37.7 - 56.6	134	107 - 161	
TOBRAMYCIN											
Syva EMIT 2000	µg/mL	6.60	5.28 - 7.92	1.60	1.28 - 1.92	µmol/L	14.1	11.3 - 16.9	3.42	2.74 - 4.11	
TRANSFERRIN (1)											
Immunoturbidimetric (6)	mg/dL	273	218 - 328	171	137 - 205	g/L	2.73	2.18 - 3.28	1.71	1.37 - 2.05	
TRIGLYCERIDES											
Catachem Inc.	mg/dL	▲		▲		mmol/L	▲		▲		
Enzymatic / GPO (6)	mg/dL	190	152 - 228	93.2	74.5 - 112	mmol/L	2.14	1.71 - 2.57	1.05	0.842 - 1.26	
Genzyme Diagnostics (Enzymatic, Endpoint)	mg/dL	201	171 - 231	89.0	76.0 - 102	mmol/L	2.27	1.93 - 2.61	1.01	0.859 - 1.15	
Pointe Scientific (GPO, Endpoint)	mg/dL	184	151 - 217	73.0	59.0 - 87.0	mmol/L	2.08	1.71 - 2.45	0.825	0.667 - 0.983	
Synermed IR500-II (Enzymatic, GPO)	mg/dL	210	168 - 252	100	80.0 - 120	mmol/L	2.37	1.90 - 2.85	1.13	0.904 - 1.36	
Teco Diagnostics TC-Matrix (GPO-Trinder Liquid)	mg/dL	209	167 - 251	87.5	70.0 - 105	mmol/L	2.36	1.89 - 2.83	0.989	0.791 - 1.19	



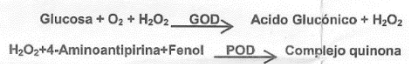
Stanbio Glucosa Liquicolor®

Reactivo para la determinación cuantitativa enzimática colorimétrica GOD-PAP (Trinder) de punto final de Glucosa en suero, plasma ó líquido cerebro espinal (LCR).

Resumen y principio.

La determinación de los niveles de glucosa fue el primer procedimiento empleado en el laboratorio clínico médico. La metodología de glucosa-oxidasa fue introducida por Keilin y Hartree en 1948. Más tarde Keston reportó el uso de un reactivo combinando glucosa-oxidasa-peroxidasa, seguido por el de Teller adicionando un reactivo cromogénico al procedimiento de Keston. En particular, el método del reactivo de glucosa Stanbio está basado en la técnica descrita por Trinder et al.

La glucosa es oxidada en presencia de glucosa oxidasa (GOD). El peróxido de hidrogeno formado, reacciona bajo la influencia de peroxidasa (POD) con fenol y 4-aminoantipirina para formar un complejo rojo-violeta de quinona. La intensidad del color es proporcional a la concentración de glucosa.



Reactivo de Glucosa

- 4-Aminoantipirina 0,2 mmol/L
- Glucosa Oxidasa 15,0 mmol/L
- Peroxidasa 1,2 U/L
- Fenol 4,0 mmol/L

Estándar de Glucosa

100 mg/dL (5.56 mmol/L) de Glucosa en solución acuosa de ácido benzóico.

Precauciones: Para uso de diagnóstico *In-Vitro*. El reactivo contiene azida de sodio como conservador la cual puede reaccionar con el cobre o plomo de las tuberías formando azidas metálicas explosivas. Para desecharlo enjuague con mucho agua para prevenir su formación.

Preparación del reactivo: El reactivo y el estándar están listos para usarse.

Estabilidad y almacenamiento del reactivo: El reactivo y el estándar son estables hasta la fecha de caducidad indicada en su etiqueta cuando se almacena de 2 a 8 °C. Una vez abierto, evite su contaminación. La medición no se ve influenciada por cambios en el color del reactivo, entre tanto su absorbancia sea < 0.80 a 500 nm en 1 cm de paso de luz. Ambos reactivos deben llevarse a temperatura ambiente antes de utilizarse.

NOTA: Para prevenir la contaminación del reactivo de glucosa, coloque un volumen ligeramente mayor al que va a utilizar en un contenedor separado y no regrese el remanente al frasco original.

Materiales requeridos pero no incluidos.

Espectrofotómetro capaz de leer absorbancia a 500 nm, pipetas automáticas, bloque de calor o baño de temperatura controlada a 37 °C (Opcional), cubetas, agitador, cronómetro.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Deterioro de los reactivos

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del blanco a 505 nm \geq 0,40.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero y plasma¹.

Estabilidad de la muestra: 5 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 505 (490-550) nm
 - Cubeta: 1 cm paso de luz
 - Temperatura 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

Recolección y Preparación de la Muestra:

-**Suero:** Remover el coágulo antes de 30 minutos de su recolección para prevenir la gliólisis.

-**Plasma:** Se recomienda utilizar un anticoagulante que no contenga fluor, sin embargo se puede utilizar otro anticoagulante común. Centrifuge y separe el plasma rápidamente de las células.

-**Líquido cerebro espinal:** No requiere preparación especial. **Estabilidad de la muestra:** La glucosa en suero/plasma es estable durante 48 horas de 2-8 °C. Las muestras de Líquido cerebro espinal deben de analizarse inmediatamente para prevenir la contaminación bacteriana.

Substancias Interferentes: Pueden encontrarse valores bajos falsos de glucosa por excesiva cantidad de ácido ascórbico.

Analizador Automatizado.

Parámetros:	
Longitud de onda	500 nm
Tipo de reacción	Punto Final
Dirección de la reacción	Incremento
Temperatura de reacción	37 °C
Relación muestra / reactivo	1:100
Tiempo de equilibrio	3 segundos
Tiempo de lectura	4 segundos
Tiempo lag	300 segundos
Absorbancia límite del blanco	0.800
Máxima absorbancia	2.000 A
Valor normal bajo	70 mg/dL
Valor normal alto	105 mg/dL
Linealidad	500 mg/dL
pH	7.0 ± 1.0
Absorbancia inicial	< 0.300
Estándar	100 mg/dL

Estos parámetros deben de considerarse al programar el analizador automático de glucosa, consulte el manual del instrumento para instrucciones de programación.

Procedimiento Manual:

- Coloque en cubetas los siguientes volúmenes (mL) y mezcle bien.

	Reactivo Blanco (RB)	Estándar (E)	Muestra (M)
Reactivo	1.0	1.0	1.0
Estándar	-	0.01	-
Muestra	-	-	0.01

NOTA: El volumen se puede incrementar si el instrumento requiere volúmenes mayores que 1.0 mL.

- Incube las cubetas a 37 °C por 5 minutos o a temperatura ambiente 15-30 °C por 10 minutos.
- Lea E y M contra RB a 500 nm antes de 60 minutos.

Control de Calidad:

Se deben incluir dos sueros control con niveles de glucosa conocidos determinados por este método o por el procedimiento de hexocinasa en cada serie de pruebas. Se recomienda el uso de Suero Control Normal Ser-T-Fy I y Suero Control Anormal Ser-T-Fy II para cada ensayo.

Resultados:

Los valores se derivan de la siguiente ecuación:

$$Glucosa (mg/dL) = \frac{A_M}{A_E} \times 100$$

donde A_M y A_E son los valores de las absorbancias de la muestra y el estándar respectivamente, y 100 es la concentración del estándar (mg/dL).

NOTAS

- TRIGLYCERIDES CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- LCF (Lipid Clearing Factor) está integrado en el reactivo.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

- Buccolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19(5): 476-482
- Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080
- Kaplan A et al. Tryglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACION

Ref: 41030	R: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 41031	R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 41032	R: 1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 41033	R: 1 x 500 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 41034	R: 1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL



TRIGLYCERIDES -LQ

Triglicéridos-LQ

Ejemplo: Las siguientes lecturas se obtuvieron usando cubetas de 1 cm.

$$A_M = 0.130, A_E = 0.178$$
$$Glucosa (mg/dL) = \frac{0.130}{0.178} \times 100 = 73$$

Glucosa (mmol/L) = Glucosa (mg/dL) x 0.0556

Nota: Muestras que tengan valores arriba de 500 mg/dL. Deben ser diluidas 1:2 (1+1) con solución salina. Repetir la prueba y el resultado multiplicarlo por el factor de dilución 2.

Valores Esperados:

Rango normal: Suero/Plasma 70-105 mg/dL (3.9-5.8 mmol/L)

Líquido cerebro espinal: 40-75 mg/dL (2.2-3.9 mmol/L)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia tomando en cuenta las diferencias existentes entre instrumentos, laboratorio y población local.

Características:

Precisión: Utilizando un suero que contenga glucosa en un rango normal y uno con valores elevados, se realizaron una serie de 5 pruebas durante 5 días. Los coeficientes de variación (CV) del intraensayo fueron de 1.6 y 1.2%, y en el interensayo fueron de 3.0 y 2.0% respectivamente.

Correlación: Determinación de glucosa por el procedimiento descrito (Y) y por el método de hexocinasa/método (x) en 40 sueros (rango: 56-582 mg/dL) mostraron un coeficiente de correlación (r) de 0.995 y una ecuación de regresión de y = 0.98x-1.99.

Linealidad: Cuando se realiza directo, este método es lineal de 0 a 500 mg/dL.

Referencias:

- Folin, O., Wu, H.: J. Biol. Chem. 41: 367, 1920.
- Keilin, D., Hartree, E. F.: Biochem. J. 42: 230, 1948.
- Keston, A.S.: Abstr. 129th Meeting, Am. Chem. Soc., 1956, p 31c.
- Teller, J. D.: Abstr. 130th Meeting, Am. Chem. Soc., 1956, p 69c.
- Young, D. S. et al.: Clin. Chem. 21: 304D, 1975 (Special Issue).
- Howanitz, P.J. Howanitz, J.H.: IN Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 17th ed., J.B. Henry, Ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1984, p 168.
- Cooper, G.R. McDaniel, Manual of methods for the Determination of Glucose, CDC, USPHS, Atlanta.
- Caraway, W.T.: IN Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed., N.W. Tietz, Ed. Saunders, Philadelphia, 1976, p 242.
- Datos Stanbio Laboratory.



Fabricado en U.S.A. por:

Stanbio Laboratory,
1261 North Main Street
Boerne TX, 78006.

Distribuido en México por:
Laboratorios LICON S.A.
(Domicilio Fiscal)

Viveros del Rocio No. 33
Colonia Viveros de la Loma
CP. 54080, Tlalneptalla,
Estado de México, México.

Laboratorios LICON, S.A.
Av. Industria Eléctrica de
México No. 3
Colonia Xocoayahuacalco
C.P. 54080, Tlalneptalla,
Estado de México, México.

Tel.: 53-62-02-99
Fax: 53-62-17-92
www.licon.com.mx

Rev.: 15/02/2010
IN-371

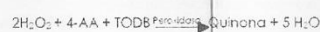




COLESTEROL HDL DIRECTO LIQUICOLOR®
 Reactivo para la determinación directa, enzimática, cuantitativa de colesterol de Lipoproteína de Alta densidad (HDL) (Líquido estable FS) en suero o plasma humano.

Resumen y Principio:

Las Lipoproteínas son partículas de figura esférica que contienen una variada cantidad de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos y proteínas. Los fosfolípidos y las proteínas se encuentran en la parte superficial de la partícula de la lipoproteína, mientras que el centro consiste mayormente de colesterol en forma esterificada y triglicéridos. La función de las partículas de lipoproteínas es el transporte del colesterol y triglicéridos a través del torrente sanguíneo. La cantidad relativa de proteínas y lípidos que las constituyen determinan la densidad de las lipoproteínas y provee las bases para su clasificación. Esta clasificación es: Lipoproteínas de Muy Baja Densidad (VLDL), Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL) y Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL). Se han encontrado en diversos estudios clínicos, que éstas lipoproteínas tienen distintos efectos sobre los riesgos de enfermedades cardíacas coronarias (CHD)¹. Niveles bajos de Colesterol HDL han sido repetidamente asociados con el incremento de riesgo de enfermedades cardíacas coronarias y arteriales coronarias^{2,3}. Así, la determinación en suero de Colesterol HDL ha sido reconocida como una herramienta útil para identificar pacientes con alto riesgo en presentar dichas enfermedades. El método de referencia del CDC para Colesterol HDL usa ultracentrifugación, seguida de precipitación química para separar HDL de otras lipoproteínas, para seguir con la medición de dicho colesterol usando un ensayo de Abell-Kendall⁴ modificado. Este método es considerado también como muy tardado y laborioso para usarlo como un análisis de rutina⁵. Históricamente la mayoría de los laboratorios han usado uno de éstos diversos métodos para precipitar selectivamente y remover LDL y VLDL, seguido de una medición enzimática de colesterol HDL en la fracción del sobrenadante resultante⁶. La mayoría de estos métodos requiere la separación manual, por lo que la determinación de Colesterol HDL no puede ser automatizada en su totalidad. También la dilución de muestras ocasiona determinaciones de colesterol con baja sensibilidad. Como resultado, la determinación de rutina de HDL ha sufrido tanto de tiempos largos para la obtención del resultado como de una pobre reproducibilidad. El reactivo de Stanbio Colesterol HDL Directo LiquiColor® está basado en un método de precipitación clásico modificado donde se acoplan el ácido polivinil sulfónico (PVS) y polietilenglicol-metil éter (PEGME) con mejoras en el uso de cantidades optimizadas de PVS/PEGME y detergentes seleccionados. LDL, VLDL y quilomicrones (CM) reaccionan con el PVS y PEGME lo cual ocasiona que ya no estén disponibles para reaccionar con la colesterol oxidasa (CHOD) y con la colesterol esterasa (CHER). Las enzimas reaccionan selectivamente con HDL para producir H₂O₂ el cual es detectado por medio de la reacción Trinder.



Reactivos:
Buffer HDL Directo (R1)
 Buffer MES (pH 6.5), TODB N, ácido sulfónico polivinil N-Bis(4-sulfobutil)-3-metilamina, polietilenglicol-metil éster, MgCl₂, Detergente, EDTA.

Enzima HDL Directo (R2)
 Buffer MES (pH 6.5), colesterol esterasa, colesterol oxidasa, peroxidasa, 4-aminoantipirina, detergente.

Precauciones: Únicamente para uso de diagnóstico In-Vitro. Todas las muestras usadas en esta prueba se deben considerar potencialmente infecciosas. Se deben tener las debidas precauciones para facilitar el correcto uso y disposición final de los materiales posterior al análisis. No usar los reactivos después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta correspondiente.

Preparación de los Reactivos: Los reactivos provistos están listos para usarse

Almacenamiento y Estabilidad de los Reactivos: Los reactivos son estables al almacenarlos de 2-8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta correspondiente. Una vez abiertos debe evitar su contaminación. Evite la congelación. Proteja de la luz.

Materiales Requeridos pero No Provistos:
 Calibrador HDL/LDL Directo Stanbio®, Analizador Químico automatizado capaz de manejar un sistema de 2 reactivos.

Obtención y Preparación de Muestras:
 La sangre se debe procesar rápidamente dentro de las 12 horas después de la obtención. La muestra puede ser suero o plasma. Evite la hemólisis.

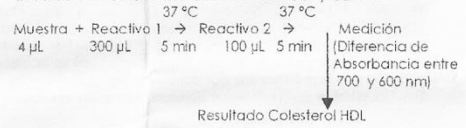
Suero: Obtenga la sangre completa por punción venosa y deje coagular. Centrifugue y remueva el suero tan pronto como sea posible después de la obtención (dentro de un lapso de 3 horas)⁷.

Plasma: Usar Li-heparina, EDTA o plasma citratado para evitar un posible cambio en la composición de las lipoproteínas debido al tiempo necesario para la coagulación. Centrifugar y remover el plasma tan pronto como sea posible después de la obtención (dentro de un lapso de 3 horas)⁸.

Estabilidad de la Muestra: Si no se analiza la muestra de manera inmediata, se puede almacenar de 2-8 °C hasta 1 semana. Si la muestra necesita ser almacenada por más de 1 semana se puede preservar a una temperatura menor de -20 °C hasta por un mes. Para almacenar por un período de 1 mes a 2 años, las muestras pueden ser preservadas a -70 °C⁹.

Sustancias que Interfieren: El análisis no es influenciado por valores de hemoglobina hasta 1000 mg/dL, niveles de bilirrubina de hasta 40 mg/dL, bilirrubina conjugada hasta 30 mg/dL, ácido ascórbico hasta 10 mM y triglicéridos de hasta 1000 mg/dL. Referirse al trabajo de Young, para una revisión de los efectos de las drogas sobre niveles séricos de Colesterol HDL¹⁰.

Analizadores Automatizados:
 Abajo se indica un ejemplo general de la determinación de Colesterol HDL Directo LiquiColor® por un analizador automatizado. Todas las aplicaciones del analizador deben ser validadas de acuerdo con las recomendaciones de NCEP y CLIA¹¹.



Control de calidad: Se recomienda el uso de los siguientes sueros en cada corrida: Stanbio Ser-T-Fy® Suero Control Nivel 1y Stanbio Ser-T-Fy® Suero Control Nivel 2. También se pueden aceptar otros controles disponibles comercialmente con valores de HDL directo determinados por este método. La determinación de HDL directo de estos materiales por este procedimiento debe caer dentro de los intervalos indicados para dichos controles. Se deben analizar 2 niveles de control en cada una de las corridas.

Calibración: El uso de Calibrador HDL/LDL Directo Stanbio® (disponible por separado) es requerido para la calibración de este ensayo. Referirse al instructivo de uso del Calibrador HDL/LDL Directo Stanbio®. Si los resultados de los controles son encontrados fuera de rango, se debe calibrar nuevamente. Se deben seguir las pautas proporcionadas por cada proveedor del instrumento para calibrar su analizador.

Limitaciones:
 Las muestras con valores mayores a 160 mg/dL se deben diluir 1:1 con solución salina al 0.9% y volver a analizarlas. Multiplicar el resultado por 2.

Resultados:
 Para convertir de unidades convencionales a unidades del Sistema Internacional, multiplicar las unidades convencionales por 0.02586.

$$\text{mg/dL} \times 0.02586 = \text{mmol/L Colesterol HDL}$$

Valores Esperados¹¹:
 Los valores esperados de colesterol HDL en sueros son los siguientes:
 Menos de 40 mg/dL: Mayor factor de riesgo para padecer enfermedades del corazón.
 40 a 59 mg/dL: Mientras más alto sea el valor de HDL, mejor.
 60 mg/dL y más: Un valor de 60 mg/dL o mayor se considera protector contra enfermedades del corazón.

Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de valores esperados.

Características de Funcionamiento¹²:
 Los datos fueron derivados del Analizador Hitachi® 917.
Límite del blanco: El límite del blanco (LOB) del ensayo para colesterol HDL Directo fue determinado como sigue: el calibrador cero de HDL fue evaluado por 12 replicas. LOB = media + 3SD = 1.06 mg/dL.



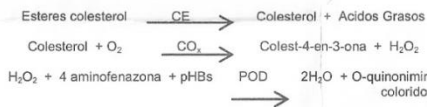


STANBIO COLESTEROL LIQUICOLOR

Reactivo para la determinación cuantitativa enzimática colorimétrica de punto final de Colesterol Total y HDL en suero o plasma.

Resumen y Principio.

El método enzimático para colesterol fue introducido en 1973 por Flegg¹ y Richmond² utilizando colesterol oxidasa de origen bacteriano, seguida de saponificación química de los ésteres del colesterol. Roeschlau³ modificó esta técnica y Allain y Col⁴ publicaron los primeros ensayos enzimáticos completos, combinando colesterol oxidasa y colesterol esterasa. Este método se basa en el de Allain y utiliza estas enzimas en combinación con el reactivo peroxidasa/fenol-4-antipirina, de Trinder⁵. La colesterol esterasa (CE) hidroliza los ésteres para originar colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre así producido más el colesterol preformado se oxida en presencia de colesterol oxidasa (Cox) para dar colest-4-en-3-ona y peróxido de hidrógeno. Un cromógeno quinonimina, con absorción máxima de 500 nm, se produce cuando el fenol se acopla oxidativamente con 4aminofenazona, en presencia de peroxidasa (POD) con peróxido de hidrógeno. La intensidad del color rojo final es proporcional a la concentración total de colesterol. El reactivo tiene un Factor Clarificador de Lípidos, el cual es una mezcla especial de aditivos desarrollado por Stanbio que ayuda a minimizar la interferencia por lipemia.



El reactivo de precipitación de Stanbio de lipoproteínas de alta densidad (HDL) debe adquirirse por separado.

Reactivos

Colesterol Líquido Enzimático.

El reactivo contiene los siguientes ingredientes activos a esta concentración.

4-Aminofenazona	0.25 mmol/L
Fenol	25.0 mmol/L
Peroxidasa	>5.0 U/mL
Colesterol esterasa	>0.15 U/mL
Colesterol oxidasa	>0.2 U/mL

Reguladores y estabilizadores

Estándar de Colesterol (200 mg/dL)

Solución acuosa regulada de colesterol, con estabilizadores, surfactantes y preservativos.

Precaución: Para uso de diagnóstico *In-Vitro*. Deseche los reactivos de acuerdo a las disposiciones locales.

Preparación del Reactivo: El reactivo y el estándar están listos para su uso.

Estabilidad del reactivo: El reactivo y el estándar son estables cuando se almacenan de 2 a 8°C hasta la fecha de caducidad. Una vez abierto el reactivo debe evitarse su contaminación. Lleve el reactivo y estándar a temperatura ambiente antes de usarlos. Con el tiempo el reactivo puede tomar un leve color rosado que no afecta los resultados. Descartar el reactivo si la absorbancia vs. blanco es superior a 0.3 D.O. a 500 nm.

Materiales requeridos pero no incluidos.

Espectrofotómetro capaz de leer absorbancias a 500 nm, Pipetas automáticas, Cubetas, Cronómetro, Tubos de ensayo.

Agitador (tipo Vortex), Centrifuga, Baño a temperatura constante o parrilla, 37°C

Recolección y preparación de la muestra.⁶

La sangre debe ser colectada seguida de 12 horas de ayuno. La muestra puede ser suero o plasma colectado con EDTA como anticoagulante. Evitar hemólisis.

Estabilidad de la muestra: El colesterol total y el colesterol HDL se reportan estables durante 4 días de 2 a 8°C, a (-20°C alcanzan una mayor estabilidad, por 3 meses para el "total" y 7 - 14 días para el HDL. De ser posible la muestra debe separarse y analizarse el mismo día de su extracción.

Sustancias Interferentes: Los anticoagulantes como fluoruros y oxalatos dan valores bajos falsos. La prueba no se interfiere con valores de hemoglobina de hasta 200 mg/dL o por bilirrubina hasta de 10 mg/dL. Sin embargo muestras muy ictericas y hemolizadas se pueden corregir usando un blanco de suero o plasma. (Referirse a la sección de "Resultados").

Parámetros de prueba

Longitud de onda	500 nm
Punto final	37°C
Tipo de reacción	Incremento
Dirección de la reacción	1:100
Temperatura de la reacción	3 segundos
Relación de la muestra/reactivo	4 segundos
Tiempo de equilibrio	300 segundos
Tiempo de lectura	0.30 A
Absorbancia límite blanco	2.000 A
Máxima absorbancia	120 mg/dL
Valor normal bajo	310 mg/dL
Valor normal alto	750 mg/dL
Linealidad	7.3 ± 1.0
pH	< 0.300
Absorbancia inicial	200mg/dL
Estándar	

Los parámetros antes mencionados deben de utilizarse en la programación de los analizadores automatizados para Colesterol. Consulte su manual para la programación de las instrucciones.

Procedimiento manual

1. Pipeteo en las cubetas los siguientes volúmenes (mL) y mezcle bien.

	Reactivo	Estándar	Muestra
	Blanco (RB)	(S)	(U)
Reactivo	1.0	1.0	1.0
Estándar	-	0.01	-
Muestra	-	-	0.01

2. Incube todas las cubetas a 37°C por 5 minutos o por 10 minutos a temperatura ambiente.

3. Lea S y U contra RB a 500 nm antes de 60 minutos.

NOTA: Los volúmenes pueden ser incrementados al doble si el instrumento requiere un volumen mayor a 1.0 mL para realizar la lectura.

Control de Calidad.

Utilice un suero control comercial o un pool de sueros, previamente analizados y divididos en alícuotas congeladas, en cada serie de ensayos

Resultados.

Los valores se derivan de la siguiente ecuación

$$\text{Colesterol total sérico (mg/dL)} = \frac{Au}{As} \times 200$$

donde Au y As son las absorbancias de la muestra y del estándar respectivamente y 200 es la concentración del estándar (mg/dL).

Cuando se requiera de un blanco de suero (muestra icterica o hemolizada) incluya otro tubo como S8 (punto 1, sección "Procedimiento"). Añada 1.0 mL de solución salina, 0.01 mL de suero, mezcle por inversión, transfiera a la cubeta y lea la absorbancia (Abs) contra agua destilada a 500 nm. Use estos valores para corregir los de la muestra como sigue:

$$\text{Colesterol total sérico (mg/dL)} = \frac{Au - Abs}{As} \times 200$$

NOTA: La muestra con valores de colesterol mayores a 750 mg/dL se diluyen tres veces (1+2) con solución salina normal (cloruro de sodio 8.5 g/dL), se repite el ensayo y el resultado se multiplica por 3.

Valores esperados.⁹

Los datos recientemente presentados muestran "rangos normales" de acuerdo a la edad para colesterol total y HDL y, como riesgo coronario de enfermedades del corazón (CDH) para colesterol HDL expresados como un porcentaje del colesterol total. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios

rangos de valores esperados en vista de que existen diferencias entre instrumentos, laboratorios y población local.

Colesterol total	mg/dL
Cordón	45-100
Recién nacido	53-135
Infante	70-175
Niños	120-200
Adolescentes	120-210
Adultos	140-310
Ideal para adultos	140-200

Riesgo de CHD (HDL como % del total)		
Riesgo	Hombre	Mujer
Peligroso	< 7	< 12
Alto	7-15	12-18
Medio	15-25	18-27
Medio bajo	25-37	
Probable protección	>37	> 40

HDL COLESTEROL		
Edad	Hombre	Mujer
0-14	30-65	30-65
15-19	30-65	30-70
20-29	30-70	30-75
30-39	30-70	30-80
>40	30-70	30-85
Media	45	55
Raza Negra: Aproximadamente 10 mg/dL más altos.		

Características.⁷

Reproducibilidad: Se realizó un estudio sobre control (media = 128 mg/dL) y un suero de pacientes (media = 367 mg/dL) el cual consistió en una serie de 5 ensayos durante 5 días consecutivos. El coeficiente de variación (CV) del intraensayo de 2.5% y 1.0% y el interensayo 3.5% y 2.9% respectivamente.

Correlación: La determinación del colesterol por el procedimiento aquí descrito (y) y por el Boehringer-Mannheim "BMC Colesterol Monotes" (x) en 68 sueros (variación = 125-550 mg/dL) dio un coeficiente de correlación (r) de 0.991 y una ecuación de regresión y = 1.04 x + 10.3.

Linealidad: Cuando se realiza como indica, el método es lineal de 0 a 750 mg/dL.

Referencias.

- Flegg H.M. Ann. Clin. Biochem, 10:79, 1973.
- Richmond W., Clin. Chem, 19:1350, 1973.
- Roeschlau P., et al., Z. Klin. Chem. Klin. Biochem, 12:226, 1974.
- Allain C.C. et al., Lin. Chem 20:470, 1974.
- Trinder P., Ann Clin. Biochem., 6:24, 1969.
- Finley P.R. et al., Clin. Chem., 24:931, 1978.
- Stein E.A., In Textbook of Clinical Chemistry, NW Tiez, Ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1986, p.p. 879-886, 1818, 1829.

Fabricado en U.S.A. por:
Stanbio Laboratory,
1261 North Main Street
Boerne TX, 78006.

Almacenado, Acondicionado y Distribuido en México por:
Laboratorios LICON S.A.
(Domicilio Fiscal)
Viveros del Rocío No. 33,
Col. Viveros de la Loma
Tlalpan, C.P. 54080,
Estado de México, México.
Tel.: 5-362-02-99
Fax: 5-362-17-92
www.licon.com.mx

Rev.: 19/02/2010
IN-361

