

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS

AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

EVALUACIÓN DE LA PULPA DE VARIANTES DE TUNA COMO ALIMENTO

FUNCIONAL

PRESENTA:

GABRIELA ZENTENO RAMÍREZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. BERTHA IRENE JUÁREZ FLORES

ASESORES:

DR. JUAN ROGELIO AGUIRRE RIVERA

DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ

30 de agosto del 2016



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

EVALUACIÓN DE LA PULPA DE VARIANTES DE TUNA COMO ALIMENTO
FUNCIONAL

PRESENTA:

GABRIELA ZENTENO RAMÍREZ

Comité tutelar:

Directora: Dra. Bertha I. Juárez Flores

Asesor: Dr. Juan Rogelio Aguirre Rivera

Asesor: Dra. María Deogracias Ortiz Pérez

Jurado:

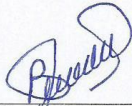
Presidenta: Dra. Bertha I. Juárez Flores

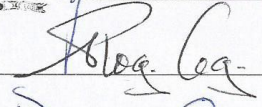
Secretario: Dr. Juan Rogelio Aguirre Rivera

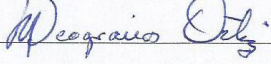
Vocal: Dra. María Deogracias Ortiz Pérez


Jurado externo: Dra. María Judith Ríos Lugo

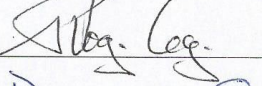
Representante del PMPCA: Dr. Gregorio Álvarez F.

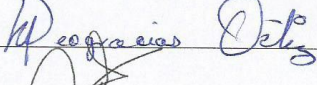


















CRÉDITOS INSTITUCIONALES

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. 275640

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

Universidad Autónoma de Querétaro

EL DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO
ATRAVÉS DEL PROGRAMA NACIONAL DE POSGRADOS DE CALIDAD
(PNPC)

Dedicatoria

Díos, te dedico este trabajo por darme la oportunidad de vivir esta experiencia y permitirme trabajar con animalitos que con mucho amor cuidé pero en especial por mandarme mi mayor motivación a la que llamo hija.

Gracias a esas personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron listas para brindarme toda su ayuda, ustedes han sido la fuerza moral que siempre necesite para culminar este proyecto, ahora me toca regresar un poquito de todo lo inmenso que me han otorgado. Con todo mi cariño esta tesis se las dedico a ustedes:

Mis padres Gerardo y Dolores, hermanos Erika y Eduardo

Mis suegros Edmundo y Ruth

Mi esposo Eduardo

y a nuestra pequeña hija Jessie



Agradecimientos

Al PMPCA por darme la oportunidad de realizar mis estudios de doctorado.

Al Instituto de Investigación de Zonas Desérticas por abrirme sus puertas y llegar a un ambiente de trabajo con gran armonía.

A la Dra. Bertha I. Juárez Flores por ser una excelente directora de tesis, por creer en mí y haberme dado esta maravillosa oportunidad y en verdad agradezco de corazón todo lo que me enseñó.

A la Dra. Deogracias por su gran disponibilidad para resolver mis dudas y considero que usted es un gran ejemplo de excelencia, rectitud, compromiso y disciplina. Gracias por su tiempo.

Al Dr. Aguirre por las acertadas aportaciones para mejorar la calidad y resultados de esta tesis.

A la M.C. Monserrat Monreal Montes por participar de manera muy activa en la elaboración experimental.

A la Fundación Produce de San Luis Potosí, A.C. Por el financiamiento otorgado al proyecto "Evaluación de pulpa de variantes de tuna como alimento funcional (antioxidante, carbohidratos, glucémicos)" a cargo de la Dra. Bertha Irene Juárez Flores.

La materia prima (fruto de todas las variantes), fueron proporcionados por el Ing. Roberto Garfías Cánovas, presidente del Sistema Producto Nopal de San Luis Potosí.

A la L.Q. Socorro Jasso y Q.F.B. Josefina Acosta por el apoyo técnico en el laboratorio.

A Eduardo Zenteno por el incondicional apoyo recibido desde el primer día que nací y soportar los largos días de trabajo en el laboratorio atendiendo con mucha dedicación y respeto a las ratas.

Agradezco mucho a los estudiantes de diferentes grados que se vieron involucrados en el duro trabajo del laboratorio: Monserat Monreal de maestría; Alondra, David Isabel, Carlos, Luis Ángel y Gabriel practicantes de CBTis. a los estudiantes del verano de la ciencia Ángel, Maru, Selene, José, Alejandra, Alejandro, a los doctores Toño Rendón y Cinthia Zamora; a mi compañero César Godínez y finalmente al Dr. Jaime Becerra de posdoctorado del PMPCA por sus aportaciones tan congruentes.

Agradezco infinitamente a todas aquellas personas que escapan en estos momentos de mi mente y que se vieron involucradas en estos cuatro años tanto administrativos como alumnos.

Gracias

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	i
Índice de cuadros.....	v
Índice de figuras.....	vii
Resumen General.....	viii
1.- Introducción general	1
2.- Antecedentes	6
2.1 Generalidades de <i>Opuntia</i> spp.	6
2.2 Componentes nutricionales de la tuna	7
2.3. Alimentos funcionales	9
2.4 Radicales libres y estrés oxidativo	13
2.5 Antioxidantes	15
2.6 Diabetes y estrés oxidativo.....	19
2.7 Efectos funcionales del genero <i>Opuntia</i>	22
3.- Evaluación de azúcares y fibra soluble en el jugo de variantes de tuna (<i>Opuntia</i> spp.)	33
3.1 Resumen	34
3.2 Introducción.....	35
3 .3 Materiales y métodos	37

3.3.1 Elección de las variantes y preparación de las muestras	37
3.3.2 Cuantificación de azúcares	37
3.3.3 Cuantificación de mucílago	39
3.3.4 Cuantificación de pectina	40
3.3.5 Diseño experimental y análisis estadístico	41
3.4 Resultados y discusión.....	41
3.4.1 Cuantificación de azúcares	41
3.4.2 Fibra soluble	45
3.5 Conclusiones	49
3.6 Agradecimientos.....	49
3.7 Literatura citada.....	50
4.- Antioxidantes en el jugo de 10 variantes de tuna (<i>Opuntia</i> spp.) y su capacidad reductora <i>in vitro</i>	56
4.1 Resumen	57
4.2 Introducción.....	59
4.3 Materiales y métodos	62
4.3.1 Elección de las variantes y preparación de las muestras	62
4.3.2 Identificación y cuantificación de antioxidantes en los jugos.....	62
4.3.2.1 Contenido de fenoles totales.	62
4.3.2.2 Ácidos fenólicos y flavan-3-oles.	63

4.3.3 Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> de los jugos.....	66
4.3.3.1 Método FRAP (ferric reducing antioxidant power).	66
4.3.3.2 Estimación de la capacidad antioxidante equivalente en Trolox (TEAC) con el mediador químico ABTS• ⁺	67
4.3.4. Diseño experimental y análisis estadístico.....	68
4.4 Resultados y discusión.....	69
4.4.1 Cuantificación de compuestos fenólicos.....	69
4.4.2 Concentración e identificación de betalaínas.....	74
4.4.3 Cuantificación de ácido ascórbico por HPLC.....	74
4.4.4 Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> del jugo de tuna.....	77
4.6 Agradecimientos.....	81
4.7 Literatura citada.....	81
5.- Efectos del jugo de 10 variantes de tuna (<i>Opuntia</i> spp.) sobre el metabolismo energético de ratas Wistar.	90
5.1 Introducción.....	91
5.2 Materiales y métodos	93
5.2.1 Elección de las variantes y extracción de los jugos.....	93
5.2.2 Modelo animal	93
5.2.3 Dosificación del jugo de tuna.....	95

5.2.4 Diseño experimental, tratamientos, variables evaluadas y análisis estadísticos	98
5.3 Resultados y discusión.....	98
5.3.1 Efecto de los jugos de tuna en el peso de las ratas.....	98
5.3.2 Efecto de los jugos de tuna sobre indicadores metabólicos sanguíneos	101
5.4 Conclusiones	106
5.5 Agradecimientos.....	106
5.6 Literatura citada.....	106
6.- Discusión general.....	111
7.- Conclusiones generales.....	118

Índice de cuadros

Cuadro 2.1 Composición química de la pulpa de los frutos de <i>O. ficus-indica</i> (Feugang <i>et al.</i> , 2006).....	8
Cuadro 2.2 Fenoles presentes en frutas y sus efectos benéficos sobre la salud (Martínez-Navarrete <i>et al.</i> 2008).....	10
Cuadro 2.3 Clasificación de la diabetes mellitus (Iglesias, 2014).....	21
Cuadro 3.4 Características generales de los jugos de tuna evaluados.	38
Cuadro 3.5 Contenido de azúcares (%) ⁴ en el jugo de tunas de <i>Opuntia</i> spp.	42
Cuadro 3.6 Contenido medio de fibra soluble (g por100g de peso seco) en el jugo de tunas de <i>Opuntia</i> spp. Las variantes se encuentran ordenadas de mayor a menor grado de domesticación.	46
Cuadro 4.7 Concentración media de compuestos fenólicos totales en jugos liofilizados de 10 variantes de tuna.....	70
Cuadro 4.8 Concentración media (µg/g) de ácidos fenólicos en jugos liofilizados de 10 variantes de tuna.....	72
Cuadro 4.9 Concentración media (µg/g) de flavan-3-oles en jugos liofilizados de 10 variantes de tunas.....	73
Cuadro 4.10 Contenido medio de betaxantinas y betacianinas (mg/g peso seco) en los jugos liofilizados de 10 variantes de tuna.....	75
Cuadro 4.11 Concentración media de ácido ascórbico (mg/g peso seco) en jugos liofilizados de 10 variantes de tuna.....	77
Cuadro 4.12 Capacidad media antioxidante total del jugo de 10 variantes de tuna.	79

Cuadro 4.13 Correlaciones (r) entre las estimaciones de capacidad antioxidante, generadas con los métodos ABTS y FRAP en el jugo de 10 variantes de tuna.	80
Cuadro 5.14 Peso (g) de ratas glucostáticas (GS) e hiperglucémicas (HG) suplementadas con jugos de 10 variantes de tunas (<i>Opuntia</i> spp.).	100
Cuadro 5. 15 Efecto de los jugos de tuna sobre parámetros metabólicos.....	102

Índice de figuras

Figura 1. Estructura básica de las betacianinas (izquierda) y betaxantinas (derecha) y ácido betalámico (en el centro).....	18
---	----

Resumen General

Introducción. El fruto del nopal (*Opuntia* spp.) es uno de los recursos vegetales más importantes para los habitantes de las zonas áridas y semiáridas, particularmente en la Planicie Meridional donde se pueden identificar variantes tuneras con diferente grado de humanización. El interés por la tuna se ha incrementado pues además de su contenido de fibra soluble y polifenoles, tiene proporciones adecuadas de azúcares simples y puede considerarse alimento funcional ya que existen evidencias que su consumo reduce los niveles de glucosa y colesterol en la sangre. Los objetivos de este trabajo fueron cuantificar en jugos de la tuna azúcares simples, fibra soluble y metabolitos secundarios con actividad antioxidante, medir su capacidad antioxidante *in vitro* y evaluar el efecto del consumo de estos jugos sobre el metabolismo energético de ratas sanas y diabéticas. Metodología. Las variantes evaluadas, de mayor a menor grado de humanización, fueron: Rojo Pelón (*O. ficus-indica*), Blanca (*O. albicarpa*), Amarilla Monteza, Pico Chulo, Torreaja, Sangre de Toro (*O. megacantha*), Cardona y Charola (*O. streptacantha*), y Tapona y Tapón Rojo (*O. robusta*). El contenido de glucosa, fructosa y sacarosa se cuantificó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Agilent HP serie 1100; Waldbronn, Alemania); La extracción y cuantificación de pectina se basó en la técnica gravimétrica de la Norma Oficial Mexicana. La extracción de mucílago se realizó mediante un protocolo probado (5). Los fenoles se cuantificaron por HPLC (Spectra-Physics UV6000LP); el ácido ascórbico en un HPLC (Thermo Spectra Physic Series P100) acoplado a un detector UV (Thermo Finnigan Spectra System UV2000), las betalainas con el método espectrofotométrico (Agilent 8453 UV-visible). La capacidad antioxidante *in vitro* por medio de las técnicas de FRAP y ABTS. Para evaluar el efecto del consumo de los jugos de las variantes de tuna

(tratamientos) sobre el metabolismo energético se utilizaron ratas sanas y diabéticas macho Wistar (n=6). El periodo experimental fue de 12 sem. La dosis administrada fue ponderada con base en el porcentaje de azúcares totales de cada variante de tuna. Se cuantificaron los contenidos de glucosa, colesterol, HDL y triglicéridos en el suero sanguíneo de las ratas. Resultados y discusión. Se encontraron diferencias ($p < 0.0001$) en la concentración de azúcares totales en el jugo (109.10 a 151.33 mg mL⁻¹); la glucosa predominó (95.75 mg mL⁻¹), seguida por la fructosa (63.90 mg mL⁻¹), y la sacarosa presentó cantidades mínimas sólo en algunas variantes. El mucílago predominó sobre la pectina. Tapón Rojo tuvo la mayor concentración de azúcares totales y fibra soluble. La concentración de azúcares careció de relación directa con el grado de humanización. El ácido gálico se registró en todas las variantes, excepto en la Tapona, y fue el principal compuesto fenólico en la mayoría de ellas (32.6 y 81.2 µg/g). De los flavan-3-ol se registraron los isómeros: catequina y epicatequina y las procianidinas B1 y B2, en todas las variantes, excepto la catequina en la tuna Blanca. El mayor contenido de ácido ascórbico se presentó en Rojo Pelón seguida de Sangre de Toro y Tapón Rojo, Charola fue la variante con menor concentración; sin embargo, estos valores pueden cubrir la cantidad mínima requerida en la dieta humana. Los jugos rojos presentan el mayor contenido de betacianinas, mientras que en los amarillos predominan las betaxantinas. Se ha demostrado que la concentración de los componentes fenólicos totales presenta relación directa con la capacidad antioxidante. En el modelo animal. ■ Conclusión. Los contenidos y variedad de carbohidratos y antioxidantes de los jugos de tuna explican sus bondades confirmadas como alimento funcional.

1.- Introducción general

Por sus numerosas virtudes nutritivas, químicas, industriales, ecológicas, medicinales y simbólicas, el nopal (*Opuntia* spp) representa el recurso vegetal más importante, desde el punto de vista socioeconómico para los habitantes de las zonas áridas y semiáridas de México (Márquez-Berber *et al.*, 2012). El género *Opuntia* está formado por más que 189 especies silvestres, de las cuales 83 son mexicanas; de ellas, 29 se distribuyen en la Altiplanicie Meridional (centro-norte de México), en una superficie de aproximadamente 300 000 km², en parte de los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Querétaro, San Luis Potosí, Zacatecas y la Ciudad de México (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Además de las variantes silvestres, existe una gran riqueza de variantes cultivadas, 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 de plantaciones comerciales (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). De acuerdo con Reyes-Agüero *et al.* (2005), el gradiente de domesticación del género *Opuntia* inicia con variantes cultivadas de *O. streptacantha*, continúa con *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. albicarpa*, y concluye con *O. ficus-indica*, que es la especie reconocida con el grado mayor de domesticación. Las tunas se consumen principalmente como fruta fresca y dependiendo de la variante, presentan características distintas como: forma, tamaño y color, así como abundancia, tamaño y dureza de sus semillas; además, en diversos estudios han identificado diferencias en sus componentes nutricionales (Figuroa-Cares *et al.*, 2010; López-Palacios *et al.*, 2012; Yeddes *et al.*, 2014). La tuna contiene polifenoles, flavonoides y betalaínas, compuestos que le confieren propiedades antioxidantes, que al igual que la vitamina C, auxilian en la prevención de la oxidación en las células y reducen, con ello, el riesgo de cáncer, diabetes, problemas cardiovasculares y enfermedades degenerativas. De esta

manera, el consumo directo del fruto es beneficioso, pero también puede ser usado como materia prima para la extracción de dichos compuestos que podrían ser empleados como sustitutos de los antioxidantes obtenidos por síntesis, los más comercializados actualmente (Sumaya-Martínez *et al.*, 2010). Abdel-Hameed *et al.* (2014) concluyeron que el potencial alimentario de la tuna es alto, pues además de su contenido importante de fibra y polifenoles, contiene proporciones adecuadas de azúcares simples, por lo que puede sugerirse como alimento funcional. Además, existen evidencias que su consumo reduce los niveles de glucosa y colesterol en la sangre (Stintzing *et al.*, 2001), por lo que algunos de los componentes de la tuna pueden considerarse de carácter funcional, cuya característica principal es proporcionar un beneficio para la salud añadido por encima del valor nutritivo tradicional del producto alimenticio.

Por lo precedente, los objetivos del presente estudio fueron:

1) Caracterizar y cuantificar azúcares, fibra soluble, fenoles, ácido ascórbico y betalaínas del jugo de tuna de 10 variantes del género *Opuntia* spp. de la Altiplanicie Meridional.

2) Determinar la capacidad y efecto antioxidante de del jugo de tuna de 10 variantes del género *Opuntia* spp. de la Altiplanicie Meridional *in vitro*.

3) Evaluar el efecto del jugo de 10 variantes de tuna (*Opuntia* spp.) sobre el metabolismo energético de ratas Wistar.

Para las cuantificaciones y tratamientos se seleccionaron diez variantes de tuna, en maduración plena, seis de ellas cultivadas: Rojo Pelón o Liso Forrajero (*O. ficus-indica*), Blanca o Cristalina (*O. albicarpa*), Amarilla Monteza, Pico Chulo, Torreoja y Sangre de Toro (*O. megacantha*), y cuatro silvestres: Cardona (*O. streptacantha*), Charola (*O. streptacantha*

ssp. *aguirrana*), Tapona y Tapón Rojo (*O. robusta*). Las tunas se recolectaron en el municipio de Villa de Arriaga, del altiplano del estado de San Luis Potosí, México. La elección de las variantes de *Opuntia* spp. se basó en tres aspectos: a) grado de domesticación, b) abundancia y potencial económico del fruto en el estado de San Luis Potosí, y c) colores de la tuna.

Los análisis se llevaron a cabo en los laboratorios del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí y la Universidad de Córdoba (España).

Esta tesis la integran cinco capítulos. El primero es la introducción general, el segundo es una revisión bibliográfica sobre el género *Opuntia*, enfocado al fruto del nopal la tuna, que es la materia prima con la que se trabajó, también se presenta un panorama general de los alimentos funcionales, y una descripción de los radicales libres y antioxidantes para comprender una de las enfermedades asociadas a estrés oxidativo como la Diabetes mellitus tipo II, tema con el cual concluye este capítulo. El tercero presenta la caracterización de azúcares y fibra soluble en el jugo de variantes de tunas (*Opuntia* spp.). El cuarto es acerca de los antioxidantes presentes en el jugo de tuna así como la capacidad antioxidante de los mismos. El quinto es sobre los efectos del jugo de 10 variantes de tuna (*Opuntia* spp.) sobre el metabolismo energético de ratas Wistar. Se finaliza con una discusión general.

Bibliografía

Abdel-Hameed, El-S. S., M. Nagaty, M. S. Salman and S. A. Bazaid. Phytochemicals, nutritional and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus indica* Mill.) growing in Taif, KSA. 2014. Food Chem. 160: 31-38.

- Figueroa-Cares, I., M. T. Martínez-Damián, E. Rodríguez-Pérez, M. T. Colinas-León, S. Valle-Guadarrama, S. Ramírez-Ramírez, y C. Gallegos-Vázquez, 2010. Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de tuna (*Opuntia* spp.) de México. *Agrociencia* 44: 763-771.
- López-Palacios, C., C. B. Peña-Valdivia, J. A. Reyes-Agüero, and A. I. Rodríguez-Hernández. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitas (*Opuntia* spp.). *Genet. Resour. Crop. Evol.* 59: 1015-1026.
- Márquez-Berber, S. R., C. Torcuato-Calderón, G. Almaguer-Vargas, M. T. Colinas-León and A. Khalil Gardezi. 2012. El sistema productivo del nopal tunero (*Opuntia albicarpa* y *O. megacantha*) en Axapusco, Estado de México: Problemática y alternativas. *Revista Chapingo. Serie Horticultura* 18(1): 81-93.
- Reyes-Agüero, J. A., J. R. Aguirre R., y 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.
- Stintzing, F. C., A. Schieber, and R. Carle. 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *Eur. Food Res. Technol.* 212: 396-407.
- Sumaya-Martinez, M. T., T. Suárez-Diéguez, N. de S. Cruz-Cansino, E. Alanis-Garcia, J. G. Sampedro. 2010. Innovación de productos de alto valor agregado a partir de la tuna mexicana. *Rev. Mex. Agronegocios* 27: 435-441
- Yeddes, N., J. K. Chérif, S. Guyot, A. Baron, M. Trabelsi- Ayadi. 2014. Phenolic profile of Tunisian *Opuntia ficus indica* thornless form flowers via chromatographic and

spectral analysis by reversed phase-high performance liquid chromatography-UV-
photodiode array and electrospray ionization-mass spectrometer. *Int. J. Food Prop.*
17: 741-751.

2.- Antecedentes

2.1 Generalidades de *Opuntia* spp.

El nopal es nativo de América y hay aproximadamente unas 100 000 ha. de plantaciones comerciales en nivel mundial, de las cuales el 70% se encuentra en México (Inglese *et al.*, 1995). Existen alrededor de 100 especies del género *Opuntia* con frutos comestibles, su cultivo es propio de las regiones áridas y semiáridas del mundo (Pimienta-Barrios y Nobel 1994; Sumaya-Martínez *et al.*, 2010; Márquez-Berber *et al.*, 2012). Se estima que en México hay aproximadamente 3 millones de ha de nopaleras silvestres y poco más que 210 000 ha de plantaciones comerciales de nopal, de éstas, 150 000 se destinan para forraje, de 50 000 a 60 000 para tuna, 10 000 para nopalitos y aproximadamente 100 ha para producir grana de cochinilla. (Pimienta, 1990; Flores, 1995).

Existen diferentes especies y variantes del género *Opuntia* productoras de tuna (fruto del nopal), pero las de mayor consumo provienen de *O. ficus-indica*, cultivada en América, Asia, Europa y Oceanía (Barbera *et al.*, 1992). También son comercializados los frutos de *O. streptacantha*, *O. megacantha* y *O. albicarpa* (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991; Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995). En México se reconocen alrededor de 23 variantes de tunas comestibles, comúnmente agrupadas en tunas blancas, púrpuras, rojas, anaranjadas y amarillas. Las zonas de mayor producción se localizan en las regiones sur, centro y centro-norte, que incluyen Puebla, Estado de México, Hidalgo, Zacatecas, Guanajuato y San Luis Potosí (Sumaya-Martínez *et al.*, 2010).

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

Género: *Opuntia*

2.2 Componentes nutricionales de la tuna

La tuna ha sido reconocida en México por sus numerosas virtudes nutritivas, químicas, industriales, ecológicas, medicinales y simbólicas. Pero últimamente ha llamado la atención debido a sus propiedades nutricionales y funcionales (Castellanos-Santiago y Yahia, 2008).

La parte comestible de la tuna está compuesta principalmente por agua (84-90 %) y carbohidratos (10-15 %) (Piga 2004). Los sólidos solubles de la tuna se encuentran en un rango de 10-17%, la glucosa y fructosa son los azúcares predominantes (Sawaya *et al.*, 1983;

Sáenz, 1996; Piga, 2004). Tiene un pH entre 5.3 y 7.1 y una baja acidez (0.05-0.18 %) expresada como ácido cítrico (Piga, 2004). Dentro de los ácidos orgánicos identificados se encuentran el cítrico (62 mg/100 g), málico (23.3 mg/100 g), quínico (19.1 mg/100 g) y el shikímico (2.8 mg/100 g); los ácidos isocítrico, fumárico, glicoítico y succínico solo se encuentran en trazas (Stintzing *et al.*, 2001). Además contiene fibra alimentaria, clorofila, proteína, grasas, minerales como fósforo, calcio, hierro, zinc y potasio, así como fenoles y betalainas (betacianinas y betaxantinas) (Esquivel, 2004; Repo de Carrasco y Encina 2008)

Cuadro 2.1 Composición química de la pulpa de los frutos de *O. 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

El jugo de tuna es una fuente importante de componentes funcionales y nutraceuticos tales como la fibra soluble, el ácido ascórbico, compuestos fenólicos, flavonoides, α -tocoferoles y betalaínas en tunas rojas y amarillas (El-Samahy *et al.*, 2006).

2.3. Alimentos funcionales

El concepto de alimento funcional fue usado por primera vez en Japón en la década de los 80's y se refiere a los alimentos procesados que contienen sustancias que benefician la salud además de ser nutritivos; hasta la fecha, Japón es el único país en donde existen regulaciones precisas para reconocer un alimento funcional y su papel en la prevención de enfermedades. Muchas organizaciones están tratando de establecer normas internacionales para la denominación de alimentos funcionales basados en los conceptos japoneses, finalmente se acordó que los alimentos funcionales deben proporcionar beneficios a la salud por encima de sus valores nutricionales normales (Kwak y Jukes 2001). Dentro de este concepto están incluidos una amplia variedad de alimentos y algunos de sus componentes que mejoran la salud generando bienestar, reducen el riesgo de enfermedades crónicas o minimizan los efectos de otros problemas de salud (Reinhardt-Kapsak *et al.*, 2011). En 1999, la Unión Europea estableció que un alimento puede ser categorizado como “funcional” si se ha demostrado que su consumo, más allá de la función de los nutrientes que contiene, influye de modo satisfactorio en una o más funciones del cuerpo, mejora el estado de salud o bienestar, y/o reduce el riesgo de enfermedades. Su consumo queda comprendido dentro de una pauta normal de alimentación, y no en el suministro como tabletas, cápsulas u otras formas de suplementos dietarios.

Hasta ahora, un gran número de alimentos funcionales en diversas formas se han introducido en el mercado. Muchos de ellos contienen un número de ingredientes funcionales

característicos. Están incluidos vitaminas y minerales, oligosacáridos, alcoholes de azúcares, péptidos y proteínas, prebióticos y probióticos, fitoquímicos y antioxidantes además de ácidos grasos poliinsaturados (Stark *et al.*, 1994).

En una revisión de 200 estudios epidemiológicos, Block *et al.* (1992), mostraron que el riesgo de padecer cáncer en personas que consumen dietas altas en frutas y verduras fue sólo la mitad comparado con aquellos que consumen pocos de estos alimentos. Ahora está claro que hay componentes de una dieta basada en plantas distintas de los nutrientes tradicionales que pueden reducir el riesgo de cáncer. Steinmetz y Potter (1991), identificaron más de una docena de este tipo de sustancias químicas vegetales biológicamente activas, conocidas ahora como "fitoquímicos". Estas sustancias químicas, están relacionadas con efectos benéficos en la prevención del desarrollo de diferentes tipos de cáncer, enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares, e incluso la enfermedad de Alzheimer (Cuadro 2) (Martínez-Navarrete *et al.* 2008).

Cuadro 2.2 Fenoles presentes en frutas y sus efectos benéficos sobre la salud (Martínez-Navarrete *et al.* 2008).

Compuesto		Efecto metabólico	Efecto en la salud	Fruta
Flavonoides	Antocianinas Cianidina Pelargonidina	Antioxidante	Atrapan especies reactivas de oxígeno	Cereza Uva Arándano Grosella Fresa

	<i>Flavonoles</i> Quercetina Miricetina	Antioxidante Disminuyen la agregación plaquetaria Disminuyen la oxidación de las LDL Antimutagénico	Previenen la carcinogénesis, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares. Disminuyen el colesterol total y aumentan HDL.	Manzana Uva Albaricoque Cereza Granada
	<i>Flavanonas</i> Naringenina Hesperidina Narirutina Eriocitrina Neohesperidina	Protegen la peroxidación de los lípidos Afectan a la permeabilidad vascular de los lípidos	Previenen las enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares.	Cítricos
	Dihidrochalconas	Antioxidante	Prevención de enfermedades	Manzanas
Estilbenoides	<i>Flavanoles</i> Catequinas (Flavan-3-oles) Proantocianidinas condensadas (taninos	Antimutagénico Apoptosis Disminuye la oxidación de las LDL Disminuye la	Previenen la carcinogénesis	Uva Manzanas Pera Cerezas Granada

	condensados)	agregación plaquetaria		
	Resveratrol	Antioxidante Actividad estrogénica Antimutagénico Disminuye la oxidación de las LDL Disminuye la agregación plaquetaria	Previene la carcinogénesis, incluyendo el cáncer de mama. Antiinflamatorio. Disminuye el riesgo de trombosis.	Uva Grosella negra Arándano
Derivados del ácido benzoico	Ácido gálico Ácido elágico	Reduce la peroxidación de los lípidos Actividad estrogénica	Previene las enfermedades cardiovasculares y la carcinogénesis.	Granada Fresa Frambuesa

HDL: lipoproteínas de alta densidad; LDL: lipoproteínas de baja densidad.

Como se observa en el cuadro anterior, el efecto antioxidante de los alimentos funcionales ha cobrado interés debido a que es una alternativa que puede limitar la aparición

de algunas enfermedades metabólicas ocasionadas por la presencia excesiva de radicales libres.

2.4 Radicales libres y estrés oxidativo

Se considera radical libre (RL) o especie reactiva de oxígeno (ERO) aquella molécula que en su estructura atómica presenta un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración que genera una alta inestabilidad. Este electrón desapareado confiere un grado considerable de reactividad al radical libre logrando además que pueda existir de forma independiente por cortos períodos de tiempo (Valco *et al.*, 2007).

Aunque el oxígeno es indispensable para la vida de los organismos aerobios, altas concentraciones o bajo ciertas condiciones a la concentración normal, llega a ser tóxico ya que es fuente de radicales libres, que si no se neutralizan de forma adecuada pueden tener efectos deletéreos sobre la función celular. La toxicidad del oxígeno se puede explicar por la formación de las ERO. Estas especies son más reactivas que el oxígeno en su estado basal de triplete. Las principales especies son: (a) las que se producen por la ruptura o la excitación del oxígeno (oxígeno atómico, ozono y el oxígeno singulete) y (b) las parcialmente reducidas (anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo) (Hansberg, 2002).

En las moléculas de oxígeno se conocen las siguientes especies reactivas: $\cdot\text{O}_2$ (anión súper óxido), H_2O_2 (peróxido de hidrógeno), $\text{OH}\cdot$ (radical hidróxido), $^1\text{O}_2$ (oxígeno singulete) (Mayor-Oxilia 2010). La mayor parte del oxígeno celular es reducido a través de reacciones enzimáticas, pero del 2 al 5 % escapa a esta reducción bivalente y elige la monovalente, y de ello resulta la formación de radicales libres de oxígeno. Estas ERO son moléculas altamente reactivas que atacan constantemente al cuerpo humano mediante reacciones bioquímicas de

óxido reducción (redox), que ocurren como parte normal del metabolismo celular o por la exposición a factores ambientales. La formación de estas ERO es de la manera siguiente: la reducción univalente del O_2 produce el radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) cuya fuente más importante es la NADPH oxidasa durante el estallido respiratorio. La reacción univalente subsecuente, genera el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a través de la enzima superóxido dismutasa (SOD), este compuesto no es una ERO, pero tiene una alta capacidad oxidante por vía de la reacción de Fenton, y forma el radical hidroxilo (OH) que es varios miles de veces más reactivo que el $O_2^{\bullet-}$ y deriva fácilmente a la formación de nuevos radicales libres. Las ERO explicadas hasta ahora no son las únicas, existen otras como el peroxil (ROO^{\bullet}) y el alcoxil (RO^{\bullet}), resultantes de la acción del $^{\bullet}OH$, que constituyen la fase inicial de la peroxidación lipídica. También existe el oxígeno singulete (1O_2), el óxido nítrico (NO^{\bullet}), el anión peroxinitrito ($OONO^{\bullet}$) y el ion hipoclorito (OCl) formado a partir del H_2O_2 por la enzima mieloperoxidasa (Pérez-Gastell y Pérez 2000).

La producción de radicales libres en el organismo tiene diversos objetivos; se generan continuamente en cantidades pequeñas en procesos celulares normales como la señalización celular, la neurotransmisión, la relajación del músculo, el peristaltismo, la agregación de las plaquetas, la modulación de la presión arterial, el control del sistema inmune, la fagocitosis, la producción de la energía celular, la regulación del crecimiento celular, la síntesis de componentes biológicos importantes y el metabolismo de xenobióticos (Limón-Pacheco y Gonsebatt 2009).

El estrés oxidativo sobreviene con el desequilibrio entre la producción de radicales libres y la cantidad de antioxidantes. El desbalance a favor de los radicales libres generado por condiciones fisiopatológicas causa graves daños al organismo (Sies, 1997). Se han

identificado patologías asociadas a ERO que incluyen aterosclerosis, inflamación, artritis reumatoide, complicaciones diabéticas y carcinogénesis, complicación en transporte de órganos y enfermedades cardiovasculares (Juránek *et al.*, 2013; Siti *et al.*, 2015).

2.5 Antioxidantes

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan ERO. Esta situación es incompatible con la vida a menos que existan en las células mecanismos de defensa que las neutralicen. A estas defensas se les denomina antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que en concentraciones normales posea una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interactuar con un radical libre y detener las futuras reacciones (Siti *et al.*, 2015).

El primer mecanismo de defensa es la SOD, enzima especializada en captar el radical anión superóxido mediante una dismutación y así convertirlo en peróxido de hidrógeno. Catalasa y peroxidasas glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión reductasa (GR) neutralizan al H_2O_2 y lo convierten en agua. Los “scavengers” o eliminadores como la vitamina E o α -tocoferol neutraliza al radical $\cdot OH$ por su ubicación en las membranas donde su protección es particularmente importante. La vitamina C, por su carácter reductor, reacciona rápidamente en el $O_2\cdot$ y con el $\cdot OH$, también es captor del oxígeno singulete y del ion hipoclorito. El glutatión (GSH), además de captar el H_2O_2 como substrato de la GPx, también capta al 1O_2 y al $\cdot OH$. La transferrina y la ceruloplasmina son transportadoras de metales de transición, hierro y cobre respectivamente, que son generadores de ERO (Konigsberg 2008). Este sistema defensivo, que lo mismo puede estar en el citosol que en las membranas, no es totalmente efectivo, por lo que hay involucrada una segunda línea constituida por sistemas reparadores de biomoléculas que reparan el daño producido al ADN que pudieran propiciar trastornos genéticos o cancerígenos

o por sistemas eliminadores de componentes celulares oxidados como las macroproteinasas y las endonucleasas (Pérez-Gastell y Pérez 2000).

Otro mecanismo de defensa es el exógeno, que incluye a los antioxidantes que provienen de la dieta, dentro de este grupo se incluyen la vitamina E (α -tocoferol), la vitamina C (ácido ascórbico) y el β -caroteno (provitamina A). La vitamina C constituye el antioxidante hidrosoluble más abundante en la sangre, mientras que la vitamina E es el antioxidante lipofílico mayoritario. El selenio, el más tóxico de los minerales incluidos en nuestra dieta, actúa junto con la vitamina E como antioxidante (Kinsella *et al.*, 1993; Quintanar y Calderón-Salinas 2009). Por otro lado, se ha descubierto en algunos alimentos otros antioxidantes no nutrientes: los compuestos fenólicos. Algunas fuentes son los frijoles (isoflavonas), cítricos (flavonoides), cebolla (quercetina) y aceitunas (polifenoles). También se han encontrado algunos antioxidantes fenólicos en el café, vino tinto y té. Por esta razón, la forma de suplir los antioxidantes para proteger al organismo del efecto oxidativo producido por los radicales libres es el consumo de alimentos ricos en vitaminas E y C, carotenoides y otras sustancias que tienen función antioxidante, tales como los compuestos fenólicos (Avello y Suwalsky 2006; Bouayed y Bohn 2010; Gülçin 2012).

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 flavonoides y flavonoides (Márquez-Barber, 2012).

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

1). 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.

2). 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).

Otro tipo de metabolitos secundarios son los que pertenecen al grupo de los pigmentos vegetales como los carotenoides, clorofilas, betalaínas y antocianinas, éstas últimas son totalmente excluyentes unas de otras (Stintzing y Carle de 2004).

Las betalaínas se encuentran en vacuolas y están compuestas por una estructura nitrogenada conocida como ácido betalámico (Figura 1), las betacianinas y betaxantinas llevan un grupo amino aromático y estos son capaces de estabilizar a los radicales debido a su naturaleza aromática (Stintzing y Carle de 2004; Khan y Giridhar 2015).

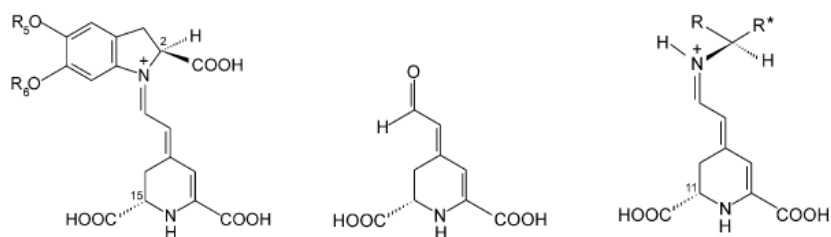


Figura 1. Estructura básica de las betacianinas (izquierda) y betaxantinas (derecha) y ácido betalámico (en el centro).

De acuerdo con su estructura química, las betalaínas se subdividen en betacianinas que dan un pigmento rojo-violeta y las betaxantinas que expresan un pigmento amarillo (Gengatharan *et al.*, 2015).

Hasta hace una década existió una escasa atención a las betalaínas lo que pudo deberse a que se consideraba que solo la remolacha era fuente de betalaínas; sin embargo, actualmente se sabe que se encuentran en el arándano, frutos de cactáceas, acelgas de color y remolacha amarilla lo que ha provocado la atención de los científicos para estudiar a las betalaínas desde un punto de vista nutricional (Stintzing y Carle 2004)

La capacidad antioxidante de las betalaínas se ha medido por diversos métodos *in vitro* como "Trolox equivalent antioxidant capacity" (TEAC) y 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

(DPPH). El efecto de las betalaínas también se evaluó en humanos administrando una dosis de jugo rojo que propició un incremento en los niveles de antioxidantes en el sistema e inhibió la lipoperoxidación. Por lo que se sugiere que las betalaínas pueden modular el desbalance de radicales libres y antioxidantes, y limitar el daño por estrés oxidativo; sin embargo los resultados *in vitro* e *in vivo* deben ser cuidadosamente interpretados (Gengatharan *et al.*, 2015).

Ensayos clínicos y estudios epidemiológicos han establecido una correlación inversa entre el consumo de frutas o verduras y la presentación de enfermedades originadas por radicales libres (Huang *et al.*, 2005). Por este motivo, distintas organizaciones internacionales recomiendan el consumo de al menos cinco raciones diarias de frutas o verduras con la finalidad de aportar una ingesta adecuada de antioxidantes naturales, mejorar el estado de salud en general y evitar la generación de radicales libres de manera excesiva (OMS/WHO, 1990).

2.6 Diabetes y estrés oxidativo

La epidemia de la diabetes mellitus (DM) es reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una amenaza mundial. Se calcula que en el mundo existen más que 180 millones de personas con diabetes, y es probable que esta cifra aumente a más que el doble para 2030 (Shaw *et al.*, 2010). En 2005 se registraron 1.1 millones de muertes debidas a la diabetes, de las cuales alrededor de 80 % ocurrieron en países de ingresos bajos o medios, que en su mayoría se encuentran menos preparados para enfrentar esta epidemia (NOM-015-SSA2-2010).

En México, la DM ocupa el primer lugar en número de defunciones por año, tanto en hombres como en mujeres las tasas de mortalidad muestran una tendencia ascendente con más que 70 000 muertes y 400 000 casos nuevos anuales (NOM-015-SSA2-2010).

Ante la complejidad de este padecimiento la Secretaría de Salud en su Boletín de Práctica Médica Efectiva elaboran un plan para tratar la DM tipo 2 por lo que se sugiere identificar la etiología, delimitar factores de riesgo, establecer criterios para el diagnóstico, realizar evaluaciones clínicas para elaborar un plan de nutrición y establecer un tratamiento farmacológico.

La DM se clasifica en cuatro tipos: a) DM tipo 1; b) DM tipo 2; c) DM gestacional y d) otros tipos de DM, como defectos genéticos de las células beta, defectos genéticos en la acción de la insulina, lesiones pancreáticas, endocrinopatías, DM inducida por drogas o compuestos químicos (Cuadro 3) (Conget, 2002; Hernando, 2011; Iglesias 2014).

La prevalencia de DM2 se encuentra en proporciones epidémicas en múltiples ciudades. Se estimó que cerca de 350 millones de personas alrededor del mundo presentan DM2 y representa un gasto económico para la sociedad (Christensen *et al.*, 2013).

La DM2 corresponde a lo que antes se denominaba como DM no insulino dependiente o del adulto, aunque actualmente afecta a jóvenes. Su importancia radica en los múltiples trastornos que se producen por la relación que guardan la secreción de insulina y sensibilidad a la acción de la hormona en el complicado control de la homeostasis de la glucosa (Conget 2002). Por ejemplo la formación de AGE (productos terminales de glicación) es consecuencia de la glicosilación no enzimática de proteínas, estos AGE modifican las señales de transmisión celular en el endotelio, bloqueando parcialmente la acción de los receptores de superficie y la

Cuadro 2.3 Clasificación de la diabetes mellitus (Iglesias, 2014).

Tipo de diabetes	Características por tipo
Diabetes mellitus tipo 1	Autoinmune Idiopática
Diabetes mellitus tipo 2	Predomina la resistencia a la insulina sobre los defectos relativos a la secreción de la insulina. Predominan los defectos en la secreción de insulina frente a la presencia de resistencia a la insulina
Otros tipos específicos de diabetes mellitus	Defectos genéticos de la función de las células β Defectos genéticos en la acción de la insulina Enfermedades del páncreas exocrino Endocrinopatías Inducidas por fármacos o sustancias químicas Infecciones Formas infrecuentes de diabetes autoinmunes Otros síndromes en ocasiones asociados a diabetes
Diabetes mellitus gestacional	Se diagnostica por primera vez durante el embarazo. Se presenta en el 2-6% de las embarazadas. Después del embarazo los pacientes vuelven a la normalidad.

expresión de genes específicos. En la vía de los polioles se genera sorbitol y en las células endoteliales induce una reducción en la producción de ATP-asa dependiente de Na y K,

perdiéndose el potencial redox; esta vía también es un mecanismo donde disminuye el NADPH y los niveles de glutatión, aumentando de esta manera el estrés oxidativo (Elejalde 2001; Palma 2007). El exceso de glucosa aumenta los valores intracelulares de diacilglicerol que, a su vez, potencia la acción de la proteincinasa C. Bajo estas condiciones bioquímicas disminuye la acción de la ATP-asa y las de los genes endoteliales específicos. Esto da como resultado inmediato una pérdida en la producción de NO y de otras prostaciclina vasodilatadoras, potenciándose, por el contrario, la secreción de sustancias vasoconstrictoras e hiperproliferativas, como la endotelina y la angiotensina II. Hay otros factores que suelen estar presentes en la DM, entre éstos cabría señalar la autooxidación de la glucosa y del cLDL, el incremento de la mieloperoxidasa activada por la proteincinasa C, y el aumento de radicales libres, circunstancias todas tendientes hacia una disminución de la producción de NO endotelial.

Es importante mencionar que una de las piezas claves del tratamiento de la DM2 es el ejercicio, tratamiento farmacológico y correctos hábitos alimenticios en el que se incluyan alimentos ricos en antioxidantes, bajos en azúcares y con concentraciones considerables de fibra soluble como son los alimentos funcionales.

2.7 Efectos funcionales del genero *Opuntia*

El nopal (*Opuntia* spp.) ha sido una especie importante en la alimentación de los mexicanos; en los códigos 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 *et al.*, 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, debido a sus componentes químicos (Valencia *et al.*, 2010).

La tuna es fuente importante de compuestos como fibra, mucílagos, pigmentos como betalaínas y carotenoides, 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).

Existen evidencias del efecto hipoglucemiante de *Opuntia* spp. tanto en animales como en humanos. Trejo-González *et al.* (1996) demostraron en su estudio con animales la capacidad de los extractos de *O. fuliginosa* para regular los niveles de glucosa, 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 séptima 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.

Por otro lado, 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).

Otro de los compuestos considerados de carácter funcional es la fibra y según su solubilidad en agua, se clasifica en soluble e insoluble; la primera la conforman mucílagos, gomas, pectinas y hemicelulosas, y la insoluble está 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 El Kossori *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 DM2 (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 *et al.*, 2003).

En la búsqueda de metabolitos secundarios El Kossori *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 hidroperoxidada. 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, isorhamnetina-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).

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 *et al.*, 2006).

2.8 Bibliografía citada

Abdel-Hameed, El-S. S., M. Nagaty, M. S. Salman and S. A. Bazaid. Phytochemicals, nutritional and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus indica* Mill.) growing in Taif, KSA. 2014. Food Chem. 160: 31-38.

Andrade-Cetto, A. and H. Wiedenfeld. 2011. Anti-hyperglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lem. J. Ethnopharmacol. 133: 940-943.

Arias, S., S. Gama y U. Guzmán-Cruz. 1997. "Cactaceae". Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fasículo 14. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 147 pp.

Avello, M., y M. Suwalsky. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea. 494(2): 161-172.

Barbera, G., F. Carimi., P. Inglese, and M. Panno. 1992. Past and present role of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., Cactaceae) in the agriculture of Sicily. Economic Botany 46(1): 10-20.

Block, G., B. Patterson and A. Subar. 1992. Fruit, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. Nutrition and Cancer 18: 1-29.

Boletín de práctica médica efectiva. 2006. Diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Instituto Nacional de Salud Pública. Secretaría de salud.

- Bouayed, J. and T. Bohn. 2010. Exogenous antioxidants-Double-edged swords in cellular redox state Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid Med Cell Longev.* 3:4, 228-237.
- Bravo-Hollis, H. y H. Sánchez-Mejorada R. 1991. Las cactáceas de México, Volumen 1. Universidad Nacional Autónoma de México. 743 p.
- Bravo-Hollis, H. y L. Scheinvar. 1995. El interesante mundo de les Cactáceas, México: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Fondo de Cultura Económica. 233 p.
- 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.
- Chandallia, M., A. Garg, D. Lujohann, K. von Bergmann, S. M. Grundy and L. J. Berkley. 2000. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1392-1298.
- Christensen, A. S, L. Viggers, K. Hasselström and S. Gregersen. 2013. Effect of fruit restriction on glycemic control in patients with type 2 diabetes-a randomized trial. *Nut. J.* 12:29.
- Conget, I. 2002. Diagnóstico, clasificación y patogenia de la diabetes mellitus. *Rev Esp Cardiol.* 55(5): 528-35.
- El Kossori, R.L., C. Villaume, E. El Boustani, Y. Sauvaire and L. Méjean. 1998. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.). *Plant Foods Hum. Nutr.* 52 (3): 263-270.

- El-Samahy, S. K., E. A. Abd El-Hady, R. A. Habiba and T. E. Moussa. 2006. Chemical and Rheological Characteristics of Orange-Yellow Cactus-Pear Pulp from Egypt. *J PACD* 8: 39-51.
- Elejalde, G. J. I. 2001. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An Med Int.* 18(6): 326-335.
- Esquivel, P. 2004. Los frutos de las cactaceas y su potencial como materia prima. *Agronomia Mesoamericana* 15(2): 215-219.
- 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.* 1(11): 2574-89.
- Flores, C. 1995. Nopalitos production, processing and marketing. In, *Agroecology, cultivation and uses of cactus pear*, FAO 132: 92-99.
- Frati-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.
- 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.
- 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.
- Gengatharan, A., G. Dykes A. and W. S. Choo. 2015. Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. *LWT-Food Sci. Tech.* 64: 645-649.
- Gülçin, I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch. Toxicol.* 86: 354-319.

- Hansberg, W. 2002. Biología de las especies de oxígeno reactivas. Mensaje Bioquímico 26: 19-54.
- Hernando, R. 2011. Etiología y fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. Trabajo de Revisión. Rev Mex Cardiol. 22(1): 39-43.
- Huang, D., B. Ou and R. L. Prior. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. J Agric Food Chem. 53: 1841-1856.
- Iglesias, G.R., L. Barutell R., S. Artola M. y R. Serrano M. 2014. Resumen de las recomendaciones de la American Diabetes Association (ADA) 2014 para la práctica clínica en el manejo de la diabetes mellitus. Diabetes Práctica 5 (Supl 2): 1-24.
- Inglese, P. and G. Barbera, T. La Mantia. 1995. Research strategies for the improvement of cactuspear (*Opuntia ficus-indica*) fruit quality and production. J. Arid Environ. 29 (4): 455-468.
- Juránek, I., D. Nikitovic, D. Kouretas, A. W. Hayes and A. M. Tsatsakis. 2013. Biological importance of reactive oxygen species in relation to difficulties of treating pathologies involving oxidative stress by exogenous antioxidants. Food Chem Toxicol. 61: 240-247.
- Khan, M.I. and Giridhar P. 2015. Plant betalains: Chemistry and biochemistry. Phytochem. 117: 267-295.
- Kinsella, J., E. Frankel, B. German and J. Kanner. 1993. Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. Food Tech. 47(4): 85.
- Konigsberg, F. M. 2008. Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas. Manual Moderno. México. 623 p.
- Kwak, No-S. and D. J. Jukes. 2001. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. Food Control 12(2): 99-107.

- Limón-Pacheco, J. and M. E. Gonsebatt. 2009. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res.* 674: 137-147.
- Maglorie, F., P. Konarski, D. Zou, F. Concard and Ch. Zou. 2006. Nutritional and medicinal use of cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front Biosc.* 11: 2574-2589.
- Márquez-Berber, S. R., C. Torcuato-Calderón, G. Almaguer-Vargas, M. T. Colinas-León, y A. Khalil Gardezi. 2012. El sistema productivo del nopal tunero (*Opuntia albicarpa* y *O. megacantha*) en Axapusco, Estado de México: Problemática y alternativas. *Revista Chapingo. Serie Horticultura* 18(1): 81-93.
- Martínez-Navarrete, N., M. M. Camacho V. y J. J. Martínez L. 2008. Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética* 12(2): 64-68.
- Mayor-Oxilia, R. 2010. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Rev. Inst. Med. Trop.* 5(2): 23-29.
- Norma Oficial Mexicana, NOM-015-SSA2-2010. Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. *Diario Oficial de la Federación* 2010.
- OMS/WHO (World Health Organisation). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO Technical Report, Series 797, Ginebra, 1990.
- Paiz, R.; B.I. Juárez F., J. R. Aguirre R., N. C. Cárdenas O., J. A. Reyes A., E. García C. and G. Álvarez. 2010. Glucose-lowering effect of xoconostle (*Opuntia joconostle* A. Web., Cactaceae) in diabetic rats. *J Med Plants Res.* 4(22): 2326-2333.
- Palma, G., J. L. 2007. La diabetes mellitus entendida como una enfermedad cardiovascular de origen metabólico. *Rev Esp Cardiol Supl.* 7(Supl. H): 12-19.
- Pérez-Gastell, P. y J. L. Pérez. 2000. Métodos para medir el daño oxidativo. *Rev. Cub. Med. Mil.* 29(3): 192-198.

- Piga, A. 2004. Cactus Pear: A Fruit of Nutraceutical and Functional Importance. J. PACD. 6: 9-22.
- Pimienta, B., E. 1990. El Nopal Tunero. Serie libros tiempos de ciencia, Universidad de Guadalajara. Guadalajara Jal.
- Pimienta-Barrios, E. and R. S. Nobel. 1994. Pitaya (*Stenocereus* spp., Cactaceae): An ancient and modern fruit crop of Mexico. Economic Botany 48: 76-83.
- Quintanar, E., M. A. y J. V. Calderón-Salinas. 2009. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. Rev Ed Bioquím. 28(3): 89-101.
- Rafter, J. 2002. Scientific basis of biomarkers and benefits of functional foods for reduction of disease risk: cancer. Brit. J. Nut. 88(2): 219-24.
- Reinhardt-Kapsak, W., E. Rahavi, N. Child and C. Whit. 2011. Functional foods: consumer attitudes, perceptions, and behaviors in a growing market. American Dietetic Association 111(6): 804-810.
- Repo de Carrasco, R. y C. R. Encina Z. 2008. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Rev Soc Quím. Perú 74(2): 108-124.
- Rice-Evans, C., N. Miller and G. Paganga. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci. 2: 152-159.
- 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.
- Sáenz, C. 1996. Foods products from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). Food Chain. 18: 10-11.

- Sawaya, W.N., H.A. Khatchadourian, W.M. Safi and H.M. Al-Huhammad. 1983. Chemical characterization of prickly pear pulp, *Opuntia ficus-indica*, and the manufacturing of prickly pear jam. J. Fd. Technol. 18: 183-193.
- Shaw, J. E., R. A. Sicree and P. Z. Zimmet Z. 2010. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diab. Res. Clin. Pract. 87(1): 4–14.
- Sies, H. 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Exp. Physiol. 82(2): 291-295.
- Silveira, M., S. Monereo y B. B. Molina. 2003. Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿Cerca o lejos? Rev. Esp. Salud Pú. 77(3): 317-331.
- Siti, H.N. Y. Kamisah and J. Kamsiah. 2015. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). Vascul. pharmacol. 71: 40-56.
- Stark, 1994. Health functionality of food components. In I. Goldberg, Functional foods-designer foods, pharmafoods, nutraceuticals.. New York: Chapman & Hall. 183-449 pp.
- Steinmetz, K. A. y J.D. Potter. 1991. Vegetables, fruits and cancer. I. Mechanisms. Cancer Causes Control 2: 427-442.
- 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., A. Schieber and R. Carle. 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. European Food Research and Technology 212(4): 396-407.

- Stintzing, F.C. and R. Carle. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, Elsevier 15: 19-38.
- Sumaya-Martínez, M. T., T. Suárez-Diéguez, N. d. S. Cruz-Cansino, E. Alanis-García y J. G. Sampedro. 2010. Innovación de productos de alto valor agregado a partir de la tuna mexicana. *Rev. Mex. Agronegocios* 27: 435-441.
- Trejo-González, 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.
- Valco, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M.T. Cronin, M. Mazur and J. Telser. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Intern. J. Biochem. Cell Biol.* 39: 44-84.
- Valencia, S., K., J. J. Brambila-Paz y J. S. Mora-Flores. 2010. Evaluación del nopal verdura como alimento funcional mediante opciones reales. *Agrociencia* 44: 955-963.

3.- Evaluación de azúcares y fibra soluble en el jugo de variantes de tuna

(*Opuntia* spp.)

Gabriela **Zenteno-Ramírez**¹, B. Irene **Juárez-Flores**^{1*}, J. Rogelio **Aguirre-Rivera**¹, M. Deogracias **Ortiz-Pérez**²,

Cynthia **Zamora-Pedraza**¹, J. Antonio **Rendón-Huerta**³

¹Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Altair 200, Colonia Del Llano, 78377 San Luis Potosí, San Luis Potosí. (berthajf@uaslp.mx)

²Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Avenida Venustiano Carranza 2045, 78210. San Luis Potosí, San Luis Potosí. ³Coordinación Académica Región Altiplano Oeste, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Avenida Insurgentes esquina Himno Nacional S/N, 78600. Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí.

* Autor responsable.

3.1 Resumen

La tuna (*Opuntia* spp.) puede ser blanca, púrpura, roja, anaranjada o amarilla, con diferencias físicas y químicas. El objetivo fue identificar y cuantificar los azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) y la fibra soluble (mucílago y pectina) del jugo de tunas maduras cultivadas y silvestres. Las variantes cultivadas fueron: Rojo pelón (*O. ficus-indica*), Blanca o Cristalina (*O. albicarpa*), Amarilla Monteza, Pico chulo, Torreoja y Sangre de toro (*O. megacantha*); las variantes silvestres fueron: Cardona (*O. streptacantha*), Charola (*O. streptacantha* spp. *aguirrana*), Tapona y Tapón rojo (*O. robusta*). El diseño experimental fue completamente al azar, con tres repeticiones. Los resultados se analizaron mediante ANOVA y comparación múltiple de promedios de Tukey. Se encontraron diferencias ($p < 0.0001$) en concentración de azúcares totales (109.10 a 151.33 mg mL⁻¹ de jugo), la glucosa predominó (95.75 mg mL⁻¹ de jugo), seguida de la fructosa (63.90 mg mL⁻¹ de jugo) y sólo en algunas variantes la sacarosa presentó cantidades mínimas. El mucílago predominó sobre la pectina. Tapón rojo presentó los valores más altos de azúcares totales y fibra soluble. Existen diferencias claras en azúcares y fibras solubles entre las variantes estudiadas. La concentración de azúcares no mostró relación directa con el grado de domesticación.

Palabras clave: *Opuntia* spp., azúcares, mucílago, pectina, alimento funcional.

3.2 Introducción

El género *Opuntia* está conformado por más que 189 especies silvestres, de las cuales 83 son mexicanas; de ellas, 29 se distribuyen en la Altiplanicie Meridional ubicada en el centro-norte de México, en una superficie de aproximadamente 300,000 km², la cual comprende parte de los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Querétaro, San Luis Potosí, Zacatecas y el Distrito Federal (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Además de las variantes 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 de plantaciones comerciales (Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

De acuerdo con Reyes-Agüero *et al.* (2005), el gradiente de domesticación del género *Opuntia* inicia con variantes cultivadas de *O. streptacantha*, continúa con *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. albicarpa*, y concluye con *O. ficus-indica*, la especie reconocida con el mayor grado de domesticación. Las tunas se consumen principalmente como fruta fresca y dependiendo de la variante, presentan características distintas como: forma, tamaño y color, así como abundancia, tamaño y dureza de sus semillas; además, algunas investigaciones señalan concentraciones diferentes de componentes nutricionales (Reyes-Agüero *et al.*, 2005; López-Palacios *et al.*, 2012; Yeddes *et al.*, 2014). Según Sawaya *et al.* (1983), los azúcares presentes en la pulpa de la tuna de *O. ficus-indica* son glucosa y fructuosa en relación 6:4.

Sin embargo, se desconoce la composición de azúcares del fruto de otras especies y variantes de *Opuntia* y por lo tanto qué tan diferente puede ser. Es importante conocer cuáles

monosacáridos están presentes en el jugo de tuna y en qué proporción, ya que según estudios recientes la dieta muy alta en fructosa puede contribuir a la presencia de alteraciones metabólicas que resultan en ganancia de peso, diabetes mellitus tipo 2 (DM), hiperlipidemia e hiperuricemia, reducción de la sensibilidad a la insulina y resistencia hepática con intolerancia a la glucosa (Pérez *et al.*, 2007; Basciano *et al.*, 2005; Gross *et al.*, 2004). Así, para pacientes con DM, la Asociación Europea para el estudio de la Diabetes (EASD) y la Asociación Americana de Diabetes (ADA), recomiendan un consumo de fructosa menor que 10% de la ingesta energética. Y aunque en estos pacientes, consumos tan altos como 60 g de fructosa no tienen efectos adversos en la respuesta glucémica, sí pueden presentar un incremento en los niveles de triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Havel, 2005; Laughlin, 2014).

Los frutos y cladodios de nopal son fuente de fibra soluble (mucílago y pectina), pigmentos (betalaínas y carotenoides), Ca, Mg, K, fenoles y vitamina C; esto es, compuestos muy apreciados para una dieta saludable, como ingredientes para diseñar nuevos alimentos por sus propiedades nutraceuticas, y como una alternativa en medicina tradicional (Gurrieri *et al.*, 2000; Sáenz, 2006). Así, la tuna es un recurso interesante, pues su pulpa es rica en glucosa, fructosa y pectina, la cáscara contiene celulosa, calcio y potasio, y las semillas contienen celulosa, proteínas y lípidos de buena calidad (El Kossori *et al.*, 1998). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar y cuantificar los azúcares simples, el mucílago y la pectina del jugo de tuna de 10 variantes destacadas del género *Opuntia* spp., de la Altiplanicie Meridional, bajo el supuesto de homogeneidad en composición, para fundamentar su promoción como alimento funcional.

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Elección de las variantes y preparación de las muestras

Se evaluaron diez variantes de las cuales seis son cultivadas: Rojo pelón o Liso forrajero (*Opuntia ficus-indica*), Blanca o Cristalina (*O. albicarpa*), Amarilla Monteza, Pico chulo, Torreoja y Sangre de toro (*O. megacantha*) y cuatro silvestres: Cardona (*O. streptacantha*), Charola (*O. streptacantha* spp. *aguirrana*), Tapona y Tapón rojo (*O. robusta*). Todas las tunas se recolectaron en el municipio de Villa de Arriaga, localizado en la región del altiplano del estado de San Luis Potosí, México. La elección de las variantes de *Opuntia* se basó en tres aspectos: a) grado de domesticación, b) abundancia y potencial económico del fruto en el estado de San Luis Potosí, y c) colores de la tuna. A las tunas en maduración plena se les eliminaron las espinas (gloquidios o “ahuates”) y la cáscara; posteriormente se extrajeron los jugos con ayuda de una licuadora de acero inoxidable (Internacional LI-12-106), y las semillas se separaron por medio de un filtro convencional; el jugo se almacenó en tubos cónicos estériles de 15 mL, a -20°C hasta su uso. Otra fracción del jugo obtenido de cada variante se deshidrató en un liofilizador (Freezer dryers Ilshin) a una temperatura de operación de -50°C. A cada jugo se le determinó el color, °Brix, pH, contenido de materia seca y su contenido en pulpa (Cuadro 3.4).

3.3.2 Cuantificación de azúcares

Los azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) se cuantificaron mediante cromatografía líquida de alta resolución, en un cromatógrafo Agilent HP serie 1100 (Waldbronn, Alemania); en fase reversa, se utilizó una columna no polar Zorbax C8 específica para carbohidratos (4.6 mm i.d. x 250 mm x 5 µm de tamaño de partícula), y acetonitrilo: agua 75:25 (v:v) como fase móvil polar (Michel-Cuello *et al.*, 2008). La identificación y cuantificación de los azúcares presentes

en los jugos se realizó comparando los tiempos de retención con los obtenidos por los estándares de referencia (Sigma, St. Louis Mo).

Cuadro 3.4 Características generales de los jugos de tuna evaluados.

Especie	Variante	Color	°Brix	pH	MS (%)	mL de jugo g ⁻¹ de pulpa
<i>O. ficus-indica</i>	Rojo pelón	Rojo	13.53	6.23	12.97	0.82
<i>O. albicarpa</i>	Blanca	Verde	13.83	6.33	12.87	0.74
<i>O. megacantha</i>	Amarilla	Anaranjado	13.83	6.30	12.00	0.73
	Monteza					
	Pico chulo	Rojo	13.43	6.33	12.52	0.69
	Torreaja	Rojo	13.83	6.10	14.93	0.69
	Sangre de toro	Rojo	11.93	6.33	13.35	0.85
<i>O. streptacantha</i>	Cardona	Rojo	14.07	5.90	14.06	0.82
<i>O. streptacantha</i>	Charola	Rojo	13.17	5.77	12.78	0.86
spp. <i>aguirrana</i>						
<i>O. robusta</i>	Tapona	Rojo	13.40	5.70	12.27	0.76
		púrpura				
	Tapón rojo	Rojo	13.83	5.73	13.00	0.76
		púrpura				

MS: Materia seca

Se construyó una curva de calibración lineal con 10, 20, 30, 40 y 50 mg mL⁻¹ de glucosa, fructosa y xilosa, y para sacarosa las concentraciones usadas fueron 1, 2, 4, 6, 8 y 1 mg mL⁻¹.

Las muestras se pasaron a través de filtros de nylon de 0.45 μm de diámetro y se aforaron a 500 μL con una solución 50:50 de acetronitrilo: agua (Michel-Cuello *et al.*, 2008). Para la validación del método se elaboró por triplicado una curva de calibración lineal con 10, 20, 30, 40, y 50 mg mL^{-1} de estándares de xilosa, fructosa, glucosa y sacarosa (Sigma, St. Louis Mo). La correlación entre ambos tipos de resultados fue de 0.999 y el coeficiente de variación fue $\leq 3\%$. Para verificar la recuperación se utilizó xilosa, con resultando mayor que 95%.

Las muestras de jugo se descongelaron y se homogeneizaron; se tomaron 500 μL de jugo y se adicionaron 500 μL de xilosa al 4%, con lo que quedó una mezcla al 50%, la cual se filtró a través de una membrana de nylon de 0.45 μm , y de ella se inyectaron 20 μL al cromatógrafo bajo las condiciones antes mencionadas. La identificación de los azúcares se realizó con base en los tiempos de retención registrados por los estándares de referencia.

3.3.3 Cuantificación de mucílago

La extracción de mucílago se basó en el protocolo desarrollado por Peña y Sánchez (2006) y utilizado por Álvarez y Peña-Valdivia (2009) y por López-Palacios *et al.* (2012), con algunas modificaciones para validar su extracción y cuantificación en el jugo de tuna. Los valores de la validación se aceptaron al obtenerse un coeficiente de variación de 2.61% y una precisión y exactitud de $\leq 3.0\%$ del coeficiente de variación.

El procedimiento de extracción y cuantificación se llevó a cabo en las muestras liofilizadas de los jugos, de las cuales se tomaron 0.5g, se les agregaron 5 mL de agua destilada, se calentaron en baño María a 92°C durante 15 min y se centrifugaron a 4500 rpm durante 30 min a 25°C; enseguida se les eliminó el sobrenadante y nuevamente se les agregaron 2.5 mL de agua caliente y se centrifugaron a 4500 rpm durante 15 min a 25°C, y se les retiró el

sobrenadante. Por cada parte de extracto precipitado se adicionaron cuatro partes de etanol acidificado con HCl al 0.1% a un pH de 4.8 y se dejaron reposar en refrigeración a 8°C durante 24 h; luego, se centrifugaron una vez más a 4500 rpm durante 15 min a 25°C, y se les quitó el sobrenadante. Para eliminar los residuos de etanol las muestras se deshidrataron en un horno de convección a 85°C ± 2°C durante 6.5 horas; finalmente, se mantuvieron en las mismas condiciones hasta peso constante y el residuo obtenido se cuantificó como porcentaje de mucílago por gramo de materia seca (P), de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$P = \frac{M_1 - M_0}{M} \times 100$$

Dónde:

P= Porcentaje de mucílago por gramo de materia seca

M₀= peso en gramos del tubo vacío

M₁= Peso en gramos del tubo con liofilizado

M= Peso en gramos de la muestra de jugo liofilizado de tuna

3.3.4 Cuantificación de pectina

La extracción y cuantificación de pectina se basó en la técnica gravimétrica descrita en la norma mexicana respectiva (DGN, 1980), con algunas modificaciones y previa validación del

método. Para establecer el porcentaje de recuperación se añadieron a cada muestra 250 mg de pectina de manzana (Sigma, St. Louis Mo). Se obtuvo un coeficiente de variación de 1.1% y 83% de recuperación.

3.3.5 Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue con asignación de tratamientos completamente al azar, con tres repeticiones. La unidad experimental fue una muestra de jugo de cada una de las 10 variantes de tuna evaluadas (10 tratamientos), y las variables estimadas fueron los contenidos de glucosa, fructosa, sacarosa y la suma de ellos considerada como azúcares totales, más los de mucílago y pectina. Los resultados se analizaron estadísticamente mediante ANOVA de una vía seguido de una comparación múltiple de promedios de Tukey. Se usó el paquete estadístico SAS V.9 (SAS Institute, 2002). Se consideró una $p \leq 0.05$ como el nivel de significación estadística.

3.4 Resultados y discusión

3.4.1 Cuantificación de azúcares

La glucosa fue el azúcar predominante en todas las variantes estudiadas y la sacarosa estuvo presente sólo en algunas variantes y en cantidades mínimas. Con respecto a la fructosa, las variantes con mayor contenido fueron Blanca (cultivada) y Tapón rojo (silvestre), y la que presentó la menor concentración de este azúcar fue Rojo pelón (cultivada; Cuadro 3.5).

La concentración mínima o ausencia de sacarosa se puede deber a la maduración plena en que se encontraban los frutos. Con base en el análisis estadístico, el grado de domesticación careció de relación con la concentración de azúcares; así, se observó que las tunas que contienen la mayor concentración de azúcares totales fueron Blanca (cultivada) y Tapón rojo

(silvestre). La misma falta de relación sucedió en las tunas con la menor cantidad de azúcares totales, pues al respecto se equiparan Rojo pelón, la más domesticada y una de las de mayor consumo, con Tapona (silvestre) la menos domesticada y poco consumida.

Cuadro 3.5 Contenido de azúcares (%)⁴ en el jugo de tunas de *Opuntia* spp.

Especie	Variante	Glucosa	Fructosa	Sacarosa	Azúcares totales
<i>O. ficus-indica</i>	Rojo pelón	8.00 ^{cde}	3.62 ^d	0.02 ^{bc}	11.64 ^{de}
<i>O. albicarpa</i>	Blanca	8.14 ^{cd}	6.39 ^a	0.01 ^{bc}	14.55 ^a
<i>O. megacantha</i>	Amarilla	6.84 ^h	5.06 ^b	0.00 ^c	11.91 ^d
	Monteza				
	Pico chulo	7.41 ^{fg}	4.46 ^c	0.00 ^c	11.88 ^d
	Torreaja	8.46 ^{bc}	4.98 ^b	0.033 ^{ab}	13.46 ^b
	Sangre de toro	7.51 ^{efg}	5.19 ^b	0.00 ^c	12.71 ^c
<i>O. streptacantha</i>	Cardona	9.57 ^a	5.11 ^b	0.033 ^{ab}	14.72 ^a
<i>O. streptacantha</i> spp. <i>aguirrana</i>	Charola	7.92 ^{def}	4.87 ^b	0.00 ^c	12.81 ^{bc}
<i>O. robusta</i>	Tapona	7.23 ^{gh}	3.64 ^d	0.03 ^{ab}	10.91 ^e
	Tapón rojo	8.77 ^b	6.30 ^a	0.05 ^a	15.13 ^a
		< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Promedio general		7.98	4.96	0.019	12.97
(%)		(6.15)	(3.82)	(0.015)	(10.00)

Las variantes se encuentran ordenadas de mayor a menor grado de domesticación. Media n=3. Tratamientos con distinta letra en una columna, son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

⁴Estas cantidades multiplicadas por diez equivalen a mg mL^{-1} .

Kuti y Galloway (1994), estudiaron los frutos amarillos, rojos y púrpuras de *O. megacantha* y *O. robusta*, y El Kossori *et al.* (1998) describieron la composición química de *O. ficus indica*; ambos estudios revelaron que los azúcares presentes en las tunas son la glucosa, la fructosa y en menor proporción la sacarosa, y que la concentración de estos azúcares depende de la variante, lo cual coincide con los resultados de la presente investigación. En este estudio además se incluyeron otras variantes y el contenido de azúcares totales de *O. albicarpa* (Blanca) fue estadísticamente similar al encontrado en el jugo de los frutos de *O. robusta* y de *O. streptacantha*. Por otro lado, Gurrieri *et al.* (2000) encontraron en tunas de *O. ficus-indica* provenientes de Sicilia (Italia), los mismos azúcares y en concentraciones similares a los presentados en este trabajo.

Por razones de salud, es importante definir el tamaño de la porción a consumir, de acuerdo con la cantidad de azúcar recomendable; así, el consumo de azúcares debe aportar menos que 10% del valor calórico de la dieta (Gómez y Palma, 2013). De acuerdo con la concentración media de glucosa en los jugos estudiados, una porción de 240 mL contiene sólo 10% de la glucosa recomendada para consumo diario (200 g).

La fructosa se encontró en cantidades menores que 64 mg mL^{-1} de jugo, tanto en variantes cultivadas como silvestres, y con diferencias significativas entre variantes. Su acceso a la célula es directo, a diferencia de la glucosa que requiere de un transportador. En promedio,

una porción de 240 mL de jugo de tuna aporta 12 g o 202.8 kJ (48 kcal) de fructosa, cantidad menor que la recomendada para una dieta de 2500 kcal (10460 kJ), de las cuales 11 a 12% (275-300 kcal), 1151.37 kJ a 1256.04 kJ, pueden provenir de este azúcar (FAO, 2009). En efecto, cuatro porciones durante el día de jugo de tuna, esto es, 48 g de fructosa u 803 kJ (192 kcal) corresponderían sólo a 7.68% de la energía recomendada. Esto es importante ya que el consumo de fructosa en cantidades que aportan 25% o más de la energía recomendada puede ocasionar desórdenes en el metabolismo de los lípidos y en la función gastrointestinal (Basciano *et al.*, 2005; Havel, 2005). Basciano *et al.* (2005) indican que una persona puede consumir de 16 a 20 g de fructosa por día, proveniente de frutas frescas, sin efectos indeseables.

Diversos autores concuerdan que el consumo de cantidades pequeñas o moderadas de fructosa (0.6 g kg^{-1}) parece no tener impacto en el control glucémico del paciente con DM tipo 2 (Basciano *et al.*, 2005; Hawkins *et al.*, 2002; Gannon *et al.*, 1998). En efecto, en sujetos con DM tipo 2 a quienes se les administraron 60 g d^{-1} de fructosa, después de 12 semanas no se encontraron cambios en los niveles de triglicéridos totales, LDL, colesterol o lipoproteínas de alta densidad (HDL) en ayuno (Havel, 2005). Así, es posible suponer, con base en la concentración de fructosa encontrada en las variantes de tuna estudiadas, que el consumo de hasta cuatro porciones de 240 mL de sus jugos no provocará alteraciones indeseables en el metabolismo energético, ni aun con el jugo de las variedades Blanca y Tapón rojo que presentaron la mayor cantidad de fructosa.

En los jugos estudiados, la sacarosa fue el azúcar con menor concentración o ausente en algunas variantes; se sabe que durante la maduración el etileno induce que se produzcan

hidrolasas, como la invertasa, las cuales fragmentan este disacárido (Kuti y Galloway, 1994; Gurrieri *et al.*, 2000; Prasanna *et al.*, 2007).

La glucosa en las tunas representa una fuente de energía directamente disponible para las células del cerebro y de los nervios, mientras que la fructosa destaca por ser más dulce y mejorar el sabor de la fruta (Sarbojeet, 2012). El contenido de azúcares solubles variados de la tuna se ajusta a lo recomendado por la WHO (2003), y puede incluirse en la alimentación cotidiana (hasta cuatro porciones diarias) sin riesgo para el consumidor, en concordancia con lo reconocido para el consumo tradicional de tuna fresca.

Los resultados presentados (Cuadro 3.5) concuerdan en general con los antecedentes (Sawaya *et al.*, 1983; Sepúlveda y Sáenz, 1990; Odoux y Dominguez-Lopez, 1996) para las variantes estudiadas. El contenido total de azúcares de los jugos de tuna (12.97%) es similar o mayor que el de otros jugos de fruta, como piña (12.30%), manzana (11.10%), pera (9.80%), melocotón (8.50%), ciruela (7.80%), naranja (7.00%), albaricoque (6.10%), fresa (5.70%) y frambuesa (4.50%) (Belitz y Grosch, 1999; Cappelli y Vannucchi, 1990). Así, de acuerdo con El Kossori *et al.* (1998), su consumo debería fomentarse por su valor nutricional.

3.4.2 Fibra soluble

Los jugos de tuna estudiados se caracterizaron por contener concentraciones de fibra soluble estadísticamente diferentes entre variantes, y por el predominio del mucílago en todas ellas. Este tipo de fibra tiende a formar un retículo en presencia de agua, en el cual queda atrapada y produce soluciones de gran viscosidad (Dikeman y Fahey 2006). La ADA recomienda un consumo de fibra, tanto soluble como insoluble, entre 20 y 35 g al día para mantener un mejor control glucémico e insulínico (Escudero y González 2006). Con base en el promedio general

de la concentración de fibra soluble, el consumo de cuatro porciones diarias de 240 mL de jugo de tuna aporta 10.0 g de fibra, lo cual puede favorecer la función intestinal, reducir la absorción de carbohidratos y mejorar su metabolismo (Würsch y Pi-Sunyer, 1997).

Con base en el análisis estadístico, se puede afirmar que el grado de domesticación carece de relación directa con la concentración de fibra soluble. Sin embargo, cabe destacar que variantes de la misma especie silvestre presentaron concentraciones similares de mucílago y pectina, contrario a lo que se observó entre variantes cultivadas de la misma especie (3.6).

Cuadro 3.6 Contenido medio de fibra soluble (g por100g de peso seco) en el jugo de tunas de *Opuntia* spp. Las variantes se encuentran ordenadas de mayor a menor grado de domesticación.

Especie	Variante	Mucílago	Pectina	Fibra soluble total
<i>O. ficus-indica</i>	Rojo pelón	4.16 ^c	2.18a ^b	6.34 ^f
<i>O. albicarpa</i>	Blanca	7.50 ^b	1.69 ^b	9.19 ^{bc}
<i>O. megacantha</i>	Amarilla Monteza	4.48 ^{de}	1.98 ^b	6.46 ^{ef}
	Pico chulo	6.81 ^{bc}	1.69 ^b	8.50 ^c
	Torreoja	7.05 ^{bc}	2.79 ^a	9.84 ^{ab}
	Sangre de toro	6.43 ^c	0.87 ^c	7.30 ^d
<i>O. streptacantha</i>	Cardona	7.40 ^b	1.72 ^b	9.12 ^c
<i>O. streptacantha</i> spp. <i>aguirrana</i>	Charola	8.47 ^a	1.57 ^b	10.04 ^a
<i>O. robusta</i>	Tapona	5.33 ^d	1.76 ^b	7.09 ^{de}

	Tapón Rojo	5.36 ^d	1.59 ^b	6.95 ^{de}
Valor de <i>P</i>		< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Promedio general		6.30	1.78	8.01
(%)		(78.65)	(22.22)	(100.87)

Media n=3. Tratamientos con diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

La variante con mayor grado de domesticación (Rojo pelón) presentó el contenido más bajo de fibra soluble, y la variante silvestre Charola el valor más alto; sin embargo, la variación general al respecto careció de tendencias claras.

El contenido de mucílago entre variantes presentó diferencias significativas, con una amplitud de 4.1 a 8.4 g por cada 100g de peso seco, pero sin tendencia clara de estar relacionado con el grado de domesticación; así, la variante Blanca (cultivada) y Cardona (silvestre) presentaron valores similares (7.5 y 7.4 g por 100g de peso seco, respectivamente). Cabe destacar que la variante silvestre Charola presentó la concentración más alta de mucílago (8.47 g por 100g de peso seco), esto es el doble que Rojo pelón, perteneciente a la especie más domesticada (*O. ficus-indica*) (4.16 g por 100g de peso seco).

Las variantes silvestres Charola y Cardona (*O. streptacantha*) son las que se usan tradicionalmente para elaborar el llamado queso de tuna (dulce compacto hecho con el jugo de tuna concentrado), para lo cual parece favorable su elevado contenido de fibra soluble (López *et al.*, 1997). Las variantes Amarilla Monteza y Rojo pelón presentaron los contenidos más bajos de mucílago (4.4 y 4.1 g por 100g de peso seco, respectivamente) lo cual puede estar inversamente relacionado con la selección que ha ejercido su preferencia para consumirse en

fresco, como fruta succulenta y de gran tamaño, a diferencia de los frutos pequeños y con gran cantidad de semillas característicos de las variantes silvestres de *O. streptacantha* (Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

Las concentraciones de pectina, otra de las fibras solubles importantes para el funcionamiento adecuado del intestino humano, variaron desde 0.87 a 2.79 g por cada 100g de peso seco, y notablemente ambos valores extremos correspondieron a dos variantes de *O. megacantha*. En las variantes silvestres el contenido de pectina fue estadísticamente similar, con menor variabilidad que en las cultivadas. Lira-Ortiz *et al.* (2014), encontraron en frutos de *O. albicarpa* concentraciones de pectina de 5 a 20 g por kg de peso seco, lo cual coincide con lo encontrado en la presente investigación en la misma especie.

El contenido alto de mucílago en las frutas es muy apreciado por los nutriólogos ya que está comprobado que este tipo de fibra soluble ayuda a reducir los niveles de glucosa y de triglicéridos en la sangre, por su propiedad de interferir su digestión y absorción. Además, la fibra soluble favorece el desarrollo de bacterias deseables del colon, las cuales la fermentan y producen ácidos grasos de cadena corta (AGCC), que son la fuente energética esencial para las células del colon, y favorecen la absorción de calcio, magnesio, zinc, sodio y agua (Duggan *et al.*, 2002; Roberfroid, 2000). Por estos efectos la fibra soluble es útil para prevenir y tratar las enfermedades del colon (Galas *et al.*, 2013). También, a la fibra soluble se le atribuye un efecto hipocolesterolemiantes gracias a su viscosidad, ya que dificulta la absorción del colesterol; a la vez que, tras ser absorbidos, el hígado capta algunos AGCC como el propionato, generados por la fermentación de la fibra, los cuales disminuyen las enzimas implicadas en la síntesis del colesterol (Slavin, 2013). La viscosidad es la responsable de sus

acciones benéficas de la fibra soluble sobre el metabolismo de los lípidos y carbohidratos, y en parte de su potencial anticancerígeno (Escudero y González, 2006).

El-Sayed *et al.* (2014) concluyeron que el potencial alimentario de la tuna es alto, pues además de su alto contenido en fibra y polifenoles, contiene las proporciones adecuadas de azúcares simples por lo que puede sugerirse como alimento funcional. Además, existen evidencias de que su consumo reduce los niveles de azúcar y colesterol en la sangre (Stintzing *et al.*, 2001).

Las características naturales principales de la tuna que han limitado su consumo como fruta de mesa en mercados foráneos son los gloquideos (espinas finas) remanentes de una limpieza limitada por el riesgo de dañar la cáscara, y la presencia abundante de semillas que dificultan su consumo. Con procesos industriales relativamente simples es posible transformar la tuna en un jugo natural envasado que supera fácilmente dichas limitaciones, y que puede resultar comercialmente muy competitivo por sus cualidades nutricionales y funcionales.

3.5 Conclusiones

Hay variabilidad en el contenido de azúcares y fibra soluble entre las variantes estudiadas, que puede ser la base para el diseño de distintos productos que multipliquen el potencial de comercialización del jugo. La concentración de azúcares en las variantes no se relaciona directamente con su grado de domesticación. Al respecto, las diferencias mayores en las variantes cultivadas podrían deberse a la preferencia humana por su sabor o dulzura.

3.6 Agradecimientos

Los autores agradecen a la Fundación Produce, por el financiamiento otorgado para esta investigación. Al Ing. Roberto Garfias Cánovas, presidente del Sistema Producto Nopal de San Luis Potosí, por promover y respaldar este proyecto y por suministrar toda la materia

prima (tunas) requerida. Al CONACyT por las becas otorgadas a G. Zenteno y M. Monrreal. A Ma. del Socorro Jasso Espino, Josefina Acosta y David Isabel Ortiz Mendoza por el apoyo brindado en el laboratorio.

3.7 Literatura citada

- Álvarez, A., R. and C. Peña-Valdivia. 2009. Structural polysaccharides in xoconostle (*Opuntia matudae*) fruits with different ripening stages. J. PACD. 11:26-44.
- Basciano, H., L. Federico, and K. Adeli. 2005. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. Nutr. Metab. 2(1): 1-15.
- Belitz, H. D., and W. Grosch. 1999. Food chemistry. Springer-Verlag. Berlin, Germany. 921 p.
- Cappelli, P., and V. Vannucchi. 1990. Chimica degli alimenti: conservazione e trasformazioni. Zanichelli. Bologna, Italy. 750 p.
- Dikeman, C. L. and G. C. Fahey. 2006. Viscosity as related to dietary fiber: A review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 46(8):649-63.
- Duggan C., J. Gannon, and W. A. Walter. 2002. Protective nutrients and functional foods for the gastrointestinal tract. **Am. J.Clin. Nutr.** 75: 789- 808.
- El Kossori, R. L., C. Villaume, E. El Boustani, Y. Sauvaire, and L.Méjean. 1998. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica*). Plant Foods Hum. Nutr. 52: 263–270.

- El-Sayed, S.A.H., M.A.Nagaty, M.S. Salman, S. A. Bazaid. 2014. Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus indica* Mill.) growing in Taif, KSA. Food.Chem.160: 31-38.
- Escudero, A. E., y P. González S. 2006. La fibra dietética. Nutr. Hosp. 21(Sup 2): 61-72.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2009. Hojas de balance alimentario. Visitado en: <http://faostat.fao.org/site/368/default.aspx#ancor>. Consulta: (7-08-1014)
- Galas, A., M.Augustyniak, and E. Sochacka-Tatara. 2013. Does dietary calcium interact with dietary fiber against colorectal cancer? A case–control study in Central Europe. Nutr. J. 12: 134.
- Gannon, M.C., F.Q.Nutall, S.A. Westphal, S.Fan, and N. Ercan-Fang. 1998. Metabolic response to carbohydrate, high-starch meals compared with moderate carbohydrate low-starch meals in subjects with type 2 diabetes. Diabetes Care. 21: 1619-1626.
- Gómez, C.C., y S. Palma S. 2013. Una visión global, actualizada y crítica del papel del azúcar en nuestra alimentación. Nutr. Hosp. 28(4): 1-4.
- Gross, L.S., L. Li., E. S Ford, and S. Liu. 2004. Increased consumption of refined carbohydrate and the epidemic of type 2 diabetes in the United States: an ecologic assessment. Am. J. Clin. Nutr.19: 774-779.
- Gurrieri, S., L.Miceli, C.M. Lanza, F. Tomaselli, R.P. Bonomo, and E. Rizzarelli. 2000. Chemical characterization of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) and perspectives for the storage of its juice. J. Agric. Food Chem. 48: 5424-5431.

- Havel, P. 2005. Dietary fructose: Implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr. Rev.* 63: 133-157.
- Hawkins, M., I. Gabriely, R. Wozniak, C. Vilcu, H. Shamon, and L. Rossetti. 2002. Fructose improves the ability of hyperglycemia per se to regulate glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes* 51: 606- 614.
- Kuti, J.O., and C. M. Galloway. 1994. Sugar composition and invertase activity in prickly pear fruit. *J Food Sci.* 59(2): 387-388.
- Laughlin, M.R. 2014. Normal roles for dietary fructose in carbohydrate metabolism. *Nutrients* 6: 3117-3129.
- Lira-Ortiz, A.L., F. Reséndiz-Vega, E. Ríos-Leal, J. C. Contreras-Esquivel, N. Chavarría-Hernández, A. Vargas-Torres, and A. I. Rodríguez-Hernández,. 2014. Pectins from waste of prickly pear fruits (*Opuntia albicarpa* Scheinvar 'Reyna'): Chemical and rheological properties. *Food Hydrocolloid.* 37: 93-99.
- López, G., J. J., J. M. Fuentes, R., and A. Rodríguez, G. 1997. Prickly Pear Fruit Industrialization (*Opuntia streptacantha*). *JPACD.* 2: 169-175.
- López-Palacios, C., C. B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero, and A.I. Rodríguez-Hernández. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitas (*Opuntia* spp.). *Genet. Resour. Crop. Evol.* 59(6): 1015-1026.
- Michel-Cuello, C., B. I. Juárez-Flores, J. R. Aguirre-Rivera, J. M. Pinos-Rodríguez. 2008. Quantitative characterization of non-structural carbohydrates of mezcal agave (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick). *J. Agric. Food Chem.* 56: 5753-5757.

- NOM. 1980. NMX-F-347-S-1980 Frutas y derivados. Determinación de pectina. Fruits and derivatives. determination of pectine. Dirección general de normas, Secretaría de Economía. México. 3p.
- Odoux, E., and A. Dominguez-Lopez. 1996. Le figuier de barbarie: une source industrielle de bêtalaines? *Fruits* 51(1): 61-78.
- Peña Valdivia, B. C., and B. A. Sánchez Urdaneta. 2006. Nopalito and cactus pear (*Opuntia* spp.) polysaccharides: mucilage and pectin. *Acta Hort.* 728: 241-248.
- Pérez, C.E., A. E. Serralde Z., y G. Meléndez M. 2007. Efectos benéficos y deletéreos del consumo de fructosa. *Rev. Endocrinol. Nutr.* 15: 67-74.
- Prasanna, V., T.N. Prabha, and R.N. Tharanathan. 2007. Fruit ripening phenomena-an overview. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 47(1): 1-19.
- Reyes-Agüero, J.A., J. R. Aguirre R., y J. L. Flores, F. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la Altiplanicie Meridional de México. *Interciencia* 30(8): 476-484.
- Roberfroid, M. B. 2000. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am. J. Clin. Nutr.* 71: 1660S.
- Sáenz, C. 2006. Utilización agroindustrial del nopal. Boletín de Servicios Agrícolas Núm. 162. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 165 p.

- Sarbojeet, J. 2012. Nutraceutical and functional properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) and its utilization for food applications. *J. Eng. Res. Stud.* 3 (2): 60-66.
- SAS. 2002. User's Guide: Statistics [CD-ROM Computer file]. Version 9. SAS Inst. Inc. Cary, NC USA.
- Sawaya, W. N., H.A. Khatchadourian, W.M.Safi, and H. M. Al-Muhammad. 1983. Chemical characterization of prickly pear pulp, *Opuntia ficus-indica* and the manufacturing of prickly pear jam. *J. Food Tech.*18: 183-193.
- Sepúlveda, E., and C. Sáenz, C. 1990. Chemical and physical characteristics of prickly pear (*Opuntia ficus indica*) pulp. *Rev. Agroquim. Tecnol.* 30: 551–555.
- Slavin, J. 2013. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients* 5: 1417-1435.
- Stintzing, F.C., A. Schieber, and R. Carle. 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *Eur. Food Res. Technol.* 212(4): 396-407.
- WHO. 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Thechnical Report Series 916. World Health Organization, United Nations. Geneva, Switzerland. 160 p.
- Würsch P.1. and F. X. Pi-Sunyer. 1997. The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes. A review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan. *Diabetes Care.* 20(11):1774-80.
- Yeddes, N., J.K.Chérif, S. Guyot, A. Baron, and M. Trabelsi-Ayadi.2014. Phenolic profile of Tunisian *Opuntia ficus indica* thornless form flowers via chromatographic and

spectral analysis by reversed phase-high performance liquid chromatography-UV-
photodiode array and electrospray ionization-mass spectrometer. *Int. J. Food
Prop.*17(4): 741-751.

4.- Antioxidantes en el jugo de 10 variantes de tuna (*Opuntia* spp.) y su capacidad reductora *in vitro*

Gabriela Zenteno-Ramírez¹, Bertha Irene Juárez-Flores^{1*}, J. Rogelio Aguirre-Rivera¹,
Monserrat Monreal-Montes^{1A.}, Julieta Mérida García², María Pérez Serratos², María
Deogracias Ortiz Pérez³, J. Antonio Rendón-Huerta⁴.

¹Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Altair 200, Colonia Del Llano, 78377 San Luis Potosí, San Luis Potosí. (berthajf@uaslp.mx)
² Departamento de Química Agrícola y Edafología, Universidad de Córdoba, España.
³Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Avenida Venustiano Carranza 2045, 78210. San Luis Potosí, San Luis Potosí. ⁴Coordinación Académica Región Altiplano Oeste, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Avenida Insurgentes esquina Himno Nacional S/N, 78600. Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí.

4.1 Resumen

La tuna, fruto del nopal (*Opuntia* spp.), está ampliamente distribuida en la Planicie Meridional donde se pueden identificar variantes con diferente grado de domesticación. Se consumen principalmente como fruta fresca y presentan características distintas como: forma, tamaño y color, sabor y semillas, además se han identificado entre sus componentes metabolitos secundarios como polifenoles, betalaínas y flavonoides. Estos metabolitos son considerados antioxidantes y previenen o controlan la generación excesiva de radicales libres con alta inestabilidad, reactividad y capacidad de alterar las funciones de diferentes biomoléculas, lo cual genera estrés oxidativo. Los antioxidantes modulan funciones terapéuticas en el cuerpo que resultan benéficas para la salud o reducen el riesgo de enfermedad. El objetivo de este trabajo fue caracterizar y cuantificar los metabolitos secundarios con actividad antioxidante así como medir su capacidad antioxidante *in vitro*.

Se utilizaron jugos liofilizado (Freezer dryers Ilshin, Korea) de diez variantes de *Opuntia* spp. Se cuantificaron fenoles por medio de HPLC (Spectra-Physics UV6000LP); ácido ascórbico con el método de Sdiri *et al.* (2012) (Thermo Spectra Physic Series P100) y betalaínas con el método de García-Cruz *et al.* (2012) con un espectrofotómetro Agilent 8453 UV-visible. Se evaluó la capacidad *in vitro* por medio de la técnica de FRAP (Firuzi *et al.*, 2005) y ABTS por Nenadis *et al.* (2004). El ácido gálico se registró en todas las variantes excepto en la Tapona, y fue el principal compuesto fenólico en la mayoría de ellas (32.6 y 81.2 µg/g). De los flavan-3-ol se cuantificaron cuatro compuestos, los isómeros catequina y epicatequina y las procianidinas B1 y B2. Los cuatro derivados estuvieron presentes en todas las variantes, excepto la catequina en la tuna Blanca. El mayor contenido de ácido ascórbico se presentó en Rojo pelón seguida de Sangre de toro y Tapón rojo, y Charola fue la variante con menor

concentración; sin embargo estos valores son aceptables para cubrir la cantidad mínima requerida en la dieta humana (84 mg). Los jugos de tuna de coloración roja presentan el mayor contenido de betacianinas, mientras que en las amarillas predominan las betaxantinas, lo cual coincide con otros estudios. En estudios previos, se encontró que la concentración de los componentes fenólicos totales presenta una relación directa con la capacidad antioxidante. El jugo de tuna presenta además, otras sustancias antioxidantes como betalaínas y ácido ascórbico que lo posicionan por encima de otros alimentos considerados como funcionales.

Palabras clave: Antioxidantes, Fenoles Capacidad antioxidante.

4.2 Introducción

Durante los procesos normales del metabolismo energético se generan radicales libres, los cuales pueden causar daño oxidativo; por ello, el organismo posee mecanismos endógenos antioxidantes conformados por sustancias que retrasan o previenen significativamente la oxidación. Entre dichas sustancias destacan las enzimas celulares superóxido dismutasa (SOD), la glutatión peroxidasa y la catalasa. Como sustancias de defensa no enzimática contra la oxidación destacan la vitamina E, un antioxidante efectivo de los lípidos poliinsaturados de las membranas, y la vitamina C, la cual como agente reductor o donador de electrones reacciona rápidamente con el radical HO⁻ y el anión superóxido, y evita también la oxidación de los lípidos de las membranas (Wang y Quinn, 2000).

Cuando los mecanismos endógenos antioxidantes son insuficientes para contrarrestar el desbalance que provoca el estrés oxidativo, se generan cambios fisiológicos y bioquímicos como la glucosilación de proteínas, peroxidación lipídica, y autoxidación de la glucosa (Opera, 2004; Betteridge, 2000). Entre las enfermedades asociadas al estrés oxidativo destacan la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensión arterial, insuficiencia renal y hepática, cáncer y enfermedades neurodegenerativas, como la esclerosis lateral amiotrófica, Alzheimer, Parkinson y Huntington (Elejalde-Guerra, 2001; Jellinger, 2003; D'Amico *et al.*, 2013).

El consumo de antioxidantes naturales o sintéticos puede reforzar la capacidad antioxidante del organismo (Hidalgo *et al.*, 2006). Investigaciones recientes han demostrado que algunos compuestos presentes en las plantas, como los terpenos, flavonoides, betalaínas y

las antocianinas poseen propiedades antioxidantes más poderosas que las vitaminas (Sedó, 2001; Harasym y Oledzki, 2014).

Las tendencias mundiales en la nutrición y alimentación indican un interés acentuado hacia el consumo de frutas y verduras, por su valor nutritivo y por sus beneficios a las funciones del organismo humano. Estas tendencias en los patrones de alimentación han generado una área nueva de investigación y desarrollo en nutrición, la de los llamados “alimentos funcionales”, definidos como cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contienen sustancias que favorecen la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona (Konigsberg-Fainstein, 2008). Entre estos compuestos funcionales destacan los antioxidantes exógenos, los cuales interactúan de forma segura con los radicales libres y ponen fin a su reacción en cadena antes de que dañen moléculas vitales (Oroian y Escriche, 2015).

La tuna, fruto del nopal (*Opuntia* spp.), está ampliamente disponible en la Planicie Meridional de México. Se conocen más que 189 especies silvestres de nopal, de las cuales 83 son mexicanas; de éstas, 29 se distribuyen en la Región Centro Norte de México, en una superficie de aproximadamente 300 000 km², en parte de los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Querétaro, San Luis Potosí, Zacatecas y el Distrito Federal, donde se pueden identificar variantes con diferente grado de humanización, desde las silvestres como *O. streptacantha*, y las cultivadas de *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. albicarpa*, hasta las de *O. ficus-indica*, especie reconocida con el grado mayor de domesticación (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Las tunas se consumen principalmente como fruta fresca y presentan diferencias notables en forma, tamaño, color y sabor, y cantidad, tamaño y dureza de sus semillas; también se procesan para elaborar jaleas, mermeladas y pasta (“queso de tuna”). Entre los

componentes de la tuna se han identificado polifenoles, betalaínas y flavonoides (Figueroa-Cares *et al.*, 2010; López-Palacios *et al.*, 2012; Yeddes *et al.*, 2013). Estos metabolitos antioxidantes previenen o controlan la generación excesiva de radicales libres muy inestables, reactivos y capaces de alterar las funciones de diferentes biomoléculas, esto es, de generar estrés oxidativo (Rodríguez *et al.*, 2001; Soobrattee *et al.*, 2005).

Evaluaciones de la tuna indican que tienen potencial para ser considerada como alimento funcional por su contenido de ácido ascórbico, fenoles, carotenoides y betalaínas, en proporciones superiores a las de ciruelas, nectarinas o duraznos (Fernández-López *et al.*, 2010). Estos fitoquímicos podrían contribuir a mitigar los efectos causados por un estado prolongado de hiperglucemia y reforzar el sistema antioxidante en pacientes glucostáticos; en efecto, se ha demostrado que los antioxidantes pueden aumentar la sensibilidad de los receptores a la insulina o bien pueden reducir la concentración de glucosa en la sangre después del consumo de carbohidratos al inhibir la acción de las enzimas digestivas y los transportadores de glucosa SGLT-1 (Bryans *et al.*, 2007). Así, estudios con animales indican que la suplementación con té verde y negro (rico en compuestos polifenólicos) disminuyó las concentraciones de glucosa en la sangre postprandial de ratas Sprague-Dawley (Zeyuan *et al.*, 1998). Además, estudios *in vivo* mostraron una reducción de la hemoglobina glucosilada (Fukino *et al.*, 2008) y un aumento en la actividad de la insulina (Richarda y Dolansky, 2002) después del consumo de extractos de té.

Con base en lo precedente, el objetivo de este estudio fue identificar y cuantificar los compuestos antioxidantes presentes en el jugo de frutos de variantes de *Opuntia*, y verificar su capacidad antioxidante *in vitro*, como complemento de su valoración como alimento funcional.

4.3 Materiales y métodos

4.3.1 Elección de las variantes y preparación de las muestras

Se evaluaron diez variantes de tuna en maduración plena, seis de ellas cultivadas: Rojo Pelón (*Opuntia ficus-indica*), Blanca (*O. albicarpa*), Amarilla Monteza, Pico Chulo, Torreoja y Sangre de Toro (*O. megacantha*), y cuatro silvestres: Cardona (*O. streptacantha*), Charola (*O. streptacantha* spp. *aguirrana*), Tapona y Tapón Rojo (*O. robusta*). Los frutos se recolectaron en el municipio de Villa de Arriaga, en el estado de San Luis Potosí, México. La elección de las variantes de *Opuntia* se basó en: a) grado de humanización, b) abundancia y potencial económico en el estado de San Luis Potosí, y c) color de la tuna. A las tunas se les eliminó la cáscara, y de la pulpa se extrajo el jugo con una licuadora de acero inoxidable (Internacional LI-12-106), las semillas se separaron con un filtro de 8 Mesh y el jugo se almacenó hasta su uso en recipientes estériles a -20 °C.

4.3.2 Identificación y cuantificación de antioxidantes en los jugos

4.3.2.1 Contenido de fenoles totales.

Los compuestos fenólicos totales presentes en los jugos de las tunas fueron cuantificados por el método de Folin-Ciocalteu modificado por Yeddes *et al.* (2013), y expresados como equivalentes de ácido gálico (mg EAG g⁻¹). Para extraer los fenoles, a 0.15 g de los jugos liofilizados a -50 °C (Freezer dryers Hshin, Corea), se les añadió etanol absoluto frío, se les sometió a ultrasonido durante 10 min y después a agitación constante durante 2 h a 4 °C. La solución se depuró al pasarla por papel Whatman 42. Los extractos se aforaron a 15 mL con etanol y se almacenaron protegidos de la luz a -20 °C. Los fenoles totales se midieron por

triplicado; para ello, a 35 μL del extracto etanólico se le añadieron 437.5 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu 1N (Sigma) y se les dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 3 min. Luego, se les añadieron 2187.5 μL de una solución de Na_2CO_3 al 20% y el volumen se ajustó a 3500 μL . La mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente en obscuridad durante 2 h para el desarrollo de color. Se les midió a una absorbencia de 760 nm en un espectrofotómetro (Agilent Technologies 8453, Alemania); además, se usaron muestras testigo compuesta por agua destilada y los reactivos usados. La cantidad de compuestos fenólicos fue establecida por comparación de los valores de absorbencia de las muestras y de los estándares de ácido gálico.

4.3.2.2 Ácidos fenólicos y flavan-3-oles.

Los compuestos fenólicos se extrajeron con el método usado por Rodarte *et al.* (2007). De 50 mL de jugo de tuna liofilizado, se pesaron 2 g de muestra y se mezclaron con 3 mL de metanol acidificado (0.1% ácido clorhídrico), y se sonorizó en un baño de agua durante 10 min; luego, el sobrenadante se recolectó y con el precipitado se repitió cinco veces el procedimiento anterior para obtener seis extracciones. Los sobrenadantes fueron recolectados y centrifugados por 10 min a 5000 rpm, y la fracción obtenida del centrifugado se concentró al vacío en un rotaevaporador a 30 °C (Heidolph, Alemania) y se reconstituyó con 2 mL de metanol. Todas las muestras fueron depuradas con filtros nylon de 0.45 μm .

La identificación y cuantificación de los ácidos fenólicos se hizo en un cromatógrafo de líquidos (Spectra-Physics UV6000LP), con una columna LiChrospher 100 RP-18 (250 mm x 4.6 mm y partículas de 5 μm). Como fase móvil se utilizó ácido fórmico al 10% en agua (A) y acetonitrilo/agua/ácido fórmico (45:45:10) (B), con un flujo de 1 mL/min. La identificación se realizó por comparación de los tiempos de retención, así como con los espectros UV-Vis obtenidos con un sistema de detección Diodo-Array (Thermo Scientific, USA), con patrones

estándar. Para cuantificar los ácidos hidroxibenzoicos se usó la longitud de onda de 280 nm, y la de 315 nm para los ésteres de ácidos hidroxicinámicos. Se utilizaron las ecuaciones siguientes de calibrado: ácido gálico, $y = 31500.8x - 437526$, $r^2 = 0.9987$; ácido protocatéquico, $y = 154728.8x + 29714.08$, $r^2 = 0.9999$; ácido siríngico, $y = 3366253x + 35897.78$, $r^2 = 0.9999$; ácido elágico, $y = 316113x - 467108.2$, $r^2 = 0.9789$. Los flavan-3-oles se identificaron y cuantificaron en un cromatógrafo de líquidos (Thermo Spectra Physic Series P100, USA), acoplado a un detector de fluorescencia (Perkin Elmer Series 200^a, USA), con una columna LiChrospher 100 RP-18 (250 mm x 4.6 mm y partícula de 5 μm). Como fase móvil se utilizó acetonitrilo (A) y ácido acético 5% (B), con un flujo de 1.4 mL/min. Para la identificación de flavanoles se utilizaron las longitudes $\lambda_{\text{exc}} = 280$ nm y $\lambda_{\text{em}} = 320$ nm. En este estudio las procianidinas se cuantificaron como catequinas, para lo cual se utilizaron las ecuaciones de calibrado siguientes: catequina, $y = 9 \times 10^6 x + 12608$, $r^2 = 0.9990$; y epicatequina, $y = 8 \times 10^6 x + 85337$, $r^2 = 0.9992$.

4.3.2.3 Identificación y cuantificación de betalaínas. Para medir las betalaínas se utilizó el método de Castellanos-Santiago y Yahia (2008). Para ello, 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 se sonorizó (Branson 1510R-MT) durante 15 min y se depuró con un filtro nylon de 0.45 μm (Agilent Technologies, Alemania). Se realizó un barrido electrónico entre 400 y 700 nm en un espectrofotómetro Agilent 8453 UV-visible (Agilent Technologies, Alemania), con lo cual se identificaron los picos de máxima absorción de betalaínas en 547 y 490 nm. Para convertir las unidades de absorbencia en unidades de concentración se utilizó la expresión:

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

Donde,

B= Betacianina o betaxantinas

A= Absorbencia en 547 nm para betacianina, y en 490 nm para betaxantina

FD= Factor de dilución realizado en el momento de leer el espectrofotómetro

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

V= Volumen del extracto

E= Coeficiente de extinción molar (betanina= 60 000 L mol.cm⁻¹, indicaxantina= 48 000 L mol.cm⁻¹)

L= Longitud de la celda (1 cm).

4.3.2.4 Cuantificación de ácido ascórbico. Al respecto se utilizó el método de Sdiri *et al.* (2012). Para ello, a 0.1 g del jugo liofilizado se le añadieron 2 mL de ácido meta-fosfórico al 4.5%; esta mezcla se sonorizó en un baño de agua por 2 min, luego se centrifugó por 10 min a 5000 rpm, y finalmente se depuró con 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 y partículas de 5 µm). 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 en la longitud de onda $\lambda=243$ nm y un volumen de inyección de 20 µL.

4.3.3 Capacidad antioxidante *in vitro* de los jugos

4.3.3.1 Método FRAP (ferric reducing antioxidant power).

Con el ensayo FRAP se evaluó la capacidad de las muestras de jugo para reducir el ión férrico (Fe^{+3}), presente en el complejo con 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), hasta su forma ferrosa (Fe^{+2}), de acuerdo con Firuzi *et al.* (2005). El reactivo FRAP se preparó diariamente mezclando 10 mL de solución amortiguadora de acetato de sodio 300 mM (pH 3.6) con 1 mL de cloruro férrico hexahidratado 20 mM, y 1 mL de TPTZ 10 mM disuelto en ácido clorhídrico 40 mM. En microplacas de fondo plano con 96 pozos y por triplicado, se agregaron 25 μL de jugo de tuna diluido 1/20 con metanol y posteriormente se añadieron 175 μL de solución FRAP. Un tratamiento de control o testigo se preparó con 200 μL de metanol; para otro control se mezclaron 25 μL metanol y 175 μL de solución FRAP; para un tercer control, se agregaron 25 μL de sulfato férrico y 175 μL de solución amortiguadora de acetato de sodio; por último, a 25 μL de la muestra de jugo se le añadieron 175 μL de solución amortiguadora de acetato de sodio. La medición se realizó con un lector Multiskan Ascent (Thermo Electron Corporation 100-240 VAC Tipo: 354) en la longitud $\lambda=595$ nm. La primera lectura se tomó en el tiempo 0 e inmediatamente la placa se incubó a 37 °C. Después de 60 min se efectuó la segunda lectura.

La curva de calibración se construyó con sulfato férrico heptahidratado (7.194 mM), disuelto en metanol en concentraciones de 108 a 864 μM . La ecuación de calibración resultante fue $y=0.0011x - 0.069$, $r^2= 0.9971$.

El valor de FRAP para la curva se calculó de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$FRAP(M) = \left(\Delta a_t FI / \Delta a_t Fe^{2+} \right) \times 10^{-5}$$

Donde,

$\Delta a_t FI$ = Es el cambio de absorbencia del compuesto a evaluar después del intervalo de tiempo.

$\Delta a_t Fe^{2+}$ = Es el cambio de absorbencia del sulfato de hierro a la misma concentración, y después del mismo intervalo de tiempo.

Los resultados de cada muestra se presentan como μM eq. $FeSO_4$.

4.2.3.2 Estimación de la capacidad antioxidante equivalente en Trolox (TEAC) con el mediador químico ABTS \bullet^+ .

Esta estimación se hizo de acuerdo con la metodología propuesta por Nenadis *et al.* (2004). La capacidad antioxidante equivalente en Trolox de las muestras se basó en el compuesto 2,2'-azino-bis(3-etilenbenzotiazolidina-6-ácido sulfánico) (ABTS), con el cual se genera el radical ABTS \bullet^+ y se compara con un antioxidante (Trolox). La solución de ABTS \bullet^+ se preparó para cada evaluación mezclando 5 mL de ABTS 7 mM y 88 μL de persulfato de potasio 140 mM; la mezcla se almacenó en oscuridad cubierta con papel aluminio y se dejó reposar durante 12 h a temperatura ambiente para generar el radical; luego, se tomaron 500 μL de la solución en reposo, se mezcló con 25 mL de etanol y se verificó que tuviera una absorbencia entre 0.7 y 1 en la longitud $\lambda=734$ nm en un espectrofotómetro Agilent 8453 UV-visible (Agilent Technologies, Alemania). Las muestras, y controles se midieron por triplicado (20 μL de muestra más 230 μL de ABTS \bullet^+) y se colocaron en una placa de fondo plano con 96 pozos; una vez agregado el radical ión, se cubrió la placa con papel aluminio y después de 6

min se realizó la lectura en la longitud $\lambda=734$ nm en un lector Multiskan Ascent (Thermo Electron Corporation 100-240 VAC Tipo: 354).

El porcentaje de inhibición del estándar se obtuvo con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \left[\frac{Abs \text{ control} - Abs \text{ muestra}}{Abs \text{ control}} \right] * 100$$

Al valor de la absorbencia de la muestra se le restó el valor de la absorbencia del control para obtener la absorbencia real.

La curva de calibración se construyó con estándares de Trolox 50, 100, 200, 300, 400 y 500 μM , agregando 20 μL de solución estándar y 230 de $\text{ABTS}^{\bullet+}$; la ecuación de regresión resultante fue $y=0.2263x + 7.5033$; $r^2= 0.9979$. Los resultados se expresaron como $\mu\text{g mol}$ de equivalentes de Trolox (TE) por g de peso seco de jugo.

4.3.4. Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento se realizó de acuerdo con un diseño experimental completamente al azar. Los tratamientos fueron los jugos de las 10 variantes de tunas, a los cuales se les evaluó su contenido de compuestos fenólicos, betalainas y ácido ascórbico, así como su capacidad antioxidante por medio de FRAP y ABTS. Para cada una de estas mediciones se usaron tres repeticiones. A los datos se les practicó análisis de varianza y comparación múltiple de medias por Tukey (SAS, versión 8.0; SAS Institute, Cary, North Carolina).

4.4 Resultados y discusión

4.4.1 Cuantificación de compuestos fenólicos

Los fenoles presentes en frutas, flores y verduras han captado la atención debido a su potencial antioxidante. Se ha demostrado que diversas partes de *Opuntia* (pulpa, cáscara, semillas y cladodios) son ricas en polifenoles y flavonoides (Galati *et al.*, 2003; Tesoriere *et al.*, 2004a; Valente *et al.*, 2010; Tounsi-Saidani *et al.*, 2011). Además, numerosos estudios demuestran sus efectos antioxidantes (Dok-Go *et al.*, 2003; Tesoriere *et al.*, 2004b; Siriwardhana y Jeon, 2004; Siriwardhana *et al.*, 2006; Osorio-Esquivel *et al.*, 2011; Chaalal *et al.*, 2013).

4.4.1.1 Contenido de fenoles totales. Debido a su presencia ubicua en los alimentos de origen vegetal, los compuestos fenólicos están incluidos diariamente en la dieta humana. El consumo varía de 25 mg a 1g por día en dependencia de la cantidad de frutas, vegetales, granos, té y especias consumida (Robbins, 2003; Hagerman *et al.*, 1998). Los extractos crudos de productos vegetales ricos en fenoles están generando interés en la industria alimentaria debido a que retardan la degradación oxidativa de los lípidos, y por lo tanto mejoran la calidad y el valor nutricional de los alimentos; por su poder antioxidante los fenoles brindan protección contra la enfermedad coronaria y el cáncer, además de otras enfermedades crónico degenerativas (Käkhönen *et al.*, 1999). La protección contra la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad se debe a la acción de varios compuestos fenólicos (Ricchelle *et al.*, 2001).

El contenido total de polifenoles fue estimado en los extractos etanólicos de los jugos liofilizados (Cuadro 4.7). Las diferencias estadísticas encontradas entre las variantes parecen

desvinculadas del color de los frutos y del grado de humanización, y cabe destacar que las cuatro variantes de *O. megacantha* evaluadas presentaron los contenidos totales mayores de compuestos fenólicos. Entre las variantes evaluadas por Mabrouki *et al.* (2015), la mayor concentración se registró en la pulpa de *O. streptacantha* seguida por la de *O. ficus-indica*, con 104.6 EAG por 100 g del jugo. En general, se ha señalado que las concentraciones de compuestos fenólicos en la tuna (*Opuntia* spp.) varían de 54 a 104 mg/100 g de materia fresca (Katabi *et al.*, 2013; Figueroa-Cares, *et al.*, 2010; Mabrouki *et al.*, 2015). Así, el jugo de tuna llega a presentar cantidades de compuestos fenólicos similares o mayores que la piña, jitomate, plátano, mango y pepino (1.7, 2.0, 2.3, 2.6, 3.8, mg/g de peso seco, respectivamente) (Muñoz-Jáuregui y Ramos-Escudero, 2007).

Cuadro 4.7 Concentración media de compuestos fenólicos totales en jugos liofilizados de 10 variantes de tuna.

Especie	Variante	Compuestos fenólicos totales (mg/g peso seco)
<i>O. ficus-indica</i>	Rojo pelón	1.92 ± 0.11 ^d ^e
<i>O. albicarpa</i>	Blanca	1.93 ± 0.25 ^{de}
<i>O. megacantha</i>	Amarilla Monteza	3.81 ± 0.75 ^{bc}
	Pico Chulo	2.81 ± 0.39 ^{bcd}
	Torreaja	3.90 ± 0.06 ^{ab}
	Sangre de Toro	5.21 ± 0.83 ^a
<i>O. streptacantha</i>	Cardona	1.67 ± 0.36 ^{de}
<i>O. streptacantha</i> spp. <i>aguirrana</i>	Charola	1.69 ± 0.48 ^{de}
<i>O. robusta</i>	Tapona	2.52 ± 0.42 ^{cde}
	Tapón Rojo	1.45 ± 0.14 ^e
	Valor de P	<0.0001

Las variantes están ordenadas de mayor a menor grado de humanización.

n=3. Tratamientos con distinta literal en la misma columna, son estadísticamente diferentes (<0.05).

4.4.1.2 Cuantificación de fenoles por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). En el Cuadro 4.8 se muestran los valores de concentración de ácidos fenólicos en los jugos de las 10 variantes de tuna, los cuales presentaron diferencias significativas ($P<0.0001$). El ácido gálico se registró en todas las variantes, excepto en la Tapona, y fue el principal compuesto fenólico en la mayoría de ellas, con concentraciones variables entre 32.6 y 81.2 $\mu\text{g/g}$.

El ácido siríngico sólo estuvo ausente en las variantes Torreja y Cardona, y el ácido elágico en las variantes Blanca, Sangre de Toro y Tapón Rojo. El ácido protocatéquico sólo se registró en Pico Chulo (41.6 $\mu\text{g/g}$); además, en esta variante se registraron los cuatro ácidos fenólicos y la concentración total más alta de ellos (176 $\mu\text{g/g}$). En cambio, la variante Blanca presentó el menor contenido total de estos ácidos (79.4 $\mu\text{g/g}$).

Los flavonoides son la clase de fenoles predominante en los alimentos, porque son aproximadamente 2/3 de los fenoles consumidos en la dieta humana. En el Cuadro 4.9 presentan las concentraciones de los derivados del flavan-3-ol registradas en los jugos de todas las variantes de tuna estudiadas, con diferencias notables entre ellas ($P<0.0001$). Estos cuatro derivados se registraron en los jugos de todas las variantes, pero la catequina faltó en el de tuna Blanca y fue el derivado minoritario en todas las variantes excepto en el jugo de Charola; la epicatequina fue el derivado con la menor concentración. Los derivados registrados en mayor concentración en alguno de los jugos fueron la epicatequina o la procianidina B2, según la variante. Las mayores concentraciones de epicatequina se encontraron en el jugo de Tapona,

Cuadro 4.8 Concentración media ($\mu\text{g/g}$) de ácidos fenólicos en jugos liofilizados de 10 variantes de tuna.

Especie	Variante	Ácido gálico	Ácido siríngico	Ácido elágico	Ácidos fenólicos totales
<i>O. ficus-indica</i>	Rojo Pelón	32.6 \pm 0.6 ^g	29.2 \pm 0.9 ^d	25.0 \pm 0.9 ^e	86.9 \pm 2.3 ^e
<i>O. albicarpa</i>	Blanca	53.7 \pm 0.6 ^e	25.6 \pm 0.4 ^e	n.d.	79.4 \pm 0.8 ^e
<i>O. megacantha</i>	Amarilla	74.8 \pm 3.6 ^{bc}	13.6 \pm 0.3 ^h	33.5 \pm 0.1 ^d	122.0 \pm 3.8 ^b
	Monteza				
	Pico Chulo	63.6 \pm 0.6 ^d	20.0 \pm 2.7 ^f	50.5 \pm 2.3 ^b	176 \pm 7.9 ^a
	Torreaja	49.7 \pm 1.8 ^e	n.d.	41.9 \pm 1.9 ^c	91.6 \pm 3.6 ^d
	Sangre de Toro	42.4 \pm 0.5 ^f	66.5 \pm 0.1 ^a	n.d.	109 \pm 1.2 ^c
<i>O. streptacantha</i>	Cardona	81.2 \pm 0.7 ^a	n.d.	26.7 \pm 0.4 ^e	108.0 \pm 1.0 ^c
<i>O. streptacantha</i>					
<i>spp. aguirrana</i>	Charola	78.3 \pm 1.0 ^{ab}	16.9 \pm 0.3 ^g	73.2 \pm 1.5 ^a	168 \pm 2.2 ^a
<i>O. robusta</i>	Tapona	n.d.	45.3 \pm 1.1 ^b	68.3 \pm 4.1 ^a	114.0 \pm 5.2 ^{bc}
	Tapón Rojo	71.5 \pm 0.1 ^c	38.4 \pm 0.3 ^c	n.d.	110.0 \pm 1.2 ^c
Valor de <i>P</i>		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Las variantes están ordenadas de mayor a menor grado de humanización.

n=3. Tratamientos con distinta literal en la misma columna, son estadísticamente diferentes (<0.05).

y las menores en el de Cardona, 90.8 y 17.2 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. En relación al contenido total de derivados del flavan-3-ol, el jugo de la tuna Tapona presentó la concentración mayor

de estos compuestos ($223 \pm 6.09 \mu\text{g/g}$), pues también tuvo los valores mayores de cada derivado; en cambio, el jugo de tuna Cardona fue el más pobre en estos derivados ($73.7 \mu\text{g/g}$).

Cuadro 4.9 Concentración media ($\mu\text{g/g}$) de flavan-3-oles en jugos liofilizados de 10 variantes de tunas.

Especie	Variante	Catequina	Epicatequina	Procianidina B1	Procianidina B2	Total flavan-3- oles
<i>O. ficus-indica</i>	Rojo Pelón	$13.30 \pm 0.63^{\text{de}}$	$19.26 \pm 1.68^{\text{f}}$	$16.71 \pm 0.13^{\text{f}}$	$28.36 \pm 0.38^{\text{c}}$	$77.6 \pm 1.30^{\text{f}}$
<i>O. albicarpa</i>	Blanca	n.d.	$60.94 \pm 1.26^{\text{b}}$	$32.50 \pm 1.49^{\text{d}}$	$38.76 \pm 0.43^{\text{c}}$	$132 \pm 3.18^{\text{c}}$
<i>O. megacantha</i>	Amarilla Monteza	$14.23 \pm 0.69^{\text{cd}}$	$37.4 \pm 0.16^{\text{c}}$	$21.03 \pm 0.74^{\text{ef}}$	$33.93 \pm 0.55^{\text{d}}$	$107 \pm 4.82^{\text{d}}$
	Pico Chulo	$14.87 \pm 0.6^{\text{cd}}$	$24.58 \pm 0.02^{\text{c}}$	$23.59 \pm 1.25^{\text{e}}$	$29.51 \pm 1.19^{\text{de}}$	$92.5 \pm 1.86^{\text{c}}$
	Torreaja	$19.61 \pm 0.94^{\text{b}}$	$32.10 \pm 0.39^{\text{d}}$	$25.40 \pm 0.87^{\text{c}}$	$20.37 \pm 0.40^{\text{f}}$	$97.5 \pm 1.80^{\text{de}}$
	Sangre de Toro	$19.61 \pm 1.60^{\text{b}}$	$61.93 \pm 0.77^{\text{b}}$	$40.67 \pm 1.40^{\text{c}}$	$51.62 \pm 1.31^{\text{a}}$	$174 \pm 1.88^{\text{b}}$
<i>O. streptacantha</i>	Cardona	$10.44 \pm 0.18^{\text{e}}$	$17.15 \pm 0.45^{\text{f}}$	$22.41 \pm 0.51^{\text{c}}$	$23.68 \pm 1.08^{\text{f}}$	$73.7 \pm 2.21^{\text{f}}$
<i>O. streptacantha</i> <i>spp. aguirrana</i>	Charola	$27.25 \pm 0.95^{\text{a}}$	$17.97 \pm 0.98^{\text{f}}$	$47.06 \pm 2.19^{\text{b}}$	$44.45 \pm 0.28^{\text{b}}$	$137 \pm 4.40^{\text{c}}$
<i>O. robusta</i>	Tapona	$27.89 \pm 0.97^{\text{a}}$	$90.81 \pm 2.18^{\text{a}}$	$59.47 \pm 0.90^{\text{a}}$	$45.20 \pm 2.05^{\text{b}}$	$223 \pm 6.09^{\text{a}}$
	Tapón Rojo	$17.56 \pm 1.14^{\text{bc}}$	$19.16 \pm 0.30^{\text{f}}$	$24.67 \pm 1.56^{\text{c}}$	$23.63 \pm 1.81^{\text{f}}$	$85.1 \pm 4.21^{\text{ef}}$
Valor de <i>P</i>		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Las variantes están ordenadas de mayor a menor grado de humanización.

n=3. Tratamientos con distinta literal en la misma columna, son estadísticamente diferentes (<0.05).

4.4.2 Concentración e identificación de betalainas

Según Stintzing *et al.* (2005), la coloración de las tunas es debida a las betalainas, pues dichos autores registraron indicaxantina y betaxantinas (84 y 100 mg/kg, respectivamente) en tunas amarillo-naranja, mientras que en las tunas rojas identificaron betacianinas en concentraciones de 400 mg/kg, y por ello consideraron a estos compuestos químicos como los responsables de dicho color.

Como se muestra en el Cuadro 4.10, los jugos de tuna de las variantes con frutos rojos presentaron mayor contenido de betacianinas, mientras que en las amarillas (Amarilla Monteza y Pico Chulo) predominaron las betaxantinas, lo cual coincide con otros estudios (Stintzing *et al.*, 2005; Chávez *et al.*, 2009; Yahia y Mondragón, 2011). El jugo de tuna Tapona presentó el mayor contenido de betacianinas y betaxantinas, pero su coloración rojo púrpura se explica por el predominio de las betacianinas en el jugo de esta tuna.

Caben señalarse los valores intermedios de ambos compuestos en los jugos de las variantes rojas pertenecientes a *O. megacantha*, así como el contenido mínimo de ellos en los jugos de tuna Blanca, en coincidencia con lo registrado por Castellanos-Santiago y Yahia (2008) en esta misma especie.

4.4.3 Cuantificación de ácido ascórbico por HPLC

El ácido ascórbico (AA) es uno de los más efectivos antioxidantes, y más abundante en frutas y verduras (Loganaki y Manian 2010). Su importancia radica en que interviene en diversas funciones biológicas, como la síntesis de colágeno, hormonas y neurotransmisores (Fusini *et al.*, 2016; Ivanov *et al.*, 2016; Mumford *et al.*, 2016). El incremento en el consumo de ácido ascórbico está asociado con la reducción del riesgo a padecer enfermedades crónicas

Cuadro 4.10 Contenido medio de betaxantinas y betacianinas (mg/g peso seco) en los jugos liofilizados de 10 variantes de tuna.

Especie	Variante	Betaxantinas	Betacianinas	Total betalaínas
<i>O. ficus-indica</i>	Rojo Pelón	0.148±0.005 ^f	0.149 ± 0.010 ^g	0.298 ^g
<i>O. albicarpa</i>	Blanca	0.018±0.003 ^g	0.021 ± 0.004 ^h	0.044 ^h
<i>O. megacantha</i>	Amarilla	0.120±0.007 ^f	0.011 ± 0.001 ^h	0.130 ^h
	Monteza			
	Pico Chulo	0.085±0.017 ^f	0.019 ± 0.004 ^h	0.105 ^f
	Torreaja	0.313±0.029 ^e	0.358 ± 0.030 ^f	0.671 ^{ef}
	Sangre de Toro	0.810±0.007 ^c	1.580 ± 0.030 ^c	2.390 ^c
	Cardona	0.423±0.030 ^d	0.800 ± 0.008 ^d	1.213 ^d
<i>O. streptacantha</i>				
<i>spp. aguirrana</i>	Charola	0.290±0.007 ^e	0.660 ± 0.020 ^e	0.945 ^e
<i>O. robusta</i>	Tapona	1.450±0.017 ^a	2.610 ± 0.030 ^a	4.074 ^a
	Tapón Rojo	1.230±0.04 ^b	2.380 ± 0.060 ^b	3.610 ^b
Valor de <i>P</i>		<0.0001	<0.0001	<0.0001

Las variantes están ordenadas de mayor a menor grado de humanización.

n=3. Tratamientos con distinta literal en la misma columna, son estadísticamente diferentes (<0.05).

como cáncer, enfermedades cardiovasculares y cataratas (Frikke-Schmidt y Lykkesfeldt, 2009; Wei *et al.*, 2016; Mohamed *et al.*, 2016), lo cual puede deberse a su capacidad de eliminar radicales libres en los sistemas biológicos. En este estudio sólo se midió el contenido de AA

(Cuadro 4.11), sin realizar la reducción del ácido dehidroascórbico (DHAA) necesaria para obtener el contenido total de vitamina C (Sdiri *et al.*, 2012).

La concentración de AA presentó diferencias en los jugos de tuna evaluados ($P < 0.0001$). El mayor contenido de AA se registró en la variante Rojo Pelón seguido de Sangre de Toro y Tapón Rojo; Charola fue la variante con la menor concentración en su jugo. Sin embargo, todos los valores fueron suficientes para cubrir fácilmente la cantidad mínima (84 mg) requerida diariamente de ácido ascórbico en la dieta humana (Sáenz *et al.*, 2007; Pérez *et al.*, 2008).

Entre las variantes evaluadas por Yahia y Mondragón (2011), la mayor concentración de AA se registró en los jugos de tuna Camuesa (*O. robusta*), seguida por los de Cardona (*O. streptacantha*), con 4.0 y 2.1 mg/ 100 g de materia fresca, respectivamente, mientras que la menor concentración fue en los jugos de tuna Naranjona (*O. megacantha*), con valores de 1.2 a 1.4 g/ 100 g de materia fresca; además, según estos autores, el DHAA mostró un patrón similar al del AA. En general, se ha señalado 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). Así, el jugo de tuna llega a presentar cantidades de ácido ascórbico similares o mayores que la uva, la manzana y la pera (0.5, 0.3 y 0.2 mg/ g peso seco comestible, respectivamente), pero menor cantidad que la guayaba y el kiwi (9.4 y 4.9 mg/ g peso seco comestible, respectivamente).

Cabe destacar que las variantes con el mayor y el menor grado de humanización presentaron los valores más altos de este antioxidante, lo cual sugiere que el grado de domesticación carece de relación con la concentración del antioxidante evaluado.

Cuadro 4.11 Concentración media de ácido ascórbico (mg/g peso seco) en jugos liofilizados de 10 variantes de tuna.

Especie	Variante	Ácido ascórbico
<i>O. ficus-indica</i>	Rojo Pelón	1.328 ± 0.003 ^a
<i>O. albicarpa</i>	Blanca	0.316 ± 0.003 ^d
<i>O. megacantha</i>	Amarilla Monteza	0.327 ± 0.016 ^d
	Pico Chulo	0.542 ± 0.004 ^c
	Torreaja	0.327 ± 0.004 ^d
	Sangre de Toro	0.652 ± 0.041 ^b
<i>O. streptacanta</i>	Cardona	0.325 ± 0.006 ^d
<i>O. streptacanta</i> spp. <i>aguirrana</i>	Charola	0.191 ± 0.000 ^e
<i>O. robusta</i>	Tapona	0.527 ± 0.029 ^c
	Tapón Rojo	0.691 ± 0.006 ^b
Valor de P		<0.0001

Las variantes están ordenadas de mayor a menor grado de humanización.

n=3. Tratamientos con distinta literal en la misma columna, son estadísticamente diferentes (<0.05).

4.4.4 Capacidad antioxidante *in vitro* del jugo de tuna

Para estimar la capacidad antioxidante del jugo de tuna se recurrió a los métodos ABTS y FRAP, pues ambos son de los más utilizados y miden la mayoría de los antioxidantes presentes. El método ABTS suele usarse para mezclas o bebidas complejas y mide principalmente antioxidantes tipo SET (single electron transfer), sin excluir a los HAT

(hydrogen atom transfer), tanto en medio hidrosoluble como liposoluble. El FRAP en cambio se aplica más en hortalizas con antioxidantes tipo SET y HAT, principalmente fenoles y ácido ascórbico (Surveswaran *et al.*, 2007; Gülçin, 2012). Así, estos métodos se consideraron complementarios y se contrastaron a través de la correlación entre los resultados respectivos.

Surveswaran *et al.* (2007) mencionan que los componentes fenólicos de diversas hierbas, frutas y verduras, presentan una relación directa entre su capacidad antioxidante y su contenido total de fenoles. En los jugos de tuna evaluados esta tendencia no se cumplió debido a sus diferencias contrastantes de color, atributo vinculado con la presencia de antioxidantes como betalaínas y ácido ascórbico (Cuadro 4.12). Los datos generados con el método ABTS presentaron una distribución normal, pero los estimados con FRAP debieron ser transformados logarítmicamente, antes de ser analizados.

Las estimaciones de la capacidad antioxidante realizadas con ambos métodos (FRAP y ABTS) para el total de fenoles, betalaínas y ácido ascórbico registrado en los jugos de las 10 variantes de tuna se contrastaron por medio de su correlación lineal simple (Cuadro 4.13).

Los valores de r para cada una de las comparaciones fueron del mismo signo, excepto para compuestos fenólicos totales, lo cual evidencia una tendencia general concordante en las estimaciones generadas por ambos métodos. Los resultados muestran que las estimaciones de la capacidad antioxidante de las betalaínas con FRAP y ABTS, estuvieron correlacionadas positiva y significativamente ($P < 0.0001$). Por otro lado, las estimaciones de ácido ascórbico y compuestos fenólicos carecieron de correlación significativa. Que la capacidad antioxidante total estimada con ambos métodos presentara correlación significativa, se explica por la

abundancia de betalaínas y porque con ambos métodos se generaron estimaciones poco discordantes de la capacidad antioxidante de los demás compuestos evaluados.

Cuadro 4.12 Capacidad media antioxidante total del jugo de 10 variantes de tuna.

Especie	Variante	Método ABTS ⁺¹	Método FRAP ³
		TEAC ($\mu\text{M/g}$ peso seco) ²	(μM eq. FeSO_4/g peso seco) ⁴
<i>O. ficus-indica</i>	Rojo Pelón	43837 \pm 2601 ^{abc}	49102 \pm 4280 ^{cd}
<i>O. albicarpa</i>	Blanca	39570 \pm 8473 ^c	45202 \pm 4098 ^{cd}
	Amarilla		
<i>O. megacantha</i>	Monteza	37504 \pm 6726 ^c	38490 \pm 2591 ^d
	Pico Chulo	38307 \pm 6833 ^c	39157 \pm 2583 ^d
	Torreja	46264 \pm 8198 ^{abc}	42378 \pm 9272 ^{cd}
	Sangre de Toro	51422 \pm 400 ^{abc}	79066 \pm 7562 ^b
<i>O. streptacantha</i>	Cardona	45501 \pm 3565 ^{abc}	60141 \pm 4645 ^{bc}
<i>O. streptacantha</i> spp.			
<i>aguirrana</i>	Charola	40778 \pm 3741 ^{bc}	57543 \pm 4843 ^{cd}
<i>O. robusta</i>	Tapona	62117 \pm 10439 ^a	112651 \pm 15066 ^a
	Tapón Rojo	59968 \pm 12243 ^{ab}	118790 \pm 16262 ^a
Valor de P		<0.0016	<0.0001

Las variantes están ordenadas de mayor a menor grado de humanización.

n=3. Tratamientos con distinta literal en la misma columna, son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$). ¹ABTS, "2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)". ²TEAC, Trolox equivalent antioxidant capacity. ³FRAP, "ferric reducing antioxidant power". ⁴Micro molar equivalentes de sulfato de hierro por gramo de peso seco.

Cuadro 4.13 Correlaciones (r) entre las estimaciones de capacidad antioxidante, generadas con los métodos ABTS y FRAP en el jugo de 10 variantes de tuna.

Antioxidante	ABTS	FRAP
Total	0.7845 ***	0.9436 ***
Compuestos fenólicos totales	0.0848	-0.11811
Ácidos fenólicos	-0.2033	-0.0943
Flavan-3 oles	0.3943	0.4781
Betalaínas	0.7828***	0.9511***
Ácido ascórbico	0.1829	0.1635

Significancia *** $P < 0.0001$.

4.5 Conclusiones

El contenido mayor de betalaínas en las variantes rojas como Tapona, Tapón Rojo y Sangre de Toro, y de ácido ascórbico en Rojo Pelón, Tapón Rojo y Sangre de Toro causa que su capacidad antioxidante total sea mayor que en el resto de las variantes y provoca la falta de correlación significativa entre las estimaciones de la capacidad antioxidante de los fenoles. De las variantes evaluadas, Pico Chulo fue la más rica en ácidos fenólicos y Tapona en flavan-3-oles. A diferencia de otras frutas de mesa, la tuna es una fuente importante de fenoles, además

de contar con los fitoquímicos de potencia antioxidante más comunes, como las betalaínas y el ácido ascórbico.

Esta investigación acredita y confirma la presencia de antioxidantes en el jugo de variantes de tuna y constata su efecto con pruebas *in vitro*. Con ello se aportan bases adicionales para promoverlo como alimento funcional, con cualidades antioxidantes similares o superiores a los jugos de diversas frutas comerciales.

4.6 Agradecimientos

Los autores agradecen a la Fundación Produce, SLP, por el financiamiento otorgado para esta investigación. Al Ing. Roberto Garfias Cánovas, presidente del Sistema Producto Nopal de San Luis Potosí, por promover y respaldar este proyecto y por suministrar toda la materia prima (tunas) requerida. Al CONACyT por las becas otorgadas a G. Zenteno y a Monserrat Monreal. A Ma. del Socorro Jasso Espino, Josefina Acosta y David Isabel Ortiz Mendoza por el apoyo brindado en el laboratorio.

4.7 Literatura citada

Betteridge, J.D. 2000. What is oxidative stress? *Metabolism*. 49(Sup1): 3-8.

Bryans, J. A.; P. A. Judd; P. R. Ellis. 2007. The effect of consuming instant black tea on postprandial plasma glucose and insulin concentrations in healthy humans. *J. Am. Coll. Nutr.* 26(5): 471-477.

Castellanos-Santiago, E; 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.
- Chaalal, M.; H. Louaileche; N. Touati; M.B. Bachir. 2013. Phytochemicals, *in vitro* antioxidant capacity and antiradical potential of whole and ground seeds of three prickly pear varieties: A comparative study. *Ind. Crop. Prod.* 49: 386-391.
- Chávez, R.; J. Gutiérrez; S. Serna. 2009. Phenolic composition, antioxidant capacity and *in vitro* cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia* spp.) juices. *Plant Foods Hum. Nutr.* 64: 146-152.
- D'Amico, E.; P. Factor-Litvak; R. M. Santella; H. Mitsumoto. 2013. Clinical perspective of oxidative stress in sporadic ALS. *Free Rad. Biol. Med.* 65: 509-527.
- Dok-Go, H.; K.H. Lee; H.J. Kim; E.H. Lee; J. Lee; Y.S. Song; Y.H. Lee; C. Jin; Y.S. Lee; J. Cho. 2003. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Brain Res.* 965(1-2): 130-136.
- Elejalde Guerra, J.I. 2001. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An. Med. Int.* 18(6): 326-335.
- Fernández-López, J. A.; L. Almela; J.M. Obón; R. Castellar. 2010. Determination of antioxidant constituents in cactus pear fruits. *Plant Foods Hum. Nutr.* 65: 253-259.
- Feugang, J.M.; P. Konarski; D. Zou; F.C. Stintzing; C. Zou. 2006. Nutritional and medicinal use of cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front. Biosci.* 11: 2574-89.

- Figuroa-Cares, I.; M. T. Martínez-Damián; E. Rodríguez-Pérez; M. T. Colinas-León; S. Valle-Guadarrama; S. Ramírez- Ramírez; C. Gallegos-Vázquez. 2010. Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de tuna (*Opuntia* spp.) de México. *Agrociencia*. 44: 763-771.
- Firuzi, O.; A. Lacanna; R. Petrucci; G. Marrosu; L. Saso. 2005. Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by "ferric reducing antioxidant power" assay and cyclic voltammetry. *Biochim Biophys Acta*. 1721: 174-184.
- Fusini, F.; S. Bisicchia; C. Bottegoni; A. Gigante; F. Zanchini; A. Busilacchi. 2016. Nutraceutical supplement in the management of tendinopathies: a systematic review. *M. L. T. J.* 6(1): 48-57.
- Fukino, Y.; A. Ikeda; K. Maruyama; N. Aoki; T. Okubo; H. Iso. 2008. Randomized controlled trial for an effect of green tea-extract powder supplementation on glucose abnormalities. *Eur. J. Clin. Nutr.* 62(8): 953-960.
- Frikke-Schmidt, H.; J. Lykkesfeldt. 2009. Role of marginal vitamin C deficiency in atherogenesis: In vivo models and clinical studies. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 104: 419-433.
- Galati E.M.; M.R. Mondello; D. Giuffrida; G. Dugo; N. Miceli; S. Pergolizzi; M.F. Taviano. 2003. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L) Mill. fruit juice: Antioxidant and antiulcerogenic activity. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4903-4908.

- Gülçin, İ. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. Arch. Toxicol. 86: 354-319.
- Hagerman, A.; K. Riedl; G. Alexander-Jones; K. Sovik; N. Ritchard; P. Hartzfeld; T. Riechel. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. J. Agric. Food Chem. 46: 1887-1892.
- Harasym, J.; R. Oledzki. 2014. Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma. Nutrition. 30: 511-517.
- Hidalgo, L. M.E.; M.I. López; B.E. Fernández; E. Cabrera; H. Goecke; J. Ruz. 2006. Efecto antioxidante de un extracto de semilla de uva en pacientes diabéticos tipo 2. Rev. Fitoter. 6(2): 137-142.
- Ivanov, V.; S. Ivanova; T. Kalinovsky; A. Niedzwiecki; M. Rath. 2016. Inhibition of collagen synthesis by select calcium and sodium channel blockers can be mitigated by ascorbic acid and ascorbyl palmitate. Am. J. Cardiovasc. Dis. 6(2):26-35.
- Jellinger, K.A. 2003. General aspects of neurodegeneration. J. Neural. Transm. Suppl. 65: 101-114.
- Kähkönen, M; A. I. Copia; H. J. Vuorela; R. Jussi-Pekka; K. Piha-laja; T. S. Kujala; M. Heinonen. 1999. Antioxidant activity of plant ex-tracts containing phenolic compounds. J. Agric. Food Chem. 47: 3954-3962.
- Khatabi, O.; H. Hanine; D. Elothmani; A. Hasib. 2013. Extraction and determination of polyphenols and betalain pigments in the Moroccan prickly pear fruits (*Opuntia ficus indica*). Arab. J. Chem. 1-4.

- Koinsberg-Fainstein, M. 2008. Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas. Manual Moderno. México. 623 p.
- Loganayaki, N.; S. Manian. 2010. *In vitro* antioxidant properties of indigenous underutilized fruits. Food Sci. Biotechnol. 19(3): 725-734.
- López-Palacios, C.; C. B. Peña-Valdivia; J. A. Reyes-Agüero; A.I. Rodríguez-Hernández. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitos (*Opuntia* spp.). Genet. Resour. Crop. Evol. 59: 1015-1026.
- Mabrouki, L.; B. Zougari; M. Bendhifi; M.A. Borgi. 2015. Evaluation of antioxidant capacity, phenol and flavonoid contents of *Opuntia streptacantha* and *Opuntia ficus indica* fruits pulp. Nat. Tech. 13: 2-8.
- Mohamed, A.; H. Haidara; Z. Yassin; M. Rateb; H. Ammar; M. A. Zorkani. 2016. Role of oxidative stress in development of cardiovascular complications in diabetes mellitus. Cur Vasc Pharmacol. 4(3): 215-227.
- Mumford, S. L.; R. Browne; K. C. Schliep; J. Schmelzer; T. C. Plowden; K. A. Michels; L. A. Sjaarda; S. M. Zarek; N. J. Perkins; L. C. Messer; R. G. Radin; J. Wactawski-Wende; E. F. Schisterman. 2016. Serum antioxidants are associated with serum reproductive hormones and ovulation among healthy women. J Nutr. 146(1): 98-106.
- Muñoz-Jáuregui, A. M.; F. Ramos-Escudero. 2007. Componentes fenólicos en la dieta y sus propiedades biomedicinales. Rev. Horiz. Med. 7: 23-31.

- Nenadis, N.; L.F. Wang; M. Tsimidou; H.Y. Zhang. 2004. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS^{•+} assay. *J. Agric. Food Chem.* 52(15): 4669-4674.
- Opera, E.C. 2004. Role of oxidative stress in the etiology of type 2 diabetes and the effect of antioxidant supplementation on glycemic control. *J. Investig. Med.* 52: 19-23.
- Oroian, M.; I. Escriche. 2015. Antioxidants characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Res. Int.* 74: 10-36.
- Osorio-Esquivel, O.; A. Ortíz-Moreno; V.B. Álvarez; L. Dorantes-Álvarez; M.M. Giusti. 2011. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Res. Int.* 44: 2160-2168.
- Pérez, A.; B. Palacios; A.L. Castro. 2008. Sistema mexicano de alimentos equivalentes. 3a Ed. Ogali. México. 108 p.
- Reyes-Agüero, J. A.; J. R. Aguirre R.; J. L. Flores. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la Altiplanicie Meridional de México. *Interciencia.* 30: 476-484.
- Ricchelle, M.; I. Tavazzi; E. Offord. 2001. Comparison of the anti-oxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa and tea) prepared per cup serving. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3438-3442.
- Richarda, A.; M. M. Dolansky. 2002. Tea enhances insulin activity. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7182-7186.

- Robbins, R. 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2866-2887.
- Rodarte, A.; I. Eichholz; S. Rohn; L. Kroh; 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.
- Rodríguez, J.M.; J.R. Méndez; Y. Trujillo. 2001. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev. Cubana Med. Milit.* 30 :36-44.
- Sáenz, C.; H. Berger; J. Corrales; L. Galletti; V. García; I. Higuera; C. Mondragón; A. Rodríguez; E. Sepúlveda; M.T. Varnero. 2007. Utilización agroindustrial del nopal. FAO. Roma, Italia. 165 p.
- Sdiri, S.; P. Navarro; A. Monterde; B. Jameleddine; 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.
- Sedó, M.S.P. 2001. Alimentos funcionales: análisis general acerca de las características químicas-nutricionales, desarrollo industrial y legislación alimentaria. *Rev Costarric. Salud Púb.* 10: 34-39.
- Siriwardhana, N.; F Shahidi; Y.J. Jeon. 2006. Potential antioxidative effects of cactus pear fruit (*Opuntia ficus-indica*) extract on radical scavenging and DNA damage reduction in human peripheral lymphocytes. *J. Food Lipids.* 13: 445-458.

- Siriwardhana, N.; Y. Jeon. 2004. Antioxidative effect of cactus pear fruit (*Opuntia ficus-indica*) extract on lipid peroxidation inhibition in oils and emulsion model systems. *Eur. Food Res. Technol.* 219(4): 219-369.
- Soobrattee, M.A.; V.S. Neergheen; A. Luximon-Ramma; O.I. Aruoma; T. Bahorun. 2005. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mut. Res.* 579: 200-213.
- Stintzing, F.; K. Herbach; M. Mosshammer; R. Carle; W. Yi; S. Sellappan; C. Akoh; R. Bunch; P. Felker. 2005. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *J. Agric. Food Chem.* 53: 442-451.
- Surveswaran, S.; C. Yi-Zhong; H. Corke; M. Sun. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chem.* 102: 938-953.
- Tesoriere, L.; M. Allegra; D. Butera; M.A. Livrea. 2004a. Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant in LDLs: potential health effects of betalains in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 80: 941-945.
- Tesoriere, L.; D. Butera; A.M. Pintaudi; M. Allegra; M.A. Livrea. 2004b. Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *Am. J. Clin. Nutr.* 80: 391-395.
- Tounsi-Saidani, M.; I. Ouerghemmi; R. Ksouri; W. Aidi-Wannes; I. Hammrouni; B. Marzouk. 2011. HPLC-determination of phenolic composition and antioxidant capacity of cactus prickly pears seeds. *Asian J. Chem.* 23: 1006-1010.

- Valente, L.M.M.; D. da Paixão; A.C. do Nascimento; P.F.P. dos Santos; L.A. Scheinvar; M.R.L. Moura; L.W. Tinoco; N.L.F. Gomes; J.F.M. da Silva. 2010. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chem.* 123: 1127-1131.
- Wang, X.; P. J. Quinn. 2000. The location and function of vitamin E in membranes (Review). *Mol. Membr. Biol.* 17(3): 143-56.
- Wei, L.; G. Liang; C. Cai; J. Lv. 2016. Association of vitamin C with the risk of age-related cataract: a meta-analysis. *Acta Ophthalmol.* 94(3): 170-176.
- Yahia, E.; C. Mondragón. 2011. Nutritional components and anti-oxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). *Food Res. Intl.* 44: 2311-2318.
- Yeddes, N.; J. K. Chérif; S. Guyot; H. Sotin; M.T Ayadi. 2013. Comparative study of antioxidant power, polyphenols, flavonoids and betacyanins of the peel and pulp of three Tunisian *Opuntia* Forms. *Antioxidants* 2: 37-51.
- Zeyuan, D.; T. Bingyin; L. Xiaolin; H. Jinming; C. Yifeng. 1998. Effect of green tea and black tea on the blood glucose, triglycerides and antioxidation in aged rats. *J. Agric. Food Chem.* 46(10): 3875-3878.

5.- Efectos del jugo de 10 variantes de tuna (*Opuntia* spp.) sobre el metabolismo energético de ratas Wistar.

Gabriela Zenteno-Ramírez¹, Bertha Irene Juárez-Flores^{1*}, J. Rogelio Aguirre-Rivera¹, A.

Monserrat Monreal-Montes¹, Juan Manuel Vargas Morales², Jaime Becerra Jiménez¹,

Gregorio Álvarez Fuentes¹

¹Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Altair 200, Colonia Del Llano, 78377 San Luis Potosí, San Luis Potosí. (berthajf@uaslp.mx)

²Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Dr. Manuel Nava No.6 - Zona Universitaria, C.P. 78210. San Luis Potosí, S.L.P., México.

5.1 Introducción

La epidemia de diabetes mellitus (DM) es reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una amenaza global. Se calcula que en el mundo existen más que 180 millones de personas con diabetes, y es probable que esta cifra aumente a más que el doble para 2030. En 2005 se registraron 1.1 millones de muertes debidas a la diabetes, de las cuales alrededor del 80% ocurrieron en países de ingresos bajos o medios, que en su mayoría se encuentran menos preparados para enfrentar esta epidemia (NOM-015-SSA2-2010).

En México, la DM ocupa el primer lugar en número de defunciones por año; tanto en hombres como en mujeres las tasas de mortalidad muestran una tendencia ascendente, con más que 70 mil muertes y 400,000 casos nuevos anuales (NOM-015-SSA2-2010).

La DM tipo 2 (DM2) corresponde a lo que antes se denominaba como DM insulinoindependiente o del adulto, pero actualmente se presenta también en jóvenes. Su importancia radica en los múltiples trastornos que produce por la relación que guarda la secreción de insulina y la sensibilidad de los receptores a la acción de esta hormona en la complicada homeostasis de la glucosa (Conget, 2012). Esta enfermedad metabólica modifica las señales de transmisión celular, bloquea parcialmente la acción de los receptores de superficie y la expresión de genes específicos, disminuye la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) y los niveles de glutatión, con lo cual incrementa el estrés oxidativo (Elejalde, 2001; Palma, 2007). Otros factores importantes que suelen estar presentes en la DM, es la auto oxidación de la glucosa y del colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (cLDL), el incremento de la mieloperoxidasa activada por la proteincinasa C, y el aumento de radicales libres (Palma, 2007). Ante la complejidad de este padecimiento, la Secretaría de Salud en su Boletín de Práctica Médica Efectiva propone un plan para tratar la DM2, en el

cual se sugiere identificar la etiología, delimitar factores de riesgo, establecer criterios para su diagnóstico, realizar evaluaciones clínicas para elaborar un plan de nutrición en el que se incluyan alimentos ricos en antioxidantes, bajos en azúcares y concentraciones considerables de fibra soluble, como son los alimentos funcionales, y establecer un tratamiento farmacológico (Rodríguez y Mejía, 2006).

La tuna, fruto del nopal (*Opuntia* spp.), contiene una proporción correcta de azúcares simples, compuestos funcionales como fibra soluble (mucílago y pectinas), antioxidantes como betalaínas, compuestos fenólicos y flavan 3-oles y cantidades importantes de vitamina C (Zenteno *et al.*, 2015; artículo 2). 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).

Diversas investigaciones han acreditado el efecto hipoglucemiante del cladodio de *Opuntia* spp. en animales diabéticos inducidos con estreptozotocina o en pacientes con DM2 (Fрати-Munari *et al.*, 1988; Trejo-Gonzales *et al.*, 1996; Andrade-Cetto y Wiedenfeld, 2011). Por otro lado, la tuna ha llamado últimamente la atención y se ha propuesto que la fructosa que contiene 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). El consumo de fibra soluble mejora el control glucémico, disminuye la hiperinsulinemia, y disminuye las concentraciones plasmáticas de lípidos en individuos con DM2 (Chandallia *et al.*, 2000; Paiz *et al.*, 2010). La fibra alimentaria tiene capacidad para atrapar agua y formar geles, producir un efecto laxante, reducir la absorción de carbohidratos, y generar una sensación de saciedad (Silveira, 2003). Con base en lo precedente, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del consumo de

jugo de 10 variantes de tuna sobre la glucemia y parámetros metabólicos relacionados de ratas de la cepa Wistar glucostáticas e hiperglucémicas inducidas con estreptozotocina, como parte de la fundamentación para que el jugo de tuna sea reconocido como alimento funcional.

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Elección de las variantes y extracción de los jugos

Las tunas de las 10 variantes evaluadas se obtuvieron en maduración plena; seis de ellas son cultivadas: Rojo Pelón (*Opuntia ficus-indica*), Blanca (*O. albicarpa*), Amarilla Monteza, Pico Chulo, Torreoja y Sangre de Toro (*O. megacantha*), y cuatro son silvestres: Cardona (*O. streptacantha*), Charola (*O. streptacantha* ssp. *aguirrana*), Tapona y Tapón Rojo (*O. robusta*). La elección de estas variantes se basó en tres criterios: a) abundancia y potencial económico del fruto en el estado de San Luis Potosí, b) grado de humanización y c) colores de la tuna. Las tunas se cosecharon o recolectaron en el municipio de Villa de Arriaga, ubicado en el altiplano del estado de San Luis Potosí, México. A las tunas se les eliminaron las espinas (gloquidios o “ahuates”) y la cáscara; el jugo se extrajo disgregando la pulpa limpia con una licuadora de acero inoxidable (Internacional LI-12-106); las semillas se separaron con un filtro convencional 8 Mesh. A cada muestra se le midió el pH, los °Brix, contenido de materia seca y la proporción de jugo en la pulpa para las interpretaciones posteriores. El jugo se almacenó en recipientes estériles a -20 °C hasta su uso (Zenteno *et al.*, 2015).

5.2.2 Modelo animal

3.2.2.1 Ratas Wistar glucostáticas. Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, de 200 a 250 g de peso vivo, como unidades experimentales, las cuales se mantuvieron en

cajas de acrílico individuales, en una habitación con condiciones controladas de temperatura ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) y humedad relativa (30-70 %), donde se invirtió su ciclo bajo condiciones estándar de fotoperíodo (12 h luz/12 h oscuridad); por un lapso de siete días de acondicionamiento, se les permitió el consumo libre de agua purificada y de 20-30 g de pienso balanceado por día (Shayne, 2007). 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 animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).

3.2.2.2 Ratas Wistar hiperglucémicas. Las condiciones para su adaptación previa y el ambiente durante el experimento fueron iguales a las de las normales. Para inducir el estado hiperglucémico, se administró en una sola ocasión y por vía intraperitoneal 50 mg/kg de estreptozotocina (SIGMA $\geq 75\%$ as-anomer $\geq 98\%$ HPLC), fármaco que destruye de forma progresiva e irreversible las células β del páncreas, con lo cual dejan de secretar insulina (Bolzán y Bianchi, 2002). Se consideró que estas unidades experimentales presentaban diabetes cuando después de dos días de administrado el fármaco y con 12 h de ayuno, sus niveles de glucosa sanguínea oscilaban entre 200 a 600 mg/dL; las mediciones de la glucemia se realizaron con un glucómetro portátil (ACCU-CHEK Performa®).

Para mantenerles el estado hiperglucémico a estas ratas, similar al de un paciente con DM2 sin control terapéutico (200 a 300 mg/dL de glucosa), se les administró de una a cuatro unidades de insulina humana isófana de acción intermedia (100 UI de origen ADN recombinante, Pharma Life) cada 10 a 12 h, por vía subcutánea, durante las 12 sem que duró el experimento. Para establecer la dosificación individual de insulina, a cada unidad experimental primero se le midió la glucosa después de 12 h de ayuno y luego cada tres horas

para verificar que su concentración permaneciera dentro de los niveles establecidos, hasta definir el número de unidades requerido para cada animal.

5.2.3 Dosificación del jugo de tuna

Para establecer la dosis de jugo de tuna de cada variante que se administraría a las unidades experimentales, se realizó un ensayo preliminar con ratas normales similares a las descritas previamente. Con base en la cantidad de azúcares totales en el jugo de cada variante de tuna (Zenteno *et al.*, 2015), se eligieron las variantes con la mayor y la menor concentración de azúcares (Torreoja 13.46 % y Amarilla Monteza 11.91%). Estos dos jugos, un jugo comercial de arándanos (Kirkland®) y agua, en dosis equivalente a 150, 300 y 450 mL calculadas para una persona sana de 65 kg de peso corporal y ajustadas al peso de cada rata, fueron administrados vía cánula esofágica para generar curvas de tolerancia a la glucosa. Para ello, la glucemia se midió con un glucómetro portátil (ACCU-CHEK Performa®, Roche®) a los 0, 30, 60 y 120 min después de la administración de los líquidos correspondientes (n=3). Con base en los resultados de las curvas de tolerancia a la glucosa, se seleccionó la dosis de 300 mL, ya que a partir de los 60 min, la concentración de glucosa plasmática en las ratas que recibieron los jugos de tuna fue similar a la de las ratas tratadas con agua o jugo comercial; de esta manera se evitaron alteraciones metabólicas en las ratas experimentales.

Una vez seleccionada la dosis, se calculó el volumen de jugo de tuna correspondiente a cada animal, para lo cual se tomó como referencia el porcentaje de azúcares totales en el jugo de cada variante de tuna, el peso del animal y los azúcares totales en la porción recomendada del jugo comercial de arándano (Kirkland®). Así, se evitó alterar los niveles normales de

glucemia en las ratas sanas, pues los azúcares simples impactan de inmediato los niveles de glucosa plasmática.

5.2.4.1 Glucosa. Al respecto se usó el método de glucosa oxidasa (GOD) (Trinder, 1969); la glucosa es oxidada en presencia de GOD, y el peróxido de hidrógeno formado, reacciona en presencia de peróxidasa 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®.

5.2.4.2 Colesterol total. Su cuantificación en el suero se basó en el método de la colesterol esterasa (CE) (Trinder, 1969; Allain *et al.*, 1974). La CE hidroliza los ésteres para originar colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre así producido más el colesterol preformado se oxidan en presencia de colesterol oxidasa 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 con peróxido de hidrógeno. La intensidad del color rojo final es proporcional a la concentración total de colesterol, y se midió en un espectrofotómetro (EXCEL Chemistry Analyzer, STANBIO®, USA) utilizando kits enzimáticos comerciales, de acuerdo con las indicaciones del fabricante (STANBIO®, Glucosa Liquicolor®, USA), y controles BIO-RAD®.

5.2.4.3 Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL). Para las estimaciones de este compuesto se utilizó el método Stanbio Colesterol HDL Directo LiquiColor® (STANBIO®, USA), el cual mide directamente la concentración de colesterol

HDL en el suero sanguíneo (Warnick y Wood, 1995). Este método emplea un sistema de dos reactivos; el primer reactivo (R1) contiene una combinación de detergentes y compuestos del ácido fosfórico orgánico e inorgánico, los cuales se unen específicamente a LDL, VLDL y quilomicrones, liberando y exponiendo así las partículas de cHDL; el segundo reactivo (R2) contiene enzimas que reaccionan con el colesterol HDL presente en la muestra. Consecuentemente, sólo el colesterol cHDL es el que se cuantifica. Con dichos reactivos 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 cHDL. Se trabajó con el kit enzimático comercial según las indicaciones del fabricante y controles BIO-RAD®.

5.2.4.4 Triglicéridos. En este caso se usó el método descrito por Buccolo y David (1973) y Fossati y Prencipe (1982). Estos lípidos al incubarse con lipoproteinlipasa liberan glicerol y ácidos grasos. El glicerol es fosforilado en glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP, en presencia de glicerol quinasa, para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP); el G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato 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, 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®.

5.2.4 Diseño experimental, tratamientos, variables evaluadas y análisis estadísticos

El diseño experimental fue completamente aleatorio, con 22 tratamientos y seis repeticiones. Los tratamientos resultaron de la combinación de los factores y niveles siguientes: a) estado de salud de las ratas (glucostáticas e hiperglucémicas), y b) alimento líquido (jugo de cada una de las 10 variantes y agua).

El periodo experimental fue de 12 sem, durante las cuales los jugos y el agua se suministraron a las ratas una vez al día, al iniciarse el periodo de oscuridad, en ayunas, por vía oral con cánula esofágica, e inmediatamente después se les proporcionaron 30 g de alimento. Al iniciar la fase experimental y luego cada 15 d durante todo el estudio, y con 12 h de ayuno previo, las ratas se pesaron y se les extrajo sangre de la vena caudal para obtener las muestras individuales de suero. Las muestras de suero sanguíneo se almacenaron a -20 °C hasta su análisis en laboratorio para estimar los niveles de glucosa, colesterol total, HDL y triglicéridos, como se detalló previamente.

El análisis estadístico de la ganancia de peso y las variables bioquímicas consistió en análisis de variación conforme a un diseño completamente al azar y una comparación múltiple de medias de Tukey con el paquete estadístico SAS V.9 (SAS Institute, 2002).

5.3 Resultados y discusión

5.3.1 Efecto de los jugos de tuna en el peso de las ratas

En el Cuadro 5.14 se muestra el peso inicial y final registrado en las ratas glucostáticas e hiperglucémicas. Todos los cambios fueron positivos, es decir, no se presentó pérdida de peso

con ninguno de los tratamientos. La mayor ganancia de peso se registró en los animales con hiperglucemia que recibieron el jugo de Pico Chulo, cabe señalar que estos jugos presentaron el mayor contenido de ácido ascórbico y compuestos fenólicos totales de las 10 variantes evaluadas, y también fueron los únicos donde se registró la presencia de ácido protocatéuico (Artículo 2). Se ha demostrado que este ácido fenólico disminuye el estrés oxidativo al inhibir el sistema enzimático NADPH oxidasa, complejo multiproteico encargado de producir radicales libres, principalmente el radical superóxido (Cascales, 2005).

Con base en la comparación múltiple de medias, el segundo grupo de tratamientos que se conformó por animales con hiperglucemia que recibieron jugo de las tunas Pico Chulo, Cardona, Tapona, Tapón Rojo, Torreoja y Rojo Pelón; las tunas de estas variantes, excepto Pico Chulo, son rojas. Pico Chulo y Torreoja son variantes cultivadas y el resto pertenecen a incluidas en las especies con menor grado de humanización (*O. strpetacantha* y *O. robusta*). Cabe destacar que la ganancia de peso de las ratas que recibieron el jugo de Tapón Rojo, hiperglucémicas y glucostáticas, fue estadísticamente igual ($P < 0.05$). El jugo de esta variante presentó el mayor contenido de fibra soluble y fructosa de las 10 variantes estudiadas; este monosacárido impacta en menor grado el metabolismo energético y la ganancia de peso. Luego, se agruparon los tratamientos con ratas tanto glucostáticas como hiperglucémicas que recibieron el jugo de Tapón Rojo, Torreoja, Rojo Pelón, Sangre de Toro y Blanca, lo cual indica que estos jugos evitaron la pérdida de peso en las ratas hiperglucémicas, a pesar del estado metabólico disfuncional de la DM2. En este grupo de tratamientos vuelven a predominar las variantes con tunas de color rojo, aunque destaca la presencia de la variante Blanca, posiblemente porque es uno de los jugos con mayor contenido de fructosa y fibra

soluble. En este grupo se encuentran también dos variantes de las especies con menor grado de humanización: Cardona y Charola.

Cuadro 5.14 Peso (g) inicial (PI) y final (PF) de ratas glucostáticas (GS) e hiperglucémicas (HG) suplementadas con jugos de 10 variantes de tunas (*Opuntia* spp.).

Tratamiento	PI	PF									
Pico chulo ¹ HG	305.8	394.2	A	B							
Cardona ² HG	300.5	359.3		B	C						
Tapona ³ HG	301.3	358.0		B	C	D					
Tapón Rojo ³ GS	318.0	347.2		B	C	D	E				
Tapón Rojo ³ HG	266.8	341.8		B	C	D	E	F			
Torroja ¹ HG	289.2	327.8		B	C	D	E	F	G		
Agua HG	283.5	326.0		B	C	D	E	F	G		
Rojo Pelón ⁴ HG	299.7	325.0		B	C	D	E	F	G		
Amarilla Monteza ¹ HG	274.8	322.0			C	D	E	F	G		
Torroja ¹ GS	249.2	309.2			C	D	E	F	G		
Sangre de Toro ¹ GS	283.5	306.3			C	D	E	F	G		
Rojo Pelón ⁴ GS	273.5	305.0			C	D	E	F	G		
Charola ⁶ GS	232.5	301.7			C	D	E	F	G		
Sangre de Toro ¹ HG	280.7	299.0			C	D	E	F	G		
Tapona ³ GS	230.0	297.5			C	D	E	F	G		
Blanca ⁵ GS	218.3	291.7			C	D	E	F	G		
Blanca ⁵ HG	293.3	289.8				D	E	F	G		
Pico Chulo ¹ GS	232.5	286.7				D	E	F	G		
Charola ⁶ HG	279.2	284.5					E	F	G		
Agua GS	187.5	273.3						F	G		
Cardona ² GS	213.3	270.8						F	G		
Amarilla Monteza ¹ GS	187.5	260.0							G	H	

¹*O. megacantha*; ²*O. streptacantha*; ³*O. robusta*; ⁴*O. ficus-indica*; ⁵*O. albicarpa*; ⁶*O. streptacantha* spp. *aguirrana*;

En general, podemos observar que las ratas glucostáticas que recibieron jugo de tuna ganaron menos peso. 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 de *O. ficus indica* a ratas sanas y observaron una ganancia de peso menor que la de las ratas sanas que no recibieron jugo de tuna.

5.3.2 Efecto de los jugos de tuna sobre indicadores metabólicos sanguíneos

Debido a que la glucosa, el cHDL, el colesterol, y los triglicéridos se alteran durante el desarrollo de la DM, y que ello permite reconocer el estado metabólico de los individuos, se realizaron análisis de variación para estos parámetros. En el Cuadro 5.15 se muestran los resultados del análisis de varianza y la comparación múltiple de medias de Tukey. Las mediciones se realizaron cada dos semanas, pero para propósitos de esta tesis sólo se presentan los datos iniciales y finales del periodo experimental de 12 sem.

La alteración en las concentraciones plasmáticas de glucosa es el parámetro metabólico más representativo en la DM2. Las ratas hiperglucémicas que recibieron agua presentaron los niveles plasmáticos de glucosa más elevados, lo cual era de esperarse por su condición de salud. En todas las ratas con hiperglucemia, excepto en las que recibieron el jugo de Sangre de Toro se presentó un incremento de glucosa plasmática, aunque con los jugos de Blanca, Charola, Rojo Pelón y Tapona puede observarse una tendencia a disminuir la glucosa plasmáticas hasta valores dentro de la amplitud normal para ratas Wistar, esto es, de 98 a 152 mg/dL⁻¹ (Bolani, 1990).

La concentración de glucosa plasmática de las ratas glucostáticas que recibieron los jugos se encuentran dentro de la amplitud normal de referencia.

Cabe destacar que las ratas hiperglucémicas que recibieron el jugo de la variante Sangre de Toro presentaron concentraciones plasmáticas de glucosa estadísticamente iguales ($P < 0.05$) a

Cuadro 5. 15 Efecto de los jugos de tuna sobre parámetros metabólicos

Glucosa			cHDL			Colesterol			Triglicéridos		
Trat.	Media		Trat.	Media		Trat.	Media		Trat.	Media	
AG²	293.0	a	BC²	68.9	a	RP²	112.0	a	CA²	242.8	a
TO²	231.5	ab	CH²	67.2	ab	BC¹	104.2	ab	CH²	228.0	ab
TR²	222.7	ab	CA²	64.9	abc	TO²	92.5	abc	PC²	201.1	abc
AM²	211.5	ab	PC²	63.6	abc2	TR²	90.3	abcd	AM²	191.1	abc
PC²	174.9	ab	AG¹	60.3	abc2e	RP¹	88.4	abcd	AG²	186.6	abc
CA²	168.3	ab	AG²	60.2	abc2e	AM¹	81.7	abcde	BC²	178.8	abc
BC²	158.6	ab	AM¹	54.7	abc2ef	TR¹	75.8	abcde	BC¹	156.5	abc
CH²	155.8	ab	AM²	49.1	abc2efg	CH²	75.2	abcde	AG¹	110.3	abc
RP²	151.1	ab	ST²	44.4	bc2efgh	ST¹	68.8	bcdef	TR¹	108.4	abc
TA²	145.3	ab	TR¹	43.0	c2efgh	CA²	68.1	bcdef	TA²	97.2	abc
AM¹	141.4	b	RP¹	43.0	c2efgh	AG¹	64.4	bcdef	RP¹	95.1	abc
RP¹	140.5	b	TO²	41.1	c2efgh	TA¹	63.0	bcdef	TR²	94.7	abc
ST²	127.0	b	ST¹	40.6	2efgh	TA²	60.5	cdef	AM¹	83.5	bc
AG¹	125.6	b	TA¹	37.4	efgh	ST²	59.8	cdef	ST¹	81.0	bc
ST¹	124.2	b	CA¹	34.3	fgh	TO¹	58.2	cdef	TO²	79.2	bc
TR¹	121.3	b	RP²	33.7	fgh	PC²	56.5	cdef	TO¹	75.4	bc
TO¹	116.6	b	BC¹	33.2	fgh	PC¹	55.9	cdef	TA²	74.3	bc
TA¹	115.3	b	PC¹	31.8	fgh	BC²	54.7	cdef	CH¹	67.4	c
BC¹	114.4	b	TA²	29.4	gh	AM²	50.3	def	ST²	66.8	c
PC¹	105.0	b	CH¹	27.1	gh	AG²	49.8	def	PC¹	60.6	c
CA¹	103.5	b	TO¹	26.7	gh	CA²	43.2	ef	RP²	57.8	c
CH¹	97.1	b	TR²	24.9	h	CH¹	33.5	f	CA¹	53.8	c

n=6, cHDL= lipoproteínas de alta densidad, ¹Glucostática, ²Hiperglucémica, AG= agua, RP= rojo pelón, BC= blanca, AM= amarilla monteza= PC= pico chulo, TO= Torreoja, ST= sangre de toro, CA= cardona, CH= charola, TA= tapona, TR= tapón rojo

las de las ratas glucostáticas que recibieron este jugo. Esto puede deberse ya que esta variante fue la que presentó: a) la menor cantidad de azúcares; b) el mayor contenido de compuestos fenólicos totales, los cuales disminuyen la absorción de carbohidratos y modulan enzimas involucradas en el metabolismo de la glucosa (Chun *et al.*, 2007; Ovaskainen *et al.*, 2008); c) una cantidad importante de fibra soluble, la cual mejora los estados de hiperglucemia al reducir riesgos cardiovasculares, el peso corporal y la sensibilidad de los receptores de insulina (Weickert *et al.*, 2006; Qi *et al.*, 2006). A pesar de que en los jugos de esta variante la concentración de flavan 3-oles es moderada, estos jugos de Sangre de Toro presentaron la mayor cantidad de procianidina b, la cual inhibe la biosíntesis de lípidos (Vidal *et al.*, 2005), disminuye la biosíntesis y secreción de apolipoproteínas, y evita la esterificación del colesterol y la producción de lipoproteínas (Sugiyama *et al.*, 2007); además, estos jugos tienen cantidades intermedias de betalainas, ácido ascórbico y manifestaron una buena capacidad antioxidante (Zenteno *et al.*,).

En general, los polifenoles ejercen efectos favorables sobre el sistema cardiovascular en individuos diabéticos, lo cual probablemente se debe a que regulan el metabolismo de los lípidos y de las apolipoproteínas (Vidal *et al.*, 2007), y a que estimulan la secreción de insulina (Bahadoran *et al.*, 2013).

cHDL

Las ratas hiperglucémicas que recibieron el jugo de las variantes Blanca, Charola, Cardona, Pico Chulo y Amarilla presentaron la concentración más alta de cHDL, al igual que las glucostáticas que recibieron Agua y jugo de Amarilla. Una disminución de cHDL por debajo del valor de referencia se observó en las ratas glucostáticas que recibieron los jugos de Tapona, Cardona, Blanca, Pico Chulo, Charola y Torreja. En las ratas hiperglucémicas se presentó esta misma tendencia sólo con los jugos de Rojo Pelón, Tapona y Tapón Rojo. Este efecto, como se señaló anteriormente, este resultado puede deberse a la inhibición que generan los polifenoles sobre la síntesis de apolipoproteínas.

Colesterol

Otro metabolito que se altera en estados de hiperglucemia es el colesterol, pero con ninguno de los tratamientos se sobrepasaron los valores de referencia (52-119 mg dL⁻¹) (Bolani, 1990). Los polifenoles son capaces de reducir la digestión y absorción de los lípidos, y las procianidinas tienen un efecto inhibitorio sobre la lipasa pancreática y la absorción de triglicéridos (Bahadoran et al., 2013). Las ratas hiperglucémicas que recibieron el jugo de la variante Rojo Pelón presentaron los niveles más altos de colesterol, seguidos por los correspondientes a los jugos de Torreja, Tapón Rojo y Charola.

Cabe destacar que las ratas glucostáticas y las hiperglucémicas que recibieron los jugos de Sangre de Toro, Tapona, Pico Chulo y Cardona presentaron niveles de colesterol similares. Todas, excepto Pico Chulo (amarillo-naranja), son rojas, y su contenido en fenoles fue de los más elevados en las variantes estudiadas (Sangre de Toro>Tapona>Pico Chulo>Cardona); además en sus jugos está presente el ácido sirínico (Sangre de Toro y Pico Chulo) y otros ácidos fenólicos, como catequina y epicatequina, y Tapona tuvo la mayor cantidad de flavan

3-oles y de betalaínas totales. Otra característica que comparten estas variantes es la presencia de cantidades importantes de fibra soluble. Como ya se mencionó anteriormente, estos compuestos influyen directamente en el metabolismo de los lípidos.

Triglicéridos

Con respecto a los triglicéridos, las ratas hiperglucémicas que recibieron jugo de Cardona presentaron los valores más elevados de esta biomolécula, lo cual puede deberse a que contiene pocos fenoles y flavan 3-olesy la mayor cantidad de azúcares totales, y comparado con las otras variantes estudiadas su cantidad de betalaínas es baja. Cabe señalar que las ratas glucostáticas que recibieron este jugo fueron las que presentaron la menor concentración de triglicéridos. En general, se observó una disminución significativa en la concentración de estos lípidos en las ratas hiperglucémicas que recibieron los jugos de Blanca, Tapón Rojo, Torreoja, Tapona, Sangre de Toro y Rojo Pelón.

Sólo con los jugos de Cardona, Charola, Pico chulo y Amarilla los niveles de triglicéridos estuvieronestán por encima de los valores de referencia.

Las ratas glucostáticas que recibieron el jugo de Blanca, Tapón Rojo, Tapona, Rojo pelón, Amarilla, Sangre de Toro, Torreoja, Charola, Pico Chulo y Cardona presentaron concentraciones de triglicéridos plasmáticos dentro de los rangos considerados como normales. Estos resultados 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.

5.4 Conclusiones

El consumo cotidiano de jugo de tuna puede favorecer la prevención y coadyuvar a la regulación del síndrome metabólico, pues presenta diversas cualidades propias de los alimentos funcionales.

5.5 Agradecimientos

Los autores agradecen a la Fundación Produce, por el financiamiento otorgado para esta investigación. Al Ing. Roberto Garfias Cánovas, presidente del Sistema Producto Nopal de San Luis Potosí, por promover y respaldar este proyecto y por suministrar toda la materia prima (tunas) requerida. Al CONACyT por las becas otorgadas a G. Zenteno y M. Monrreal. A Ma. del Socorro Jasso Espino, Josefina Acosta y Eduardo Zenteno por el apoyo brindado en el laboratorio.

5.6 Literatura citada

- Abdallah, Z. 2008. Evaluation of hypoglycemic activity of *Opuntia dillenii* Haw fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. EJHM. 33: 544-558.
- Allain, C.C.; L.S.L. Poon; C.S. Chan; W. Richmond; P.C. Fu. 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin. Chem. 20(4): 470-475.
- Andrade-Cetto, A. and H. Wiedenfeld. 2011. Anti hyperglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lem. J. Ethnopharmacol. 133: 940-943.

- Andrade-Cetto, A.; H. Wiedenfeld. 2011. Anti hyperglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lem. J. Ethnopharmacol. 133: 940-943.
- Bolani, H.B., M.A.B. Calvo, D.L. Cejalvo, O.F Gimeno. L.F. Gimeno, y J.M.C Lloris. 1990. Hematología y Bioquímica Clínica de la Rata. Research In Surbery (Sup 4) 12-20.
- Bolzán, A.D.; M.S. Bianchi. 2002. Genotoxicity of Streptozotocin. Mutat. Res. 512: 121-134.
- Buccolo, G.; H. David. 1973. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin. Chem.19(5): 476-482.
- Bwititi, P., C.T. Musabayane, and C.F. Nhachi. 2000. Effects of *Opuntia megacantha* on blood glucose and kidney function in streptozotocin diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 69(3):247-52.
- Chandalia, M.; A. Garg; D. Lutjohann; K. von Bergmann; S.M. Grundy; L.J. Brinkley. 2000. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. N. Engl. J. Med. 342: 1392-8.
- Conget, I. 2002. Diagnóstico, clasificación y patogenia de la diabetes mellitus. Rev. Esp. de cardiología 55: 528-535.
- Drago, M. 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. RMCF. 1: 58-68.
- El Kossori, R.L., C. Villaume, E. El Boustani, Y. Sauvaire and L. Méjean. 1998. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.). Plant Foods Hum. Nutr. 52 (3): 263-270.
- Elejalde, G. J. 2001. Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment. Ann. Med. Interne. 18(6): 326-335.

- 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.
- Fossati, P.; L. Prencipe. 1982. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin. Chem* 28(10): 2077-2080.
- Frati-Munari, A.C.; B.E. Gordillo; P. Altamirano; R.C. Ariza. 1988. Hypoglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lemaire in NIDDM. *Diabetes care* 11(1): 63-66.
- 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.
- Gao, J., Y.L. Han, Z.Y. Jin, X.M. Xu, X.Q. Zha, H.Q. Chen, Y.Y. Yin. 2015. Protective effect of polysaccharides from *Opuntia dillenii* Haw. fruits on streptozotocin-induced diabetic rats. *Carbohydrate Polymers* 124: 25–34.
- 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.

- 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.
- Norma Oficial Mexicana, NOM-015-SSA2-2010. Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. *Diario Oficial de la Federación* 2010.
- Norma Oficial Mexicana, NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. *Diario Oficial de la Federación* 1999.
- Paiz, R.C; B.I. Juárez-Flores; R.J.R. Aguirre; O.C. Cárdenas; A.J.A. Reyes; C.E. García; F.G. Álvarez. 2010. Glucose-lowering effect of xoconostle (*Opuntia joconostle* A. Web. Cactaceae) in diabetic rats. *J. Med. Plants Res*. 4: 2326-2333.
- Palma, G.J. L. 2007. La diabetes mellitus entendida como una enfermedad cardiovascular de origen metabólico. *Rev. Esp. Cardiol*. 7(Supl. H): 12-19.
- 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-Aguero, J.A., J. R. Aguirre R., y 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.
- Rodríguez, S.J.R. y J.B.P Mejía. Agosto 2006. Instituto Nacional de Seguridad Pública. Secretaría de Salud. Boletín de Práctica Médica Efectiva. Diabetes mellitus tipo 2 (DM2).
- Román-Ramos, R., J.L. Flores-Sáenz, and F.J. Alarcon-Aguilar. 1995. Anti-Hyperglycemic effect of some edible plants. *J. Ethnopharmacol.* 48:25-32.
- Sáenz, C.; H. Berger; J. Corrales; I. Galletti; V. García; I. Higuera; C. Mondragón; A. Rodríguez; E. Sepúlveda; M.T. Varnero. 2007. Utilización agroindustrial del nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Italia. 165 p.
- Sharp, P.; J. Villano. 2012. The laboratory rat. Second edition. CRC. USA. 399 p.
- Shayne, C. G. 2007. Animal Models in toxicology. *Toxicology* 24-162.
- Silveira, M.; S. Monereo; B.B. Molina. 2003. Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿Cerca o lejos?. *Rev. Esp. Salud Pública.* 77(3): 317-331.
- 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.

- Trejo-Gonzales, A.; G.G. Ortiz; A.M. Puebla; M.D. Huízar; M.R. Munguía; S. Mejía; E. Calva. 1996. A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntia fuliginosa*) controls experimentally induced diabetes in rats. *J. Ethnopharmacol.* 55: 27-33.
- Trinder, P.1969. Determination of Blood Glucose Using 4-amino phenazone as oxygen acceptor. *J. Clin. Pathol.* 22(2): 246.
- Warnick, G. R.; Wood, P. D. 1995. National cholesterol education program recommendations for measurement of high-density lipoprotein-cholesterol: executive summary. The national cholesterol education program working group on lipoprotein measurement. *Clin. Chem.* 41: 1427-1433.
- Zenteno-Ramírez, G.; B. I. Juárez-Flores; J. R. Aguirre-Rivera; M. D. Ortiz-Pérez; C. Zamora-Pedraza; J. A. Rendón-Huerta. 2015. Evaluación de azúcares y fibra soluble en el jugo de variantes de tunas (*Opuntia* spp.). *Agrociencia.* 49(2): 141-152.

6.- Discusión general

Múltiples han sido los estudios que muestran un efecto del consumo de *Opuntia* principalmente el cladodio, y actualmente se genera un interés por conocer las propiedades y efecto del jugo de tuna por los metabolitos secundarios que presenta (Fрати *et al.*, 1990; Frати *et al.*, 1992; Fernandez *et al.*, 1990; Trejo-Gonzalez *et al.*, 1996; Butera *et al.*, 2002; Kuti *et al.*, 2004 y Serra *et al.*, 2013). En nuestro estudio y con base la bibliografía seleccionamos los compuestos de mayor importancia que impactan en la salud de pacientes sanos o diabéticos para identificar cuáles de ellos podría estar ejerciendo efecto en ratas sanas y diabéticas.

Se evaluó la concentración de carbohidratos, y todas las variantes presentaron concentraciones distintas de las azúcares en las cuales predominó la glucosa y en menor proporción la fructosa lo cual coincide con Kuti y Galloway (1994), El Kossori *et al.* (1998) y Gurrieri *et al.* (2000). La fibra soluble (mucílago y pectina) también presentaron concentraciones estadísticamente diferentes tanto en variantes silvestres como cultivadas con el predominio de mucílago en todas ellas. Las variantes con mayor concentración de fibra soluble (Charola y Torreja) fueron las más prometedoras para reducir los niveles de glucosa.

Por otro lado, fue importante identificar los compuestos antioxidantes que se sabe pueden ayudar a disminuir el impacto en pacientes diabéticos debido al estrés oxidativo al que se someten. Estos fueron ácidos fenólicos, flavan-3-oles, ácido ascórbico y betalaínas, por su capacidad de neutralizar radicales libres donando electrones y un consumo adecuado de estos ayuda a disminuir el estrés oxidativo y por lo tanto mejorar la salud en pacientes diabéticos (Avello y Suwalsky 2006; Núñez, 2011; Feugang *et al.*, 2006). Aquellos jugos que presentaran una mayor capacidad antioxidantes serían los más prometedores a disminuir los efectos causados en la diabetes. Los jugos con mayor capacidad antioxidante fueron Sangre de toro en el cual predomina el ácido siríngico y procianidina B2; Cardona que presenta la mayor concentración de ácido gálico; en Tapona predomina el ácido elágico, Flavan 3-oles y betalaínas) y en el jugo de Tapón Rojo predominan las betalaínas y el ácido ascórbico. La tuna rojo peón es la que presenta mayor concentración de ácido ascórbico sin embargo no tiene una capacidad antioxidante tan elevada como las anteriores por ser pobre en los restantes antioxidantes cuantificados.

Con base en la bibliografía y las concentraciones registradas, el consumo de hasta cuatro porciones de estos jugos al día, no afectaría los niveles de glucemia en pacientes sanos o

diabéticos. Este efecto se pudo comprobar donde estadísticamente no hubo un aumento de glucosa en ninguno de los tratamientos; sin embargo en el caso de la variante sangre de toro que es rica en fibra soluble existió una disminución significativa.

El jugo de cada variante analizada presentó proporciones diferentes de cada uno de los compuestos cuantificados (carbohidratos y antioxidantes) por lo que se esperaban resultados distintos con cada tratamiento. A continuación se describe el efecto de los jugos respecto a las variables de glucosa, HDL, colesterol y triglicéridos al finalizar las 12 semanas de tratamiento en ratas sanas y diabéticas.

Efecto del consumo de jugo de tuna Rojo pelón (*Opuntia ficus-indica*). Los valores de glucosa fueron estadísticamente iguales en el grupo sano tratado con jugo o agua y diabético tratado con jugo o agua, por lo tanto el jugo no afecta los valores de glucemia. En cuanto HDL, colesterol y triglicéridos tampoco se encontró efecto del tratamiento. Estos resultados pueden ser debidos a la concentración alta de pectina que impide una alta absorción de carbohidratos.

Es muy pobre en antioxidantes a pesar de ser el más rico en ácido ascórbico.

Efecto del consumo de jugo de tuna Blanca (*Opuntia albicarpa*). En cuanto a glucosa este tratamiento no altera los niveles de glucemia en pacientes sanos o diabéticos a pesar de ser la tuna que presenta la mayor concentración de fructosa y posiblemente quien este regulando la absorción de los azúcares sea la fibra soluble presente en esta variante que presenta los valores más altos. Respecto al HDL en ratas diabéticas a pesar de no ser estadísticamente diferentes a las de agua diabéticas hay una tendencia al aumento de los niveles de HDL. También se puede observar un aumento estadísticamente significativo al

comparar sanas y diabéticas y éstas últimas presentaron valores más altos. En cuanto al colesterol no hubo diferencia estadística. El jugo no afecta los niveles de triglicéridos a pesar de presentar una alta concentración de fructosa y esta impacta en el metabolismo de los triglicéridos.

Efecto del consumo de jugo de tuna Amarilla Montesa (*Opuntia megacantha*). El jugo de tuna amarilla no aumenta los valores de glucosa, HDL, colesterol y triglicéridos en ratas sanas o diabéticas, manteniéndose en parámetros normales comparado con el tratamiento de agua.

Estos resultados pueden ser debidos a los metabolitos que presenta este jugo por la diversidad de compuestos que entre unos y otros evitan un desbalance en las variables estudiadas así por ejemplo, a pesar de ser un jugo con fructosa alta a diferencia de los restantes jugos estudiados, presenta una muy buena concentración de fibra soluble que posiblemente este limitando la absorción de estos azúcares y las bajas concentraciones de antioxidantes no son suficientes para mostrar un efecto a pesar de contener múltiples antioxidantes pero en concentraciones muy bajas.

Efecto del consumo de jugo de tuna Pico Chulo (*Opuntia megacantha*). No hay diferencia significativa pero si una tendencia a la disminución de la glucosa en ratas sanas y diabéticas. El HDL se vio disminuido en ratas sanas suplementadas con jugo por ácido protocatéquico. El colesterol y triglicéridos no se alteraron por el consumo del jugo en ninguno de los grupos.

Este jugo que presento la concentración más alta de compuestos fenólicos, y es el único que presentó ácido protocatéquico.

Efecto del consumo de jugo de tuna Torreoja (*Opuntia megacantha*). En la variable glucosa no se incrementa los valores de glucemia. Respecto al HDL en las ratas sanas suplementadas con jugo disminuyó en comparación con las de agua.

Se vio aumentado el colesterol de manera significativa en ratas diabéticas suplementadas con el jugo.

Existió una tendencia a la disminución de triglicéridos sin encontrar diferencia. Esta tendencia puede ser debido a la concentración de fibra soluble.

No se detectó ácido siríngico.

El ácido gálico previene la lipoperoxidación.

Efecto del consumo de jugo de tuna Sangre de toro (*Opuntia megacantha*). En esta variante hubo efecto del tratamiento para la variable glucosa, la cual disminuyó en ratas diabéticas suplementadas con jugo en comparación a las diabéticas tratadas con agua. No altera HDL, colesterol, hay una tendencia a la disminución de triglicéridos en ratas sanas y diabéticas tratadas con el jugo sin embargo no hay diferencia estadística.

Este jugo presenta el valor más alto compuestos fenólicos totales, de ácido siríngico y procianidina B2. La fibra soluble es de las variantes más bajas. Muy baja en azúcares. La baja concentración de azúcares hace que no se eleven triglicéridos.

Efecto del consumo de jugo de tuna Cardona (*Opuntia streptacantha*).

Las proporciones de azúcares del jugo Cardona no afecta los niveles de glucosa en ningún tratamiento. Disminuye HDL en sanas. No altera los valores de colesterol.

Es un jugo que presenta concentraciones altas en azúcares totales respecto al resto de los tratamientos pero también presenta de las concentraciones altas de mucílago y pectina y alto en capacidad antioxidante.

Efecto del consumo de jugo de tuna Charola (*Opuntia streptacantha* spp. *aguirrana*).

Hay una tendencia a la disminución de la glucosa sin llegar a existir una diferencia significativa.

Disminuyo HDL en sanas.

No existió efecto del tratamiento para las variables colesterol y triglicéridos.

No altera de manera significativa los valores de colesterol.

Es una jugo que tiene los valores más altos en cuanto a fibra soluble y ácido gálico, ácido elágico; catequina y procianidina B1 y B2. Es la más baja en antioxidantes pero con capacidad aox. ABTS.

Efecto del consumo de jugo de tuna Tapona (*Opuntia robusta*).

Las proporciones de azúcares no afectan los niveles de glucosa y hay una tendencia a la disminución de esta pero sin encontrar diferencia estadística

HDL disminuyo en las diabéticas con jugo y ese mismo patrón se presento para las sanas.

En colesterol y triglicéridos no altera los valores al ser iguales que los tratamientos con agua.

Los azúcares más bajos. Este jugo tiene pectina, y tanto las concentraciones como la capacidad antioxidante mayor.

Efecto del consumo de jugo de tuna Tapón rojo (*Opuntia robusta*).

En cuanto a glucosa, colesterol y triglicéridos no hubo efecto del tratamiento. Los valores de HDL fueron diferentes entre las diabéticas, donde la suplementada con jugo tuvo los valores más bajos que la de agua diabética.

Este jugo presenta concentraciones altas de azúcares respecto a las otras variantes y su capacidad antioxidante es de las más altas.

Bibliografía

Avello, M., y M. Suwalsky. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea*. 494(2): 161-172.

Núñez, S.A.J. 2011. Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Revista Cubana de Salud Pública*. 37(5): 644-660.

Feugang, J.M. P. Konarski; D. Zou; F.C. Stintzing; C. Zou. 2006. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front. Biosci.*1(11): 2574-89.

Fрати ,A.C.; E. Jiménez; C.R. Ariza. 1990. Hypoglycemic effect of *Opuntia ficus indica* in non insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Phytotherapy Research* 4 (5):195–197.

Fрати-Munari, A.C.; O.L. Vera; C.R. Ariza. 1992. Evaluation of nopal capsules in diabetes mellitus. *Gaceta medica de Mexico*, 128 (4): 431–436.

Fernández, M.L.;A. Trejo; D.J. McNamara. 1999. Pectin isolated from prickly pear (*Opuntia* sp.) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. The Journal of Nutrition 120 (11): 1283–1290.

Trejo-Gonzalez, A.; G. Gabriel-Ortiz; A.M. Puebla-Perez; M.D. Huizar-Contreras; M.R. Munguia-Mazariegos; S. Mejia-Arreguin; E. Calva. 1996. A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntia fuliginosa*) controls experimentally induced diabetes in rats. J. of Ethnopharmacology, 55 (1): 27–33.

Butera, D.; L. Tesoriere; F. Di Gaudio; A. Bongiorno; M. Allegra; A.M. Pintaudi; R. Kohen. 2002. Antioxidant activities of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (23): 6895–6901.

Kuti, J.O. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. Food Chemistry. 85 (4): 527–533.

Serra, A.T.; J. Poejo; A.A. Matias; M.R. Bronze; C.M.M. Duarte. 2013. Evaluation of *Opuntia* spp. derived products as antiproliferative agents in human colon cancer cell line (HT29). Food Research International. 54 (1): 892–901.

7.- Conclusiones generales

Existe una marcada diferencia entre las concentraciones de carbohidratos y antioxidantes presentes en las distintas variantes silvestres o cultivadas. Estas diferencias permitieron obtener diversas respuestas en el grupo sano y diabético. La respuesta a la administración de

jugo de la variante Rojo Pelón no afectó los parámetros metabólicos en ratas sanas y diabéticas; el jugo de tuna Blanca puede aumentar los niveles de HDL en ratas diabéticas sin alterar los valores de colesterol o triglicéridos; el jugo de tuna amarilla no altera los niveles de glucosa, HDL, colesterol y triglicéridos en ratas macho sanos o diabéticos; el jugo de tuna picochulo disminuye los valores de HDL; el jugo de tuna Torreoja aumenta colesterol en ratas diabéticas; el jugo de tuna Sangre de Toro disminuye glucosa y hay una tendencia a disminuir triglicéridos sin alterar HDL y colesterol; el Jugo de tuna Cardona y Charola, Tapona y Tapón rojo disminuye HDL en ratas sanas sin alterar glucosa, colesterol o triglicéridos.