

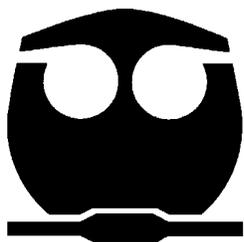


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**ALIMENTOS FUNCIONALES DE MÉXICO:
DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE
COMPUESTOS BIOACTIVOS EN NOPAL
DESHIDRATADO**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A:
ELIZABETH ARZATE RUIZ



MÉXICO, D. F.

2007.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente	FRANCISCA AIDA ITURBE CHIÑAS
Vocal	JUAN DIEGO ORTIZ PALMA PÉREZ
Secretario	ARTURO NAVARRO OCAÑA
1 ^{er} Suplente	BERTHA JULIETA SANDOVAL GUILLÉN
2 ^{do} Suplente	ROSA MARÍA ARGOTE ESPINOSA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:
Laboratorio L-321 Conjunto "E"
Facultad de Química, Ciudad Universitaria.

ASESOR

Dr. ARTURO NAVARRO OCAÑA

ASESOR TÉCNICO

M. en C. HILDA E. CALDERON VILLAGOMEZ

SUSTENTANTE

ELIZABETH ARZATE RUIZ

AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. Arturo Navarro Ocaña por haberme apoyado a lo largo de este proyecto y brindarme toda la confianza, los consejos y las herramientas necesarias para realizarlo, con lo cual se creó un compromiso de mi parte con el desarrollo de este trabajo. Gracias por haberme apoyado en esta parte tan importante de mi desarrollo profesional.

A la M. en C. Hilda Elizabeth Calderón Villagómez por su asesoría durante el desarrollo de éste trabajo.

A la M. en C. Francisca Iturbe Chiñas y al Q.F.B. Juan Diego Ortiz Palma Pérez, por pertenecer a mi honorable jurado, por haber dedicado su tiempo en la revisión de éste trabajo y hacerme las observaciones y sugerencias pertinentes del mismo, las cuales fueron muy importantes para su mejora.

Al M. en C. Ricardo López por haberme ayudado, enseñándome el manejo del HPLC y por tus consejos, los cuales fueron de mucha utilidad.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a sus profesores, por haberme dado los conocimientos y las herramientas necesarias para mi vida profesional, por formarme como profesionista y por la oportunidad de formar parte ella durante estos años.

DEDICATORIAS:

A mis padres, Antonio Arzate y Leticia Ruiz, y a mis hermanos Bere y Jesús por haberme apoyado a lo largo de mi carrera profesional, darme su amor, cariño, consejos y comprensión en todo momento. Son quienes me han enseñado que todo se puede lograr si se lucha constantemente por ello. Gracias por darme el ejemplo de la fuerza, la lucha, la unión, el respeto y sobre todo el amor para salir adelante. Gracias por estar conmigo siempre. Los amo y los admiro.

A la familia Macias Ruiz, a ti tía Paty por todos los cuidados, consejos, tolerancia y apoyo durante mi infancia; a la pequeña Montse y Armando por estar aquí. Gracias.

A mi tía Blanca y mis primas Guerty y Lourdes, ya que siempre han estado apoyándonos en los momentos difíciles. Que Dios las bendiga.

A toda la familia Arzate. Gracias

A Luis por estar conmigo y por compartir todos los momentos, por hacer tuya ésta experiencia y apoyarme.

A mis amigos Paola, Minerva, Teresa, Vero, Ricardo, Cristina, Javier, Damián, Ranferi y Bernardo, ya que con ustedes he compartido momentos importantes a lo largo de la carrera y espero que siga siendo así.

A mis amigos y compañeros de 321 Francisco, Berenice, Claudia, Esther, Alicia R., Alicia C. y Nancy, por haber compartido con ustedes cada día de ésta etapa y por el apoyo que nos hemos brindado.

A todas aquellas personas que me han brindado su amistad, cariño y apoyo durante mi vida.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
Objetivos.....	3
CAPITULO I: ANTECEDENTES.....	4
1.1 Alimentos Funcionales.....	4
1.1.1 Origen del concepto de Alimento Funcional.....	4
1.1.2 Definición de Alimentos Funcionales.....	4
1.1.3 Definición de Compuestos Bioactivos.....	5
1.1.4 Efecto de los Alimentos Funcionales en la salud.....	6
1.1.5 Efecto de los Alimentos Funcionales en la salud.....	11
1.1.5.1 Isoflavonas	13
1.1.5.2 Tocoferoles.....	14
1.1.5.3 Compuestos Fenólicos.....	14
1.1.5.4 Flavonoides	16
1.1.5.5 Fibra Dietética	19
1.1.5.6 Carotenos.....	21
1.1.5.7 Ácido ascórbico	24
1.1.5.8 Fitoesteroles.....	25
1.2 El nopal.....	27
1.2.1 Generalidades.....	27
1.2.2 Clasificación botánica.....	29
1.2.3 Composición Química del Nopal	29
1.2.4 Producción.....	32
1.2.5 Usos.....	35
1.2.5.1 Fármacos y cosméticos.....	35
1.2.5.2 Producción de cochinilla.....	36
1.2.5.3 Forrajero.....	36
1.3 Deshidratado de alimentos.....	37
1.4 Normatividad existente para los alimentos funcionales.....	40

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
2.1 Diagrama de Flujo.....	45
2.2 Reactivos.....	46
2.3 Equipo.....	47
CAPÍTULO III: DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	48
PARTE I	
3.1 Materia Prima.....	48
3.2 Preparación de la muestra.....	48
3.3 Determinación del contenido de humedad.....	49
3.4 Determinación Cualitativa.....	49
3.4.1 Flavonoides.....	49
3.4.2 Fitoesteroles.....	49
PARTE II	
3.5 Determinación Cuantitativa.....	50
3.5.1 Fenoles Totales.....	50
3.5.2 Flavonoides Totales.....	50
3.5.3 Flavonoles Totales.....	51
3.5.3.1 Perfil de flavonoles.....	52
3.5.4 Carotenos Totales.....	52
3.5.4.1 Determinación del perfil de carotenos.....	53
3.5.5 Ácido ascórbico.....	53
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
PARTE I	
4.1 Determinación del contenido de Humedad.....	55
4.2 Determinación Cualitativa.....	55
4.2.1 Determinación cualitativa de flavonoides.....	55
4.1.2 Fitoesteroles.....	59
PARTE II	
4.3 Determinación Cuantitativa.....	61
4.3.1 Fenoles Totales.....	61
4.3.2 Flavonoides y flavonoles	63

4.3.3 Carotenos	68
4.3.4 Ácido ascórbico.....	71
4.4 Cantidad recomendada de los polvos de nopal.....	73
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES.....	76
CAPÍTULO VI: ANEXOS.....	77
ANEXO I CURVAS PATRON.....	77
ANEXO II CROMATOGRAMAS HPLC.....	80
BIBLIOGRAFÍA.....	84

RESUMEN

En la actualidad la nutrición está experimentando un veloz cambio debido a que los consumidores buscan aquellos productos en el mercado que, además del valor nutritivo, aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo para mantener su salud y bienestar. Los alimentos que ayudan a prevenir enfermedades y a mantener la salud han sido denominados “Alimentos Funcionales”; éstos contienen compuestos bioactivos como: fibra dietética, tocoferoles, isoflavonas, polifenoles, flavonoides, flavonoles, ácido ascórbico, carotenos, clorofilas, vitamina E y fitoesteroles, entre otros, de los cuales algunos se encuentran en pequeñas cantidades. La mayoría de los compuestos antes mencionados, funcionan como antioxidantes por lo que pueden ayudar en la prevención de cáncer, cataratas, aterosclerosis y el proceso de envejecimiento; en la actualidad la clorofila se está estudiando como fuente de antioxidantes; los fitoesteroles producen efectos hipocolesterolémicos, por lo cual se les considera importantes aliados en la prevención de enfermedades cardiovasculares.

Por otro lado, en el nopal verdura se ha demostrado la presencia de algunos de estos compuestos. Con el aumento en el mercado de productos de nopal deshidratado, en este trabajo se evaluaron los siguientes compuestos: polifenoles totales, flavonoides, flavonoles (quercetina, kaempferol, isorhamnetina), carotenos (β -caroteno), ácido ascórbico y fitoesteroles, debido a que algunos de ellos se ha demostrado que son termolábiles y así observar el efecto que tiene sobre ellos el tratamiento térmico.

En una primera etapa se obtuvieron extractos enriquecidos con los compuestos bioactivos y se efectuó la determinación cualitativa por medio de CCF; en una segunda etapa se realizó la determinación cuantitativa por espectrofotometría del total de dichos compuestos así como el perfil de flavonoides y carotenos por medio de HPLC.

Las muestras deshidratadas conservaron en mayor cantidad los compuestos bioactivos determinados, en comparación con las muestras comerciales.

Con los resultados obtenidos se propone una ingesta diaria recomendada de los polvos de nopal deshidratado.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos funcionales son aquellos en forma natural o procesada que además de sus componentes nutritivos contienen compuestos bioactivos, los cuales se encuentran en pequeñas cantidades y tienen una función benéfica dentro del organismo.¹

Actualmente el consumidor está recibiendo abundante información acerca de las propiedades "saludables" de los alimentos, por estrategia de marketing de las empresas alimentarias. Estos alimentos, que promueven la salud, deben cumplir con tres condiciones:

1. Ser un alimento derivado de ingredientes naturales.
2. Puede ser consumido como parte de una dieta diaria.
3. Tener funciones particulares cuando se ingiere y servir para regular procesos específicos del cuerpo tales como: acrecentar mecanismos de defensa y prevención de enfermedades, entre otros.

En el nopal verdura se ha demostrado la presencia de algunos compuestos bioactivos como fibra dietética, polifenoles, flavonoides, flavonoles, carotenos, ácido ascórbico, fitoesteroles y clorofilas.⁷³

El nopal deshidratado, particularmente en cápsulas, es vendido por diversas empresas para regular el peso, reducir los niveles de glucosa en sangre, y como fuente de fibra.

La importancia de este trabajo es el análisis de los compuestos bioactivos que se encuentran presentes en el nopal y como se ven afectados por el tratamiento térmico, por lo que se tiene un mayor interés en el estudio de éstos compuestos. Estudios previos en nopal fresco han determinado la presencia de polifenoles, flavonoides, flavonoles, fibra dietética, carotenos, ácido ascórbico, esteroides y clorofila.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Determinar el perfil de los compuestos bioactivos en muestras de nopal deshidratadas mediante tratamiento térmico y liofilización, así como en muestras comerciales, para conocer el efecto que tiene el tratamiento térmico sobre dichos compuestos.

Objetivos Particulares

- Determinar cualitativamente mediante la presencia de flavonoides y fitoesteroles.
- Cuantificar el total de los compuestos bioactivos.
- Determinar el Perfil de los siguientes compuestos bioactivos: flavonoides (quercetina, kaempferol, isorhamnetina) y carotenos (β -caroteno).
- Determinar el método de deshidratado que conserva los compuestos bioactivos a un menor costo.
- Proponer una dosis de los polvos de nopal que aporten los compuestos bioactivos a las concentraciones recomendadas para prevenir y/o tratar algunas enfermedades.

CAPITULO I. ANTECEDENTES

1.1 Alimentos Funcionales

1.1.1 Origen del concepto de Alimento Funcional

El término de Alimento Funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80's, con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos para uso específico de salud" y se refiere a aquellos alimentos en forma natural o procesada que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona.

En países occidentales la historia de estos alimentos se remota a las primeras prácticas de fortificación con vitaminas y minerales, así como también a la adición de componentes en los alimentos procesados, con el objeto de complementar alguna deficiencia de la población.¹

1.1.2 Definición de Alimentos Funcionales

Actualmente existe una variedad de definiciones del término "alimentos funcionales" (AF), generadas por diferentes organismos, los cuales es conveniente revisar para establecer un marco conceptual que permita estudiar los efectos del consumo de estos alimentos en el contexto de la situación actual. El término alimentos funcionales no es una categoría de alimento legalmente reconocida en Estados Unidos y Canadá.

- Europa: "Aquel alimento que satisfactoriamente ha demostrado afectar benéficamente una o mas funciones específicas en el cuerpo, mas allá de los efectos nutricionales adecuados en una forma que resulta relevante para el estado de bienestar y salud o la reducción de riesgos de enfermedad". (ILSI, International life science institute).⁶
- EU: "Las sustancias específicas de los alimentos pueden favorecer la salud como parte de una dieta variada". FDA.¹

- Canadá: “Preparaciones purificadas que declaren efectos benéficos en la prevención o tratamiento de enfermedades se consideran medicamentos. Ministerio de salud”.⁷
- Japón: “Alimentos para uso específico de salud (FOSHU): Se refiere aquellos alimentos procesados los cuales contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutrimental”. Ministerio de Salud y Bienestar del gobierno japonés.⁵

Otros términos creados para caracterizar los “alimentos funcionales” son:

- Fármaco alimentos
- Fitoalimentos, fitonutrientes
- Alimentos inteligentes
- Alimentos terapéuticos
- Alimentos de valor añadido
- Prebióticos/Probióticos
- Fuentes fitoquímicas

Hoy en día, una de las propuestas de mayor aceptación para alimentos declarados funcionales es:

*“Cualquier alimento o parte de un alimento, en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales (compuestos bioactivos) que favorecen la salud, la capacidad física y el estado mental, ayudando también a la prevención, reducción y tratamiento de enfermedades”.*¹⁷

1.1.3 Definición de Compuestos Bioactivos

Son constituyentes extra nutricionales presentes en alimentos en pequeñas cantidades; han sido estudiados para evaluar sus efectos sobre la salud. Estos compuestos han sido agrupados por su variación en estructura química y función. Dentro de estos compuestos se encuentran: polifenoles, flavonoides, fitoestrógenos, carotenos, compuestos organosulfurados, esteroides, β -glucano,

isotiocianatos, monoterpenos, vitaminas, fibra dietética, oligosacáridos, prebióticos, tocoferoles, entre otros.⁶⁰

1.1.4 Efecto de los Alimentos Funcionales en la salud

Expertos han opinado que muchas de las enfermedades crónicas que afligen a la sociedad de un modo particular (cáncer, obesidad, hipertensión, trastornos cardiovasculares) se relacionan de manera estrecha con la dieta alimenticia y el envejecimiento.^{1, 51, 62} Recientemente, la evidencia científica que sostiene el papel de los alimentos, así como de los compuestos bioactivos en la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades se ha incrementado.⁶²

Los alimentos son excelentes fuentes de compuestos bioactivos (tabla 1), en su gran mayoría son antioxidantes e incluso pueden tener efectos sinérgicos con algunos nutrimentos. No ejercen un papel nutricional, puesto que no se trata de sustancias indispensables para el organismo, su consumo supone una protección adicional contra la acción nociva de sustancias provenientes de la dieta y del entorno ambiental y que afectan la salud de la población.⁶

Tabla 1. Alimentos Funcionales y sus ingredientes⁶²

Alimento	Compuestos bioactivos
Frutas	Vitaminas, flavonoides, ácidos polifenólicos, fibra, carotenos, monoterpenoides
Vegetales	Vitaminas, flavonoides, ácidos polifenólicos, carotenos, isotiocianatos, ácido fólico
Aceite de vegetales	Vitamina E, tocotrienoles
Cereales	Fibra, alfa tocoferoles, ácido fólico, selenio
Granos, frijoles	Fibra, ácidos polifenólicos, vitamina E, ácido fólico, Ácido fólico, fitoestrogenos, isoflavonas, lignanos
Té	Fenoles, catequinas
Café	Ácidos polifenólicos, diterpenos, melanoidinas
Vino	Flavonoides

En cada alimento existen diversos compuestos bioactivos que en cantidades adecuadas traen beneficios a la salud. En la figura 1 se presentan algunos vegetales con los posibles compuestos que contienen para ayudar a prevenir diversos tipos de cáncer.

Figura 1. Vegetales que ayudan a prevenir el cáncer



Dentro de las moléculas responsables de ésta propiedad se encuentran diversos compuestos entre los cuales están los flavonoides, carotenos, ácido caféico, resveratrol, catequinas, eugenol, isoflavonas. Algunas se muestran en la figura 2.

Figura 2. Algunas moléculas responsables de la prevención de cáncer

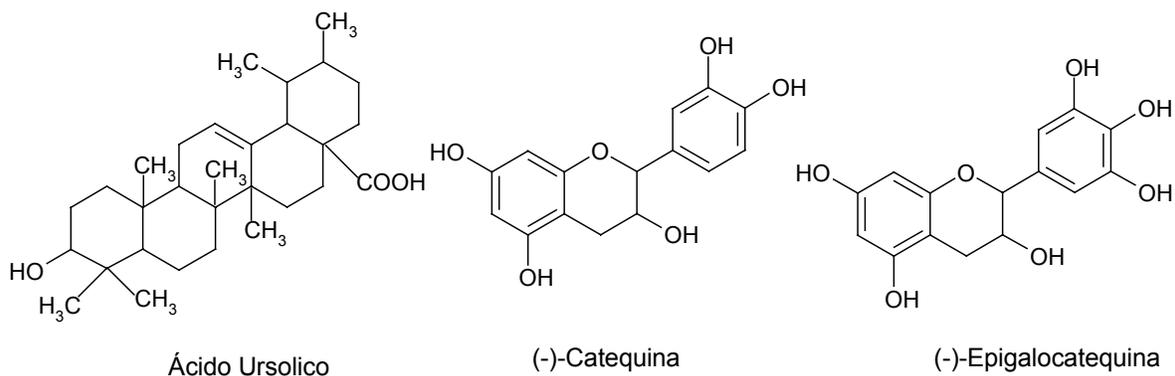
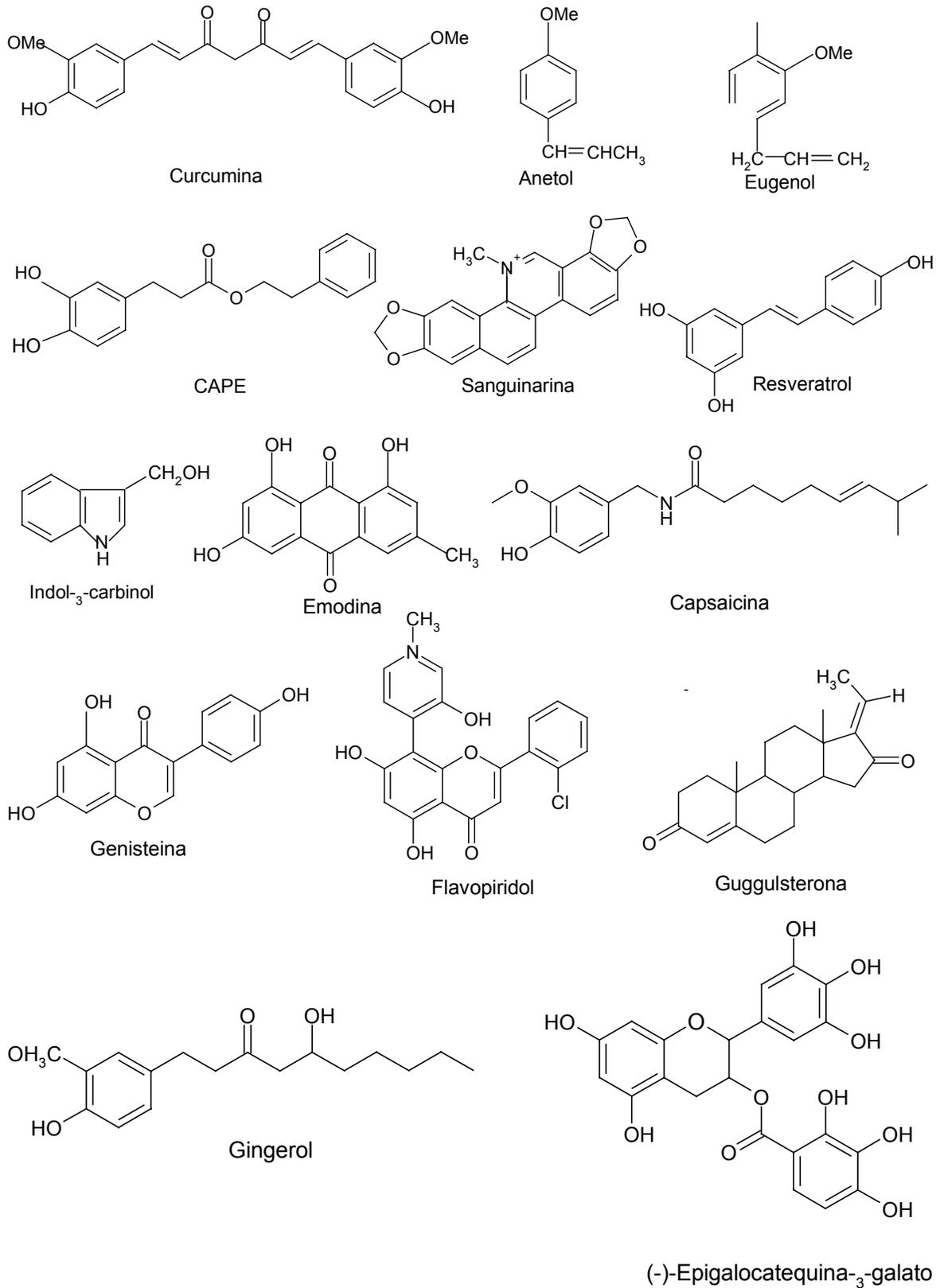


Figura 2. continuación



No existen alimentos buenos o malos, simplemente existen buenas o malas dietas. Una buena dieta es rica en frutas y vegetales que aportan cantidades suficientes de sustancias nutritivas que inhiben la formación de carcinógenos y reduce la proliferación células dañadas.⁶²

Un ejemplo de dieta buena es la del mediterráneo (tabla 2), la cual a través de investigaciones nutrimentales, ha sido asociada a la longevidad, lo cual puede ser atribuido a los alimentos que la conforman, ya que consumen un alto contenido de antioxidantes, fibra dietética y bajo consumo de carbohidratos y lípidos.

Tabla 2. Ingesta diaria de macro y micro nutrimentos en el menú mediterráneo⁷⁵

Componente	Ingesta diaria
Proteína	74.5g
Lípidos totales	110.7g
Fibra dietética	29.8g
Carbohidratos	255.8g
Etanol	14g
Ácidos grasos	104.9g
Esteroles totales	256.8mg
Carotenos totales	65.7mg
Flavonoles totales	37.2mg
Flavonoides totales	79.01mg
Potasio	1774mg
Sodio	2632mg
Calcio	696mg
Magnesio	234mg
Hierro	14.9mg
Zinc	10.3mg
Cobre	3.80mg
Manganeso	3.51mg

Los estudios muestran que ésta dieta se basa en las siguientes características:

1) Alto consumo de aceite de olivo, legumbres, cereales sin refinar, frutas y vegetales; de moderado a alto consumo de pescado; 2) Moderado consumo de productos lácteos y vinos; 3) Bajo consumo de carnes y productos cárnicos.

Algunos beneficios encontrados a esta dieta son:

- Reducción total de mortalidad asociada a enfermedades del corazón y cáncer.
- En la mayoría del continente Europeo se encontró una asociación con el incremento en la supervivencia de adultos mayores.
- Se observó que el apego de pacientes con enfermedades coronarias a esta dieta en diversas poblaciones muestra una reducción en la mortalidad.
- El consumo de esta dieta está inversamente asociada con la presión arterial alta.
- La ingesta de esta dieta no afecta sustancialmente el índice de masa corporal, por lo que la prevalencia alta de sobrepeso en países mediterráneos es debida a la inactividad en conjunto con un exceso en el consumo de calorías.⁷⁵

Además de los beneficios que se han asociado a esta dieta, se cuenta con diversos estudios epidemiológicos, estudios *in vivo* e *in vitro*, que han demostrado una asociación inversa entre la prevalencia de diversas enfermedades como el cáncer, la diabetes, enfermedades del corazón, hipertensión, obesidad y el consumo de frutas, verduras, cereales integrales, leguminosas y diversos compuestos bioactivos.

1.1.5 Efecto de los Compuestos Bioactivos en la salud

Existen diversos compuestos bioactivos distribuidos en la naturaleza y para la mayoría de ellos se ha establecido una ingesta diaria recomendada (IDR), así como el beneficio potencial que tienen en el organismo. En la tabla 3 se muestran algunos compuestos, los alimentos que los proveen, la IDR establecida y su beneficio potencial de manera resumida.

Tabla 3. Ejemplos de compuestos bioactivos en alimentos funcionales^{7, 20, 29, 39, 48, 49}

Compuestos y Alimentos Funcionales	Fuentes	IDR	Beneficio potencial
Organosulfurados	Ajo, cebolla, puerro	No reportado	Disminuye colesterol total, y colesterol LDL, disminuye triglicéridos, presión sanguínea, trombosis, tiene actividad antioxidante.
Isotiocianatos	Brócoli, berro	No reportado	Disminuye la iniciación de tumores y su crecimiento, disminuye la activación carcinógena.
Aceite de Olivo	Aceite de olivo extra virgen	No reportado	Tiene actividad antioxidante y disminuye la oxidación del colesterol LDL
Monoterpenos	Aceite esencial de frutas cítricas, menta, cerezas, hierbas y de soya	No reportado	Disminuye el colesterol total y el LDL, disminuye la iniciación de tumores y su crecimiento.
Cumestanos	Clavo, aceite de linaza, alfalfa	No reportado	Disminuye niveles de colesterol LDL en sangre, tiene actividad antioxidante, funciona como estrógeno.
Proteínas de soya: Fitoestrógenos Isoflavonas	Frijoles de soya, alimentos a base de soya	60mg	Síntomas de la menopausia, Protege contra enfermedades del corazón y algunos tipos de cáncer, disminuyen LDL y colesterol total
Resveratrol	Uva, vino tinto, cacahuate	25µmol	Disminuye oxidación LDL-Colesterol, disminuye síntesis de eicosanoides, tiene actividad antioxidante.

Tabla 3. Ejemplos de compuestos bioactivos en alimentos funcionales
(continuación)^{7, 20, 29, 39, 48, 49}

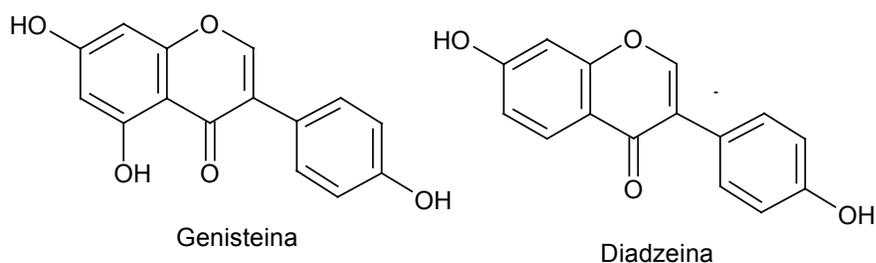
Compuestos y Alimentos Funcionales	Fuentes	IDR	Beneficio potencial
Lignanos: Taninos Proantocianidinas	Vegetales, lino, centeno, cocoa, chocolate, arándano,	No reportado	Mejora la salud del tracto urinario. Reduce riesgo de enfermedades cardiovasculares.
Carotenos: α-caroteno, β-caroteno, Luteína y Licopeno	Zanahorias frutas, vegetales, productos de jitomate	1.9mg/día, 6.54mg/día, 6.15mg/día	Neutraliza radicales libres, los cuales pueden causar daño en las células. Reduce riesgo de degeneración muscular. Reduce riesgo de cáncer próstata.
Fibra Dietética: Fibra insoluble Beta glucanos Fibra soluble	Salvado de trigo y avena	15-40g/día	Reduce riesgo de padecer cáncer de seno o colon. Reduce riesgo de enfermedades cardiovasculares.
Ácidos Grasos Ácidos grasos Omega-3 DHA/EPA Ácido linoléico conjugado (ALC)	Aceite de atún y otros pescados	3.6mg/día ALC	Reduce riesgo de enfermedades cardiovasculares. Mejora funciones mentales y visuales. Mejora la composición de la grasa corporal y disminuye el riesgo de ciertos tipos de cáncer.
Flavonoides: Antocianidinas Catequinas Flavononas Flavonas	Frutas, té, cítricos y vegetales	218mg/día USA 553mg/sem Dieta del Mediterráneo	Neutraliza radicales libres, reduce el riesgo de cáncer.
Fitoesteroles: Esteroles Estanoles	Maíz, soya, aceites, verduras, frutas	160- 400mg/día 1g/día	Disminuye niveles de colesterol en sangre inhibiendo la absorción de colesterol.
Prebióticos / Probióticos: Fructo oligosacáridos (FOS)	Alcachofas, polvo de cebolla. Yogurt, otros productos lácteos	6-12g/día Colesterol 3-10g/día	Mejora calidad de microflora intestinal y la salud gastrointestinal.

Es importante conocer más a cerca de los compuestos bioactivos mencionados en la tabla 3, por lo que a continuación se presenta la definición, estructura química, función biológica y actividades farmacológicas ya estudiadas de algunos de ellos.

1.1.5.1 Isoflavonas

Los fitoestrógenos están divididos en tres clases: isoflavonas, cumestanos y lignanos, estructuralmente todos son compuestos di-fenólicos y son similares al estrógeno. Las isoflavonas, genisteina y dadzeina (figura 3), se encuentran predominantemente en los frijoles de soya.

Figura 3. Estructura de Isoflavonas



Las isoflavonas son los fitoestrógenos más estudiados por su relación con la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares.²⁰ Las isoflavonas funcionan de forma similar a los flavonoides ya que bloquean efectivamente las enzimas que promueven el crecimiento de tumores y aparentemente actúan también como hormonas.

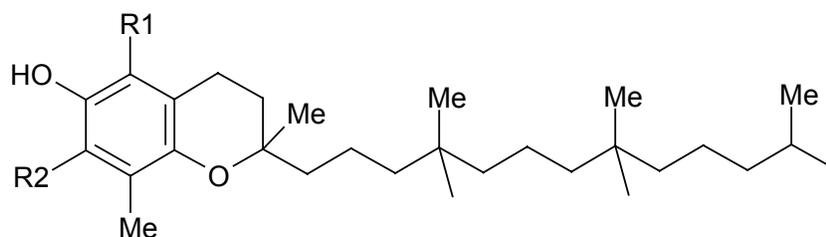
Son mejor conocidas por sus efectos antitumoríficos en cáncer de la glándula mamaria en animales experimentales. Genisteina y daidzeina son “fitoestrógenos”, esto es débiles agonistas del estrógeno y pueden actuar como tal, especialmente en mujeres con bajos niveles de estrógeno. Ambas compiten con y bloquean el receptor hormonal normal y en esta forma interfieren con los efectos de crecimiento de las hormonas naturales.^{17, 40}

Estudios clínicos que han demostrado buenos efectos fisiológicos en humanos han sido limitados a estudios epidemiológicos o dietéticos y en éstos han examinado los efectos en los síntomas de la menopausia, en la función cardiovascular y la regulación endocrina en el ciclo menstrual. Estos estudios han mostrado efectos que pueden ser interpretados como benéficos para la salud.²⁸

1.1.5.2 Tocoferoles

Los tocoferoles son los antioxidantes liposolubles naturales más potentes y son reconocidos por su eficiente efecto inhibitorio de los procesos de oxidación de lípidos en alimentos y en sistemas biológicos.⁴⁶ Los tocoferoles se encuentran en semillas oleaginosas, hojas y otras partes verdes de plantas. El alfa tocoferol se encuentra principalmente en los cloroplastos de las células vegetales, mientras que sus homólogos beta, gamma y delta (figura 4) se encuentran fuera de éstas células.

Figura 4. Tocoferoles



Tocoferoles α -tocoferol: R1= CH₃, R2= CH₃; β -tocoferol: R1= CH₃, R2= H;
 γ -tocoferol: R1= H, R2= CH₃; δ -tocoferol: R1= H, R2= H

Puesto que la vitamina E y sus homólogos, los tocoferoles y tocotrienoles, son sintetizados sólo en plantas, éstos compuestos constituyen nutrientes muy importantes en la dieta del hombre y otros animales mayores.

La actividad antioxidante de los tocoferoles y tocotrienoles es debido principalmente a su habilidad para donar sus hidrógenos fenólicos a los radicales libres. Aunque generalmente se acepta la idea de que la actividad auto oxidante relativa de los tocoferoles es en el siguiente orden: alfa, beta, gamma y delta, existe una confusión general en relación a su potencia relativa *in vitro*.¹⁷

1.1.5.3 Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos o polifenoles son considerados metabolitos secundarios de las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar, algunas veces ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y otros compuestos fenólicos¹³ unidos a los grupos hidroxilos y se encuentran distribuidos en los tejidos y células vegetales, variando considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular.³

Sus principales funciones en las células vegetales son actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción y como agentes protectores frente a la acción de patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa.¹⁴

Es evidente que algunos compuestos fenólicos son metabolizados en el tracto gastrointestinal. En el colon, las agliconas son absorbidas a través del epitelio intestinal y metiladas y/o conjugadas con ácido glucurónico o sulfato en el hígado. El principal órgano involucrado en el metabolismo de los polifenoles es el hígado, también están implicados los riñones y la mucosa intestinal, ya que contienen enzimas que intervienen en el metabolismo de los polifenoles.⁴⁴

Los compuestos fenólicos funcionan como antioxidantes naturales de los alimentos (inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas⁷⁹). Además la reacción de oxidación de estos compuestos hacia la formación de quinonas, catalizada por las enzimas polifenol oxidasas, produce un pardeamiento enzimático en los alimentos.⁴⁷

Para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante debe cumplir dos condiciones básicas. La primera es que cuando se encuentre en una concentración baja con relación al sustrato que va a ser oxidado pueda retrasar, enlentecer o prevenir la auto oxidación o la oxidación mediada por un radical libre. La segunda es que el radical formado tras el secuestro sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores. Entre los compuestos fenólicos con una

reconocida actividad antioxidante destacan los flavonoides, los ácidos fenólicos, taninos, resveratrol y cumarinas.^{60, 61}

A los compuestos fenólicos se les han atribuido actividades farmacológicas y médicas relacionadas con la prevención o mejora del estado de salud. Entre éstas destacan sus efectos vasodilatadores, anticarcinogénicos, anti-inflamatorios, bactericidas, estimuladores de la respuesta inmune, antialérgicos, antivirales, efectos estrogénicos e inhibidores de la fosfolipasa A2 y otras enzimas.²³ Los polifenoles pueden interferir en distintas etapas que conducen al desarrollo de tumores malignos al proteger al ADN del daño oxidativo, inactivando de este modo los carcinógenos, inhibiendo la expresión de los genes mutágenos y de la actividad de las enzimas encargadas de la activación de pro carcinógenos y activando los sistemas enzimáticos responsables de la detoxificación de xenobióticos.¹³

1.1.5.4 Flavonoides

Los flavonoides son productos metabólicos producidos en todas las plantas de pigmentos verdes. Han sido agrupados en: flavonoles, antocianinas, flavonas, isoflavonas, catequinas, proantocianidinas y auronas.

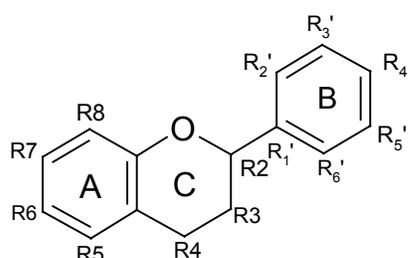
Desempeñan un papel importante en la biología vegetal, responden a la luz y controlan los niveles de la auxinas, reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas; otras funciones incluyen el papel antifúngico y bactericida, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización y tienen una importante capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre.⁴³

En su estructura química contienen un número variable de grupos hidroxilo y tienen la capacidad de deslocalizar el par de electrones, estabilizando el radical fenoxi formado después de la reacción con radicales lipídicos.

Poseen una gran capacidad antioxidante debido a la cantidad de grupos hidroxilo que tienen (figura 5 y figura 6),²⁶ estas propiedades permiten a la molécula actuar

como agente reductor, donador de átomos de hidrógeno y secuestrante de oxígeno singulete.⁴⁵ Por tal desempeñan un papel especial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías.⁴⁴ Los glicósidos de los flavonoles no son antioxidantes tan fuertes como su correspondiente aglicona.^{81, 28} Este hecho se debe a que la molécula de azúcar reduce la eficacia antioxidante de los grupos hidroxilos adyacentes.⁶⁰

Figura 5. Estructura básica de los flavonoides



Flavones: $R_4=O$

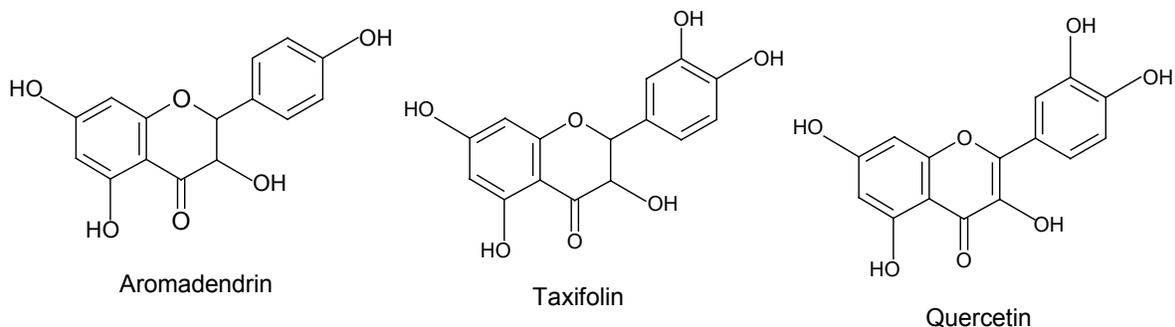
Flavonoles: $R_3=OH, R_4=O$

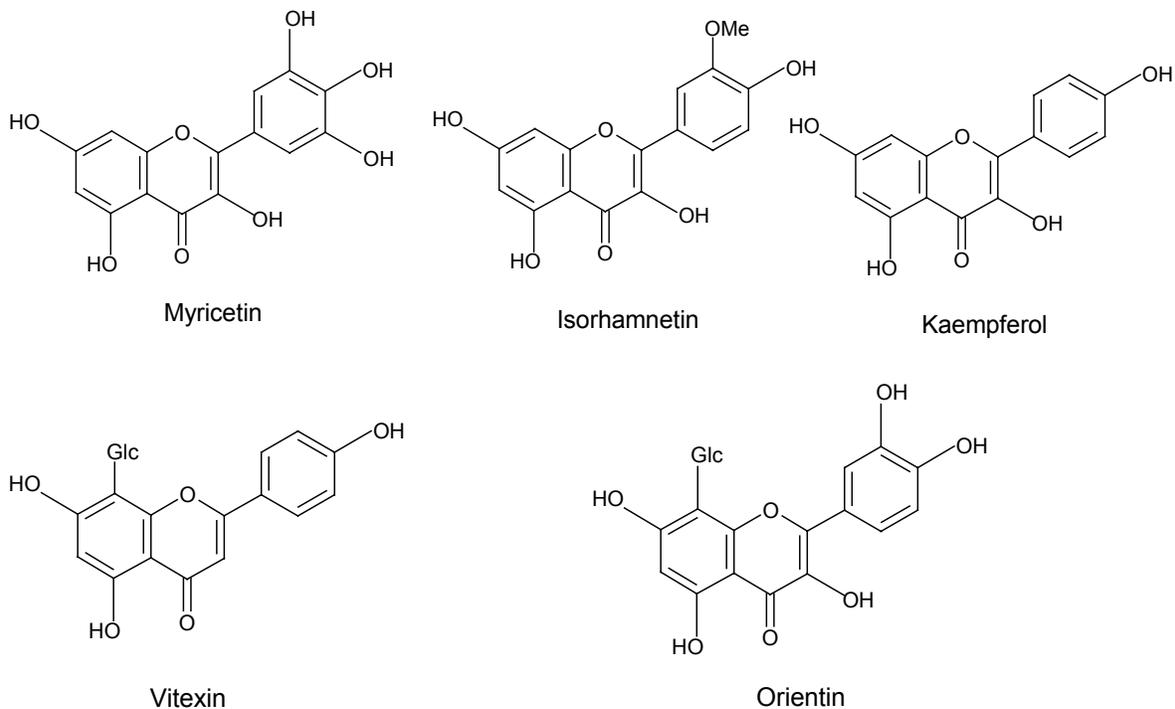
Flavonones: $R_3=H, R_4=O$

Flavanol: $R_3=OH, R_4=H$

Antocianidinas: $R_3=OH$

Figura 6. Estructura de algunos flavonoides





Los flavonoides no pueden ser absorbidos en el intestino ya que se encuentran en forma de glicósidos y unidos a proteínas. Solamente los flavonoides libres de azúcar son capaces de atravesar la pared intestinal, pero no se sintetizan ni están presentes en el intestino enzimas que puedan hidrolizar o romper las uniones β -glicosídicas. La naturaleza hidrofílica de los glicósidos y su relativo elevado peso molecular excluyen la absorción en el intestino delgado. La hidrólisis ocurre en el colon por microorganismos, los cuales al mismo tiempo degradan los flavonoides. La flora presente en el intestino produce glicosidasas capaces de liberar la aglicona de su azúcar.²⁷ Sin embargo estudios más recientes sugieren que la absorción de los flavonoides no se produce vía aglicona, se observó que los glicósidos de la quercetina eran absorbidos directamente a través de la pared del intestino delgado y a una mayor velocidad que la correspondiente aglicona. Se sabe que la quercetina de la dieta se absorbe en humanos y se elimina lentamente a lo largo del día, pudiendo de esta manera contribuir a las defensas antioxidantes presentes en el plasma.

Para los flavonoides se ha comprobado *in vitro* su potente capacidad de inhibir la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por los macrófagos y reducir la citotoxicidad de las LDL oxidadas. Estadísticamente las poblaciones que consumen productos ricos en flavonoides presentan menores riesgos de afecciones cardiovasculares.⁴² También se ha comprobado que los flavonoides polihidroxiados como la luteolina, la fisetina y la quercetina así como los flavonoides polimetoxilados nobiletina y tangeretina tienen actividad antiproliferativa contra varias líneas de células cancerígenas (leucemia, cáncer gástrico, de colon, de mama y de ovario).

1.1.5.5 Fibra Dietética

Se da el nombre de fibra dietética (FD) a la parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano, con una fermentación total o parcial en el intestino grueso. La FD incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y otras sustancias asociadas; se encuentra presente en diversas frutas, vegetales (tabla 4) y cereales.

Aunque no hay acuerdo pleno en lo que respecta a la nomenclatura y a los aspectos analíticos, a grandes rasgos las FD suelen dividirse en estructurales ó insolubles, no estructurales ó solubles y polisacáridos de algas. Las insolubles ó estructurales (FI) forman parte de la pared de la célula vegetal a la que confieren rigidez e incluyen ligninas, hemicelulosas, mananos, galactomananos, fructanos, celulosa y algunas pectinas.

Las solubles ó no estructurales (FS) son secreciones de la célula vegetal e incluyen gomas, mucílagos y muchas pectinas. Entre los polisacáridos de algas figuran el agar, la carragenina y los alginatos, sustancias muy utilizadas en la industria de los alimentos como espesantes.

Una dieta rica en fibra tiene baja densidad energética, frecuentemente tiene un bajo contenido en grasa, es voluminosa, y es rica en micronutrientes, todos estos

factores tienen efectos benéficos en la salud. Por ser un residuo no digerible, la mera presencia de FD en un alimento o dieta “diluye” los demás componentes y nutrimentos cuya concentración es menor de la que habría sin la presencia de FD. Se ha comprobado también que las FD tienen un impacto significativo en la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares, disminución de colesterol y glucosa en sangre, diabetes tipo II, estreñimiento y obesidad, ésta última es porque produce saciedad más temprana y duradera, lo que conduce a la postre a un consumo menor de alimentos a su vez más diluidos. Una baja ingesta de fibra ha sido asociada con una alta incidencia de enfermedades tales como hipertensión, enfermedades coronarias, desórdenes intestinales y cáncer en el tracto digestivo. Por otro lado grandes cantidades de FD puede tener un efecto negativo en la biodisponibilidad de algunos nutrientes.⁶⁵

En general las FD estimulan la salivación; además tienen las siguientes propiedades y efectos específicos.^{16, 6, 34, 55}

Fibra Insoluble:

- *Retención de agua.* Las hemicelulosas y ligninas absorben agua, lo que produce un aumento de volumen y suavidad de las heces, un tránsito intestinal más rápido y en menor presión intraluminal.
- *Intercambio catiónico.* Las ligninas son quelantes de sales biliares, tóxicos diversos, sustancias carcinogénicas y radicales libres, lo que explica su efecto positivo en relación con la hipercolesterolemia y la carcinogénesis.

Fibra Soluble:

- *Viscosidad.* Las gomas y pectinas elevan la viscosidad del contenido del tubo digestivo, lo que retrasa el vaciamiento gástrico y reduce o retarda la absorción intestinal de los nutrimentos como la glucosa y el colesterol así como el de las sales biliares; esto reduce el índice glicémico y la colesterolemia.
- *Fermentación fecal.* Las fibras solubles se fermentan completamente y la celulosa en un 50%, pero el resto de las fibras no se fermentan. La

fermentación eleva la población de microorganismos de la flora intestinal y con ello el volumen de la heces.¹⁶

Estudios, tanto en humanos, como en modelos animales, han demostrado que la pectina es uno de los principales componentes de la fibra alimentaria responsable de la disminución del colesterol, y que los suplementos de pectina en la dieta (15-20g/día) reducen los niveles de colesterol LDL en suero, pero no los de la fracción HDL.

En la tabla 4 se observa el contenido de fibra dietética, tanto soluble como insoluble en algunos vegetales, dentro de los cuales, el nopal ocupa el 5º lugar, de mayor a menor contenido de fibra dietética 3.5g/100g.

Tabla 4. Contenido de Fibra Dietética en vegetales (g/100g)⁶⁵

Alimento	FI	FS	FD
Cebolla cruda	1.2	0.1	1.3
Jitomate crudo	1.0	0.2	1.1
Calabacita cocida	1.4	0.1	1.5
Chile serrano	5.4	0.3	5.6
Espinaca cruda	2.6	0.3	2.88
Nopal cocido	2.7	0.8	3.5
Berros crudos	2.9	0.1	2.9
Ejote cocido	2.7	0.9	3.6
Perejil crudo	4.4	0.3	4.6
Alcachofa cocida	2.5	1.9	4.3

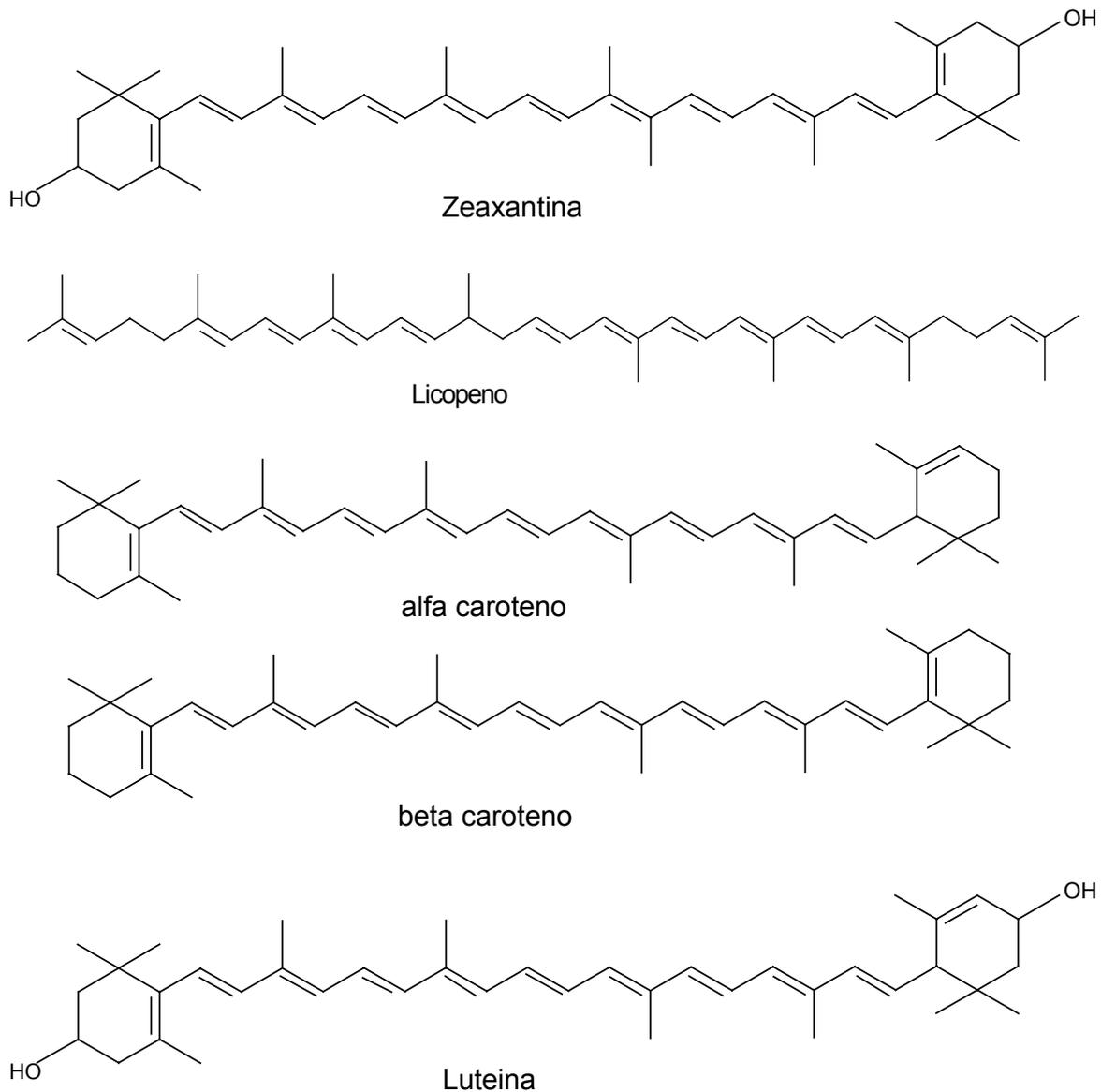
Nota: FI: fibra insoluble; FS: fibra soluble, FD: fibra total

1.1.5.6 Carotenos

Los carotenos son los pigmentos más ampliamente distribuidos en la naturaleza, han sido identificadas entre 500 y 600 especies tanto en organismos fotosintéticos como en no fotosintéticos: plantas, algas, hongos, bacterias.⁷³ Todos los carotenos

contienen dobles enlaces conjugados (figura 7) pero cada uno tiene diversas funciones.

Figura 7. Estructura de carotenos



En las plantas son utilizados para protegerse de la oxidación, especialmente en aquellas partes expuestas a las radiaciones luminosas.⁶

El papel más importante de los pigmentos carotenoides en la dieta humana y de otros animales es su capacidad para funcionar como precursores de la vitamina A.

Los carotenos tienen un efecto favorable para el sistema inmunológico y protegen a la piel contra la radiación ultravioleta.¹⁷

Estos compuestos tienen la capacidad de capturar radicales libres acil-peroxi, así como especies de oxígeno singulete, tienen una actividad máxima a concentraciones bajas, a niveles elevados presenta acción prooxidativa.^{21, 37} Si bien todos los carotenos contienen varios dobles enlaces conjugados (figura 7), cada uno tiene diferente capacidad antioxidante en el organismo humano.⁷⁴

El β -caroteno conjuntamente con el γ -caroteno, el licopeno y la luteína (que no tienen actividad como la vitamina A), se encuentran presentes en pimientos zanahorias, brócoli, nopal, espinacas. Parecen ofrecer protección contra el cáncer de pulmones, cáncer colorectal, cáncer de las glándulas mamarias, cáncer del útero y cáncer de próstata así como cataratas, aterosclerosis y proceso de envejecimiento.^{17, 21, 50}

El licopeno es un caroteno acíclico y está presente de forma abundante en uvas, jitomates, pimientos rojos y sandías. Al ser ingerido es almacenado en el hígado, los pulmones, la próstata, el colon y la piel por lo que estudios sugieren que éste caroteno podría reducir el riesgo a la degeneración muscular, oxidación de los lípidos séricos y el cáncer de los pulmones, de la vejiga, de la cervix y de la piel.

Las xantofilas dentro de las cuales encontramos la luteína, la zeaxantina, la cantaxantina, la criptoxantina y la astaxantina) se encuentran en nopal, brócoli, lechuga orejona, coles de bruselas y espinacas. Son importantes porque parecen ejercer una función protectora a favor de la vitamina A, la vitamina E y otros carotenoides, en contra de los procesos de oxidación. La criptoxantina podría tener un alto efecto protector para los tejidos vaginal, uterino y cervical.¹⁶ La luteína y la zeaxantina se encuentran en la retina, plasma y otros tejidos. El consumo de luteína está relacionada con la salud de la vista ya que se ha observado un efecto inverso relacionado con el riesgo de padecer enfermedades oculares, incluyendo la degeneración muscular relacionada con la edad y

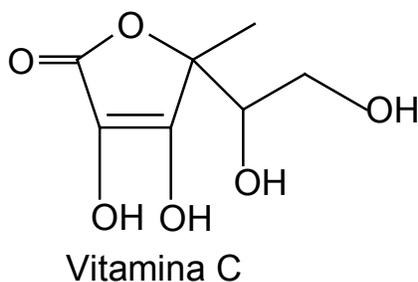
cataratas. Los beneficios de la luteína no terminan en la salud de la vista ya que estudios recientes sugieren que tanto la luteína como la zeaxantina pueden ayudar a mantener la salud del corazón reduciendo el riesgo de padecer aterosclerosis. La presencia de la luteína en la piel así como el consumo oral reducen el daño inducido por los rayos UV.²

En la actualidad es evidente que varios carotenos naturales pueden tener beneficio en la prevención de cáncer, ya sean solos o en combinación con otro tratamiento. En un estudio reciente, se probó que la administración de multacarotenos naturales (mezcla de licopeno, β -caroteno, α -caroteno y otros) con α -tocoferol causa una supresión del desarrollo tumoral en el hígado en pacientes con cirrosis.⁵⁰ Existe evidencia limitada que una suplementación de la dieta con licopeno disminuye los niveles de colesterol LDL (lipoproteínas de baja densidad) alrededor de un 14%, posiblemente por una inhibición de la síntesis de colesterol y un aumento en la degradación de lipoproteínas de baja densidad.²⁰

1.1.5.7 Ácido ascórbico ó vitamina C

El ácido L-ascórbico (AA) ó vitamina C es un compuesto muy polar y, por tanto, es muy soluble en disoluciones acuosas e insoluble en disolventes no polares.²¹ La solubilidad en agua y la poderosa capacidad reductora del ácido L-ascórbico se atribuyen a su estructura de enediol que se conjuga con el grupo carbonilo para formar una anillo de lactona (figura 8). El ácido ascórbico puede ser degradado por el oxígeno, la luz y el calor. Existe naturalmente exclusivamente en frutas y hortalizas.^{46, 62}

Figura 8. Estructura del ácido ascórbico



En la planta es utilizado para protegerla de la oxidación, especialmente en aquellas partes expuestas a las radiaciones luminosas.⁶

En alimentos que son particularmente ricos en ácido ascórbico, la destrucción del ácido ascórbico está generalmente asociada al pardeamiento no enzimático.⁴⁶

El ácido ascórbico es esencial para la formación de colágeno y es necesario para el desarrollo del cartílago, huesos y dientes, la cicatrización de heridas, la formación de hemoglobina y eritrocitos y las reacciones inmunológicas.

Se le ha atribuido al ácido ascórbico un papel como posible inhibidor del cáncer impidiendo la formación de agentes cancerígenos a partir de compuestos precursores. Estudios bioquímicos han sugerido que el ácido ascórbico impide la reacción en el tracto digestivo de los nitritos con aminos y amidas para formar nitrosaminas, que son potentes agentes cancerígenos, y previene la oxidación de determinados compuestos químicos a su forma activa cancerígena, también se han detectado asociaciones entre el consumo de alimentos ricos en éste compuesto y la reducción del riesgo de cáncer de esófago, estómago y cérvix.

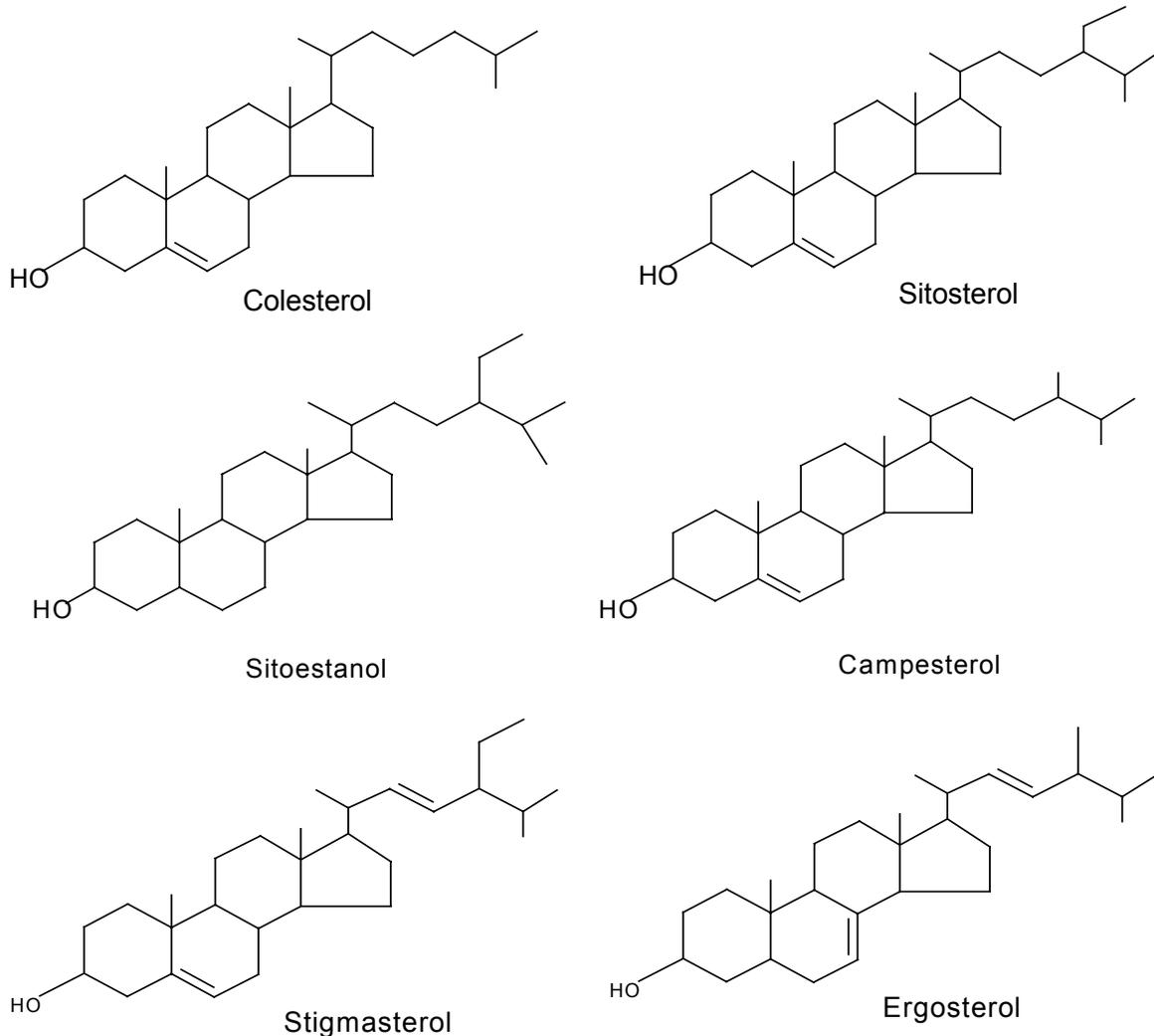
En estudios *in vitro*, el ácido ascórbico produjo una regresión de cambios malignos inducidos por tabaco en células de pulmón de hámster y ha incrementado la supervivencia de células tumorales ováricas expuestas a radiación.⁴⁷ De igual manera se ha encontrado que el ácido ascórbico al inhibir la degradación oxidativa de la quercetina *in vitro*, puede proteger a los flavonoides, actuando de forma sinérgica.⁴³

1.1.5.8 Fitoesteroles

Los fitoesteroles y sus formas reducidas, los fitoestanoles, son esteroides de origen vegetal ampliamente distribuidos en la naturaleza y cuya estructura es muy similar a la del colesterol (figura 9); el anillo de esteroide es común en todos ellos, y las diferencias están en la cadena del anillo ciclopentano.⁵⁸ Son particularmente abundantes en el reino vegetal: están presentes en los frutos, semillas, hojas y tallos de prácticamente todos los vegetales conocidos.⁶ En plantas hay más de

200 tipos de fitosteroles diferentes pero los más comúnmente encontrados y en mayores concentraciones son: β -sitosterol, campesterol y stigmasterol.^{38, 42}

Figura 9. Estructura de esteroles



Los esteroides son componentes esenciales de las membranas celulares y las plantas los producen.⁵⁷

La dieta es la única fuente para obtener los esteroides ya que no son sintetizados en el cuerpo humano.

Debido a que los fitosteroides son más lipofílicos que el propio colesterol, propiedad derivada de las características de mayor extensión y complejidad de la cadena lateral, los esteroides y los estanoles desplazarían competitivamente al colesterol desde la micela mixta por lo que producen efectos hipocolesterolémicos

cuando son ingeridos en el rango de 160-400mg/día, por lo cual se les considera importantes aliados en la prevención de las enfermedades cardiovasculares.¹¹ Este efecto es atribuido a tres acciones metabólicas: 1) Inhiben la absorción intestinal de colesterol por competencia en la incorporación del colesterol a las micelas mixtas, 2) Disminuyen la esterificación del colesterol en los enterocitos al inhibir la actividad de la enzima acil CoA-colesterol-acil transferasa y 3) Estimulan el flujo de colesterol desde los enterocitos hacia el lumen intestinal al aumentar la actividad y la expresión de un transportador de tipo ABC, formada por la acción de los fosfolípidos y de las sales biliares en el lumen intestinal.^{76, 77, 86} El colesterol no emulsionado (desplazado de la micela) no puede ser absorbido y es eliminado con las deposiciones.¹⁸ Es necesario destacar que el colesterol, a diferencia de otras moléculas, no se metaboliza, de modo que la única vía de eliminación es la intestinal.

No se han reportado efectos tóxicos derivados del consumo de fitoesteroles y fitoestanoles en animales y humanos,⁷⁶ pero no son recomendados en mujeres embarazadas y durante la lactancia, sin embargo no hay estudios sistemáticos que prueben efectos nocivos.¹⁰

1.2 El nopal

1.2.1 Generalidades

Los nopales son plantas perennes que florecen entre febrero y junio principalmente y se agrupan en dos géneros: *Nopalea* constituido por plantas que tienen los estambres más grandes que el perianto y *Opuntia* en el que los estambres son más cortos.¹² El nopal es una planta carnosa, arbusiva o arbóreas, de 1 a 5 m de altura, con tallos cilíndricos y ramas verdes integradas por fragmentos aplanados, oblongos, o de otra forma, llamados pencas, raquetas, artículos, cladodios y nopalitos cuando están pequeños e inmaduros. En esta fase, se presentan hojas pequeñas cilíndricas y curvas, en las pencas hay espinas y aguates (gloquidias) localizadas en las áreas llamadas areolas. Algunas se localizan en la parte superior formando las flores, que son grandes y hermafroditas

dotadas con un perianto de varias piezas de colores como rojo, anaranjado amarillo, rosa y púrpura (figura 10). Los aguates o gloquidias son 100% celulosa cristalina y las espinas están constituidas por 96% polisacáridos, de los cuales 49.7% corresponde a celulosa y 50.3% a arabinosa.⁴¹ Las espinas miden 1-3cm de largo y corresponden al 8.4% del peso total del cladodio y tienen como función la protección mecánica contra depredadores, producen sombra y protegen al tallo reflejando los rayos solares, condensan la humedad ambiental y la dirigen hacia las raíces donde es absorbida y de ésta forma reduce la pérdida de agua en la planta.

Figura 10. Nopal con frutos



Los frutos son bayas ovoides y carnosas de 3 a 12 cm de longitud de colores verde, amarillo, rojo, anaranjado, púrpura, conocidas comúnmente como tunas o xoconostles.⁷³

La planta del nopal tiene gran resistencia a la sequía y a las fluctuaciones extremas de temperaturas, así como su notable adaptabilidad a los suelos calcáreos y porosos. De hecho todo puede aprovecharse del nopal y sin embargo poca atención realmente se ha prestado a su cultivo y desarrollo a gran escala, su consumo se ha limitado a su distribución y consumo en fresco.

El cultivo comercial se exporta en Italia, España, México, Brasil, Chile, Argentina y California. Los cladodios han servido como forraje, fuentes de frutos, vegetales y de colores naturales y se emplean para cosméticos y medicamentos.⁷³

1.2.2 Clasificación Botánica

La taxonomía más utilizada para la clasificación de las cactáceas es el sistema de Britto y Rose la cual se muestra en la tabla 5:

Tabla 5. Clasificación botánica del Nopal¹²

REINO	Vegetal.
SUBREINO	Embryophyta.
DIVISIÓN	Angiospermae.
CLASE	Dicotiledónea.
SUBCLASE	Dialipétales.
ORDEN	Opuntiales.
FAMILIA	Cactáceas.
TRIBU	Opuntias.
GÉNERO	Opuntia.

El género *Opuntia* está formado por dos subgéneros, uno representado por las *Opuntias* de forma cilíndrica, mejor conocidas como cactus y clasificados como *Opuntia cylindropuntia* y el otro subgénero de forma aplanada a la cual pertenecen los verdaderos nopales cuyos frutos se conocen como “tuna” si tiene sabor dulce y “xoconostle” si tiene un sabor ácido y se les clasifica como *Opuntia platyopuntia*.¹²

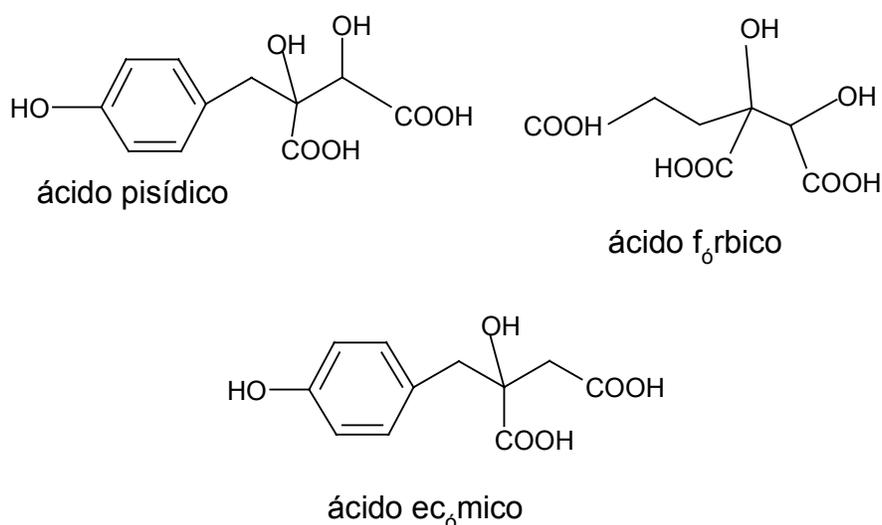
1.2.3 Composición Química del nopal

La composición de los cladodios varía por factores como el lugar de cultivo, la estación y la edad de la planta. Los cladodios jóvenes muestran altos contenidos de carbohidratos, proteína y agua. Dentro de la composición química del nopal

(tabla 6) encontramos un alto contenido de agua, que esta en el orden de 90-92.5%. Entre los minerales que contiene, los principales son el calcio (18-57mg) y el potasio (50mg) además de magnesio (11-17mg) en 100g b.s. y pequeñas cantidades de hierro y aluminio, entre otros. El nopal contiene también, en varias proporciones diferentes carbohidratos y compuestos nitrogenados.

El contenido de flavonoides en el nopal, varían de acuerdo a la variedad, tipo de tejido y estado de madurez. Los fenoles totales (97.6-109.76mg/100g b.s.) están constituidos por los flavonoides, flavonoles, ácidos fenólicos y otros ácidos orgánicos. Se ha encontrado que éstas cactáceas producen flavonol 3-O-glicósidos (quercetina, kaempferol e Isorhamnetina), mirecitina, vitexina y orientina (figura 6).⁷³ Entre otros compuestos se encuentran diversos ácidos orgánicos de los cuales se tienen reportes de que el ácido malónico y el ácido cítrico se encuentra en concentraciones de 36mg y 178mg/ 100g de peso fresco respectivamente. En contraste los cladodios viejos de *Opuntia ficus-indica* no contienen ácido malónico y presentan una disminución de ácido cítrico a 31mg/ 100g peso fresco. Existen otros ácidos tales como el ácido fórbico, piscidico y eucomico (figura 11) que han sido detectados cualitativamente pero no han sido cuantificados.⁷³

Figura 11. Estructura química de ácidos orgánicos poco comunes



En cuanto a la fibra dietética se ha reportado que se encuentran 18g/100g b.s. en el nopal fresco,⁷³ pero en estudios más recientes se determinó en nopal deshidratado a 60°C, donde se encontró que la fibra dietética total (FD) corresponde a 45.99g/100g b.s., de los cuales 5.01g/100g b.s. corresponden a fibra dietética soluble (FS) y 40.98g/100g b.s. a fibra dietética insoluble (FI), guardando una proporción FI/FS de 6-8, la cual se ha comprobado que en el intervalo de 1.0-2.3 brinda un efecto fisiológico asociado con ambas fracciones de fibra.¹⁵

Dentro de los compuestos encontrados en menor cantidad se tienen los carotenos (22.9 mg/100g b.s.), de los cuales el 36% corresponden a β -caroteno, 46% luteína y 18% α -criptoxantina, el ácido ascórbico se encontró en (268.3mg/100g b.s.); los esteroides (0.8-3.2g/100g b.s.) de los cuales el 86.7% corresponden a β -sitosterol y por último la clorofila total (152.44mg/100g b.s.), de la cual 115.85mg corresponden a clorofila a y 36.58mg corresponden a clorofila b.⁷³

Tabla 6. Composición Química de cladodios de *Opuntia sp*^{73, 35}

Compuesto	(g/100g base seca)
Agua	91.8
Proteína	4-10
Carbohidratos	64-71
Cenizas	19-23
Lípidos	1-4
Carotenos ^a	22.9mg
β -caroteno	8.244mg
α -criptoxantin	4.580mg
Luteína	10.076mg
Clorofila Total ^a	152.44mg
Clorofila a	115.85mg

Tabla 6. Composición Química de cladodios de *Opuntia sp* (continuación)^{73, 33}

Compuesto	(g/100g base seca)
Clorofila b	36.58mg
Fenoles totales ^a	97.6-109.76mg
Vitamina C ^a	268.3mg
Fibra ^a	18
Esteroles ^a	0.8-3.2
Niacina	5.61mg
Riboflavina	7.32mg
Tiamina	1.71mg
Minerales:	
Potasio	50mg
Calcio	18-57mg
Magnesio	11-17mg
Manganeso	6.2-10.3mg
Hierro	5.9-6.6mg
Zinc	2.2-2.7mg
Cobre	0.8-0.9mg
Energía	27.00 Kcal

^a compuestos bioactivos

1.2.4 Producción

Hoy en día las plantas *Opuntia* crecen en más de 30 países en aproximadamente en 100,000ha, los países más importantes son: México, Egipto, Italia, Grecia, España, Turquía, Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Perú, Israel, Jordania, Argelia, Marruecos e India, así como en el estado de California. México es el único país que siembra cladodios para uso comercial en 10,000ha aproximadamente, con una producción total de 600,000 tons por año.⁷³

La producción de Nopalitos a lo largo de la República Mexicana tiene un rendimiento de 660,939.4 tons por año y una superficie sembrada de 11,172.8ha. El Distrito Federal, específicamente la Delegación política Milpa Alta participa con un 38.8% de la superficie plantada y el 43% de la producción total nacional, seguida por el estado de Morelos con una superficie sembrada del 21.7% y una producción del 36% durante el año 2006. En la tabla 7 se muestran los 12 estados con la mayor producción anual publicados en la página de la SAGARPA.⁶⁶

En la actualidad se esta ampliando fuertemente el número de productores de nopalito a lo largo de la República Mexicana, que ya están surtiendo algunas de las cadenas comerciales, y un importante número de vendedores ambulantes que venden el producto en las colonias populares, principalmente. El nopal se vende principalmente en fresco en diferentes presentaciones; sin desespinar, desespinado entero y en cuadritos. En segundo término y en menor proporción el nopal se comercializa enlatado en escabeche y en salmuera, seguido de otro grupo de productores que lo deshidratan para obtener polvo para formar tabletas o cápsulas, o en su defecto harina de nopal para diferentes usos.⁷⁸

Tabla 7. Producción nacional de nopalitos⁶⁶

Fecha	<i>Información a Diciembre del 2006</i>			
Producto	NOPALITOS			
Ciclo	PERENNES			
Año Agrícola	2006			
Modalidad	RIEGO+TEMPORAL			
	Superficie Sembrada (Ha)	Superficie Cosechada (Ha)	Producción Obtenida (Ton)	Rendimiento Obtenido (Ton/Ha)
BAJA CALIFORNIA	631.5	177.5	5,093.4	28.695

Tabla 7. Producción nacional de nopalitos (continuación)⁶⁶

Estado	Superficie Sembrada (Ha)	Superficie Cosechada (Ha)	Producción Obtenida (Ton)	Rendimiento Obtenido (Ton/Ha)
DISTRITO FEDERAL	4,337.0	4,337.0	283,881.5	65.456
GUANAJUATO	179.9	173.9	3,805.5	21.883
HIDALGO	48.5	43.0	3,714.3	86.378
JALISCO	487.8	486.8	6,814.8	14.001
MEXICO	663.8	663.8	88,529.1	133.377
MICHOACAN	295.0	295.0	6,624.0	22.454
MORELOS	2,425.0	2,425.0	237,531.0	97.951
PUEBLA	119.0	111.0	7,685.5	69.239
SAN LUIS POTOSI	388.0	388.0	1,102.0	2.840
TAMAULIPAS	596.5	574.0	4,171.1	7.267
ZACATECAS	357.6	357.6	7,436.9	20.795

En cuanto al consumo se encuentra mayoritariamente el doméstico en fresco 99.0% de la producción, procesado en salmuera y escabeche 0.01%. El consumo del nopal es mayor en el centro del país, menor en el norte de México y casi nulo en las zonas costeras. La exportación en fresco es del 0.28% siendo principalmente a Estados Unidos, Canadá y cantidades mínimas a la Unión Europea y países orientales, la exportación del producto procesado en salmuera y en escabeche es del 0.57% y sólo el 0.14% se procesa para cosméticos y productos medicinales en México.⁵⁴

1.2.5 Usos

1.2.5.1 Fármacos y cosméticos

En México existen varios informes sobre el uso de las pencas de nopal para mitigar el dolor y curar inflamaciones. Algunas de las enfermedades y dolencias para las que son usadas las pencas de nopal son: gastritis, úlceras pépticas, fatiga y disnea, glaucoma, congestión e hipertrofia hepática (consecuencia del abuso del alcohol). Los cladodios desprovistos de sus espinas se parten a la mitad, se calientan y se utilizan para el tratamiento tópico de los dolores reumáticos, heridas recientes, las quemaduras, zonas inflamadas y las úlceras de piel crónicas.^{54, 46}

Los nopales en polvo particularmente en cápsulas (figura 11) son usados para regular el peso corporal, el azúcar en sangre, colesterol, triglicéridos y como fuente de fibra. Estudios han demostrado que al consumir nopales los niveles de glucosa e insulina se normalizan rápidamente y después de 10 días de su consumo antes de la cena hay una disminución significativa en los niveles de glucosa sérica.

El jugo obtenido de los nopales puede ser usado en shampoo, acondicionadores, lociones, jabones y protectores solares.⁷³

Figura 11. Presentación de nopal en polvo



1.2.5.2 Producción de cochinilla

La grana cochinilla es producida por el secado y molienda de la hembra adulta *Dactylopius coccus* Costa, los cuales son parásitos que habitan en los cladodios.

Su importancia radica en el aporte de colores rojo, naranja, violeta y rosa para alimentos, fármacos, cosméticos, textiles y muchos productos más (figura 12).

El carmín es el colorante con mayor difusión cualitativa en la industria alimentaria, ya que se emplea en caramelos, dulces, mermeladas, confituras, chicles y helados.^{59, 80}

Figura 12. Diversos aspectos de *Dactylopius* spp.



a) Grana cochinilla fina *D. coccus*, b) Productos coloreados con carmín, c) Cochinilla silvestre *D. confusus* y d) Estados inmaduros de los principales entomófagos de *Dactylopius* spp.

1.2.5.3 Forrajero

En periodos de sequía especialmente, el nopal silvestre sirve como suplemento forrajero para vacas, ovejas, chivos y entre otros, en países como México, Brasil, Chile, Marruecos, y al Sur de África, y en estados como Texas debido a que

cubren una cantidad considerable del agua que requieren los animales así como de minerales y la proteína recomendada.

En las épocas de sequía los forrajes tradicionales escasean y los existentes se vuelven sumamente caros, esto debido a la gran cantidad de agua requerida para obtener una buena producción. Los ganaderos que suplementan con nopal a su ganado (figura 13), por lo general les proporcionan un alimento de calidad aceptable.

Por otra parte el bajo contenido de fenoles y taninos de los nopales facilitan la digestión y aumentan la producción de carne.⁷³

Figura 13. Nopal para alimentación animal



1.3 Deshidratado de Alimentos

El deshidratado es un proceso en el que el agua se elimina para detener o aminorar el crecimiento de microorganismos perjudiciales, así como de ciertas reacciones químicas.

La eliminación de agua de los alimentos se consigue mayoritariamente utilizando aire seco (excepto para algunas operaciones tales como liofilización y deshidratación osmótica), que elimina el agua de la superficie del producto y obliga su salida de los tejidos por efecto de gradiente. El proceso de secado de alimentos no sólo afecta al contenido en agua, sino también a otras características

físicas y químicas. Entre las características utilizadas para describir los alimentos secos cabe citar la actividad de agua, isotermas de adsorción, deterioro microbiano, reacciones enzimáticas y no enzimáticas, fenómenos físicos y estructurales, así como destrucción de nutrientes y cambio de aroma y sabor.

Los cambios físicos, químicos y biológicos durante la operación de secado pueden aumentar ciertas características de los productos esperados, pero también pueden disminuir la cantidad de nutrientes, propiedades organolépticas, la actividad enzimática, deterioro microbiano, textura, viscosidad, dureza, aroma, gusto y sabor de los alimentos.

Sin embargo, con adecuado manejo, estas reacciones y cambios físicos pueden asegurar un alimento con un alto contenido en nutrientes y aumentar significativamente su vida media comercial (tabla 8).

El contenido total de humedad se puede determinar mediante un método gravimétrico. El porcentaje de humedad puede evaluarse por secado de una muestra pesada previamente hasta que su peso permanezca constante.

Los alimentos sensibles al calor pueden ser procesados por liofilización, técnica que se desarrolló para evitar las pérdidas de los compuestos responsables del sabor y aroma, que se producen en las operaciones convencionales de secado.

La liofilización consta de dos etapas: congelación y secado. La congelación debe ser muy rápida con el objeto de obtener un producto con cristales de hielo pequeños y en un estado amorfo. La etapa de secado se realiza a presiones bajas para permitir la sublimación del hielo.

Como consecuencia de la formación de hielo, se reduce el encogimiento del producto y se consigue una estructura esponjosa que permite una fácil rehidratación. Los componentes volátiles de los productos liofilizados son retenidos por atrapamiento en la matriz del alimento seco.

Después de la liofilización los volátiles son retenidos fuertemente en el material en unidades pequeñas, localizadas y uniformemente distribuidas en la matriz seca, conocidas como micro regiones.^{8, 30}

Tabla 8. Ventajas y desventajas del deshidratado⁸

	Tratamiento térmico	Liofilización
Ventajas	Ocupa menos espacio	La temperatura está por dejado a la que sustancias inestables sufren cambios químicos
	Es más ligero para el transporte	Mínima pérdida de constituyentes volátiles
	Tiene un tiempo mayor de vida de anaquel	Disminuye contaminación por microorganismos
	Disminuye la descomposición por reacciones enzimáticas	Elimina fenómenos de oxidación ya que opera y envasa a vacío
	Al tener más tiempo de vida se puede exportar	El producto se puede almacenar por tiempo ilimitado
	El producto tiene un valor agregado si conserva sus nutrimentos	Rápida reconstitución por adición de agua
Desventajas	Disminución de nutrientes	Costoso
	Disminución de Compuestos Bioactivos	Requiere personal calificado
	Mayor costo de procesado	Mantenimiento de equipo costoso
	Si no se controla la temperatura hay cambios indeseables en aroma, textura y sabor	Elevado costo de inversión de las instalaciones y equipo

1.4 Normatividad existente para los alimentos funcionales

El desarrollo de alimentos y compuestos de alimentos que proveen beneficios superiores a su valor nutritivo tradicional ha creado gran interés académico, comercial, regulatorio y público. Los productos que promueven la salud a través de una “nutrición óptima”, una mejora del funcionamiento físico y mental, y una reducción de factores de riesgo de enfermedad; representan a los nutracéuticos, alimentos funcionales y alimentos fortificados.²⁴

Un factor clave en el desarrollo de la industria de los alimentos funcionales es la aceptación del público consumidor, para ello se necesita que los consumidores estén convencidos de los beneficios a la salud que le brindan tales productos.

Los organismos reguladores sólo deben permitir el uso de declaraciones de salud cuando esté debidamente validado su efecto positivo. En ese sentido, es donde los sectores académicos y de investigación deben participar en el proceso de evaluar y autenticar el beneficio a la salud del alimento para que el etiquetado sea imparcial y fidedigno. Esta evaluación debe abarcar el estudio de la funciones orgánicas afectadas por el alimento y/o ingrediente funcional, incluyendo su papel en el mantenimiento de la salud o en la prevención de enfermedades, así como estudios de causa-efecto donde se evalúe la seguridad y la dosis.¹

Actualmente, Japón es el único país que tiene aprobada una regulación especial para el proceso de Alimentos Funcionales (AF), conocida como alimentos para uso específico de la salud (FOSHU), los cuales llevan un sello de aprobación.⁶ La regulación en relación con los alimentos saludables está siendo constantemente revisada y modificada, y constituye uno de los temas de mayor dinamismo en los organismos regulatorios y en la industria alimentaria. Este concepto se creó para proteger la salud de la población y fue desarrollado a principios de los 80's en Japón, a través del Ministerio de Salud y bienestar. Éste organismo también da la aprobación del etiquetado de alimentos enriquecidos ó alimentos para usos dietéticos especiales.⁷

De acuerdo a los japoneses, los “Alimentos funcionales” pueden clasificarse en tres categorías:¹⁷

1. Alimentos a base de ingredientes naturales.
2. Alimentos que deben consumirse como parte de la dieta diaria.
3. Alimentos, que al consumirse cumplen un papel específico en las funciones del cuerpo humano los cuales son:
 - Mejoramiento de los mecanismos de defensa biológica
 - Prevención o recuperación de alguna enfermedad específica
 - Control de las condiciones físicas y mentales
 - Retardo en el proceso de envejecimiento.

En Europa los sectores de los nutracéuticos, alimentos funcionales y fortificados han crecido significativamente durante la última década. La legislación actual de la Unión Europea (UE) no reconoce a los alimentos funcionales como una categoría distinta de los alimentos, como en Japón, esto es que los productos funcionales deben cumplir con toda la legislación de los alimentos como: etiquetado, especificar la composición, mensajes que aparecen en el envase, etc.

En el artículo 2 de la Regulación del Consejo Europeo (CE) No. 178/2002 se da la definición de un alimento completo o un ingrediente que debe ser tomado en cuenta debido a que tiene beneficios superiores a la nutrición básica ejemplo: (Hojuelas de grano entero con efecto hipocolesterolémico), el compuesto debe ser bien identificado y caracterizado. De acuerdo al Consejo Europeo (CE) las características de los alimentos funcionales son:

- Alimentos que se consumen como parte de la dieta normal.
- Tiene uno o más compuestos naturales algunas veces en diferentes proporciones.
- Tiene un efecto positivo en el organismo, superiores al valor nutrimental.
- Mantiene la salud en buen estado y/o reduce el riesgo de enfermedades o provee beneficios a la salud así como aumentar la calidad de vida ya sea física o psicológica.

Un alimento puede ser reconocido como “funcional” si éste ha demostrado afectar benéficamente una o más funciones específicas en el cuerpo, superior a la nutrición adecuada y normal, de una manera que mantenga la salud en buen estado o reduzca el riesgo de padecer enfermedades.²⁴

Estados Unidos no reconoce legalmente el término de alimentos funcionales, sin embargo el organismo rector en lo que se refiere a la aceptación y oficialización de los mensajes saludables, Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), ha hecho algunos cambios legislativos acerca de la información que deben contener la etiquetas de los productos relacionados con beneficios funcionales de los alimentos, en la tabla 9 se muestran ejemplos.⁶

Un consumidor bien informado, capaz de escoger sus alimentos, está en clara ventaja en relación al desinformado. Uno de los aspectos cruciales para el desarrollo y comercialización de los alimentos funcionales es la regulación existente acerca de los mensajes saludables que pueden llegar al consumidor. La forma de comunicación más directa corresponde a los mensajes saludables que se incluyen en el envase del producto o en el material anexo al producto o bien en la variadas formas de mercadeo del alimento.⁶ En Europa, los mensajes saludables en alimentos funcionales aún no están autorizados por las normas de la UE, pero los países concuerdan en criterios básicos acerca de los AF:

- Son alimentos no suplementos
- Deber ser seguros, inocuos
- No se acepta reivindicaciones médicas
- Su etiquetado o promoción no puede ser falso o inducir a engaño
- Las declaraciones deben referirse a acciones o efectos de un nutriente o de un componente alimentario reconocido y aceptado en forma general
- Los mensajes pueden ser el producto de un acuerdo internacional de la comunidad científica, y su texto dependerá del contexto cultural o sanitario de cada país en particular, bajo la responsabilidad de la autoridad de salud correspondiente.

En nuestro país, al igual que en Estados Unidos y Europa, no es aceptado legalmente el término “alimento funcional”, por tal motivo no existe todavía una norma que se utilice en la evaluación y control de estos alimentos, pero existen diversas instituciones probando su efecto benéfico en la salud.^{1, 6}

Tabla 9. Mensajes saludables aprobados por la FDA⁶

Relación dieta enfermedad	Ejemplo del mensaje
Calcio y osteoporosis	Ejercicio físico habitual y una dieta saludable con suficiente calcio ayuda a los adolescentes y a los adultos jóvenes y mujeres a mantener una buena salud ósea y podría reducir el riesgo de osteoporosis.
Sodio e hipertensión	Dietas bajas en sodio podrían reducir el riesgo de presión arterial alta, enfermedad asociada a diversos factores.
Grasa de la dieta y cáncer	El desarrollo del cáncer depende de muchos factores. Una dieta baja en grasa total podría reducir el riesgo de algunos cánceres.
Grasa saturada, colesterol y enfermedad cardiovascular	Aunque muchos factores afectan a la enfermedad cardiovascular, dietas bajas en grasa y colesterol podrían reducir el riesgo de esta enfermedad.
Fibra de granos, frutas, verduras y cáncer	Dietas bajas en grasa y ricas en fibra de granos, frutas y verduras podrían reducir el riesgo de algunos cánceres, enfermedad asociada a diversos factores.
Frutas, verduras y granos que contienen fibra, particularmente fibra soluble y enfermedad cardiovascular	Dietas bajas en grasa y colesterol y ricas en frutas, verduras y granos que contiene fibra soluble podrían reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular, enfermedad asociada a diversos factores.
Frutas, verduras y cáncer	Dietas bajas en grasa y ricas en frutas y verduras podrían reducir el riesgo de algunos tipos de cáncer, enfermedad asociada a muchos factores.
Folatos y defectos del tubo neural	Dietas saludables con adecuado aporte de folato podrían reducir el riesgo de dar a luz un niño con defectos del tubo neural.
Alcoholes azucarados y caries dentales*	La ingesta frecuente de alimentos altos en azúcares y almidones como snacks entre las comidas, pueden promover daño dental. Los alcoholes derivados de azúcares usados como edulcorantes en alimentos podrían reducir el riesgo de caries dentales.
Alimentos que contienen fibra de la avena entera y enfermedad cardiovascular	Dietas bajas en grasa saturada y colesterol que incluyen fibra soluble de la avena entera podrían reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular.
Alimentos que contiene fibra de <i>psillium</i> y enfermedad cardiovascular*	Dietas bajas en grasa saturada y colesterol que incluyan fibra soluble de la envoltura de la semilla de <i>psillium</i> podrían reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular.
Proteína de soya y enfermedad cardiovascular*	Dietas bajas en grasa saturada y colesterol que incluyan 25g de proteína de soya por día podrían reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular.
Esteroles vegetales y enfermedad coronaria*	Alimentos que contengan al menos 0.65g de esteroles vegetales por porción comestible, 2 veces al día, como parte de una dieta baja en grasa saturada y colesterol podrían reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular.
*Aprobados por la FDA a petición de la industria de los alimentos.	

2. Materiales y Métodos

La investigación se dividió en dos partes:

Primera parte

Se acondicionan las muestras a través de diferentes procesos térmicos obteniendo un pulverizado (tabla 10), al cual se le determinó el contenido de humedad final y se procedió a efectuar las extracciones sucesivas con disolventes de diferente polaridad para obtener los extractos crudos de las muestras.

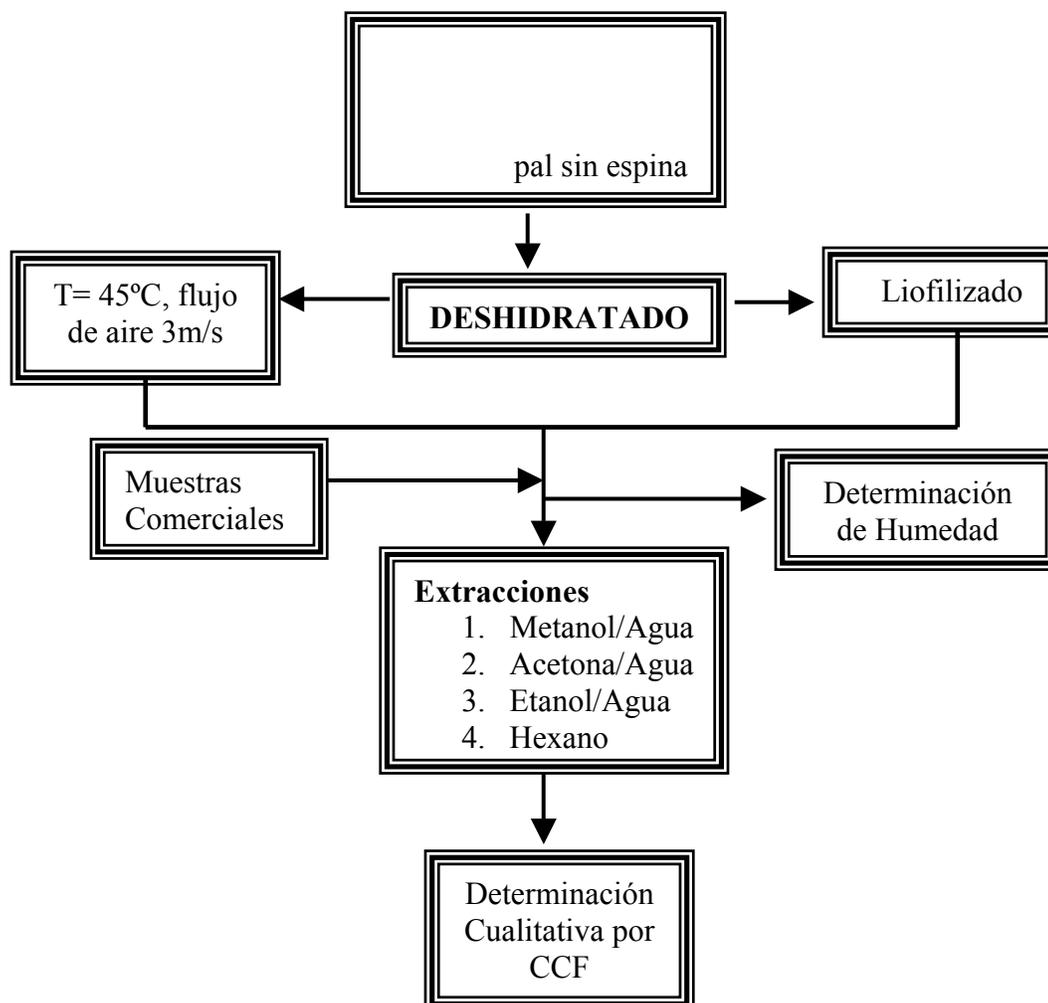
Tabla 10. Muestras obtenidas

Proceso de obtención	Muestras	Nomenclatura
Fresco	Nopal Fresco	NF
Liofilizado	Residuo Liofilizado	RL
Liofilizado	Nopal Liofilizado	NL
Deshidratado a 45°C	Residuo 45°C	R45°C
Deshidratado a 45°C	Nopal a 45°C	N45°C
Deshidratada a 55°C	Comercial 1	Comercial 1
Nopalzin	Comercial 2	Comercial 2
Nopa Lite	Comercial 3	Comercial 3
Sello Verde	Comercial 4	Comercial 4

Una vez que se tienen las muestras acondicionadas se realizó el análisis cualitativo de flavonoides y fitoesteroles mediante CCF.

En la figura 14 se puede observar el diagrama de trabajo para la primera etapa, que abarca el acondicionamiento de las muestras y la determinación cualitativa.

2.1 Diagrama de trabajo (1ª Parte): Figura 14. Acondicionamiento de la muestras y Determinación Cualitativa



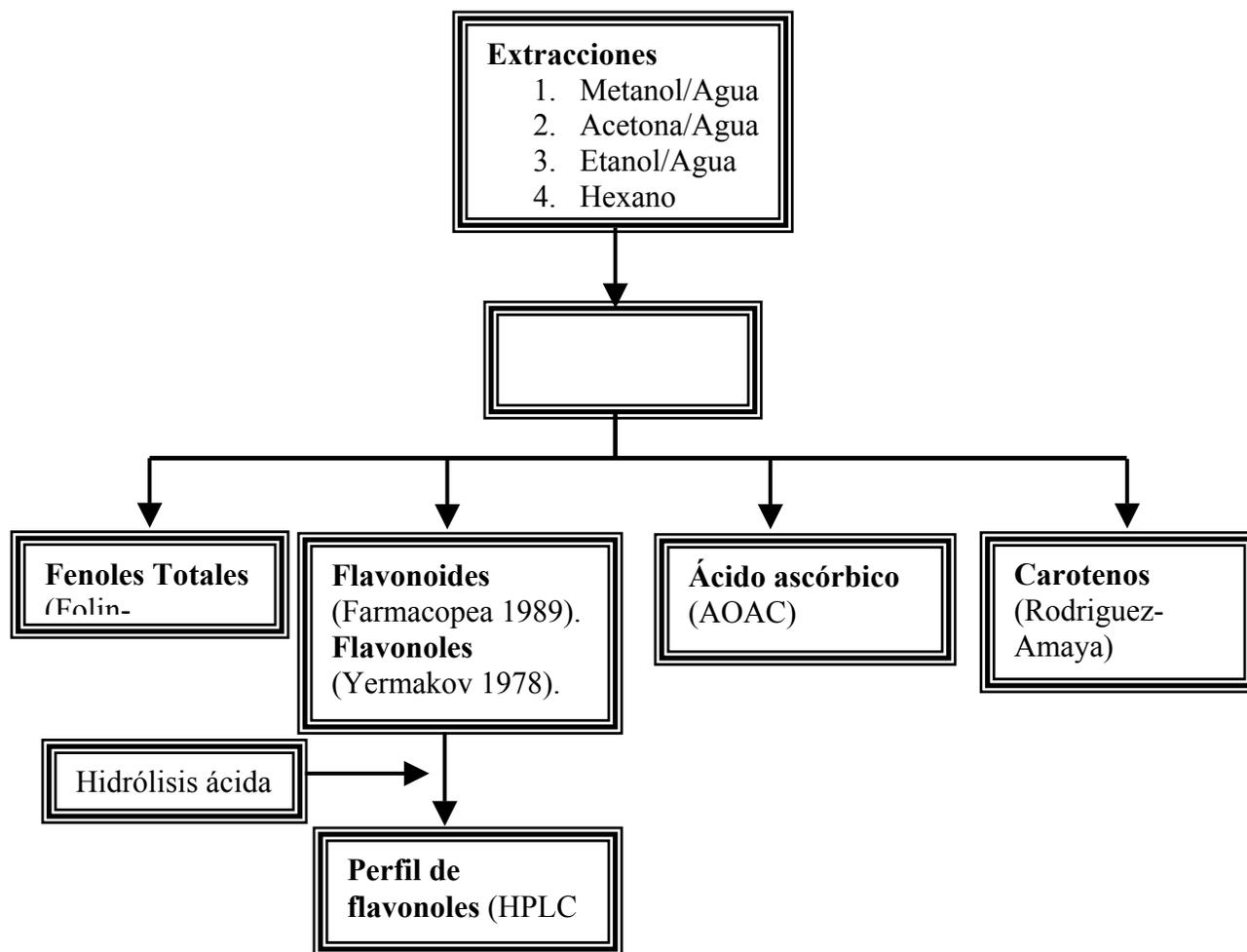
Segunda Parte

Una vez que se comprobó la presencia de los compuestos de interés se determinó cuantitativamente a los polifenoles totales, flavonoides, flavonoles totales, carotenos totales y ácido ascórbico en las diferentes muestras.

Ya obtenidos los valores totales se procedió a determinar el perfil de los siguientes compuestos bioactivos: flavonoides (quercetina, isorhamnetina, kaempferol) y carotenos (β -caroteno). En la figura 14 (2ª parte) se puede observar el diagrama de trabajo para la segunda etapa.

Todas las determinaciones se efectuaron por triplicado y se reportó el promedio y la desviación estándar (D.E.).

2.1 Diagrama de trabajo (2ª Parte): Figura 14. Determinación Cuantitativa de los Compuestos Bioactivos



2.2 Reactivos:

- Disolventes orgánicos grado analítico (Hexano, cloroformo, diclorometano, acetona, metanol, acetato de etilo, etanol, ácido acético, ácido clorhídrico, ácido fórmico, ácido sulfúrico, éter etílico).
- Disolventes orgánicos grado HPLC (Hexano, metanol, diclorometano, acetonitrilo, etanol, acetato de etilo).

- Tricloruro de aluminio, diclorofenol-indofenol, carbonato de sodio, hidróxido de potasio, acetato de sodio, reactivo de Folin-Ciocalteu.
- Reveladores (ácido sulfúrico concentrado en etanol, vainillina-H₂SO₄ y radical DDPH).

Estándares empleados

- Quercetina, kaempferol, isorhamnetina, ácido gálico, rutina, β-caroteno, ácido ascórbico.

2.3 Equipos:

- Rotavapor Poly Science
- Sonicador Branson 1510
- Estufa Riosa
- Espectrofotómetro Cary 50 bio UV visible
- Secador de Charolas industrial
- HPLC Waters 1525 con doble bomba y detector de doble longitud de onda
- Columna Nova-Pak C18 3.9*300mm

3. Desarrollo Experimental

PRIMERA PARTE

3.1 Materia Prima

Se trabajó con el nopal (*Opuntia spp*) sin espina y con las espinas, ésta última llamada residuo, obtenido en Milpa Alta en el mes de marzo; se empleó nopal con espina del estado de Hidalgo y finalmente se consiguieron tres muestras comerciales (las más comunes en el mercado). Siendo en total nueve muestras.

3.2 Preparación de las muestras:

Muestra fresca:

- Se trabajó con residuo de nopal (**NF**), que comprende las espinas y parte de tejido.

Muestra deshidratada:

- Se deshidrató a una temperatura de 45°C, con un flujo de aire de 3m/s en un secador industrial, en el estado de Hidalgo, una parte de residuo de nopal (**R45°**), el cual está conformado por espinas y parte de tejido y otra de nopal sin espinas (**N45°**).

Muestra Liofilizada:

- Se deshidrató el residuo de nopal (**RL**), que esta conformado por espinas y parte de tejido y nopal sin espinas (**NL**).

Una vez deshidratadas todas las muestras, se molieron hasta obtener un polvo fino y se procedió a tamizar en una malla No.100.

Muestras Comerciales:

Se empleó muestra de nopal con espina del Municipio de Almoloya en el estado de Hidalgo (**Comercial 1**) la cual se deshidrató a 55°C por 11hrs.

- Se escogieron tres muestras comerciales deshidratadas, encontradas con mayor frecuencia en las tiendas: Nopalzin (**comercial 2**), Nopa Lite (**comercial 3**) y Sello Verde (**comercial 4**).

3.3 Determinación del Contenido de Humedad

Para conocer el contenido de humedad en las muestras deshidratadas se empleó el método oficial de la AOAC de secado en horno ya que es un método directo y sencillo, se utilizó una temperatura de 100°C hasta peso constante de la muestra.

3.4 Determinación Cualitativa de compuestos bioactivos

3.4.1 Determinación Cualitativa de Flavonoides

Para determinar de manera cualitativa de los compuestos bioactivos tanto en la muestra fresca como en las muestras deshidratadas se efectuó un sistema de Cromatografía en capa fina (CCF) empleando dos reveladores (Vainillina-H₂SO₄ y DPPH).

Para la separación de los flavonoides se emplearon dos fases móviles, para glucósidos: acetato de etilo, ácido fórmico, agua (170:30:1); para aglucones: diclorometano, acetato de etilo y ácido fórmico (170:30:1).⁷²

3.4.2 Determinación Cualitativa de Fitoesteroles

Para determinar de manera cualitativa la presencia de los fitoesteroles tanto en la muestra fresca como en las muestras deshidratadas se efectuó un sistema de CCF empleando una fase móvil hexano, éter etílico, ácido acético (85:25:2 v/v)^{31, 33} y como revelador se empleo ácido sulfúrico concentrado en etanol (50:50 v/v) y se calentó directamente en la parrilla.¹⁹

SEGUNDA PARTE

3.5 Determinación Cuantitativa

3.5.1 Determinación de Fenoles Totales

En esta etapa se cuantifican los compuestos fenólicos utilizando el método oficial de la AOAC, por el método de Folin-Ciocalteu descrito por Matthaues.⁴⁵

Para la extracción de polifenoles se empleó el método descrito por Saura Calixto.⁶⁷ 500mg de muestra se extrajeron con 40ml de metanol/ agua (50:50 v/v) durante una hora a temperatura ambiente posteriormente se filtra, el filtrado se guardó y el residuo se extrajo nuevamente con 40ml de acetona / agua (70:30 v/v) durante

una hora a temperatura ambiente, posteriormente se filtró y se juntaron ambos filtrados, se concentraron en un rotavapor a 37°C y se redisolviéron en 10ml de etanol. La fracción que no se solubilizó en etanol se redisolvió en 10ml de agua destilada. En ambos extractos obtenidos, se determinó el contenido de polifenoles totales.

Se tomaron 2ml de la solución del extracto alcohólico concentrado y se llevaron a un volumen de 5ml con ácido clorhídrico al 0.3%; se tomó una alícuota de 100µl de la solución en 2ml de Na₂CO₃ al 2% después de 2 minutos se adicionaron 100µl del reactivo de Folin-Ciocalteu diluido con agua (1:1).

Una vez transcurridos 30 minutos se midió la absorbancia a 750nm empleando un espectrofotómetro. Para calcular la concentración de polifenoles se calculó efectuó una curva de calibración (Anexo 1), usando ácido gálico como estándar y los resultados se expresan como mg de ácido gálico por gramo de muestra en peso seco.

3.5.2 Determinación de Flavonoides Totales

Se determinaron por el método descrito en la farmacopea (1989) utilizando como compuesto de referencia rutina.¹⁵

Se tomó 1ml de extracto metanólico (10g/l), se mezcló con 1ml de AlCl₃ en etanol (20g/l) y se aforó a 25ml con etanol. Se colocó en un baño por 40 minutos a 20°C, posteriormente se leyeron en el espectrofotómetro a 415nm. El blanco se preparó con 1ml del extracto y 1 gota de ácido acético finalmente se aforó a 25 ml. La absorción de soluciones de rutina se midió bajo las mismas condiciones.

Las soluciones estándar de rutina se prepararon a partir de 0.05 g de rutina.

La cantidad de flavonoides se calcula como:

$$x = \frac{(A * m_0 * 10)}{A_0 m}$$

Donde

x= Cantidad de flavonoides (mg/g de extracto).

A= Absorción de la disolución del extracto.

A₀= Absorción de la solución estándar de rutina.

m = Peso del extracto (g).

m_0 = Peso de la solución de rutina (g).

3.5.3 Determinación de Flavonoles

Se determinaron por el método descrito por Yermakov.⁸⁷

Para los extractos: se colocaron 2ml del extracto etanólico (10g/l) con 2ml de $AlCl_3$ (20g/l) y 6ml de acetato de sodio (50g/l), enseguida se colocaron por 2.5 horas a 20°C y se leyó en el espectrofotómetro a 440nm.

La curva patrón (Anexo 1) se preparó mezclando 2ml de 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.166, 0.1, 0.05, 0.025, y 0.0166mg/ml de soluciones etanólicas de rutina y se llevó a cabo el mismo procedimiento que para las muestras.

Cálculos

El contenido de flavonoles en equivalentes de rutina (RE) se calcula como:

$$x = \frac{C * V}{m}$$

Donde

x = Contenido de Flavonoles (mg/g en ER)

C = Concentración de la disolución de rutina de la curva de calibración (mg/ml)

V = Volumen del extracto (ml)

m = Peso del extracto (g)

3.5.3.1 Determinación del perfil de Flavonoles

La preparación de las muestras se efectuó por el método establecido por el Instituto-Fundación de Ciencia Nacional para la promoción de Nutracéuticos (NSF-INA),²² al cual se le hizo la modificación en la concentración del ácido clorhídrico debido a que la hidrólisis no era completada con la concentración que especificaban. Se pesaron 2g de muestra y se extrajeron con 10ml de etanol y 4ml de agua en sonicador por 30 minutos posteriormente se filtró y se añadieron 4ml HCl concentrado y se puso a reflujo durante 3 horas, se enfrió a temperatura

ambiente y se aforó a 25ml con etanol. Cada muestra se pasó a través de un filtro de membrana Millipore 0.45µm antes de inyectar en el HPLC.

Las condiciones de inyección empleadas en el HPLC fueron: fase móvil agua/metanol (50:50 v/v), flujo 1ml/min, longitud de onda 368nm, temperatura de columna 45°C y una columna Nova-Pak C18 3.9*300mm.^{22, 84, 89}

Para calcular la concentración de cada uno de los flavonoles (quercetina, kaempferol e isorhamnetina) en las muestras se efectuaron curvas de calibración (Ver Anexo 1).

3.5.4 Cuantificación de Carotenos Totales

Para la determinación de carotenos se empleó el método de Rodríguez-Amaya.⁶³ Se pesaron aproximadamente 2g de muestra y se extrajeron con 10ml de hexano/ acetona/ etanol (50:25:25, v/v), durante 1hr, posteriormente se concentró en un rotapavor a temperatura ambiente. El matraz bola se lavó con hexano y se obtuvo una fracción con el color verde, y se transfirió a un matraz volumétrico de 25ml y se aforó con hexano.

El total de carotenos se determinó midiendo una alícuota del extracto de hexano y leyéndolo en el espectrofotómetro a una absorbancia de 450nm.^{36, 64}

El total de carotenos se calcula utilizando el coeficiente de extinción del β-caroteno, $E^{1\%}=2592$.

Como lo muestra la siguiente fórmula:

$$X(\mu\text{g}) = \frac{A * y(\text{ml}) * 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} * 100}$$

$$X(\mu\text{g} / \text{g}) = \frac{x(\mu\text{g})}{\text{gmuestra}}$$

donde:

x: es la concentración de carotenoides en la muestra.

y: volumen de la solución que da la lectura.

A: coeficiente de absorción del β-caroteno.

3.5.4.1 Determinación del perfil de Carotenos

Para la preparación de las muestras se empleó el método reportado por Philip and Chen:⁵⁶ 1g de muestra se homogenizó con 5ml de solución de hidróxido de potasio al 10% en etanol, la mezcla se dejó toda la noche a una temperatura de 4°C. Posteriormente el β -caroteno se extrajo con 5ml de hexano-acetona (50:50 v/v) tres veces. Los extractos fueron concentrados en rotavapor a temperatura ambiente. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se pasó a través de un filtro de membrana Millipore 0.45 μ m y se inyectó en el HPLC. Las condiciones cromatográficas fueron: fase móvil acetonitrilo/ metanol/ diclorometano (76/24/4.5 v/v), flujo 1ml/min a una longitud de onda 445nm, empleando una Columna Nova-Pak C18 3.9*300mm.^{35, 37, 85}

Para determinar la concentración del β -caroteno en las muestras se efectuó una curva de calibración (Ver Anexo 1).

3.5.5 Determinación de Ácido ascórbico

Para la determinación de ácido ascórbico se empleó el método descrito en la AOAC.⁴ Se pesaron de 5g de muestra y se homogenizaron con 50ml de ácido acético al 5%. Se aforó a 100ml con agua destilada y se dejó sedimentar el material insoluble. Para eliminar la mayor cantidad de material insoluble del sobrenadante, se pasó a través de un papel filtro de poro grueso para obtener por lo menos tres alícuotas de 10ml para la valoración de ácido ascórbico. Se valoró con la solución de diclorofenol-indofenol, finalmente se calculó el contenido de ácido ascórbico en términos de mg de ácido ascórbico por 100g de nopal en peso seco.

3.6 Análisis Estadístico

Mediante un análisis de varianza (ANOVA) y con la prueba diferencia mínima significativa de Fisher se determinó si hay diferencia significativa en la concentración de los compuestos bioactivos analizados en las muestras,⁵³ mostrando en la tabla correspondiente el promedio de los resultados obtenidos así como su desviación estándar, ya que todas las determinaciones se efectuaron por triplicado.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PRIMERA PARTE

Para facilitar el análisis de los compuestos bioactivos en el nopal deshidratado la determinación se dividió en dos partes, en la primera se efectuó la deshidratación de las muestras por liofilización y por tratamiento térmico a 45°C, como se explica en el punto 3.2, y se consiguieron otros polvos de nopal comerciales, obteniendo las muestras de la tabla 11. Todas las muestras se comparan entre sí.

Tabla 11. Muestras analizadas

Muestras	Nomenclatura
Nopal Fresco	NF
Residuo Liofilizado	RL
Nopal Liofilizado	NL
Residuo 45°C	R45°C
Nopal a 45°C	N45°C
Comercial 1	Comercial 1
Comercial 2	Comercial 2
Comercial 3	Comercial 3
Comercial 4	Comercial 4

Una vez obtenidas las muestras se determinó el contenido de humedad de cada una y posteriormente se efectuaron las determinaciones cualitativas de los flavonoides y de los esteroides. A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada caso.

4.1 Determinación del contenido de Humedad

El contenido de humedad se determinó por secado en estufa hasta peso constante de la muestra lo cual se consiguió a las 3 horas de secado.

En la muestra fresca se obtuvo un humedad del 91.1%, lo cual puede ser comparado con datos reportados en la bibliografía que muestran valores para diversas variedades de nopal que van de un 88-95%, y otros vegetales tales como espinaca 90.7%, acelga 91.1%, col 87.5%, cilantro 93.%.^{73, 52}

En las muestras deshidratadas se observa una variación en el contenido de humedad pero en general ésta se mantiene alrededor del 6% (tabla 12). Con estos datos es posible reportar la concentración de los compuestos bioactivos en base seca.

Tabla 12. Contenido de humedad

Muestras	% de humedad
NF	91.1±0.71
RL	6.74±0.01
NL	6.55±0.56
R45°	6.08±0.02
N45°	7.39±0.23
Comercial 1	5.11±0.09
Comercial 2	5.21±0.09
Comercial 3	6.26±0.05
Comercial 4	6.27±0.07

4.2 Determinación Cualitativa de los compuestos bioactivos

4.2.1 Determinación Cualitativa de Flavonoides

Con la finalidad de observar si los flavonoides se encontraban presentes en las muestras de nopal, se montó un sistema de Cromatografía en Capa Fina (CCF) utilizando dos diferentes reveladores, el primero fue vainillina-H₂SO₄ para

identificar los compuestos fenólicos y el segundo fue el DPPH con el cual se observa la actividad secuestrante de los compuestos fenólicos.

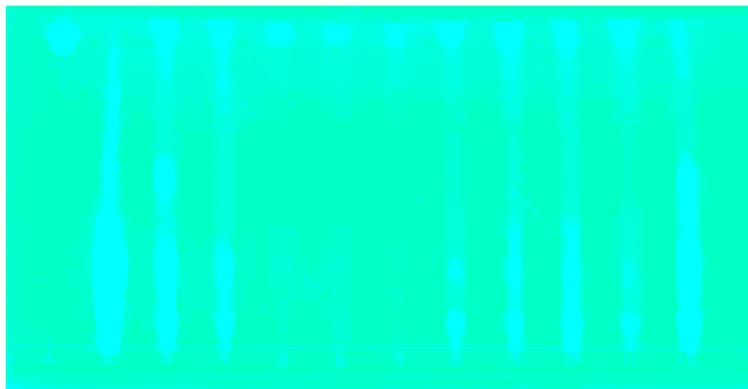
Las muestras fueron sometidas a extracciones sucesivas con metanol y agua, obteniendo dos fracciones que posteriormente se aplicaron en las placas y se eluyeron en dos tiempos para la separación de los flavonoides utilizando como eluyente acetato de etilo, ácido fórmico, agua (170:30:1) para los glicósidos y diclorometano, acetato de etilo y ácido fórmico (170:30:1) para los aglicones.⁷² Otra fase eluyente que se probó antes de concluir que se usarían las anteriores fue cloroformo/ acetato de etilo/ ácido acético (7:3:0.5 v/v) con la cual no se logró ver adecuadamente los flavonoides ya que todas las muestras se quedaban en el punto de aplicación lo cual se debe a que la fase tiene la polaridad parecida a la fase en la cual se eluyen los aglucones y es importante recordar que en los vegetales éstos compuestos se encuentran glicosilados.

Los estándares utilizados fueron: quercetina y un extracto de Ginko biloba estandarizado, en éste último se encuentran presentes los tres flavonoles de interés quercetina, kaempferol e isorhamnetina.²²

En la figura 15, se muestran los resultados obtenidos para las fracciones de metanol y en la figura 16 se muestran las fracciones acuosas, ambas se revelaron con vainillina-H₂SO₄. En ambos casos se puede observar que el estándar de quercetina (1) eluyó con el frente del disolvente, lo cual se debe a que se encuentra en forma de aglicón y no glicosilado como aparecen en el nopal y en el Ginko biloba, por tal motivo no se aprecia de manera clara su presencia en las muestras analizadas, pero si comparamos el estándar de Ginko biloba (2) que contienen los tres flavonoles de interés (quercetina, isorhamnetina y kaempferol) en forma glicosilada²² se puede observar que eluyeron la misma distancia en todas las muestras. La fracción acuosa mostró en mayor cantidad estos flavonoles ya que las bandas se observan con mayor intensidad y la cantidad de muestra en cada aplicación fue la misma en las dos fracciones.

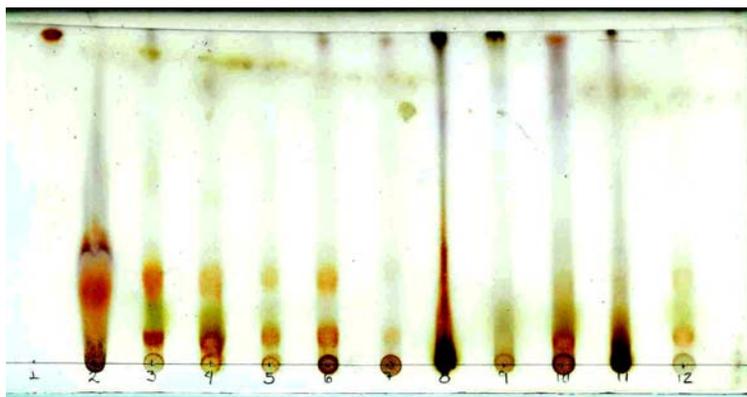
Posteriormente en la determinación cuantitativa se verá si efectivamente los tres flavonoles se encuentran presentes en todas las muestras.

Figura 15. Flavonoides (Fracción de MeOH)



Revelador Vainillina-H₂SO₄; 1. Quercetina, 2. Ginko Biloba, 3. **Residuo Liofilizado** (RL), 4. Nopal Liofilizado (NL), 5. Nopal deshidratado a 45°C (N45°), 6. **Residuo deshidratado a 45°C** (R45°), 7. Nopal Completo deshidratado 60°C (R60°), 8. **Comercial Sello verde** (comercial 4), 9. Nopal de Hidalgo deshidratado a 55°C (comercial 1), 10. **Comercial Nopa Lite** (comercial 3), 11. **Comercial Nopalzin** (comercial 2), 12. **Nopal Fresco** (NF)

Figura 16. Flavonoides (Fracción acuosa)



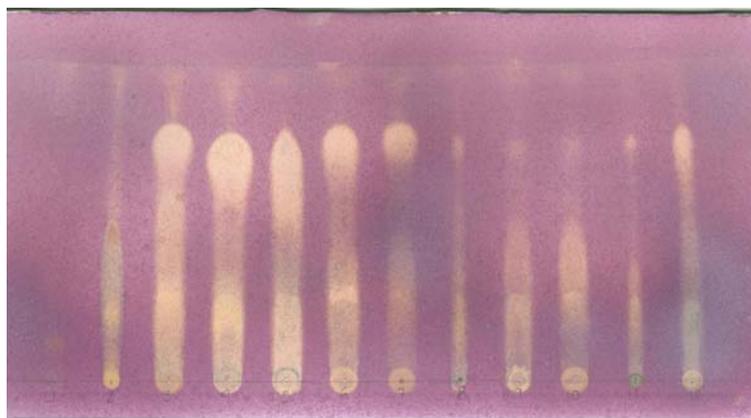
Revelador Vainillina-H₂SO₄; 1. Quercetina, 2. Ginko Biloba, 3. **Residuo Liofilizado** (RL), 4. Nopal Liofilizado (NL), 5. Nopal deshidratado a 45°C (N45°), 6. **Residuo deshidratado a 45°C** (R45°), 7. Nopal Completo deshidratado 60°C (R60°), 8. **Comercial Sello verde** (comercial 4), 9. Nopal de Hidalgo deshidratado a 55°C (comercial 1), 10. **Comercial Nopa Lite** (comercial 3), 11. **Comercial Nopalzin** (comercial 2), 12. **Nopal Fresco** (NF)

Los flavonoles poseen una gran capacidad antioxidante como resultado de su estructura química. Así el grupo O-difenol en el anillo B, el doble enlace en las

posiciones R_2' y R_3' y los grupos hidroxilos en los anillos A y C (figura 5) presentan capacidad para secuestrar radicales libres. Por ello la quercetina, con todas estas características en su estructura química, constituye uno de los más potentes antioxidantes naturales.⁴⁴

Para observar la actividad antioxidante se empleó el DPPH como revelador presentando una intensa coloración amarilla debido a la reducción de éste, este efecto se observó con mayor intensidad en la fracción acuosa. En la figura 17 se puede observar que además de los flavonoles de interés hay otros compuestos que contribuyen en gran medida a la actividad antioxidante que presentan todas las muestras. Algunos compuestos que pueden contribuir a dicha actividad antioxidante son los ácidos orgánicos que se han encontrado en la variedad *ficus-indica* así como en otras variedades entre los que se encuentran el ácido cítrico, ácido málico, ácido malónico, fórbico, pisídico y eucómico, los tres últimos no han sido cuantificados.⁷³

Figura 17. Flavonoides (Fracción acuosa)



Revelador DPPH; **1.** Quercetina, **2.** Ginko Biloba, **3.** Residuo Liofilizado (RL), **4.** Nopal Liofilizado (NL), **5.** Nopal deshidratado a 45°C (N45°), **6.** Residuo deshidratado a 45°C (R45°), **7.** Nopal Completo deshidratado 60°C (R60°), **8.** Comercial Sello verde (comercial 4), **9.** Nopal de Hidalgo deshidratado a 55°C (comercial 1), **10.** Comercial Nopa Lite (comercial 3), **11.** Comercial Nopalzin (comercial 2), **12.** Nopal Fresco (NF)

Las muestras Comerciales presentan una coloración amarilla menor que las deshidratadas en el laboratorio tanto por liofilización como con los tratamientos térmicos, por lo cual se puede suponer que esas muestras son sometidas a

temperaturas mayores de deshidratado, lo que provoca que se pierdan flavonoides, esto se observó en estudios previos donde se ha determinado que los compuestos fenólicos con actividad antioxidante, pueden presentar una descomposición significativa a altas temperaturas generando productos de descomposición²⁵ y otro factor que interviene en la cantidad de compuestos fenólicos es el tipo de nopal que se emplea como es el caso de la muestra de Hidalgo y las comerciales.

Los glicósidos de los flavonoles no presentan una gran actividad antioxidante como su correspondiente aglicona, lo cual se debe a que la molécula de azúcar reduce la eficacia antioxidante de los grupos hidroxilos adyacentes.⁴⁴

4.2.2 Determinación Cualitativa de Fitoesteroles

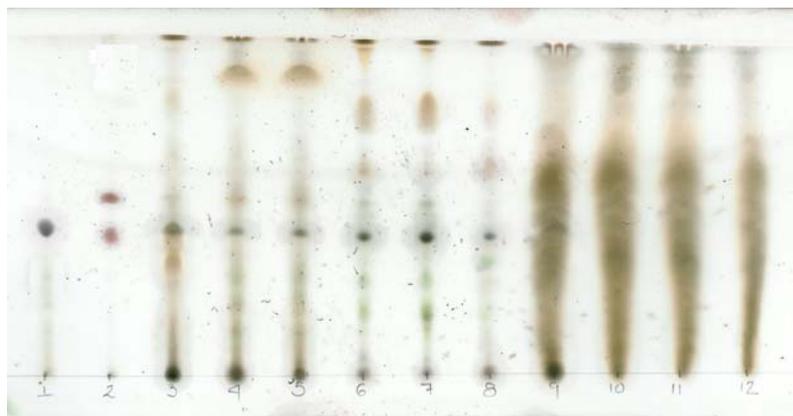
Para determinar la presencia de los esteroides, las muestras fueron extraídas con hexano y se empleó una fase eluyente hexano, éter etílico, ácido acético (85:25:2v/v)³³ y como revelador ácido sulfúrico concentrado en etanol (50:50 v/v), calentando directamente en la parrilla para apreciar los esteroides.¹⁹ Antes de establecer la fase anterior se probaron dos más con las cuales no se tuvo una separación adecuada de los compuestos y la presencia del estándar no se observaba de manera clara, la primera fase fue cloroformo/ hexano/ metanol (6:1:1v/v) y la segunda fue diclorometano/ metanol (9:1v/v),¹⁹ con ésta última se apreciaba mejor el estándar pero las muestras eluyeron muy arriba, por tal motivo se decidió no emplear estas fases.

El estándar utilizado fue β -sitosterol en la posición 1 de la figura 18, debido a que éste es el esteroide que se encuentra en mayor concentración en el nopal fresco (80%),⁷³ así como en diversas frutas, aceites vegetales; en diversas semillas como: cacahuates, almendras, avellanas, nueces; en productos lácteos: leche, margarina.³⁸

En la figura 18 se observa que todas las muestras tienen presentes el β -sitosterol ya que en éstas aparece el mismo compuesto a la misma distancia que en el estándar (1), independientemente del tratamiento que se haya utilizado para la

deshidratación, debido a que estos compuestos bioactivos son más estables que los flavonoides a temperaturas mayores.

Figura 18. Fitoesteroles



Revelador H_2SO_4 -Etanol; **1.** Estándar, **2.** β -amirina, **3.** Nopal Fresco (NF), **4.** Residuo Liofilizado (RL), **5.** Nopal Liofilizado (NL), **6.** Residuo Secado 45°C (R45°), **7.** Nopal Secado 45°C (N45°), **8.** Nopal Completo deshidratado 60°C (R60°), **9.** Nopal Hidalgo (comercial 1), **10.** Comercial Nopalzin (comercial 2), **11.** Comercial Sello Verde (comercial 4), **12.** Comercial Nopa Lite (comercial 3).

SEGUNDA PARTE

Debido a que en la determinación cualitativa se observó la actividad antioxidante de los extractos metanólicos y acuosos así como la presencia de los flavonoles quercetina, kaempferol e Isorhamnetina se procedió a hacer la determinación cuantitativa de los compuestos bioactivos responsables, así como de otros compuestos que se han encontrado en el nopal fresco para observar como afecta el tratamiento térmico. En todas las determinaciones el orden de aparición de las muestras es: residuo (RL) y nopal (NL) liofilizados; residuo (R45°) y nopal (N45°) deshidratados a 45°C; nopal de Hidalgo (comercial 1), Nopalzin (comercial 2), Nopa Lite (comercial 3) y Sello Verde (comercial 4). Dichas muestras se compararon entre sí y en algunos casos con el nopal fresco (NF).

4.3 Determinación Cuantitativa

4.3.1 Fenoles totales

La concentración de polifenoles totales se determinó por el método descrito por Matthäus.⁴⁵ Este se basa en la reacción de los polifenoles con el reactivo de Folin-Ciocalteu.

De las extracciones efectuadas para cada muestra se obtienen dos fracciones una que se disuelve en etanol y otra que se disuelve en agua; en ambas fracciones se determinó la concentración de polifenoles y se reporta en mg de ácido gálico/g de muestra en base seca (b.s.) encontrando una mayor concentración en la fracción acuosa.

El que la fracción acuosa presente un alto contenido de polifenoles no se debe solamente a los compuestos fenólicos o flavonoides, ya que otros compuestos reductores como el ácido ascórbico o azúcares pueden causar interferencia.⁴⁵

En la tabla 13 se presenta el total de polifenoles expresados como mg de ácido gálico así como en la figura 19.

Tabla 13. Contenido de polifenoles totales en las muestras (b.s.)

Muestra	Total (mg ácido gálico/ g muestra)
NF	60±0.2 ^e
RL	33.75±0.32 ^b
NL	31.32±0.87 ^b
R45°	38.53±212.78 ^a
N45°	40.97±1.97 ^a
Comercial 1	17.09±0.48 ^c
Comercial 2	17.34±1.26 ^c
Comercial 3	18.80±0.21 ^c
Commercial 4	14.42±0.56 ^d

a, b, c, d, e Las medias que presentan diferentes supraíndices son significativamente diferentes ($\alpha \leq 0.05$)

Los valores obtenidos para fenoles totales en todas las muestras es mayor a lo reportado para cladodios de las especies *Opuntia* (1mg ác gálico/g cladodio b.s).³² En los resultados obtenidos no se encontró diferencia significativa entre el residuo y el nopal sin espinas deshidratados a 45°C, esto es R45° (38.53mg ác. gálico/g) y N45° (40.97mg ác. gálico/g). Al no encontrar diferencia significativa en estos resultados se puede decir que los polifenoles se encuentran también en las espina y en la corteza, donde estudios previos han encontrado la quercetina, kaempferol, isorhamnetina, 3-metil-quercetina, 3-metil-kaempferol así como dihidroquercetina y dihidrokaempferol.⁷³

Las muestras R45° y N45° fueron las que presentaron una menor pérdida de fenoles totales y no como era de esperarse las muestras liofilizadas, lo cual se debe a que éstas últimas perdieron mayor cantidad de ácido ascórbico durante el proceso lo cual se puede observar en la figura 23, por tal motivo el valor de fenoles es menor en las muestras RL y NL.

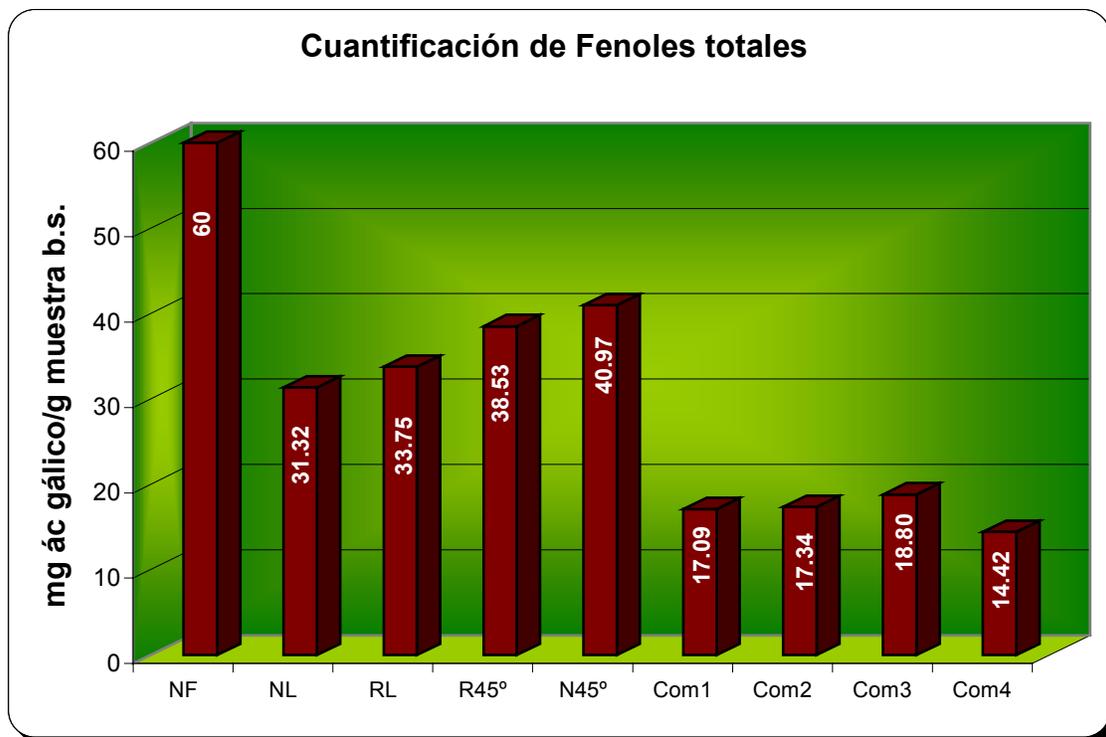
Comparando las muestras comerciales 2, comercial 3 con la muestra del estado de Hidalgo (comercial 1) se observa que no hay diferencia significativa entre éstas, presentando un 57% menos de polifenoles totales respecto a las muestras deshidratadas a 45°C, la muestra comercial 4 presentó la menor concentración de polifenoles 14.42mg ácido gálico/g, lo cual puede ser un indicativo de que el tratamiento térmico al que son sometidas presentan una temperatura mayor a los 45°C ya que estos compuestos al ser antioxidantes reaccionan fácilmente y son inestables.⁷⁰

En estudios recientes se identificaron en cladodios *O. dillenii*: Opuntiosido, opuntiol, isorhamnetina 3-rutinosido, quercetina 3-(2G-ramnosilrutinosido), ácido *p*-hidroxibenzoico, 1-heptanecanol, ácido ferúlico, ácido 3,4-dihidroxibenzoico, ácido vanillico, 3,3'-dimetilquercetina, ácido málico, kaempferol-7-O- β -glucopiranosido, 3-O-metil-quercetina y rutina.

En el pericarpio de diversas variedades de *opuntia* han encontrado quercetina, kaempferol e isorhmanetina, 3-metil-quercertina.⁷³

Los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos, por lo que la obtención de alimentos con un alto contenido de estos compuestos los convierte en más saludables y pueden llegar a englobarse dentro de los alimentos funcionales, ya que ésta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y cáncer.⁴⁴

Figura 19. Gráfica de Fenoles Totales



4.3.2 Flavonoides y Flavonoles

Dentro de los polifenoles, los flavonoides constituyen el grupo más importante, ya que son los compuestos más abundantes en vegetales y poseen una gran capacidad antioxidante como resultado de su estructura química (figura 5). Los flavonoles también presentan ésta capacidad antioxidante.

El contenido de flavonoides expresado como equivalentes de rutina presenta diferencia significativa entre todas las muestras encontrándose en mayor

concentración en el residuo (R45°) 27.51mg/gb.s. y nopal (N45°) 23.41mg/g b.s. deshidratados a 45°C seguidos de los productos liofilizados, (NL) 22.26mg/g b.s. y residuo (RL) 20.79mg/g b.s. (tabla 14). Estos valores corresponden a los flavonoles 3-O-glicósidos (quercetina, kaempferol, isorhamnetina), dihidroflavonoles, flavanones, y flavanonoles encontrados en estudios previos.⁸³

En cuanto a la concentración de flavonoles totales expresados como equivalentes de rutina (tabla 14) se observa que en el residuo liofilizado (RL) presenta una mayor cantidad de éstos compuestos con una concentración de 8.821mg/g b.s., el cual presenta una diferencia significativa con respecto a las demás muestras. Este comportamiento se atribuye al contenido de flavonoles quercetina, kaempferol e isorhamnetina presentes en las espinas⁷³ y el método de deshidratado al cual fue sometido ya que éstos compuestos son muy inestables a temperaturas mayores. En cuanto a las demás muestras nopal liofilizado (NL), residuo (R45°) y nopal (N45°) no se encontró diferencia significativa entre sí, lo que puede deberse a lo mencionado anteriormente, que los flavonoles se encuentran presentes en mayor concentración en espinas y corteza de *opuntias*⁷³ por lo que el nopal liofilizado tiene una menor concentración de éstos compuestos y en cuanto a las muestras deshidratadas a 45°C la disminución en el contenido de éstos compuestos es por la temperatura del proceso ya que ésta favorece su degradación debido al tiempo requerido (13 horas), además que al aumentar la temperatura aumenta de forma rápida la oxidación enzimática de estos compuestos por acción de las polifenol oxidasas (PPO) y de las peroxidasas (PO).⁸²

Las muestras comerciales presentan las concentraciones más bajas de flavonoles totales habiendo diferencia significativa entre algunas de ellas como se puede observar en la tabla 14. Lo cual se debe a que los flavonoides se han encontrado en *Opuntia* en las flores, tallo, espinas y en una cantidad limitada en los tejidos de las raíces, esto se modifica con la variedad, tejido y el estado de madurez que presenta,⁷³ otro factor puede ser la temperatura de proceso ya que este dato sólo se conoce en la muestra comercial 1, que se deshidrató a una temperatura de 55°C, en cuanto a las demás muestras no se conoce dicha temperatura, pero el

color de los polvos es más oscuro lo que puede deberse al pardeamiento enzimático, favorecido por un incremento en la temperatura.

El contenido de flavonoles en el residuo liofilizado (RL) corresponden al 40% del total de los flavonoides obtenidos, en el nopal liofilizado (NL), residuo (R45°) y nopal (N45°) corresponden al 10% y en todas las muestras comerciales corresponden entre el 2-4% de los flavonoides lo que muestra la presencia de otros flavonoides ya antes mencionados.

Tabla 14. Contenido de flavonoides y flavonoles totales (b.s.)

Muestra	Flavonoides totales mg/g	Flavonoles totales mg/g
RL	20.79±0.17 ^a	8.821±0.18 ^a
NL	22.26±0.29 ^b	2.769±0.03 ^b
R45°	27.51±2.24 ^c	2.765±0.22 ^b
N45°	23.41±1.83 ^d	2.849±0.03 ^b
Comercial 1	9.24±0.64 ^e	0.376±0.009 ^c
Comercial 2	8.05±0.23 ^f	0.285±0.003 ^{c, d}
Comercial 3	10.80±0.33 ^g	0.186±0.02 ^{d, e}
Comercial 4	3.73±0.10 ^h	0.176±0.006 ^e

a, b, c, d, e, f, g, h Las medias que presentan diferentes supraíndices en cada columna son significativamente diferentes ($\alpha \leq 0.05$)

Una vez obtenido el contenido de flavonoles totales fue de interés conocer el perfil de estos, por lo que se procedió a hacer el análisis mediante cromatografía de líquidos; para lo cual se efectuó una extracción en caliente de las muestras con etanol/agua por 30 minutos y posteriormente estos extractos se sometieron a una hidrólisis ácida a reflujo por tres horas para obtener el aglicón de cada uno de los flavonoles²² y de esta manera simplificar la cuantificación en el HPLC. Para comprobar que la hidrólisis había sido completada, se efectuó una CCF con la fase para aglicones descrita en el punto 4.2.1. En el anexo 2 se muestran dos cromatogramas, el 6.2.1 representa a las muestras liofilizadas y deshidratadas a 45°C y el 6.2.2 representa a las muestras comerciales.

Los tiempos de retención que se obtuvieron a las condiciones de inyección fueron: 5.526min para quercetina, 8.439min para kaempferol y por último 9.558min para isorhamnetina.

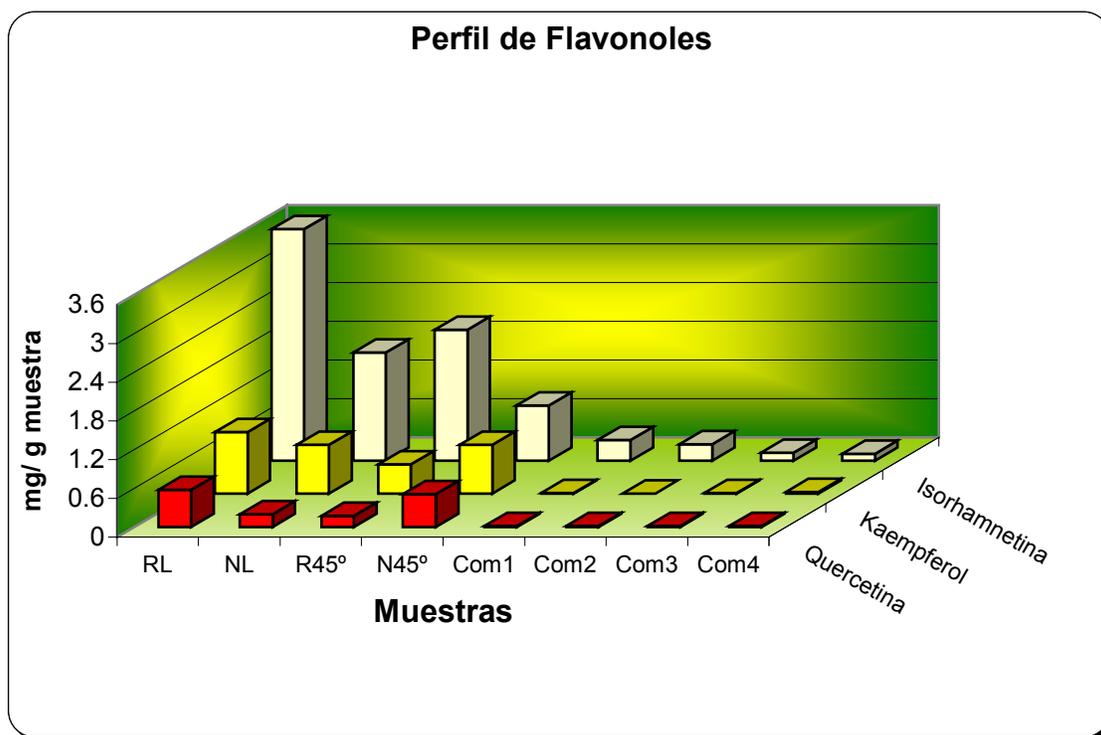
Tabla 15. Perfil de flavonoles (b.s.)

Muestra	Quercetina mg / g b.s.	Kaempferol mg / g b.s.	Isorhamnetina mg / g b.s.	Total mg / g b.s.
RL	0.578±0.036 ^a	0.959±0.045 ^a	3.597±0.16 ^a	5.134 ^a
NL	0.196±0.007 ^b	0.756±0.054 ^b	1.677±0.15 ^b	2.629 ^b
R45°	0.169±0.007 ^c	0.457±0.029 ^c	2.034±0.17 ^b	2.659 ^b
N45°	0.510±0.039 ^d	0.760±0.074 ^b	0.858±0.02 ^c	2.128 ^c
Comercial 1	0.013±0 ^e	0.013± ^d	0.323±.003 ^d	0.349 ^d
Comercial 2	0.013±0 ^e	0.0 ^d	0.254±0.002 ^d	0.267 ^d
Comercial 3	0.013±0 ^e	0.013±0.0007 ^d	0.124±0.01 ^d	0.15 ^e
Comercial 4	0.013±0 ^e	0.029± ^d	0.109±0.005 ^d	0.151 ^e

^{a, b, c, d, e} Las medias que presentan diferentes supraíndices en cada columna son significativamente diferentes ($\alpha \leq 0.05$)

El flavonol que se encuentra en mayor cantidad en todas las muestras es la isorhamnetina seguido del kaempferol y finalmente la quercetina (tabla 15). Encontrándose aun así la quercetina en mayor concentración que en otros vegetales como la cebolla (0.347mg/g), la col rizada (0.110mg/g), la lechuga (0.014mg/g) y el tomate (0.008mg/g).⁴⁴

Las muestras que presentan un mayor contenido de los tres flavonoles son el residuo liofilizado (RL), residuo (R45°), nopal liofilizado (NL) y nopal (N45°), estos dos últimos no presentan diferencia significativa entre sí. El nopal de Hidalgo (comercial 1) contiene una mayor concentración de los tres flavonoles comparado con las otras muestras comerciales. Estos resultados se pueden observar en la figura 20.

Figura 20. Gráfica del Perfil de Flavonoles

El contenido de flavonoides en el nopal corresponden entre el 60% y 70% del total de los fenoles en el residuo (RL) y nopal (NL) liofilizados, residuo (R45°) y nopal (N45°) deshidratados a 45°C y la muestra comercial 3; los flavonoides en el nopal de Hidalgo (comercial 1); en la muestra comercial 2 corresponde al 50% y finalmente en la muestra comercial 4 corresponden solamente al 26%, por lo que se puede suponer que el resto de los fenoles corresponde a diversos compuestos como los ácidos orgánicos dentro de los cuales se encuentran el fórbico, pisídico y eucómico, carotenos, ácido ascórbico y tioles celulares (glutation y otros).^{73, 33}

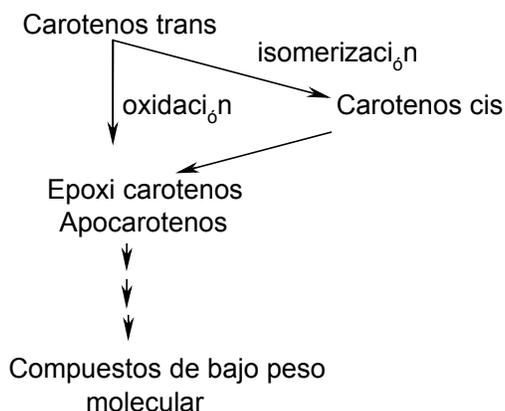
Los flavonoides protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos UV, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, entre otras. Por lo que la ingesta de estos compuestos es importante ya que el organismo humano no puede producirlas⁴³ y ayudan para la prevención o retraso de la aparición de las principales enfermedades degenerativas relacionadas con la edad, incluyendo el cáncer, las enfermedades del corazón, las

cataratas y las disfunciones cognitivas.⁴⁶ Se ha establecido una IDR de 218mg/día para prevenir éstas enfermedades.

4.3.3 Carotenos

Existen factores que afectan decisivamente el contenido de carotenos entre los cuales se encuentran: el grado de maduración de la planta así como el tratamiento térmico al que es sometido ya que promueve la isomerización *trans-cis* (figura 21), la preparación doméstica, procesamiento industrial, y almacenaje.^{64, 68, 71}

Figura 21. Esquema de la posible degradación de carotenos



La determinación de carotenos totales se llevó a cabo por el método espectrofotométrico a una longitud de onda de 450nm donde se registra un máximo de absorción.⁶⁴ Su medición requiere la extracción previa de éstos empleando hexano como solvente.

El contenido de carotenos totales se determinó con el coeficiente de extinción del β -caroteno obteniendo para la muestra fresca un valor de 1.578mg β -caroteno/g b.s. que si se compara con el valor reportado para cladodios de las especies *Opuntia* (0.229mg/g b.s.)⁷³ es mucho mayor lo se puede atribuir a que el nopal analizado es del mes de marzo, en el cual no se tienen temperatura muy elevadas y se encuentra dentro del rango óptimo de crecimiento (16°C-28°C), no se tiene una humedad alta ya que conforme ésta aumenta la planta se encuentra más propensa al ataque de plagas y enfermedades, y siendo más baja se deshidrata el tejido de la planta.³²

Los carotenos son muy sensibles a la luz solar, al oxígeno y a la temperatura provocando su oxidación e isomerización debido a los dobles enlaces conjugados que presenta (figura 21), por lo que el residuo liofilizado (RL) es el que mantuvo una mayor cantidad de éstos (0.653mg/g b.s.) seguido del residuo (R45°) (0.603mg/g b.s.). En cuanto a las muestras comerciales se encuentra diferencia significativa entre ellas presentando valores entre 0.26mg y 0.47mg/g b.s (tabla 16).

Tabla 16. Contenido de Carotenos en las muestras b.s.

Muestra	mg β -caroteno/g	Carotenos totales expresados como mg β -caroteno/g
NF	0.42 ⁷⁸	1.158±0.4 ^a
RL	0.188±0.006 ^a	0.653±0.00003 ^b
NL	0.150±0.01 ^b	0.530±0.00003 ^c
R45°	0.253±0.006 ^c	0.603±0.001 ^d
N45°	0.197±0.014 ^a	0.533±0.002 ^{c,e}
Comercial 1	0.277±0.01 ^d	0.441±0.004 ^f
Comercial 2	0.665±0.015 ^e	0.475±0.002 ^{c,e}
Comercial 3	0.223±0.006 ^f	0.266±0.002 ^g
Comercial 4	0.39±0.01 ^g	0.317±0.0004 ^h

a, b, c, d, e, f, g, h Las medias que presentan diferentes supraíndices son significativamente diferentes ($\alpha \leq 0.05$)

Una vez obtenida la concentración de carotenos totales se procedió a determinar el contenido de β -caroteno mediante cromatografía de líquidos. Los cromatogramas se pueden observar en el anexo 2, el 6.2.3 representa a las muestras liofilizadas y deshidratadas a 45°C y el 6.2.4 representa a las muestras comerciales. El tiempo de retención para el β -caroteno en las condiciones de inyección empleadas fue 2.265min.

Los resultados se muestran en la tabla 16, donde se observa que el β -caroteno en las muestras liofilizadas y deshidratadas a 45°C corresponde entre el 30% y 40% de los carotenos totales, lo cual es razonable con la composición de carotenos reportada en la literatura para cladodios de *Opuntia ficus indica*: donde 36% corresponde a β -caroteno, 46% a luteína y 18% α -criptoxantina.³³

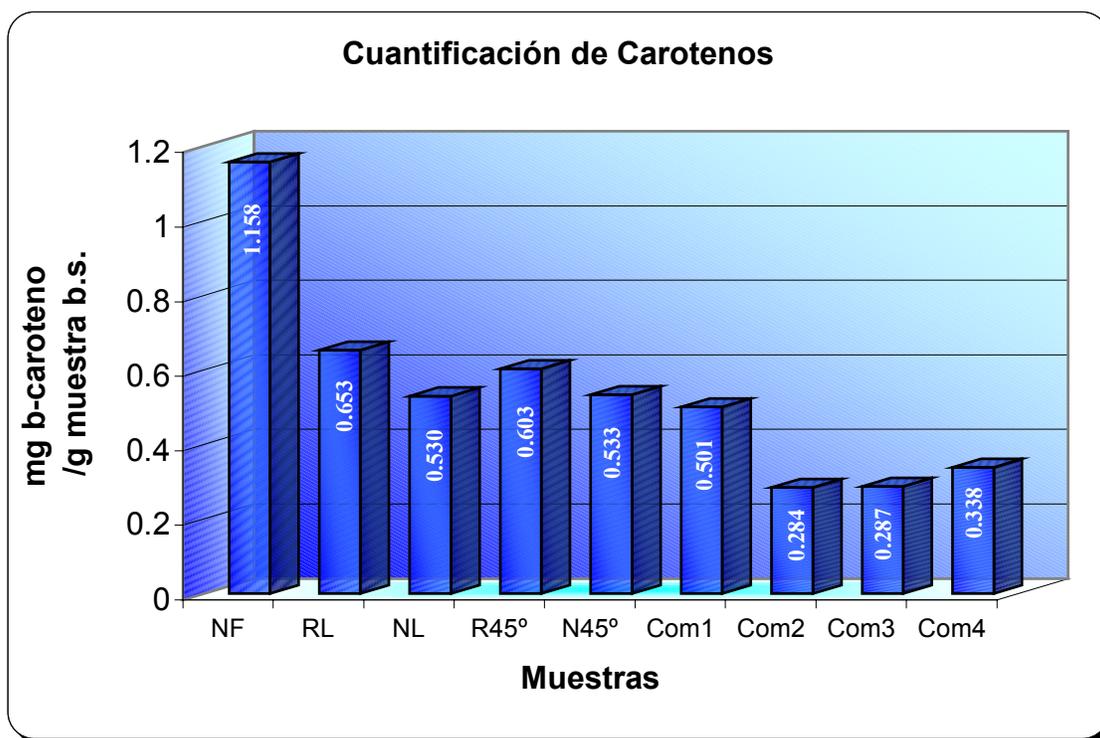
En cuanto a las muestras comerciales la concentración del β -caroteno está por encima del valor determinado para carotenos totales, en lo cual pudo influir el método de extracción, ya que para cuantificar el β -caroteno se efectuó una saponificación, lo que dejó más disponibles los carotenos, y para los totales sólo se realizó la extracción con hexano/ acetona/ etanol, con lo cual sólo se cuantifican los carotenos libres.

El contenido de β -caroteno en otros vegetales: espinacas (0.055mg/g), col (0.092mg/g), zanahorias baby (0.072mg/g), lechuga orejona (0.012mg/g)² si se comparan estos valores con los resultados obtenidos se observa que las concentraciones en las muestras analizadas son mayores a lo reportado para otros vegetales.

La liofilización es considerada un método apropiado de conservar muestras biológicas antes de efectuar el análisis. Sin embargo la degradación de los carotenos ocurren durante este proceso ya que hace a la muestra más porosa, aumentando la exposición de los carotenos al oxígeno durante el almacenamiento.⁶⁴ Por lo que el tratamiento a 45°C puede ser una buena opción para su conservación y resulta más barato para un proceso industrial.

Los carotenos y en general el β -caroteno en estudios previos ha mostrado ofrecer protección contra distintos tipos de cáncer entre los cuales se puede encontrar de pulmones, colorectal, glándulas mamarias, útero y de próstata así como cataratas, aterosclerosis y proceso de envejecimiento.^{17, 21, 50} Para la prevención y/o tratamiento de éstas enfermedades se ha establecido una IDR de 1.9mg β -caroteno/ día.

Figura 22. Gráfica de Carotenos Totales



4.3.4 Ácido Ascórbico ó Vitamina C

La determinación de ácido ascórbico se efectuó por el método de la AOAC, esto es, por titulación de oxido-reducción con diclorofenol-indofenol.⁴

En este caso se observa que el ácido ascórbico se presenta en cantidades muy pequeñas tanto en las muestras liofilizadas como las sometidas a tratamiento térmico a 45°C en comparación con la muestra fresca que tiene 205.62mg/g muestra b.s. (tabla 17) lo cual es muy próximo al valor reportado por Stintzing-Reinhold⁷³ para cladodios de las especies *Opuntia* (226mg/g b.s.). Esta pérdida se puede relacionar con la degradación que sufre el ácido ascórbico al estar en contacto con el oxígeno, la luz y el calor,^{46, 62} además que la actividad de las peroxidasas pueden producir la destrucción oxidativa de la vitamina C.⁹ Es importante mencionar que por la alta resistencia a la inactivación por calor, las peroxidasas se utilizan en algunos alimentos como indicador de la eficacia de tratamientos térmicos, como es el caso de la pasteurización de leche.⁶⁹

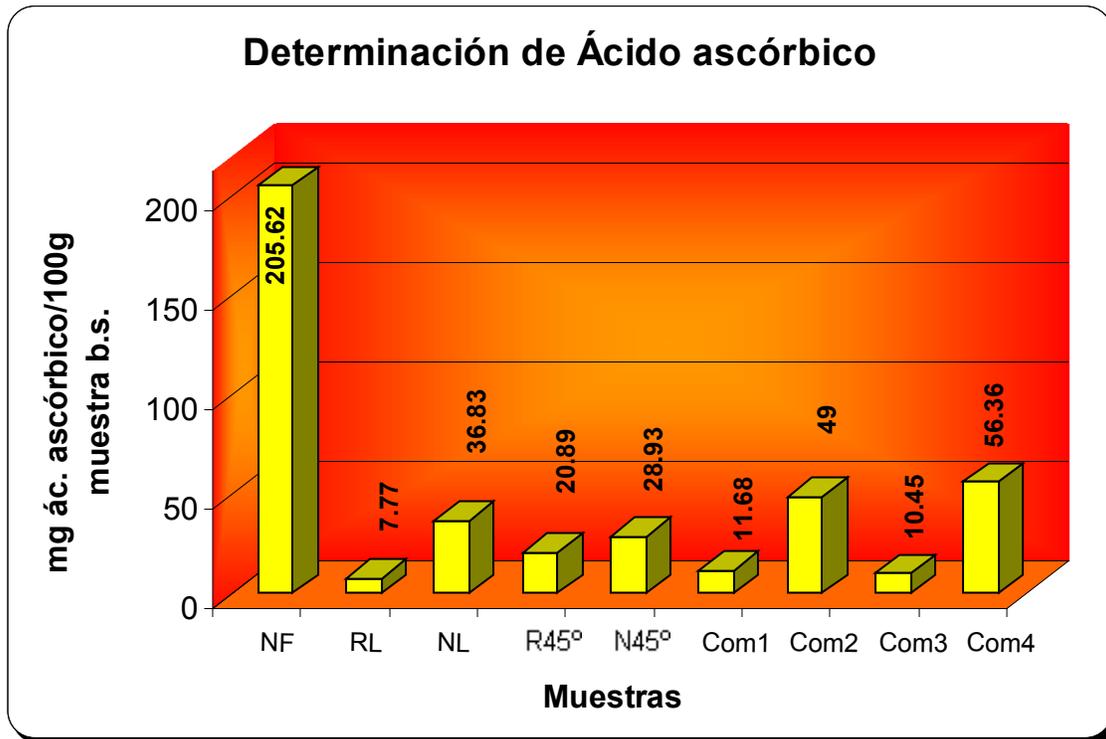
En las muestras liofilizadas la pérdida de ácido ascórbico pudo ser ocasionada por el largo tiempo que estuvieron en contacto con el aire desde el corte hasta que se liofilizaron. Las muestras comerciales 2 y 4 son adicionadas con ácido ascórbico por lo que sus valores son mayores a los del resto de las muestras lo cual puede ser apreciado en la figura 23. La pérdida de vitamina C que tuvieron las muestras pueden ser controladas si el nopal se procesa en un lapso corto de tiempo desde su cosecha hasta el deshidratado, ya que es una buena fuente de ésta vitamina, y si esto no fuera necesario se podrían adicionar utilizando algunas fuentes naturales.

Se le ha atribuido al ácido ascórbico un papel como posible inhibidor del cáncer impidiendo la formación de agentes cancerígenos a partir de compuestos precursores.⁴⁷ Con la IDR de 60mg/día se puede inhibir el cáncer. Por lo que es importante obtener un producto con buenas cantidades de ácido ascórbico.

Tabla 17. Contenido de Ácido Ascórbico en las muestras b.s.

Muestra	Total mg ác ascórbico/100 g muestra
NF	205.62±5.085 ^a
RL	7.7±0 ^b
NL	36.839±0 ^c
R45°	20.89±0 ^d
N45°	28.82±2.26 ^e
Comercial 1	11.68±0.76 ^b
Comercial 2	49±0 ^f
Comercial 3	10.45±0 ^b
Comercial 4	56.36±2.076 ^g

a, b, c, d, e, f, g Las medias que presentan diferentes supraíndices son significativamente diferentes ($\alpha \leq 0.05$)

Figura 23. Gráfica de Determinación de Ácido Ascórbico

En cuanto al contenido de fitoesteroles sólo se comprobó que se encuentran presentes en todas las muestras mediante CCF y como se sabe que estos compuestos son más estables a los tratamientos térmicos entonces se puede considerar que se tiene la cantidad aproximada que en el nopal fresco 3.2g/100g b.s.⁷³

4.4 Cantidad recomendada de los polvos de nopal

Si se toma en cuenta la IDR recomendada para los compuestos bioactivos analizados y la dieta del mediterráneo, donde se consumen elevadas dosis de esteroleos totales 256.8mg/d, carotenos totales 65.7mg/d, flavonoles totales 37.2mg/d, flavonoides 79.01mg/d y mediante estudios han encontrado que ésta dieta ayuda a reducir la mortalidad asociada a enfermedades del corazón, que está asociada con la longevidad, está inversamente asociada a la presión arterial alta y por último no afecta el índice de masa corporal debido al bajo contenido calórico,⁷⁵ entonces a partir de los resultados obtenidos en la determinación de

compuestos bioactivos, se puede establecer una IDR de los polvos de nopal que contenga la cantidad aproximada a la ingesta recomendada de dichos compuestos y así ayudar a prevenir y/o tratar las enfermedades antes mencionadas.

La forma de ingerir estos polvos de nopal es adicionar una cucharada (10g) a un vaso de agua o jugo y tomarlo de preferencia por la mañana. Por una cucharada de cada uno de los polvos se obtiene la siguiente cantidad de los compuestos bioactivos:

Tabla 18. Cantidad de compuestos bioactivos por 1 cucharada de polvo de nopal en 240ml de jugo o agua

Muestra	Fenoles totales mg/g b.s.	Flavonoides mg/g b.s.	Flavonoles mg/g b.s.	Carotenos mg/g b.s.	Ácido ascórbico mg/100g b.s.
Residuo Liofilizado	337.5	207.9	51.34	6.53	0.77
Nopal Liofilizado	313.2	222.6	26.29	5.30	3.68
Residuo 45°C	385.3	275.1	26.59	6.03	2.09
Nopal 45°C	409.7	234.1	21.28	5.33	2.88
Comercial 1	170.9	92.4	3.49	4.41	1.17
Comercial 2	173.4	80.5	2.67	4.75	4.9
Comercial 3	188.0	108.0	1.5	2.66	1.04
Comercial 4	144.2	37.3	1.51	3.17	5.6

En la tabla 18 se puede observar la cantidad de compuestos bioactivos que nos proporciona cada una de las muestras, siendo las mejores fuentes las liofilizadas y las deshidratadas a 45°C, ya que cubren el requerimiento de flavonoides y flavonoles (218mg/día), de carotenos (1.9mg, 6.5mg/día) y son una buena fuente de fenoles totales ya que aportan entre 300 y 400mg. Las muestras comerciales sólo cubren el requerimiento de carotenos totales.

En cuanto al ácido ascórbico ninguna de las muestras se aproxima al requerimiento (60mg/día), por lo que se debe ingerir diversas frutas y verduras con alto contenido de ácido ascórbico.

Con respecto a los fitoesteroles se ha reportado que el contenido en nopales es de 3mg/100g y si consideramos que son estables al tratamiento térmico podemos suponer que se encuentra en la misma concentración en los polvos por lo que una cucharada proporciona 0.3mg, lo cual corresponde al 1.25% del requerimiento, por tal motivo es necesario ingerir diversas frutas y vegetales que contengan este compuesto, para cubrir el requerimiento por ejemplo se tiene el aguacate (76mg/100g), el limón (8mg/100g), la naranja (17mg/100g), plátano (11mg/100) y manzana (11mg/100g) entre otros.

CONCLUSIONES

- Por medio de CCF se determinó la presencia de los flavonoides de interés (quercetina, kaempferol, isorhamnetina) así como de los esteroides.
- Se determinó la concentración de fenoles totales encontrándolos en mayor proporción en las muestras liofilizadas y deshidratadas por tratamiento térmico a 45°C con valores entre 30 y 40mg ác. gálico/g b.s. respectivamente.
- Los flavonoides y flavonoles se encontraron en mayor concentración en el residuo liofilizado (RL) 20.79mg/g b.s y 8.821mg/g b.s. respectivamente.
- Los carotenos se conservaron mejor en el residuo liofilizado (RL) 0.653 mg/g b.s.
- El ácido ascórbico al reaccionar fácilmente con el oxígeno se perdió en las muestras deshidratadas en el laboratorio encontrándose en mayor cantidad en las muestras comerciales.
- Se estableció una dosis de los polvos de nopal, la cual corresponde a una cucharada (10g) en un vaso de 240ml con agua o jugo, con la cual los productos liofilizados y los deshidratados a 45°C, cubren el requerimiento diario de los fenoles, flavonoles, flavonoides y carotenos.
- Se comprobó que los polvos comerciales no contienen los compuestos bioactivos en las cantidades requeridas por lo que sirven principalmente como fuente de fibra dietética.
- Para comercializar el producto a un menor costo de producción es recomendable utilizar el deshidratado a 45°C ya que ésta condición mantiene las concentraciones adecuadas de los compuestos bioactivos para cubrir la ingesta diaria recomendada y es más barato que la liofilización.
- Es recomendable deshidratar el nopal completo ya que el residuo y el nopal sin espinas complementan la proporción de ciertos compuestos bioactivos.

6. ANEXOS

6.1 ANEXO 1

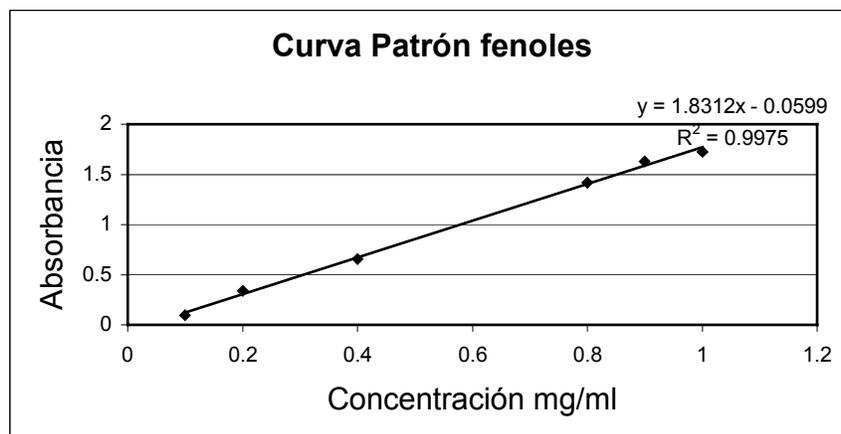
Curvas Patrón

Para calcular la concentración de algunos compuestos bioactivos como fenoles totales, flavonoles totales, quercetina, kaempferol, isorhamnetina y β -caroteno se requirió de curvas patrón. De las cuales la de fenoles y flavonoles totales se midieron en el espectrofotómetro y el resto se midieron en el HPLC.

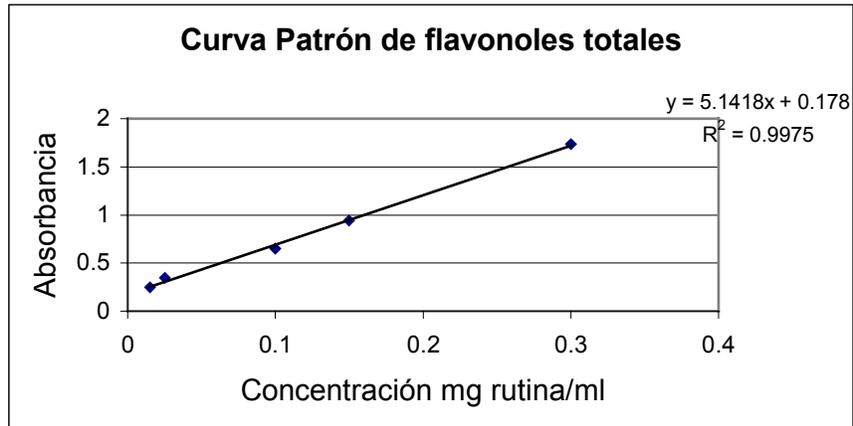
De todas las curvas se muestran las unidades, la ecuación de la recta y el coeficiente de variación, este último está alrededor de 0.99 para todas las curvas patrón y varía a partir de la tercera cifra decimal, por lo que es aceptable. A continuación aparecen las curvas patrón antes enlistadas.

6.1.1 Curva Patrón de fenoles totales (espectrofotómetro)

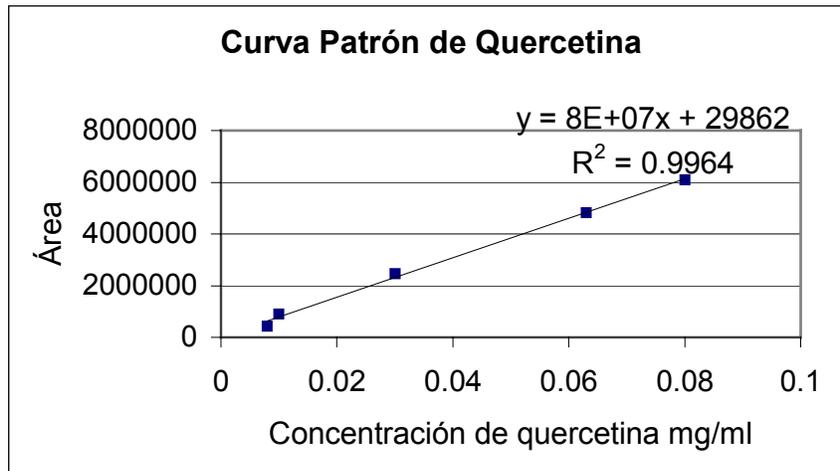
La concentración se expresa en mg de ácido gálico/ ml.



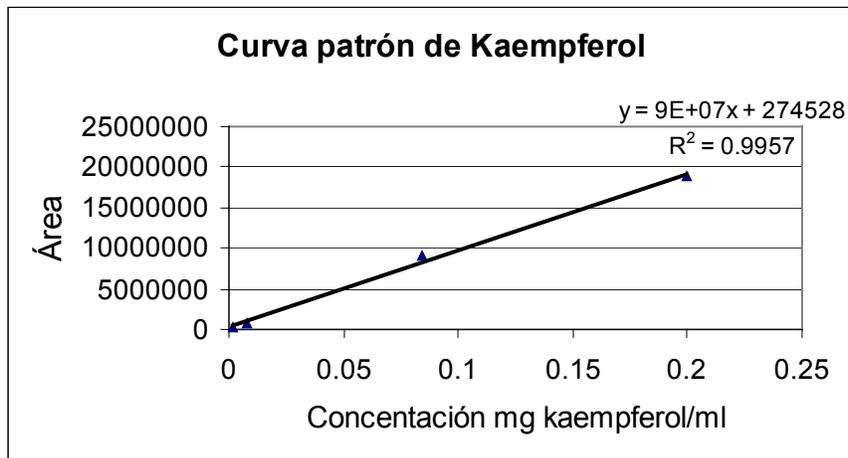
6.1.2 Curva Patrón de flavonoles totales (espectrofotómetro)



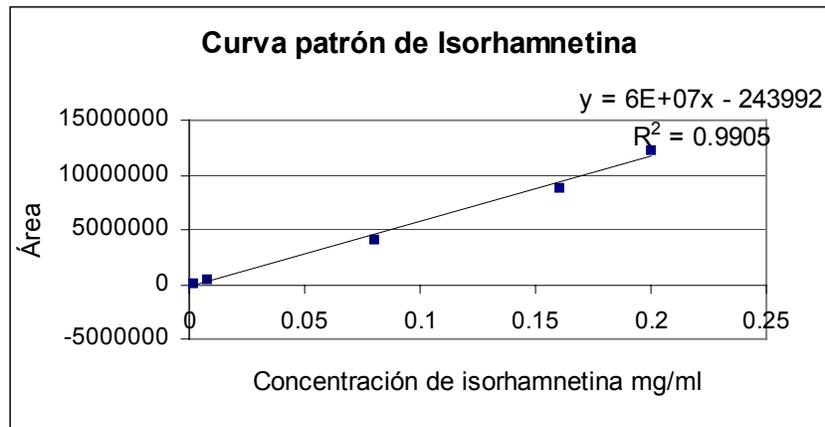
6.1.3 Curva Patrón de Quercetina (HPLC)



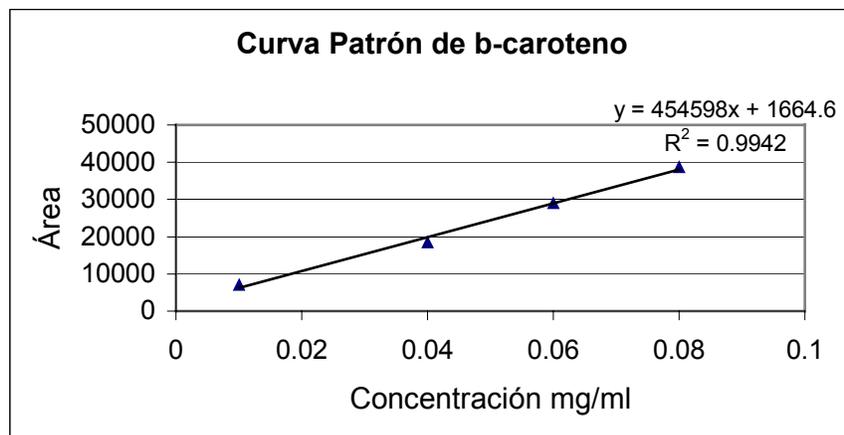
6.1.4 Curva Patrón de Kaempferol (HPLC)



6.1.5 Curva Patrón de Isorhamnetina (HPLC)



6.1.6 Curva Patrón de β -caroteno (HPLC)

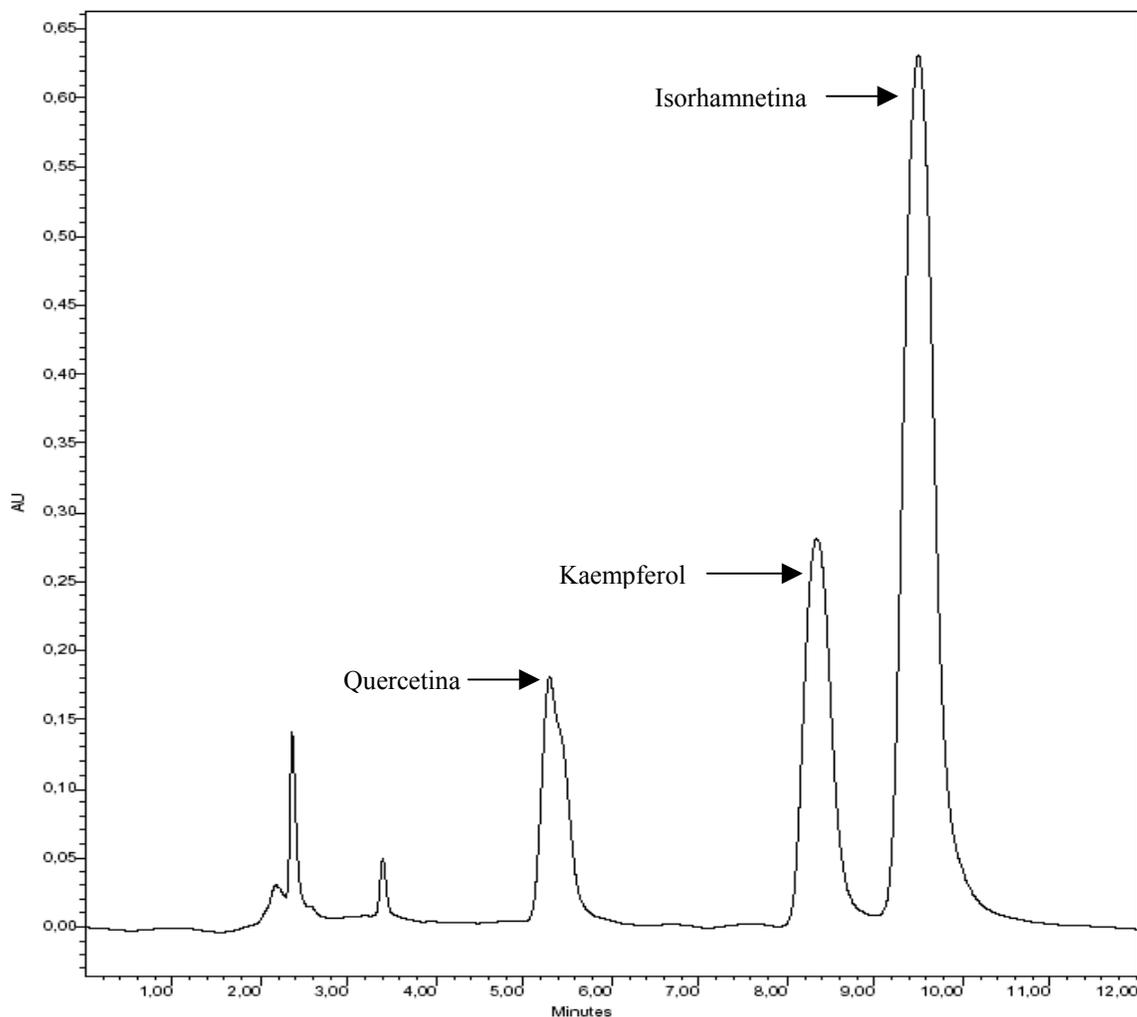


6.2 ANEXO 2

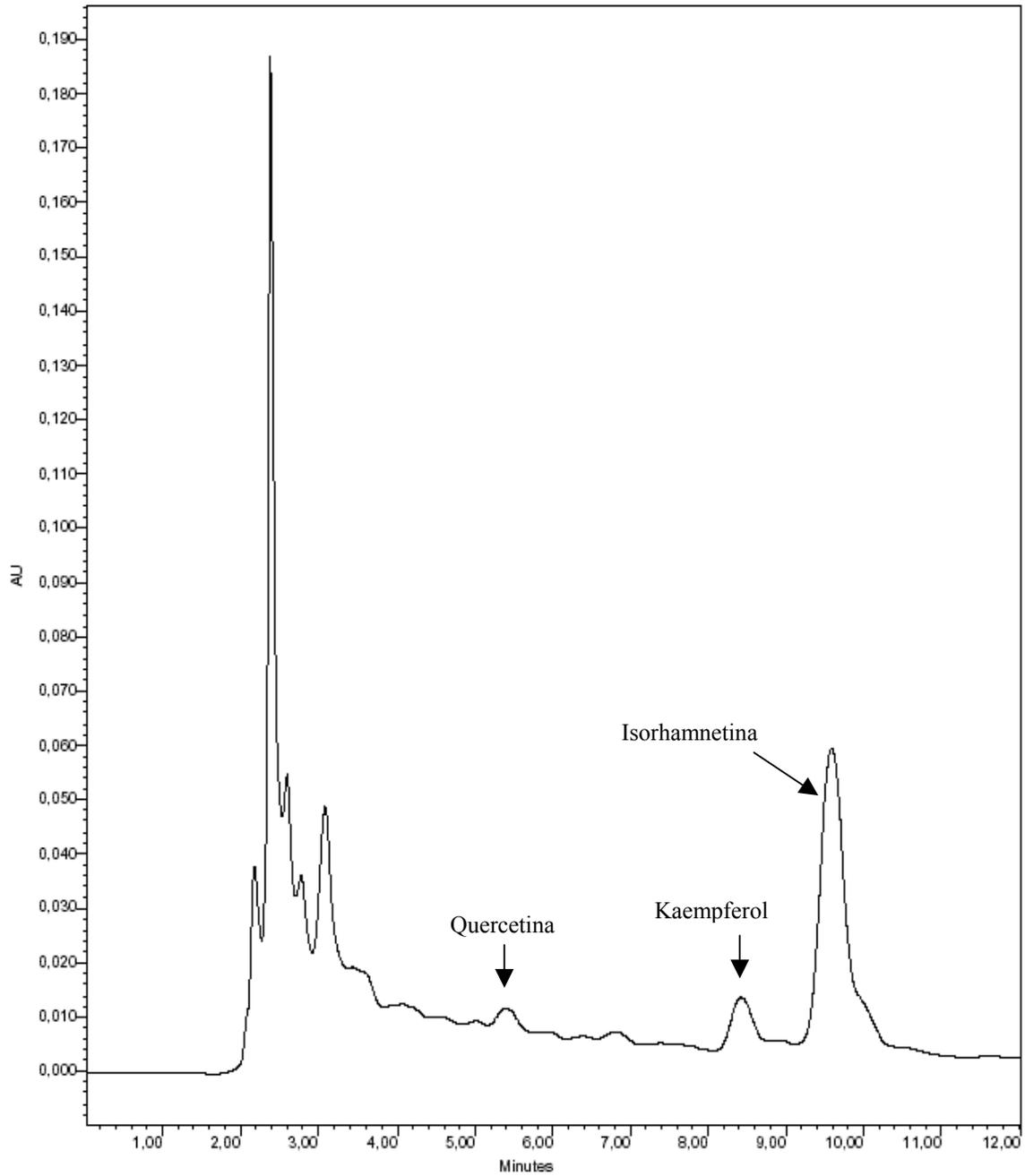
Cromatogramas

En la determinación del perfil de flavonoles mediante HPLC se obtuvieron diversos cromatogramas para las muestras, de los cuales sólo se tomaron dos representativos ya que sólo cambió la absorbancia de los compuestos pero los picos tienen los mismos tiempos de retención en todas las muestras, el primer cromatograma representa a las muestras liofilizadas y deshidratadas a 45°C y el segundo representa a las muestras comerciales.

6.2.1 Cromatograma del perfil de flavonoles para muestras liofilizadas y deshidratadas a 45°C.

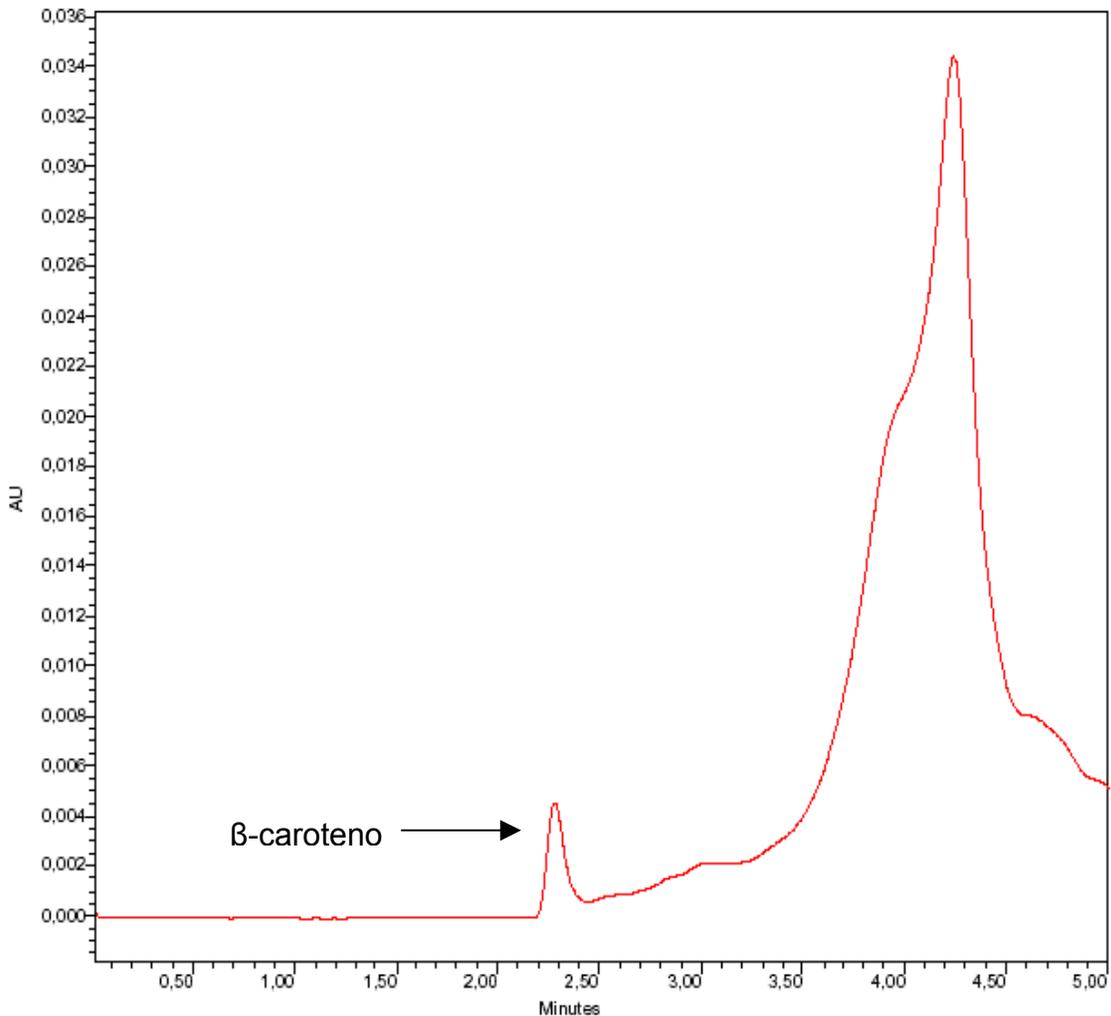


6.2.2 Cromatograma del perfil de flavonoles para muestras comerciales.

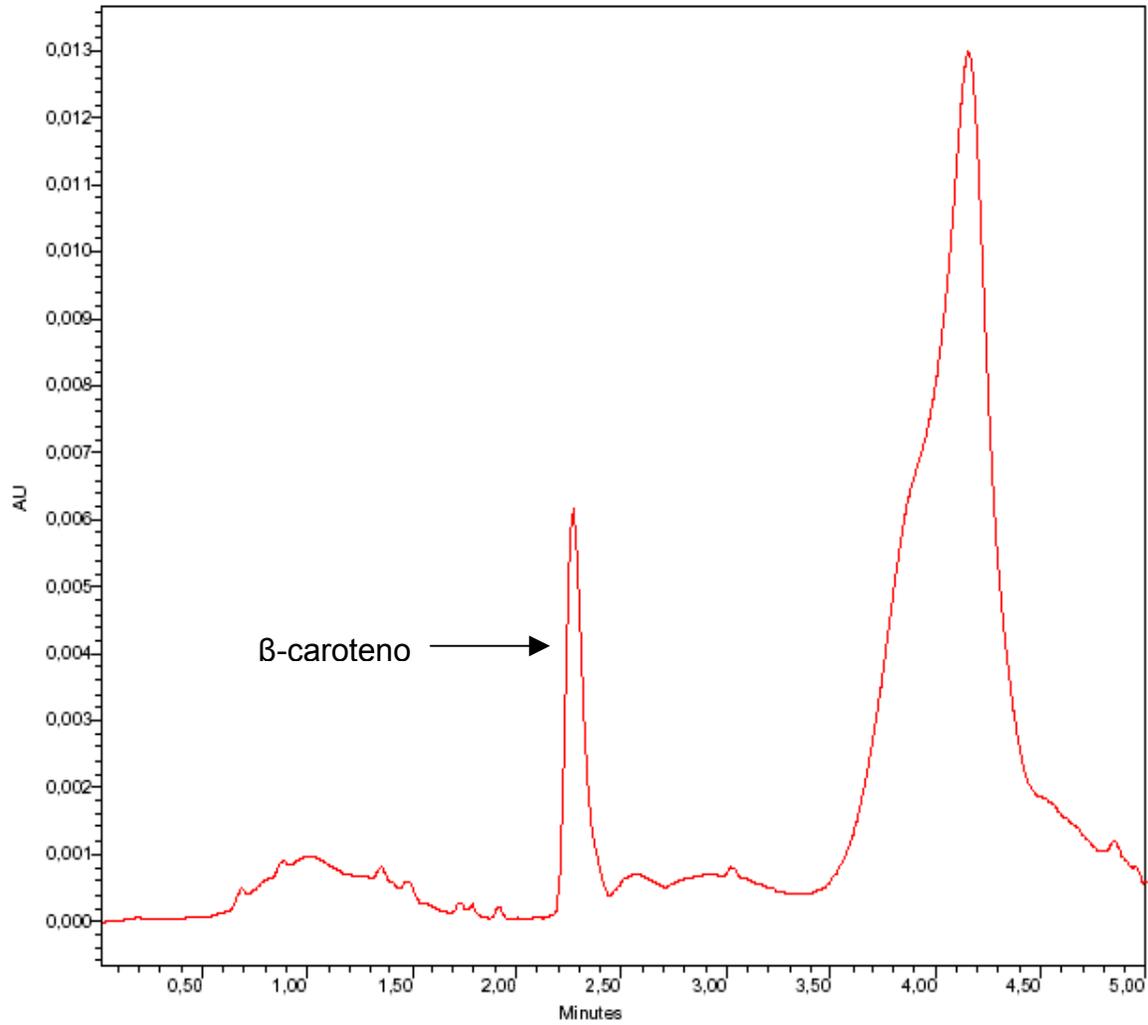


6.2.3 Cromatograma de la determinación del β -caroteno para muestras liofilizadas y deshidratadas a 45°C.

En la determinación del β -caroteno mediante HPLC se obtuvieron diversos cromatogramas para las muestras, de los cuales se eligieron dos representativos, el primer cromatograma representa a las muestras liofilizadas y deshidratadas a 45°C; el segundo representa a las muestras comerciales.



6.2.4 Cromatograma de la determinación del β -caroteno para muestras comerciales.



BIBLIOGRAFÍA

1. Alvídrez M. A., González M. B. E. y Jiménez S. Z. **2002**. Tendencias en la Producción de Alimentos: Alimentos Funcionales. *Revista Salud Pública y Nutrición* 3(3).
2. Alves R. A. y Shao A. **2004**. The science behind lutein. *Toxicology Letters* 150: 57-83.
3. Andary C. y Mondolot C. L. **1997**. Histolocalization of plant polyphenols in tissues and cell walls. Some applications. En: *Polyphenols in foods. Proceedings of a European COST concerted action scientific workshop*, 41-44.
4. AOAC Official Methods of Analysis of AOAC International. **1990**. 15th Edition, Estados Unidos. pp. 1058-1059.
5. Arai S. **1996**. Studies on functional foods in Japan. State of the art. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 60: 9-15.
6. Araya L. H. y Lutz R. M. **2003**. Alimentos Funcionales y Saludables. *Revista Chilena de Nutrición* 30(1).
7. Arvanitoyannis I. S. y Houwelingen K. M. V. **2005**. Functional Foods: A Survey of Health Claims, Pros and Cons, and Current Legislation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45: 385-404.
8. Barbosa C. G. V. y Vega M. H. **2000**. *Deshidratación de Alimentos*. Editorial Acribia, S. A., Zaragoza (España).
9. Baurin N., Arnoult E., Scior T. y Bernard P., **2002**. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. En línea www.elsevier.com.
10. Berger A., Jones P. J. H. y Abumweis S. S. **2004**. Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids in Health and Disease* 3(5).
11. Bouic P. J. **2001**. The role of phytosterols and phytosterolins in immune modulation: a review of the past 10 years. *Current Opinion Clinical Nutrition and Metabolic Care* 4: 471-475.

12. Bravo-Hollins H., **1978**. Las cactáceas de México 2ª ed Vol 1 U.N.A.M México.
13. Bravo L., **1998**. Polyphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Revista de Nutrición* 56(11): 317-333.
14. Butler L. G., **1992**. Protein polyphenol interactions: nutritional aspects. En: *Proceedings of the 16th International Conference o Grape Polyphenol*. 16(11): 11-18.
15. Cadena Santos Vianey, **2006**. Tesis: Nopal (*Opuntia spp.*): Estudio para valorar la utilización de residuos de cladodio como fuente de fibra dietética y antioxidantes. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.
16. Casanueva E., Kaufer H. M., Pérez L. A. B. y Arroyo P., **2001**, “Nutriología Médica”, 2ª edición, Editorial Médica Panamericana, México.
17. Chasquibol S. N., Lengua C. L., Delmás I., Rivera C. D., Bazán D., Aguirre M. R. y Bravo A. M. **2003**. Alimentos Funcionales o fitoquímicos, clasificación e Importancia. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química* 5(2): 9-20.
18. Compassi S., Werder M., Weber F.E., Boffelli D., Hauser H. y Schulthess G. **1997**. Comparison of cholesterol and sitosterol uptake in different brush border membrane models. *Biochemistry* 36: 6643-6652.
19. Dias A. C. P., Fernandes P., Cabral J. M. S. y Pinheiro H. M. **2002**. Isolation of a biodegradable sterol-rich fraction from industrial wastes. *Bioresource Technology* 82: 253-260.
20. Etherton K., Ph. D., R. D., Hecker K. D., M. S., R. D., Bonanome A., M. D., Coval S. M., M. S., Binkoski A. E., B. S., R. D., Hilpert K. F., Griel A. E., M. Ed., Etherton T. D. y Ph. D., **2002**. Bioactive Compounds in Foods: Their Role in the prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. *The American Journal of Medicine* 113(9B): 71-87.
21. Fennema R. Owen, **2000**. “Química de los Alimentos”, 2ª edición, Editorial Acribia, Zaragoza (España).

22. Gray D. E., Upton R., Chandra A., Porter A. y Harris R. K., **2006**. Quantitative Analysis of Flavonol Glycosides in Ginko biloba: a Comparison of two Analytical Methods. *Phytochemical Analysis*. 17: 56-62.
23. Guohua C. Sofic E. y Ronald L. P., **1997**. Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids. Structure activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine* 22(5): 749-760.
24. Gulati O. P. y Berry O. P., **2006**. Legislation relating to nutraceuticals in the European Union with a particular focus on botanical-sourced products. *Toxicology* 221: 75-87.
25. Hamama A. y Nawar W., **1991**. Thermal decomposition of some phenolic antioxidant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 39: 1063-1069.
26. Harborne J. B., **1993**. The flavonoids: Advances in Research Since 1986. Chapman y Hall Ed., London.
27. Hertog M. G. L., Kromhout D. A., Blackburn M. D., Findanza R., O. S. y col., **1996**. Flavonoid intake and long-term risk of Coronary Heart Disease and Cancer in the Seven countries study. *Arch Intern Med*. 155: 381-386.
28. Hollman P. C. H. y Katan M. B., **1997**. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed and Pharmacother* 51: 305-310.
29. Hooper L. y Cassidy A., **2006**. A review of the health care potential of bioactive compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86: 1805-1813.
30. Hui Y.H., Ghazala S., Graham D. M., Murrell K. D. y Nip W. K., **2004**. Handbook of Vegetable Preservation and Processing. Editorial Marcel Dekker, Inc. New York.
31. Hwang K. T., Kim J. E. y Weller C. L. **2005**. Policosanol Contents and Compositions in Wax-Like Materials Extracted from Selected Cereals of Korean Origin. *Cereal Chemistry* 82(3): 242-245.
32. INE, Instituto Nacional de Ecología en línea, **2004**. Nopal verdura. www.ine.gob.com.mx
33. Jaramillo, F. M. E., González C. L., Cornejo M. M., Dorantes A. L., Gutiérrez L. G. F. and Hernández S. H., **2003**. Effect of Thermal Treatment on the

- Antioxidant Activity and Content of Carotenoids and Phenolic Compounds of Cactus Pear Cladodes (*Opuntia ficus indica*). Food Science Technology International 9: 271-278.
34. Journal of the American Dietetic Association, **2002**. Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber 102(7): 993-999.
35. Kajadphal T. A., Jones G. P., Wahiqvisr M. L. y Briggs D. R., **1998**. Evaluation of extraction method for the analysis of carotenoids in fruits and vegetables. Food Chemistry 63(4): 577-584.
36. Kim J. H., Park M. S., Joo H. H., Jong M. C., Kyun S. T., Mi K. J., Ho L. N., Chun K. H., Jin J. K. y Bok W. M., **2006**. *Opuntia ficus indica* attenuates neuronal injury in vitro and in vivo models of cerebral ischemia. Journal of Ethno-pharmacology, 104: 257-262.
37. Kurilich A. C. y Juvik J. A., **1999**. Simultaneous quantification of carotenoids and tocopherols in corn kernel extracts by HPLC. Journal Liquid. Chromatography and Rel. Technologies 22(19): 2925-2934.
38. Lagarda M. J., García L. G. y Farré R., **2006**. Analysis of phytosterols in foods. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 41: 1486-1496.
39. Law M. R., **2000**. Plant sterol and stanol margarines and health. West Journal of Medicine 173: 43-47.
40. Losso Jack N., **2002**. Preventing Degenerative Diseases by Anti-angiogenic Functional Foods. Food Technology 56(6): 78-87.
41. Malainine M. E., Alain D., Daniele D., Mostafa M., Goger V. y Michael R. V., **2003**. Structure and morphology of cladodes and spines of *Opuntia ficus-indica*. Cellulose extraction and characterization. Carbohydrate Polymers 51: 77-83.
42. Marccone M. F., Kaduda Y. y Yada R. Y., **2004**. Amaranth as a rich dietary source of β -sitosterol and other phytosterols. Plant Foods for Human Nutrition 58: 207-211.
43. Martínez F. S., González G. J., Culebras J. M. y Tuñón J., **2002**. Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria 17(6): 271-278.

44. Martínez V. I., Periago M. J. y Ros G., **2000**. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *ALAN* 50(1).
45. Matthaus, B., **2002**. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(12): 3444-3452.
46. Mazza G. y Ph. D., **2000**. Alimentos Funcionales aspectos bioquímicos y de procesado. Editorial Acribia. Zaragoza (España).
47. McEvily A. J., Iyenger R. y Gross A. T., **1992**. Inhibition o polyphenols oxidase by phenolics compounds. Washington DC 318-321.
48. Milo O. L., **2002**. Nutraceuticals and Functional Foods: Circulating Herat-Smart News. *Institute of Food Technologists* 56: (6).
49. Most M. M., Ph. D., R. D. y F. A. D. A., **2004**. Estimated Phytochemical Content of the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) Diet is Higher tan in the Control Study Diet. *Journal of the American Dietetic Association* 104(11): 1725-1727.
50. Nishino H., Murakoshi M., Yang M. X., Wada S., Masuda M., Ohsaka Y., Satomi Y. y Jinno K., **2005**. Cancer Prevention by Phytochemicals. *Oncology* 69 (suppl 1): 38-40.
51. Palou A. F. Serra, **2000**. Perspectivas europeas sobre alimentos funcionales. *Alimentación, Nutrición y Salud* 7(3): 76-90.
52. Paredes L. O., Guevara L. F. y Bello P. L. A., **2006**. Los alimentos mágicos de las culturas indígenas mesoamericanas. Editorial Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
53. Pedrero F. D. L. y Pangborn R. M., **1996**. Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos analíticos. 1ª reimpresión. Editorial Alhambra Mexicana. México.
54. Peña A. M. B., **2006**. Usos de los nopales *Opuntia spp*. Memorias del Foro Nacional: Conocimiento y conservación de *Opuntias spp* (Nopales) de México.

55. Periago M. J., Ros G., López G., Martínez M. C. y Rincón, **1993**. Componentes de la fibra dietética y sus efectos fisiológicos. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de los Alimentos* 33: 229-245.
56. Philip T. y Chen T. S., **1988**. Separation and Quantitative Analysis of Some Carotenoid Fatty Acid Esters of Fruits by Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography* 435: 113-126.
57. Phillips M. K., Ruggio M. D. y Ashraf K. M., **2005**. Phytosterol Composition of Nuts and Seeds Commonly Consumed in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 9436-9445.
58. Plat J. K. D. A. y Mensink R. P., **2000**. Therapeutic potential of plant sterol and stanols. *Current Opinion in Lipidology* 11: 571-576.
59. Portillo M. L., **2006**. Situación Actual y perspectivas de *Dactylopius coccus* COSTA (Grana-Carmín). *Memorias del Foro Nacional: Conocimiento y conservación de Opuntias spp (Nopales) de México*.
60. Pratt D. E., **1992**. Natural antioxidant from plant material. Phenolic compounds in food and their effects on health II. Antioxidants and cancer prevention. American Chemical Society, Washington, DC 54-68.
61. Pratt D. E. y Hudson B. J. F., **1990**. Natural antioxidant no exploited commercially. In: Hudson, B. J. F. of Elsevier Applied Sciences. *Food Antioxidants*. London 171-180.
62. Riezzo G., Chiloiro M. y Russo F., **2005**. Functional Foods: Salient Features and Clinical Applications. *Current Drug Targets-Immune, Endocrine and Metabolic Disorders* 5: 331-337.
63. Robards K., Prenzler P. D., Tucker G., Swatsitang P. y William G., **1999**. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66: 401-436.
64. Rodriguez A. B. D., **1999**. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington: OMNI Research-ILSI Press 37-45.
65. Rosado L. J., López P., Huerta Z., Muñoz E. y Mejía L., **1993**. Dietary Fiber in Mexican Foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 6: 215-222.
66. SAGARPA en línea <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>.

67. Saura C., F., **1998**. Effect of condensed tannins in the analysis of dietary fiber in carbo pods. *Journal of Food Chemistry* **46**: 4303-4306.
68. Schieber A. y Carle R., **2005**. Occurrence of carotenoid *cis*-isomers in food: Technological, analytical and nutritional implications. *Food Science and Technology* **16**: 416-422.
69. Sherman T., Le G. T. y Lax A., **1995**. Implications of the phylogenetic distribution of polyphenol oxidase in plants, in *Enzymatic Browning and its Prevention*. American Chemical Society 103-104.
70. Shi Ph D J., Mazza G. y Le-Maguer M., **2002**. *Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects*. Volume 2, Editorial CRC Press, United States of America.
71. Shoefs B., **2003**. Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. A practical case by case view. *Trends in Analytical Chemistry* **22(6)**: 335-339.
72. Soczewinski E., Wojciak M., y Matysik G., **2005**. Analysis of glycosides and aglycones of flavonoid compounds by double development thin layer chromatography. *Camag Bibliography Service CBS* **95**: 95021.
73. Stintzing F. C. y Reinhold C., **2005**. Cactus stems (*Opuntia sp*) A review on their chemistry, technology and uses. *Molecular Nutrition and Food Research*. **49**: 175-194.
74. Su Q., Rowley K. G. y Balazs N. D. H., **2002**. Carotenoids: separation methods applicable to biological samples. *Journal of Chromatography B*. **781**: 393-418.
75. Trichopoulou A., Vasilopoulou E. Georga K., Soukara S. y Dilis V., **2006**. Traditional foods: Why and how to sustain them. *Trends in Food Science and Technology* **17**: 498-504.
76. Valenzuela A. y Ronco A. M., **2004**. Fitoesteroles y Fitoestanoles: Aliados naturales para la protección de la salud cardiovascular. *Revista Chilena de Nutrición* **31**: 161-169.
77. Valenzuela, A., Sanhueza, J. y Nieto, S., **1997**. Digestión, absorción y transporte de los ácidos grasos: una perspectiva diferente en la interpretación de sus efectos nutricionales. *Grasas y Aceites* **IX**: 582-588.

78. Vázquez A. R. E., **2006**. Comercialización del Nopal Verdura. Memorias del Foro Nacional: Conocimiento y conservación de *Opuntias spp* (Nopales) de México.
79. Velioglu Y. S., Mazza G, Gao L. y Oomah B. D., **1998**. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(10): 4113-4117.
80. Vigueras A. L., **2006**. Manejo poscosecha, aplicación y factores de extracción de la Grana Cochinilla. Memorias del Foro Nacional: Conocimiento y conservación de *Opuntias spp* (Nopales) de México.
81. Vinson J. A., Dabbagh Y. A., Serry M. M. y Jang J., **1995**. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro model for heart disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 2800-2802.
82. Walker J. y Ferrar P., **1995**. The control of enzymic browning in foods. In *Chemistry and Industry*. 836-839.
83. Wallace R. S., **1986**. Biochemical taxonomy and the cactaceae: An introduction and review. *Cactus and Succulent Journal (U.S.)* 58: 35-38.
84. Wang Y., Cao J., Weng J. y Zeng S., **2005**. Simultaneous determination of quercetin, kaempferol and isorhamnetin accumulated human breast cancer cells, by high-performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.
85. Wang Y., Chuang Y. y Ku Y. H., **2006**. Quantitation of bioactive compounds in citrus fruits cultivated in Taiwan. *Food Chemistry*.
86. Weber N., Weitkamp P. y Mukherjee K. D., **2002**. Cholesterol-lowering food additives: lipase-catalysed preparation of phytosterol and phytostanol esters. *Food Research International* 35: 177-181.
87. Yermakov, A. I., Arasimov, V.V. y Yarosh, N. P., **1987**. Methods of biochemical analysis of plants. Leningrad: Agropromizdat (in Russian).
88. Zeisel S., **1999**. Regulation of "nutraceuticals". *Science* 285: 1853-1855.
89. Zu Y., Li C., Fu Y. y Zhao C., **2006**. Simultaneous determination of catechin, rutin, quercetin, Kaempferol and isorhamnetin in the extract of sea

buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves by RP-HPLC with DAD.
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 41: 714-719.