



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN FRUTAS  
ORIGINARIAS DE MÉXICO DE LA REGIÓN SEMIÁRIDA.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA:**

**PAOLA ORDOÑEZ GARCÍA**



**Ciudad Universitaria, Cd- Mx.**

**2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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: Q.F.B. HUGO RUBEN CARREÑO ORTIZ

VOCAL: M. en C. LUCIA CORNEJO BARRERA

SECRETARIO: Dr. ARTURO NAVARRO OCAÑA

1ER. SUPLENTE: Dra. HILDA ELIZABETH CALDERON VILLAGOMEZ

2° SUPLENTE: M. en C. CARLOS EDUARDO SERRANO MALDONADO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Departamento de Alimentos y Biotecnología

Facultad de Química, Ciudad Universitaria, Laboratorio 321, Conjunto E.

ASESOR DEL TEMA:

---

Arturo Navarro Ocaña

SUSTENTANTE:

---

Paola Ordoñez García

## **AGRADECIMIENTOS**

Al apoyo económico de CONACYT 2012-CB180128.

Al apoyo económico del proyecto PAPIIT-UNAM IN220015.

A la colaboración de M. en C. Ma. Teresa de Jesús Olivera Flores, coordinadora del laboratorio de cultivo de tejidos vegetales del Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, UNAM.

# ÍNDICE

	Página
<b>1. RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
<b>3. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>4</b>
3.1 FRUTOS DE CACTÁCEAS EN MÉXICO .....	4
3.1.1 <i>Tuna (Opuntia spp.)</i> .....	5
3.1.2 <i>Xoconostle (Opuntia matudae)</i> .....	6
3.1.3 <i>Garambullo (Myrtillocactus spp.)</i> .....	7
3.1.4 <i>Pitaya (Stenocereus spp.)</i> .....	8
3.1.5 <i>Jiotilla (Escontria chiotilla)</i> .....	10
3.1.6 <i>Pitahaya (Hylocereus spp.)</i> .....	11
3.2 ALIMENTOS FUNCIONALES .....	12
3.3 COMPUESTOS BIOACTIVOS .....	14
3.4 COMPUESTOS FENÓLICOS .....	15
3.4.1 <i>Flavonoides</i> .....	17
3.4.2 <i>Ácidos fenólicos</i> .....	18
3.5 BETALAÍNAS .....	20
3.6 CAROTENOIDES .....	22
3.7 ESTEROLES VEGETALES .....	23
3.8 ÁCIDOS GRASOS .....	25
3.9 CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES .....	26
<b>4 HIPÓTESIS</b> .....	<b>29</b>
<b>5 OBJETIVOS</b> .....	<b>29</b>
5.1 OBJETIVO GENERAL .....	29
5.2 OBJETIVOS PARTICULARES .....	29
<b>6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL</b> .....	<b>30</b>
6.1 DISOLVENTES Y REACTIVOS .....	30
6.2 EQUIPOS.....	30
6.3 PROCEDIMIENTO.....	30
6.3.1 <i>PRIMERA PARTE: Cuantificación de compuestos bioactivos totales</i> ....	31
6.3.1.1 Fenoles totales .....	31
6.3.1.2 Flavonoides totales.....	32
6.3.1.3 Flavonoles totales.....	32
6.3.1.4 Betalaínas totales .....	33
6.3.1.5 Carotenos totales .....	33

6.3.2	<i>SEGUNDA PARTE: Identificación por CCF y cuantificación por HPLC</i>	35
6.3.2.1	Betalainas.....	35
6.3.2.2	Esteroles.....	35
6.3.2.3	Ácidos fenólicos.....	35
6.3.2.4	Flavonoides .....	37
6.3.3	<i>TERCERA PARTE: Identificación de ácidos grasos en semillas por cromatografía de gases</i> .....	39
6.3.4	<i>CUARTA PARTE: Análisis de compuestos bioactivos en matrices alimentarias</i> .....	40
6.3.4.1	Formulaciones .....	40
6.3.4.2	Actividad antioxidante por inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) .....	41
6.3.5	<i>QUINTA PARTE: Cultivo de tejidos de xoconostle</i> .....	43
6.3.6	Análisis estadístico .....	44
<b>7</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>45</b>
7.1	<i>PRIMERA PARTE: CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS TOTALES</i> ....	45
7.1.1	<i>Fenoles totales</i> .....	45
7.1.2	<i>Flavonoides totales</i> .....	46
7.1.3	<i>Flavonoles totales</i> .....	48
7.1.4	<i>Betalainas totales</i> .....	49
7.1.5	<i>Carotenos totales</i> .....	50
7.2	<i>SEGUNDA PARTE: IDENTIFICACIÓN POR CCF Y CUANTIFICACIÓN POR HPLC</i> ..	51
7.2.1	<i>Betalainas</i> .....	51
7.2.2	<i>Esteroles</i> .....	53
7.2.3	<i>Identificación por CCF y cuantificación por HPLC de ácidos fenólicos</i> ..	55
7.2.4	<i>Identificación por CCF y cuantificación por HPLC de flavonoides</i> .....	59
7.3	<i>TERCERA PARTE: IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN SEMILLAS POR CROMATOGRFÍA DE GASES.</i> .....	62
7.4	<i>CUARTA PARTE: ANÁLISIS DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN MATRICES ALIMENTARIAS</i> .....	64
7.4.1	<i>Fenoles totales en matrices alimentarias</i> .....	65
7.4.2	<i>Flavonoides totales en matrices alimentarias</i> .....	66
7.4.3	<i>Flavonoles totales en matrices alimentarias</i> .....	66
7.4.4	<i>Betalainas totales en matrices alimentarias</i> .....	67
7.4.5	<i>Carotenos totales</i> .....	69
7.4.6	<i>Actividad antioxidante por inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)</i> .....	69
7.5	<i>QUINTA PARTE: CULTIVO DE TEJIDOS DE XOCONOSTLE</i> .....	73
7.5.1	<i>Fenoles totales en cultivo de tejidos de xoconostle</i> .....	73
7.5.2	<i>Flavonoides totales en cultivo de tejidos de xoconostle</i> .....	74

7.5.3 Flavonoles totales en cultivo de tejidos de xoconostle.....	76
7.5.4 Betalaínas totales en cultivo de tejidos de xoconostle .....	77
7.5.5 Carotenos totales en cultivo de tejidos de xoconostle .....	78
7.5.6 Betalaínas en CCF en cultivo de tejidos de xoconostle .....	79
7.5.7 Esteroles en CCF en cultivo de tejidos de xoconostle .....	80
7.5.8 Identificación por CCF y cuantificación por HPLC de ácidos fenólicos en cultivo de tejidos de xoconostle. ....	81
7.5.9 Identificación por CCF y cuantificación por HPLC de flavonoides en cultivo de tejidos de xoconostle. ....	82
<b>8 CONCLUSIONES .....</b>	<b>85</b>
<b>9 PERSPECTIVAS .....</b>	<b>86</b>
<b>10 BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>87</b>
<b>11. ANEXOS .....</b>	<b>98</b>

## 1. RESUMEN

En la actualidad existe una alta demanda de productos naturales provenientes de plantas que crecen en regiones áridas y semiáridas, en las que se incluyen especies pertenecientes a las cactáceas. Hablar de la importancia de las cactáceas productoras de frutos comestibles, implica referirse a varios géneros de la familia *Cactaceae*, que han jugado un papel importante en la cultura y alimentación del pueblo mexicano, y que no han tenido la atención que merecen.

El presente proyecto estuvo enfocado a identificar y cuantificar los compuestos bioactivos que contienen algunas frutas de las zonas semiáridas de México, estas son la tuna (*Opuntia ficus-indica* y *Opuntia robusta*), el garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*), la jiotilla (*Escontria chiotilla*), la pitaya (*Stenocereus* spp.) y la pitahaya (*Hylocereus* spp.).

El plan de trabajo fue dividido en cinco partes. La primera parte consistió en determinar la concentración total de fenoles, betalaínas, flavonoides, flavonoles y carotenos donde la pitaya (*Stenocereus* spp.) tuvo la mayor cantidad de compuestos fenólicos, tanto en fenoles totales como en flavonoides y flavonoles. En las otras cuantificaciones, betalaínas y carotenos totales, la cáscara de la tuna taponada (*O. robusta*) obtuvo los valores más altos.

En la segunda parte se identificaron por cromatografía en capa fina (CCF) betalaínas, esteroides, flavonoides y ácidos fenólicos además de cuantificar los últimos dos por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). En esta etapa se observó que la pitahaya (*Hylocereus* spp.) contenía mayor concentración de esteroides, también que la rutina y el ácido ferúlico fueron el flavonoide y el ácido fenólico presentes en mayor cantidad de muestras.

En la tercera parte se identificaron el ácido palmítico, palmitoleico y oleico en las semillas de pitaya (*Stenocereus* spp.), tuna taponada (*O. robusta*) y tuna roja (*O. ficus-indica*) además del ácido linoleico en las semillas de pitaya (*Stenocereus* spp.) y tuna taponada (*O. robusta*).



La cuarta parte consistió en realizar dos matrices alimentarias (salsa y aderezo) a partir del garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) donde el fruto resaltó por tener mayor cantidad de compuestos fenólicos y betalaínas que las matrices alimentarias, excepto en carotenos totales donde el chile que contenía la salsa influyó en los resultados. Además, ambos productos demostraron tener actividad antioxidante.

En la última parte se analizaron los compuestos bioactivos de un cultivo de tejidos de xoconostle (*O. matudae*) donde se demostró que esta herramienta de la biotecnología es útil para la propagación de cactáceas y la obtención de compuestos bioactivos.

## 2. INTRODUCCIÓN

Las cactáceas de la familia *Cactaceae* son autóctonas del continente Americano, de acuerdo con Jiménez Sierra, 2011 la familia *Cactaceae* agrupa alrededor de 2000 especies distribuidas en el continente americano, destacando los cactus columnares; los cactus candelabroiformes; las biznagas y biznaguitas; algunas trepadoras como las pitahayas, y una gran variedad de nopales, entre otras.

México es un país con gran biodiversidad en cactáceas; en donde se encuentra la mayor diversidad es en las planicies del norte y centro, y se considera que las regiones semiáridas son su centro de origen (Paredes López, Guevara Lara, & Bello Pérez, 2012).

Las cactáceas tienen una gran importancia en el país porque tienen diferentes usos ya sea como fuente de agua, como plantas medicinales, como forraje, para la conservación del suelo, en la fabricación de artesanías o como alimento; los tallos, las flores y los frutos son en general comestibles.

Existen frutos provenientes de las cactáceas que actualmente son desconocidos por los habitantes de muchas ciudades, pues su producción es principalmente de colecta y por lo tanto su oferta es limitada. En general, se les conoce como frutas exóticas, ejemplo de estas son: la pitahaya (*Hylocereus* spp.), el garambullo (*Myrtillocactus* spp.) y la jiotilla (*Escontria* spp.) (Navarrete, Miranda, Jiménez, Vázquez, & Botello, 2010). Sin embargo; algunos poseen características valiosas que podrían interesar al mercado nacional e internacional.

De las frutas más conocidas endémicas de México, se conoce su composición nutrimental, pero se han hecho pocos estudios en referencia a sus compuestos bioactivos o bien como fuentes de nutraceuticos, aditivos y colorantes. De la gran mayoría de las frutas de las zonas semiáridas de México se desconoce tanto su composición nutrimental como su contenido en compuestos bioactivos.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Frutos de cactáceas en México

En relación a México se afirma que:

México es el sitio más importante del mundo en concentración de cactáceas. Los cactólogos reconocen la existencia de 913 taxones, conformando 669 especies, las cuales se encuentran agrupadas en 63 géneros, y se reconocen 244 subespecies. El estado de San Luis Potosí es el que posee una mayor diversidad, con un registro de 151 especies. Le siguen los estados de Coahuila con 126 especies y Nuevo León y Oaxaca con 118 especies cada uno. Por regiones geográficas, encontramos la más alta diversidad en el valle de Tehuacán–Cuicatlán (Puebla y Oaxaca), seguida por la Barranca de Metztitlán y la depresión del Balsas (Jiménez Sierra, 2011).

Su clasificación taxonómica es la siguiente:

**Reino:** *Plantae*

**División:** *Magnoliophyta*

**Clase:** *Magnoliopsida*

**Orden:** *Caryophyllales*

**Familia:** *Cactaceae*

Los frutos de la mayoría de las cactáceas son comestibles. Su importancia alimenticia radica en su alto contenido de azúcares y cantidad considerables de vitaminas B, C y E. Los principales géneros que producen frutos utilizados por el hombre son *Opuntia*, *Hylocereus*, *Escontria*, *Polaskia*, *Stenocereus*, *Carnegiea*, *Myrtillocactus* y *Mammillaria*, pero los de mayor importancia por ser los más utilizados son *Opuntia*, *Hylocereus* y *Stenocereus* (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1991).

### 3.1.1 Tuna (*Opuntia* spp.)

La tuna es el fruto del nopal, pertenece a la familia *Cactaceae*, subgéneros *Opuntia* y *Nopalea*. Las principales especies de nopal tunero cultivadas en México son: *Opuntia amyclaea*, *O. ficus indica*, *O. joconoxtle*, *O. megacantha* y *O. streptacantha* (Méndez Gallegos & García Herrera, 2006; Sistema de Información de Fundaciones Produce, 2011).

El fruto (Figura 1) tiene forma de ovoide a esférica, sus semillas suelen consumirse con la pulpa y la cáscara que rodea a la fruta es gruesa y está rodeada de pequeñas espinas. Debido a la diversidad de nopal que existe en México, se puede encontrar variedad de colores en la tuna como rojo, púrpura, amarillo o blanco (Jiménez-Aguilar, Mújica-Paz, & Welte-Chanes, 2014; Méndez Gallegos & García Herrera, 2006).



Figura 1. Tuna

La norma mexicana NMX-FF-030-SCFI-2006. Productos alimenticios no industrializados para uso humano – fruta fresca – Tuna (*Opuntia* spp.) Especificaciones; define a la tuna como: Fruto de las especies del género *Opuntia*; es una baya polispérmica (con presencia de semillas en la parte comestible), generalmente carnosa, provista en su superficie de gloquidias o ahuates (espinas). Son frutos muy variados en forma y tamaño, con cáscara y pulpa cuyo color según el tipo o variedad va del verde, amarillo, anaranjado, rojo hasta púrpura, que además se caracteriza por su jugosidad y sabor dulce.

Los principales estados productores de tuna en México y que representan el 80% de la producción nacional, de acuerdo con la base de datos SIAP-SAGARPA, son Zacatecas, Estado de México y Puebla, sin embargo, Hidalgo, Jalisco y San Luis Potosí son otras entidades con producción importante, siendo los meses de Julio a Septiembre la mejor temporada para obtener tuna.

Este fruto tiene varios usos, se puede consumir como fruta fresca o en jugo, además se pueden preparar mermelada, dulces y bebidas fermentadas. En la

tabla 1 se encuentran algunos resultados de compuestos bioactivos reportados para la tuna.

Tabla 1. Compuestos bioactivos reportados para tunas *Opuntia* spp.

Compuesto bioactivo	Parte de la muestra	Resultado	Referencia
<b>Fenoles totales</b>	Jugo <i>O. ficus-indica</i>	172.1±13.3 µg EAG/g	(Chávez-Santoscoy, Gutiérrez-Uribe, & Serna-Saldívar, 2009)
	Jugo <i>O. robusta</i>	22.3±0.2 EAG µg/g	(Chávez-Santoscoy et al., 2009)
<b>Flavonoides totales</b>	Jugo <i>O. ficus-indica</i>	276.9±9.2 µg quercetina/g	(Chávez-Santoscoy et al., 2009)
	Jugo <i>O. robusta</i>	338.1±21.5 µg quercetina/g	(Chávez-Santoscoy et al., 2009)
<b>Flavonoles totales</b>	-	ND	-
<b>Betalainas totales</b>	Jugo <i>O. ficus-indica</i>	99.6±4.4 µg/g	(Chávez-Santoscoy et al., 2009)
	Jugo <i>O. robusta</i>	490.4±8.0 µg/g	(Chávez-Santoscoy et al., 2009)
<b>Carotenos totales</b>	Jugo <i>O. ficus-indica</i>	1.5838 µg/g	(Figuroa-Cares et al., 2010)
	Jugo <i>O. robusta</i>	1.5111 µg/g	(Figuroa-Cares et al., 2010)

ND: No determinado

### 3.1.2 Xoconostle (*Opuntia matudae*)

Los xoconostles (en náhuatl, xoco=ácida; nochtli=tuna) son frutos ácidos producidos por especies que pertenecen a la familia *Cactaceae*. De acuerdo con SAGARPA, 2010 se estima que hay entre 9 y 15 especies de xoconostle, siendo los más comunes *O. joconostle* y *O. matudae*, se cultivan con fines comerciales y también crecen en forma silvestre.

El fruto (figura 2) consiste en una delgada pared exterior (1 a 2 mm), paredes interiores gruesas y ácidas (1 a 1.3 cm)



Figura 2. Xoconostle (Gallegos-Vázquez, Scheinvar, Núñez-Colín, & Mondragón-Jacobo, 2012)

que son la parte comestible y las semillas que se localizan en el centro son usualmente descartadas (Reyes-Agüero, Aguirre R., & Valiente-Banuet, 2006).

Es importante mencionar que los xoconostles no se desprenden de los cladodios cuando maduran, persistiendo en condiciones de cultivo durante uno y hasta tres años, a diferencia de las especies productoras de tunas dulces que sólo persisten de 3 a 4 meses sobre ellos (Scheinvar, Olalde, Filardo, & Beckler, 2010).

Su distribución es principalmente en Puebla, Estado de México, Hidalgo y Guanajuato. Se utilizan principalmente para la elaboración de salsas, en la fabricación de dulces, mermelada y bebidas. En la tabla 2 se muestran algunos resultados de compuestos bioactivos que se han reportado para el xoconostle.

Tabla 2. Compuestos bioactivos reportados para *Opuntia matudae*.

Compuesto bioactivo	Parte de la muestra	Resultado	Referencia
<b>Fenoles totales</b>	Pulpa liofilizada ( <i>O. matudae</i> )	9.19±0.70 mg EAG/g	(Guzmán-Maldonado et al., 2010)
<b>Flavonoides totales</b>	Pulpa liofilizada ( <i>O. joconostle</i> )	0.193±0.019 mg/g	(Frey Aguilar, 2016)
<b>Flavonoles totales</b>	-	ND	-
<b>Betalainas totales</b>	Pulpa liofilizada ( <i>O. matudae</i> )	3.18±0.21 mg/g	(Guzmán-Maldonado et al., 2010)
<b>Carotenos totales</b>	-	ND	-

ND: No determinado

### 3.1.3 Garambullo (*Myrtillocactus* spp.)

El garambullo proviene de *Myrtillocactus* de la familia *Cactaceae*, es un fruto (Figura 3) de forma globular, generalmente morado cuando está maduro y la cáscara es delgada, color rojo-vino. Además por la pulpa se extienden semillas negras que miden menos de 1 mm y son comestibles (Guzmán-Maldonado et al., 2010).

La especie predominante es *Myrtillocactus geometrizans* y se encuentra principalmente en el Valle de Tehuacán, Puebla. Esta especie también se encuentra en los estados de Guanajuato, Querétaro, Hidalgo y San Luis Potosí, su temporada de producción es de Junio a Septiembre (Hernández-López, Vaillant, Reynoso-Camacho, & Guzman-Maldonado, 2008).

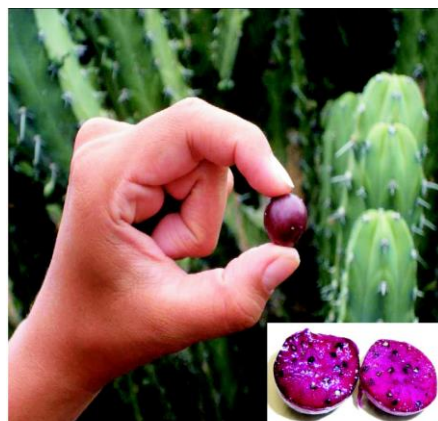


Figura 3. Garambullo (Hernández-López et al., 2008)

En las áreas donde puede obtenerse, usualmente son consumidos frescos o como helado, mermelada o algunas veces secados al sol. En la tabla 3 se pueden observar algunos resultados obtenidos para el garambullo en el contenido de compuestos bioactivos.

Tabla 3. Compuestos bioactivos reportados para *Myrtillocactus geometrizans*

Compuesto bioactivo	Parte de la muestra	Resultado	Referencia
<b>Fenoles totales</b>	Fruta liofilizada	5.3±0.03 mg EAG/100 g	(González Nava, 2015)
<b>Flavonoides totales</b>	-	ND	-
<b>Flavonoles totales</b>	-	ND	-
<b>Betalainas totales</b>	Fruta fresca	23.3±2.0 mg/100 g	(González Nava, 2015)
<b>Carotenos totales</b>	Fruta fresca	4.34±0.30 mg/100 g	(González Nava, 2010)

ND: No determinado

### 3.1.4 Pitaya (*Stenocereus* spp.)

La pitaya (Figura 4) es un fruto proveniente de un cactus columnar que pertenece a la familia *Cactaceae*, en las regiones donde se encuentra a este cactus se le suele llamar pitayo su tribu es *Pachycereae* y subfamilia *Cactoideae*, con *Stenocereae* siendo la subtribu más importante y *Stenocereus* el género más relevante (Chuck-Hernández, Parra-Saldívar, & Sandate-Flores, 2016).

Las pitayas del género *Stenocereus* son globosas u ovoides, de color anaranjado, rojizo o púrpura, tienen la característica de que al madurar pierden sus aréolas con todo y espinas, lo que facilita su consumo. Los frutos generalmente se comen como fruta fresca o para elaborar agua, helado, gelatina, mermelada y licores (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1991; Martínez-Cárdenas, Vicente-Solano, Martínez-Herrera, Carmona, & Varela H., 2007). En la tabla 4 se encuentran algunos resultados reportados del contenido de compuestos bioactivos en la pitaya.



Figura 4. Pitaya

Tabla 4. Compuestos bioactivos reportados para *Stenocereus* spp.

Compuesto bioactivo	Parte de la muestra	Resultado	Referencia
<b>Fenoles totales</b>	Pulpa fresca	1.665 ± 0.144 mg EAG/g	(García-Cruz, Salinas-Moreno, & Valle-Guadarrama, 2012)
<b>Flavonoides totales</b>	-	ND	-
<b>Flavonoles totales</b>		ND	-
<b>Betalainas totales</b>	Pulpa fresca	1.4761±0.1821 mg/g	(García-Cruz et al., 2012)
<b>Carotenos totales</b>	-	ND	-

ND: No determinado

*Stenocereus* incluye cerca de 24 especies de las cuales 19 se encuentran distribuidas por todo México siendo las más importantes *S. queretaroensis* o pitaya de Querétaro *S. stellatus* o pitaya agria, *S. griseus* o pitaya de mayo y *S. fricii* o pitaya de aguas. Los principales estados de producción son Jalisco, Zacatecas, Guanajuato, Michoacán, Querétaro, Oaxaca, Guerrero y Puebla. El mes en el que podemos encontrar la pitaya depende de la especie por ejemplo la pitaya de mayo



se encuentra de Abril a Junio mientras la pitaya de aguas se encuentra de Septiembre a Octubre.

### 3.1.5 Jiotilla (*Escontria chiotilla*)

La jiotilla (Figura 5) es un fruto de *Escontria chiotilla*, cactus columnar que pertenece a la familia *Cactaceae*. Tienen cerca de 5 cm de diámetro y están cubiertos de grandes escamas papiráceas; con numerosas semillas pequeñas y negras, su pulpa es roja y de sabor dulce y agradable (Arellano & Casas, 2003).

Es una especie que crece en los estados de Michoacán, Puebla, Oaxaca y Guerrero; suele comerse como fruta fresca, se utiliza para preparar bebidas refrescantes y helados, y para la fabricación de mermeladas. Se puede encontrar en los meses de Junio y Julio; en la tabla 5 se pueden observar algunos resultados sobre los compuestos bioactivos que contiene la jiotilla, es importante mencionar que la mayoría de las investigaciones sobre este fruto están enfocados principalmente en el contenido del colorante.



Figura 5. Jiotilla (Ruiz Huerta, E. A. et al. 2015)

Tabla 5. Compuestos bioactivos reportados para *Escontria chiotilla*

Compuesto bioactivo	Parte de la muestra	Resultado	Referencia
<b>Fenoles totales</b>	Pulpa liofilizada	7.5592 mg EAG/g	(Sierra, Zuleta, Aguirre, Reyes, & Guerra, 2016)
<b>Flavonoides totales</b>	-	ND	-
<b>Flavonoles totales</b>	-	ND	-
<b>Betalainas totales</b>	Jugo liofilizado	5.5 ± 0.07 mg/g	(Franco Zavaleta, 2004)
<b>Carotenos totales</b>	-	ND	-

ND: No determinado

### 3.1.6 Pitahaya (*Hylocereus* spp.)

La pitahaya o fruta del dragón (figura 6) proviene de *Hylocereus* spp. de la familia *Cactaceae*, es ovoide, grande, de 10 a 12 cm de longitud, de color rosa-púrpura y lo cubren grandes escamas, a las que alude su nombre. Su pulpa es blanca o ligeramente rosada, algo jugosa y de un sabor no muy dulce; sus semillas son muy pequeñas, comestibles y están distribuidas por la pulpa. La pulpa de la fruta es refrescante y su textura es similar a la del kiwi, se puede comer con una cuchara o como ingrediente de ensaladas (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1991; Nurliyana, R., Syed Z. I., Mustapha S. K., Aisyah, M. R., 2010).



Figura 6. Pitahaya (Ortiz-Hernández & Carrillo-Salazar, 2012)

En México se puede encontrar principalmente en los estados de Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán, Quintana Roo y Chiapas en los meses de Junio a Septiembre. En la tabla 6 se muestran resultados de otros estudios acerca de los compuestos bioactivos que contiene la pitahaya.

Tabla 6. Compuestos bioactivos reportados para *Hylocereus* spp.

Compuesto bioactivo	Parte de la muestra	Resultado	Referencia
Fenoles totales	Cáscara seca	0.020±0.003 mg/g	(Tenore, Novellino, & Basile, 2012)
Flavonoides totales	Cáscara seca	0.965±0.006 mg/g	(Tenore et al., 2012)
Flavonoles totales	-	ND	-
Betalainas totales	Cáscara seca	6.54±.01 mg betacianinas/g	(Tenore et al., 2012)
Carotenos totales	-	ND	-

ND: No determinado

### **3.2 Alimentos Funcionales**

A lo largo del mundo existe un gran número de definiciones para los alimentos funcionales. Pero podrían definirse como “cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona” (Chasquibol et al., 2003).

Otros términos creados para referirse a los alimentos funcionales son:

- Alimentos genéticamente diseñados
- Farmacoalimentos
- Fitoalimentos, fitonutrientes
- Alimentos inteligentes
- Alimentos terapéuticos
- Alimentos de valor añadido
- Alimentos genómicos
- Prebióticos/Probióticos
- Fuentes fitoquímicas

Debido a que actualmente se ha hecho un mayor énfasis a tener una alimentación equilibrada y saludable, los alimentos funcionales han tomado gran importancia ya que además de que se pueden consumir en la dieta diaria pueden ser fuentes de sustancias nutracéuticas de valor comercial, dando origen a proyectos de investigación para su extracción, concentración y estabilización. Se entiende como nutracéutico a un producto obtenido a partir de un alimento natural que tiene un beneficio a la salud o un efecto protector contra enfermedades crónicas.

Japón es el primer país en el mundo en legislar los alimentos funcionales a través de “Food for Specified Health Use”, más conocido por su abreviatura FOSHU, en español “Alimentos de uso específico para la salud”. Los alimentos FOSHU son aquellos con propiedades benéficas que han sido comprobadas científicamente. Los envases deben indicar claramente su contenido y los beneficios que se puede esperar con el consumo de dicho producto. Estos efectos pueden ser por acción

de sus ingredientes (prebióticos, probióticos, antioxidantes, ácidos grasos omega-3, ácido fólico, fitoesteroles, entre otros), o porque se le han removido aquellos componentes del alimento que puede tener un efecto perjudicial en la salud, por ejemplo la remoción de alérgenos, irritantes, entre otros (Durán C & Valenzuela B, 2010; Valenzuela B, Valenzuela, Sanhueza, & Morales I, 2014).

Todos los productos FOSHU que se comercializan en Japón son producidos y elaborados localmente y no existe hasta el momento ningún producto extranjero con esta certificación (Pro Chile, 2013).



7. Logo de FOSHU

Para que un alimento pueda ser categorizado como FOSHU debe cumplir los siguientes requisitos:

- Su efecto sobre el organismo debe estar probado.
- El alimento y sus componentes deben ser considerados seguros (examen de toxicidad, efectos en caso de consumirlos en exceso, entre otros).
- Garantía del producto y de sus especificaciones por el tiempo de consumo.
- Se deberá definir la forma adecuada de como se consumirá el alimento o sus componentes.
- Estar bien definidos los métodos para determinar las propiedades fisicoquímicas y para el análisis cualitativo y cuantitativo de los mismos.

Una vez aprobado, se pueden indicar en la etiqueta del producto sus efectos benéficos, además de aparecer el logo característico de este tipo de alimentos (figura 7).

### **3.3 Compuestos bioactivos**

Los alimentos procesados adicionados de principios activos benéficos para la salud y los alimentos de origen vegetal (frutas, hortalizas, cereales y alimentos derivados de ellos) son de gran interés por que se consideran alimentos funcionales. Sus sustancias bioactivas o también llamados fitoquímicos o fitonutrientes tienen importantes propiedades, efectos biológicos y atributos sensoriales. Los compuestos bioactivos no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no se consideran esenciales para la salud humana; sin embargo, pueden tener un impacto en el curso de alguna enfermedad (Martínez-Navarrete, Camacho Vidal, & Martínez Lahuerta, 2008).

En el reino vegetal, se pueden distinguir 4 grandes grupos de compuestos bioactivos (figura 8), entre los que se incluyen sustancias de diversas familias químicas, como son los compuestos nitrogenados, los azufrados, los terpénicos y los fenólicos. Los presentes en las frutas pertenecen en su mayoría en los últimos dos grupos.

En los terpenos se encuentran los fitoesteroles y los carotenoides y a los compuestos fenólicos pertenecen los flavonoides, ácidos fenólicos, los lignanos, entre otros.

La actividad más estudiada de los compuestos bioactivos es su capacidad antioxidante; además presentan actividad antiinflamatoria y pueden llegar a actuar como reguladores de genes implicados en procesos neurodegenerativos y cancerígenos, entre otros (Muñoz Quezada, Olza Meneses, & Gómez Llorente, 2010).

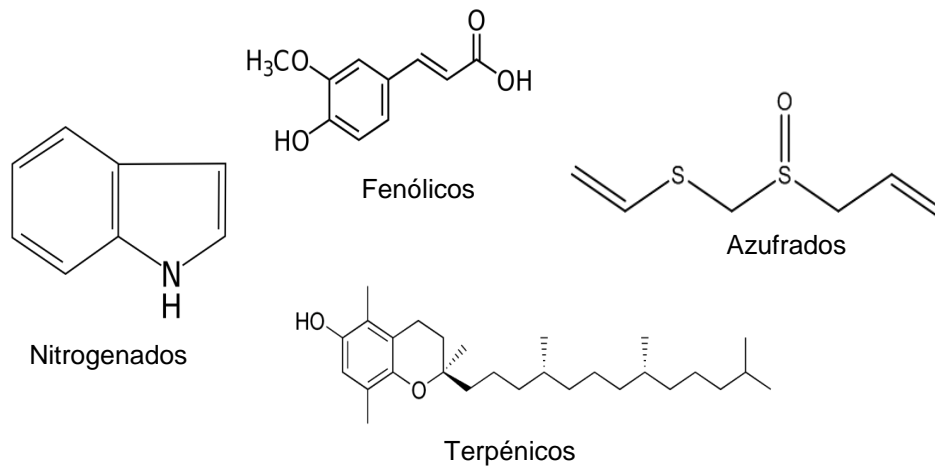


Figura 8. Ejemplos de compuestos bioactivos

### 3.4 Compuestos fenólicos

- **Estructura química y clasificación**

Existen distintas clasificaciones para los compuestos fenólicos, por ejemplo se pueden dividir en fenoles y polifenoles. Los términos “fenol” o “polifenol” son definidos químicamente como sustancias que poseen al menos un anillo aromático con uno (fenol) o más (polifenol) sustituyentes hidroxilo (Gioxari, Kogiannou, Kalogeropoulos, & Kaliora, 2016). Otra clasificación es con base en su estructura básica como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Clasificación de compuestos fenólicos.

Esqueleto carbonado	Clasificación
$C_6$	Fenoles simples, benzoquinonas
$C_6-C_1$	Ácidos fenólicos
$C_6-C_2$	Ácido fenilacético, acetofenoles
$C_6-C_3$	Ácido hidroxicinámico, polipropano, cumarina, isocumarina
$C_6-C_4$	Naftoquinona
$C_6-C_1-C_6$	Xantanos
$C_6-C_2-C_6$	Estilbeno, antraquinona
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoides, isoflavonas
$(C_6-C_3)_2$	Lignanos, neolignano
$(C_6-C_3-C_6)_2$	Bioflavonoides
$(C_6-C_3)_n$	Ligninas
$(C_6)_n$	Melanoidinas
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Taninos

(Muñoz Quezada et al., 2010)

Otra más de las clasificaciones se debe a que los flavonoides son el grupo más amplio dentro de los compuestos fenólicos, sobre esa base los compuestos fenólicos también pueden ser clasificados como flavonoides y no flavonoides.

- **Actividad biológica de los compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos son generados durante el metabolismo secundario de hortalizas, frutas, nueces, semillas, granos, hojas y flores, proporcionan funciones esenciales en la reproducción y crecimiento, actúan como defensa contra patógenos, parásitos y depredadores; en ocasiones son inducidos como respuesta a diversas condiciones de estrés. Contribuyen al sabor, color y propiedades sensoriales. (Puupponen, Hanna, & Kirsi, 2005; Sellappan, Akoh, & Krewer, 2002).

Son los antioxidantes más abundantes en la dieta de los seres humanos, esta propiedad es la razón de la posible participación en la salud humana por ejemplo, en la prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares o en enfermedades neurodegenerativas.

### 3.4.1 Flavonoides

- **Estructura química y clasificación**

El término flavonoide (Figura 9) es generalmente utilizado para describir una amplia gama de productos naturales con un sistema C6-C3-C6 (anillos A, C y B), donde A y B son anillos de benceno conectados por una cadena de tres carbonos que forman un anillo pirano.

En función de sus características estructurales pueden clasificarse en flavonas, flavonoles, flavononas, isoflavonas, flavanos y antocianidinas. El anillo pirano puede ser abierto (chalconas) y puede formarse un anillo furano (auronas). Los flavonoles son el grupo más ubicuo en alimentos y de estos sobresalen la quercetina y el kaempferol.

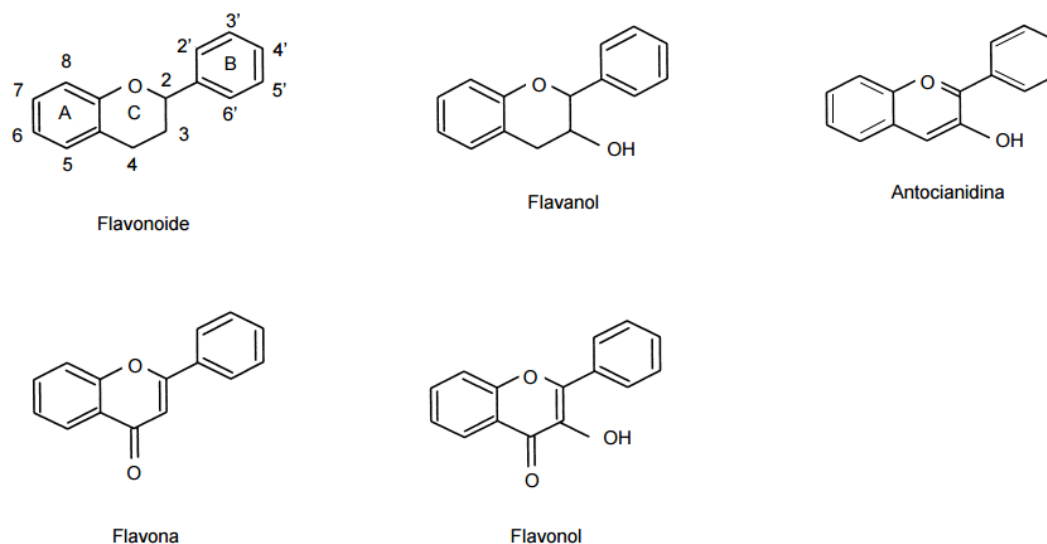


Figura 9. Estructura básica de flavonoides y tipos (Martínez-Flórez, González-Gallego, Culebras, & Tuñón, 2002)



- **Actividad biológica de los flavonoides**

Debido a que los flavonoides es el grupo más amplio dentro de los compuestos fenólicos, se pueden encontrar en gran variedad de alimentos; por ejemplo, en las cebollas, brócoli, manzanas, té, legumbres, soja, perejil, tomillo, apio, uvas, bayas, cítricos.

Además de la capacidad antioxidante que tienen los flavonoides hay otras propiedades benéficas que se les atribuyen, en la tabla 8 se muestran algunos efectos y los flavonoides responsables de estos.

Tabla 8. Efectos de algunos flavonoides.

<b>Efectos</b>	<b>Flavonoide</b>
Antineoplásico	Quercetina, kaempferol, fisetina
Cardiotónicos	3-metil-quercetina
Disminuyen la fragilidad capilar	Rutina, quercetina, naringenina
Antitombóticas	Tangeretina, hesperedina, rutina
Antiulcéricos	Kaempferol, quercetina
Antimicrobianos	Quercetina, baicalina
Antibacterial	Crisina, rutina
Antiinflamatorios	Hesperidina, luteolina, quercetina
Anticancerígeno	Quercetina
Antiepilépticos o anticonvulsivos	Rutina, gossipina
Mejora la memoria, el aprendizaje y el funcionamiento cognitivo	Rutina, nobiletina, quercetina, linarina
Antidepresivos	Quercetina, apigenina
Neuroprotectores	Linarina, rutina.

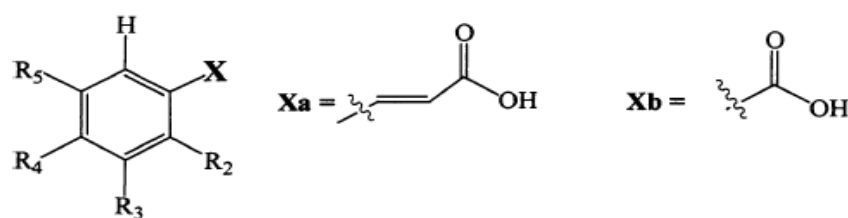
Adaptada de Estrada Reyes, Ubaldo Suárez, & Araujo Escalona, 2012

### 3.4.2 Ácidos fenólicos

- **Estructura química y clasificación**

Los ácidos fenólicos (Figura 10) se caracterizan por tener un ácido carboxílico en su estructura y se dividen en dos grupos, los ácidos hidroxicinámicos (Xa) y los ácidos hidroxibenzoicos (Xb).

Los ácidos hidroxibenzoicos están presentes generalmente en cantidades muy bajas, con algunas excepciones en la que se encuentran en mayor concentración, además de que han sido reportados en pocas plantas que los seres humanos suelen consumir. Por lo contrario, los ácidos hidroxicinámicos son más comunes pero son raramente encontrados de forma libre, se encuentran principalmente como derivados glicosilados o ésteres de ácido quínico o tartárico.



R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	X	Nombre común
H	H	H	H	a	Ácido cinámico
-OH	H	H	H	a	Ácido o-cumárico
H	H	-OH	H	a	Ácido p-cumárico
H	-OH	H	H	a	Ácido m-cumárico
H	-OCH <sub>3</sub>	-OH	H	a	Ácido ferúlico
H	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OCH <sub>3</sub>	a	Ácido sinápico
H	-OH	-OH	H	a	Acido cafeico
H	H	H	H	b	Acido benzoico
-OH	H	H	H	b	Ácido salicílico
H	H	-OH	H	b	Ácido p-hidroxibenzoico
H	-OCH <sub>3</sub>	-OH	H	b	Ácido vainillínico
H	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OCH <sub>3</sub>	b	Ácido siríngico
H	-OH	-OH	H	b	Ácido protocatecuico
-OH	H	H	-OH	b	Ácido gentísico
-OH	-OH	-OH	-OH	b	Ácido gálico
H	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	H	b	Ácido verátrico

Figura 10. Estructuras de algunos ácidos fenólicos (Robbins, 2003)

- **Efectos biológicos de los ácidos fenólicos**

Los ácidos fenólicos han sido objeto de estudio porque se ha observado que tienen poder antioxidante, inhiben la actividad de agentes mutagénicos y poseen actividad bactericida, además es común encontrarlos en alimentos que se consumen con regularidad en la dieta diaria como frutas, vegetales o bebidas como el té y café.

### 3.5 Betalaínas

- **Estructura química y clasificación**

Entre los pigmentos naturales de interés para la industria alimentaria, están las betalaínas y las antocianinas, estos dos compuestos son excluyentes y se ha observado que tienen beneficios en la salud humana.

Las betalaínas son pigmentos nitrogenados, solubles en agua e identificados en familias de orden *Caryophyllales*. Comprenden dos tipos de pigmentos hidrosolubles (figura 11): las betacianinas (pigmento rojo-violeta) y las betaxantinas (pigmentos amarillos). Ambos están conformados por ácido betalámico, siendo este su unidad cromofórica. Las betacianinas se obtienen de la condensación del ácido betalámico y el *ciclo-Dopa* [ciclo-3-(3,4-dihidroxifenilalanina)] mientras las betaxantinas se obtienen de la condensación del ácido betalámico y aminoácidos o aminas (Herbach, Stintzing, & Carle, 2006).

Estos pigmentos son estables en el intervalo de pH 3 a 7, esta es su principal ventaja contra las antocianinas, y se ven afectados al igual que la mayoría de los pigmentos naturales por los metales, la temperatura, la luz, la presencia de aire y por las radiaciones ultravioletas.

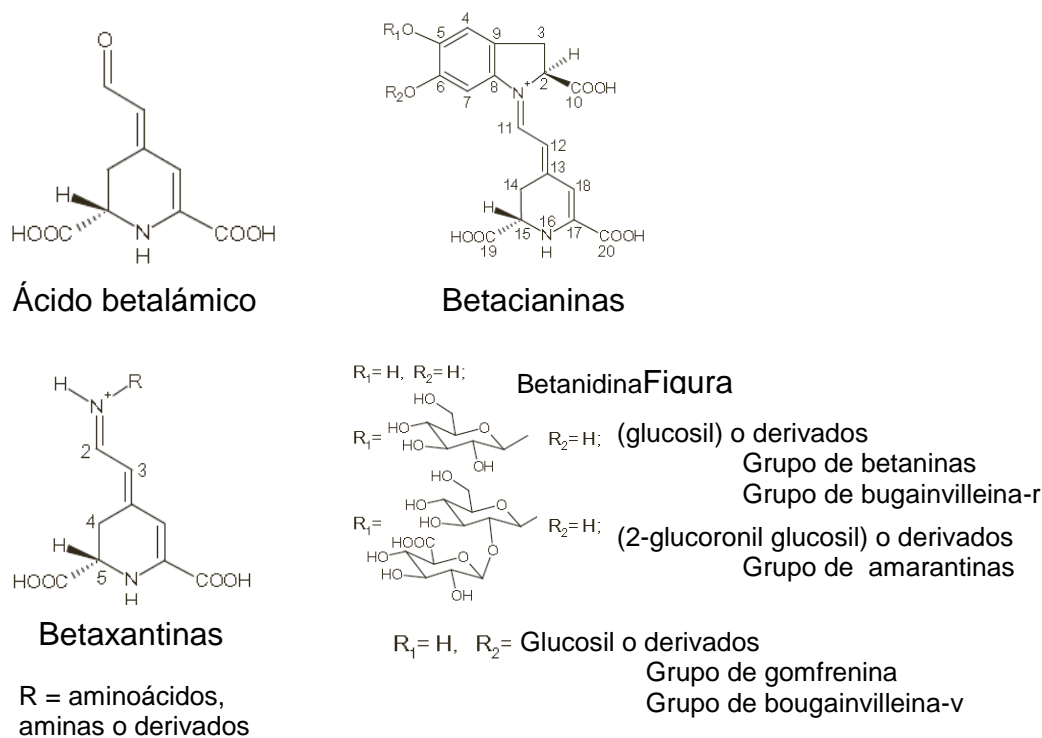


Figura 11. Estructuras representativas de betalainas (Khan, 2016)

- **Actividad biológica de las betalainas**

El betabel (*Beta vulgaris* spp.) es la principal fuente de obtención de betalainas a nivel industrial debido a su alto contenido. Sin embargo, es de gran interés encontrar otras fuentes de explotación de estos pigmentos. Se considera que las principales fuentes de betalainas se encuentran en la familia *Cactaceae* principalmente el género *Opuntia*, la pitaya de los géneros *Cereus*, *Hylocereus*, *Selenicereus* y *Stenocereus*; el garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*); aunque también lo son la familia *Amaranthaceae* (Soriano-Santos, Franco-Zavaleta, Pelayo-Zaldívar, Armella-Villalpando, M.A.; Yáñez- López, & Guerrero-Legarreta, 2007; Stintzing & Carle, 2004)

Además de su uso como colorante se ha evaluado su actividad antioxidante en distintos modelos químicos y biológicos, también se le atribuyen propiedades anticancerígenas, efectos sobre enfermedades cardiovasculares e incluso efectos antimicrobianos (Gengatharan, Dykes, & Choo, 2015).

### 3.6 Carotenoides

- **Estructura química y clasificación**

Los carotenoides consisten en 40 átomos de carbono (tetraterpenos) con dobles enlaces conjugados y a su vez estos consisten en ocho unidades isoprenoides. Las propiedades físicas y funciones o acciones naturales de los carotenoides son determinadas por sus propiedades químicas, y esas propiedades son definidas por su estructura molecular (De la Rosa, Alvarez-Parrilla, & Gonz, 2010).

Son pigmentos que se encuentran naturalmente en los cromoplastos de las plantas y de otros organismos fotosintéticos como las algas. Comúnmente se dividen en dos clases (figura 12); carotenos (carotenoides hidrocarbonados) y xantófilas (carotenoides oxigenados). También es importante mencionar que son lipofílicos teniendo poca o ninguna solubilidad en agua y buena solubilidad en solventes orgánicos (De la Rosa et al., 2010).

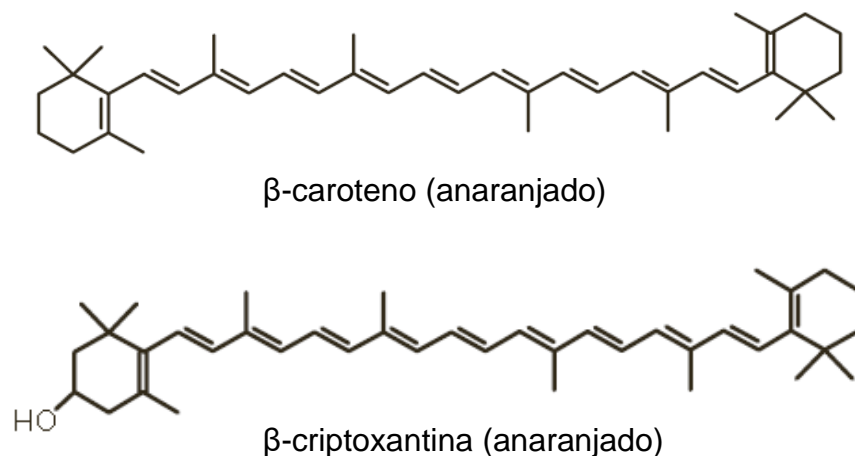


Figura 12. Ejemplos de carotenoides

- **Actividad biológica de los carotenoides**

Debido a la presencia en su molécula de un cromóforo, una cadena de dobles enlaces conjugados, los carotenoides proporcionan a frutas y hortalizas colores amarillos, anaranjados y rojizos. Además de la contribución al color, destacan, por su importancia a nivel fisiológico y dietético. Existen estudios que relacionan la disminución del riesgo a contraer cáncer de próstata si se consumen dietas ricas

en licopeno. También algunos de ellos tienen la propiedad de tener actividad como provitamina A. No todos los carotenoides son precursores de dicha vitamina, el número de carotenoides precursores oscila entre 50 y 60, destacando los carotenos ( $\alpha$  -,  $\beta$  - y  $\gamma$ -caroteno) y algunas xantófilas ( $\beta$  -criptoxantina).

Además de ser considerados anticancerígenos y de su actividad como provitamina A, han demostrado actividad antioxidante. Los carotenoides inhiben el proceso de auto-oxidación lipídica y reaccionan también con otros radicales de múltiple naturaleza, como los formados durante el metabolismo de compuestos xenobióticos (Mínguez Mosquera, Pérez Gálvez, & Hornero-Méndez, 2005).

### **3.7 Esteroles vegetales**

- **Estructura química y clasificación**

Los esteroles vegetales o fitoesteroles son miembros de la familia de los triterpenos, su estructura es similar a la del colesterol, pero incluye un grupo metilo o etilo en el C-24. Dentro del grupo de los esteroles vegetales encontramos dos grupos (figura 13), los esteroles con un doble enlace en la posición 5, y los estanoles que no cuentan con dicho doble enlace. Es importante señalar que los estanoles son menos abundantes que los esteroles y que pueden obtenerse a partir de la hidrogenación química de los esteroles (Palou Oliver et al., 2005).

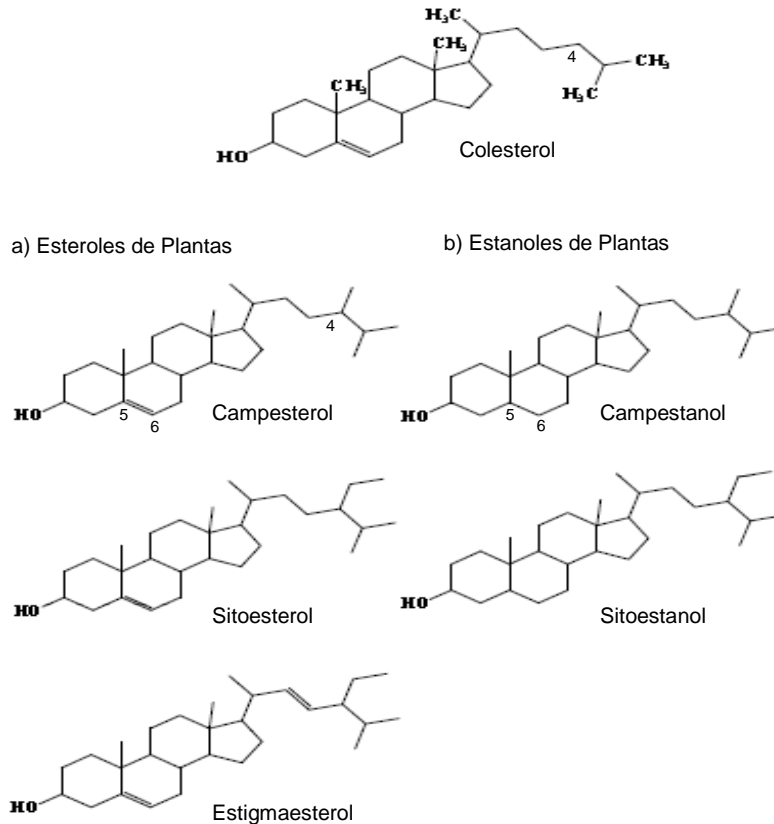


Figura 13. Estructura química del colesterol y fitoesteroles representativos (Rocha et al., 2011)

Se han reportado más de 200 fitoesteroles, siendo los más abundantes el sitoesterol, campesterol y estigmasterol; se pueden encontrar de forma libre, esterificados con ácidos grasos o de forma glicosilada.

- **Actividad biológica de los esteroides**

Los esteroides se encuentran en gran variedad de alimentos por ejemplo en los aceites de maíz, girasol, soya, oliva, en almendras, maíz, trigo, lechuga, plátano, manzana y tomate.

El efecto más estudiado de los fitoesteroides es su inhibición de la absorción intestinal de colesterol. Los fitoesteroides, al ser más hidrofóbicos que el colesterol, pueden desplazarlo de las micelas de absorción, habiéndose demostrado, tanto *in vivo* como *in vitro*, que de esa manera se produce una disminución, por competición, de la incorporación del colesterol en las micelas. Sin embargo,

parece ser que los fitoesteroles tienen otros efectos benéficos que se están investigando actualmente, como su efecto anticancerígeno y antiinflamatorio (Child & Kuksis, 1986; Jones, MacDougall, Ntanios, & Vanstone, 1997).

### **3.8 Ácidos grasos**

- **Estructura química y clasificación**

Los ácidos grasos son ácidos orgánicos que tienen como fórmula general  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ , frecuentemente se encuentran esterificados integrando los triacilglicéridos (ésteres de ácidos grasos con glicerol) y raramente se encuentran de forma libre. Los ácidos grasos pueden clasificarse por el número de insaturaciones como saturados (sin dobles enlaces), monoinsaturados (un doble enlace) y poliinsaturados (más de un doble enlace). El primer tipo se encuentran generalmente en alimentos de origen animal, mientras que los monoinsaturados y poliinsaturados están presentes en los alimentos de origen vegetal.

Entre los ácidos grasos saturados más comunes está el láurico (palmiste), palmítico (palma, cacao) y el esteárico (cacao) y en los ácidos grasos insaturados más abundantes están el oleico (aguacate, aceite de oliva), linoleico (aceites de soya, maíz, girasol) y linolénico (aceites de canola, linaza).

Los saturados son más estables que los insaturados, ante la oxidación; sin embargo, a más de 180 °C y en presencia de oxígeno pueden sufrir reacciones oxidativas. Por lo contrario, debido a sus insaturaciones, los ácidos grasos insaturados tienen una gran reactividad química, por ser propensos a la saturación y transformaciones oxidativas y de isomerización. (Badui Dergal, 2006).

La serie  $\omega$ -6 derivada del ácido cis-linoleico (18:2) y la serie  $\omega$ -3 derivada del ácido linolénico se consideran ácidos grasos esenciales, es decir, no pueden ser biosintetizados en el organismo y es necesario obtenerlos a partir de la dieta debido a que cumplen distintas funciones.



- **Actividad biológica de ácidos grasos**

Los ácidos grasos esenciales forman parte de las membranas celulares, proporcionándoles fluidez, y así, influir en el comportamiento de enzimas y receptores unidos a membrana (Das, 2006).

Los derivados de ácidos grasos esenciales son también importantes, debido a que tienen efectos sobre la salud humana, por ejemplo el ácido araquidónico ( $\omega$ -6) está involucrado en procesos fisiológicos del cerebro; si su metabolismo es alterado tiene implicaciones en un número de enfermedades neurológicas, neurodegenerativas y psiquiátricas (Bosetti, 2007). En la tabla 9 se muestran otras funciones de los derivados de ácidos grasos esenciales.

Tabla 9. Principales funciones de algunos ácidos grasos

<b>Efecto</b>	<b>Ácido graso</b>
Participación en desarrollo neurológico y funciones cognitivas	Ácidos grasos poliinsaturados serie $\omega$ -3 (EPA y DHA)
Efecto positivo en la agudeza visual	
Antiinflamatorios y participación en el sistema inmunitario	
Efectos sobre enfermedad cardiovascular	EPA, DHA, ácido $\gamma$ -linoleico
Control de peso y de la diabetes tipo 2	Ácido linoleico conjugado, Oleilestrona

Adaptado de Martínez Augustin, Aguilera García, & Gil Hernández, 2010

### **3.9 Cultivo de tejidos vegetales**

El cultivo de tejidos vegetales o cultivo de tejidos *in vitro* comprende un conjunto de técnicas a través de las cuales un explante (células aisladas, meristemos, ápices, fragmentos de órganos como tallos, hojas, raíces) se cultiva asépticamente en un medio de cultivo de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas. Se basa en el concepto de “totipotencialidad” que dice: “una célula vegetal o un grupo de células colocadas en condiciones adecuadas es capaz de regenerar una planta completa o idéntica a la que le dio origen” (Lallana & Lallana, 2003; Mroginski & Roca, 1993).

El cultivo de tejidos presenta aspectos y aplicaciones variadas entre las que destaca la producción de metabolitos secundarios o compuestos bioactivos de plantas. Además tiene un amplio uso en la obtención de plantas libres de virus y patógenos, mejoramiento genético, conservación de especies, entre otros.

- **Etapas de micropropagación**

La micropropagación para la obtención de compuestos bioactivos presenta ventajas para las cactáceas como incrementar aceleradamente el número de plantas, tener mayor control sanitario o la utilización de espacios pequeños. Para que la micropropagación sea exitosa es necesario establecer condiciones de cultivo para cada especie.

De acuerdo con Hernández Contreras, 2013 las etapas de la micropropagación son las siguientes:

**Elección:** Elegir la planta o el explante con el que se va trabajar.

**Establecimiento:** Establecer cultivos viables y axénicos. En esta etapa se debe tener especial cuidado en el lavado y desinfección del explante.

**Multiplicación:** En esta etapa se coloca el explante en un medio de cultivo para la multiplicación de brotes (organogénesis) o para la formación de embriones somáticos (endogénesis). Ambas vías de regeneración, organogénesis y embriogénesis, pueden darse en forma directa o indirecta. Esta última implica la formación de callo.

**Enraizamiento:** Se busca la formación de raíces con el fin de convertir los brotes o embriones somáticos en plántulas completas.

**Acclimatización:** Se transfiere a las plantas a un suelo esterilizado y ambiente controlado de invernadero con el propósito de que las plantas gradualmente adquieran las características de una planta normal.

- **Cultivo de tejidos en cactáceas**

Las técnicas de cultivo de tejidos son atractivas para la obtención de compuestos bioactivos a partir de cactáceas debido a la rapidez con la que pueden multiplicarse y al poco material vegetativo necesario para empezar. Al contrario de las formas tradicionales de cultivo que necesitan largo tiempo para desarrollarse haciendo más baja su disponibilidad (Avalos Esparza, 2010).

Existen diversos trabajos acerca del cultivo *in vitro* de cactáceas para su propagación ya sea con fines comerciales o porque existen pocos ejemplares.

Hernández Contreras, 2013 estableció una técnica de propagación *in vitro* de *Epithelantha micromeris* debido a que esta especie se encuentra sujeta a protección especial por ser explotada por su valor ornamental. Esta especie se puede encontrar en el norte del país en los estados como Chihuahua, Coahuila y Sonora. Avalos Esparza, 2010 por su parte estableció el método para cultivar de forma *in vitro* cactáceas de los géneros *Hylocereus* y *Selenicereus* porque las considera especies con gran potencial pero que están subexplotadas, además de existir pocos estudios e información acerca de ellas. Al propagar estas especies espera contribuyan al desarrollo socioeconómico de las poblaciones rurales y a su mejoramiento y conservación. (Martínez Villegas et al., 2011) hicieron cultivo *in vitro* de pitaya de mayo (*Stenocereus stellatus*) con el fin de obtener frutos libres de plagas y para satisfacer la demanda del fruto.

## **4 HIPÓTESIS**

Por las condiciones en las que se desarrollan las frutas de la familia de las cactáceas tienen una cantidad significativa de compuestos bioactivos y pueden ser consideradas una fuente alterna para la obtención de sustancias de interés industrial, además de ser utilizadas para la preparación de alimentos.

## **5 OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivos generales**

- Identificar y cuantificar los compuestos bioactivos presentes en algunas de las frutas de la región semiárida originarias de México.
- Utilizar una de las muestras para la preparación de dos matrices alimentarias.
- Identificar y cuantificar los compuestos bioactivos en un cultivo de tejidos vegetales (callo) de xoconostle.

### **5.2 Objetivos particulares**

- Determinar la concentración de compuestos bioactivos totales: fenoles, betalainas, flavonoides, flavonoles y carotenos por métodos espectrofotométricos.
- Obtener el perfil de ácidos grasos de las semillas por cromatografía de gases.
- Determinar el perfil de flavonoides y ácidos fenólicos por HPLC.
- Cuantificar los compuestos bioactivos totales y medir actividad antioxidante en las matrices alimentarias.
- Comparar los compuestos bioactivos de un cultivo de tejidos vegetales de xoconostle con otras frutas cultivadas de forma tradicional.

## **6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

### **6.1 Disolventes y reactivos**

- Disolventes: Acetona, acetato de etilo, acetonitrilo grado HPLC, hexano, n-hexano grado HPLC, metanol, metanol grado HPLC, agua destilada, agua desionizada, diclorometano, ácido acético, 1-propanol
- Reveladores para CCF: Anisaldehído, cloruro férrico al 1% en 1-propanol
- Estándares: Metilos de ácidos grasos, ácidos fenólicos, flavonoides (Sigma-Aldrich). Esteroles comerciales.
- Reactivos: Fenol Folin-Ciocalteu (Hycel México S.A. de C.V.), trifloruro de boro solución en metanol al 14% (SIGMA). DPPH (Sigma- Aldrich).

### **6.2 Equipos**

- Liofilizadora LABCONCO Free zone 4.5, bomba de vacío LABNOCO 117
- Balanza OHAUS Analytical plus
- Balanza Swiss Made ES 2255m-DR
- Sonicador Cole-Parmer 8892
- Rotavapor Buchi R-215, Baño Buchi B-491
- Lámpara UV como revelador
- Espectrofotómetro GBC-Cintral con software cintral
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución HPLC, autoinyector Waters 2707, bomba Waters 1525, detector UV Waters 2478, desgacificador, software Empower
- Cromatógrafo de gases Agilent technologies 6890N network GC system, inyector Agilent technologies 7683 series inyector, software Agilent 1

### **6.3 Procedimiento**

La investigación se dividió en cinco partes y cada una se explica a continuación:

1. Esta parte consistió en cuantificar por métodos espectrofotométricos los compuestos bioactivos totales, los cuales fueron betalaínas, fenoles, flavonoides, flavonoles y carotenos.

2. Se identificaron por cromatografía en capa fina (CCF) las betalaínas, esteroides, ácidos fenólicos y flavonoides, además los últimos dos se cuantifican por HPLC.
3. Se llevó a cabo la identificación de los ácidos grasos de las semillas que se lograron separar de las muestras.
4. Se realizaron dos matrices alimentarias, salsa y aderezo, a partir de una de las muestras analizadas. A dichas matrices se les cuantificaron los compuestos bioactivos totales ya mencionados y tanto a las matrices alimentarias como a la fruta se les midió actividad antioxidante.
5. En esta última parte se trabajó con un cultivo de tejidos de xoconostle, al cual se le realizó el mismo procedimiento de la primera y segunda parte de esta investigación.

El tratamiento de la muestra consistió en separar la cáscara de la pulpa y secar ambas partes por liofilización. Después del secado, se separaron las semillas de la pulpa sólo en el caso de las muestras que tenían las semillas de mayor tamaño. Finalmente se molieron con el propósito de homogeneizarlas.

### **6.3.1 PRIMERA PARTE: Cuantificación de compuestos bioactivos totales**

#### **6.3.1.1 Fenoles totales**

Para cuantificar fenoles totales se realizó el método de Folin-Ciocalteu. Este método se fundamenta en uso del reactivo de Folin-Ciocalteu, el cual es una mezcla de ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico, que se reduce al oxidar los fenoles, en medio básico, en una mezcla de óxido de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ), de color azul siendo proporcional el color al número de grupos hidroxilo de la molécula.

Para obtener los fenoles se pesaron 0.5 g de muestra y se le agregaron 10 mL de metanol al 80%, se filtró y al líquido obtenido se le cuantificaron los fenoles totales por triplicado.

Para la cuantificación se tomó una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  del extracto metanólico resultante, se adicionaron 2 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 2%, después de 2 minutos se agregaron 100  $\mu\text{L}$  del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido con agua 1:1).

Transcurridos 30 minutos se midió la absorbancia a 750 nm en el espectrofotómetro. La concentración de fenoles se calculó utilizando una curva patrón que se elaboró con ácido tánico (anexo 1)

#### **6.3.1.2 Flavonoides totales**

Para cuantificar flavonoides se siguió el método de González-Aguilar, Villegas-Ochoa, Martínez-Téllez, Gardea, & Ayala-Zavala, 2007, donde los flavonoides reaccionan con  $\text{AlCl}_3$  y  $\text{NaNO}_2$ , formando un complejo de color rosa tenue en medio alcalino, siendo la intensidad proporcional a la concentración de flavonoides.

Para la extracción se pesaron 0.5 g de muestra para cada extracto y se le agregaron 10 mL de metanol al 80%, se filtró y al líquido obtenido se le cuantificaron los flavonoides totales por triplicado.

Se tomó 1 mL del extracto metanólico y se le agregaron 1400  $\mu\text{L}$  de agua destilada y 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_2$  al 5%, se dejó reaccionar por 5 minutos. Transcurrido el tiempo se agregaron 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 10%, 2 mL de  $\text{NaOH}$  1M y se agregaron 5 mL de agua destilada para tener un volumen final de 10 mL y se midió la absorbancia a 415 nm. La concentración de flavonoides se calculó usando una curva patrón elaborada con catequina (anexo 1).

#### **6.3.1.3 Flavonoles totales**

Para cuantificar flavonoles se llevó a cabo el método descrito por Yermakov, Arasimov, & Yarosh, 1987.

Para la extracción se pesaron 0.5 g de muestra y se le agregaron 10 mL de metanol al 80%. Se filtraron y al líquido obtenido se le cuantificaron los flavonoles totales por triplicado.

A 2 mL del extracto metanólico se le agregaron 2 mL de  $\text{AlCl}_3$  (20g/L) y 6 mL de acetato de sodio (50 g/L), enseguida se llevó a cabo la reacción por 2.5 horas a 20 °C y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a 440 nm. La concentración de flavonoles se calculó usando una curva patrón que se elaboró con rutina (anexo 1).

#### **6.3.1.4 Betalaínas totales**

Para cuantificar betalaínas se llevó a cabo el método utilizado por Garcia-Cruz, Salinas-Moreno, & Valle-Guadarrama, 2012.

Para la extracción se pesaron 0.5 g de muestra, se le agregaron 10 mL de metanol al 80%, se mantuvo en agitación por 20 minutos y se sonicó por 10 minutos, posteriormente se filtró y al líquido obtenido se le cuantificaron las betalaínas totales.

Se hizo una medición espectrofotométrica por triplicado, las betacianinas se obtuvieron a 536 nm mientras las betaxantinas a 480 nm y para la conversión de las unidades de absorbancia en unidades de concentración se utilizó la expresión:

$$B \text{ (mg/g)} = \frac{AxFDxPMxV}{\epsilon x P x L}$$

Dónde:

$B$  = Betacianinas o betaxantinas

$A$  = Absorbancia (538 nm para betacianinas y 483 nm para betaxantinas)

$FD$  = Factor de dilución al momento de leer en el espectrofotómetro

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

$V$  = Volumen del extracto

$\epsilon$  = Coeficiente de extinción molar (Betanina = 60 000 L/ mol.cm, e Indicaxantina = 48 000 L/mol.cm)

$L$  = Longitud de la celda (1 cm).

#### **6.3.1.5 Carotenos totales**

Con pocas excepciones, los carotenoides son lipofílicos, es decir, son insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos.



La absorción de luz es debido a la presencia de los dobles enlaces conjugados carbono-carbono, el sistema de dobles enlaces conjugados constituye el cromóforo y hace posible tener el espectro de absorción visible que sirve como base para su identificación y cuantificación (Rodríguez-Amaya, 2001; Schoefs, 2002).

Para la cuantificación de los carotenos se realizó la metodología de Rodríguez-Amaya, 2001.

Se hicieron extractos con el siguiente procedimiento, se pesaron 2 g de muestra y se le agregaron 10 mL de hexano:acetona:etanol (50:25:25 v/v), se mantuvo en agitación 1 hora y se concentró en el rotavapor a temperatura ambiente. Posteriormente, al matraz se le agregó hexano para recuperar los carotenos, esto se transfirió a un matraz volumétrico de 25 mL y se llegó a la marca de aforo con hexano. Finalmente se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a 450 nm en celdas de cuarzo.

Para la conversión de las unidades de absorbancia en unidades de concentración se utilizaron las expresiones:

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

$$C (\mu g/g) = \frac{X (\mu g)}{g \text{ muestra}}$$

Dónde:

C = Concentración de carotenoides en la muestra

Y = Volumen de la disolución que da lectura (mL)

$A_{1cm}^{1\%}$  = Coeficiente de extinción molar del  $\beta$ -caroteno (2592 L/ mol.cm)

## **6.3.2 SEGUNDA PARTE: Identificación por CCF y cuantificación por HPLC**

### **6.3.2.1 Betalaínas**

- **Método de extracción**

Se obtiene el extracto metanólico descrito en el punto 6.3.1.4 Betalaínas totales.

La fase móvil fue 2-propanol:etanol: agua: ácido acético (20:35:40:5), la fase estacionaria fueron placas de celulosa y debido a la coloración no fue necesario utilizar algún revelador.

### **6.3.2.2 Esteroles**

- **Método de extracción**

Se pesó un gramo de muestra y se sonicó con diclorometano por 20 minutos, después se filtró y se concentró en el rotavapor a sequedad. Para saponificar se agregaron 25 mL de KOH (0.5M en etanol), se dejó en reflujo por 30 minutos y después de dejar enfriar se llevó a cabo una extracción líquido-líquido con 50 mL hexano. Se recuperó la fase orgánica y se realizó la cromatografía en capa fina.

Para la fase móvil se utilizó hexano: acetato de etilo (9:1), como fase estacionaria se utilizaron placas de sílice y como revelador anisaldehído.

### **6.3.2.3 Ácidos fenólicos**

- **Método de extracción**

A un gramo de muestra se le agregaron 10 mL de NaOH (2N) para llevar a cabo una saponificación, se sonicó por 30 minutos, se filtró y se agregó ácido clorhídrico concentrado hasta tener un pH de 3.5. Posteriormente se hizo una extracción líquido-líquido con acetato de etilo, se concentró a sequedad en el rotavapor y se resuspendió en metanol, para el HPLC se utilizó metanol grado HPLC y se pasó por un filtro Millipore 0.45µm.

- **Identificación por cromatografía en capa fina**

Como fase móvil se utilizó cloroformo: acetato de etilo: ácido acético (1:1:0.5), como fase estacionaria se utilizaron placas de sílice y como revelador cloruro férrico al 1% en 1-butanol.

- **Cuantificación por HPLC**

La cuantificación de ácidos fenólicos se obtuvo a partir de curva patrón (anexo 1) y de estándares comerciales, siguiendo el método de elución por gradiente reportado por Morales Toledo, 2016.

Tabla 10. Sistema del HPLC para ácidos fenólicos.

<b>Sistema</b>	<b>Condiciones</b>
<b>Columna</b>	Hypersil GOLD (250x4.6 mm; 5µm)
<b>Fase móvil</b>	A: Ácido acético 1% B: Metanol
<b>Flujo (mL/min)</b>	1.2
<b>Inyección (µL)</b>	20
<b>Longitud de onda (nm)</b>	325
<b>Tiempo de corrida (min)</b>	20

Tabla 11. Gradiente de elución de ácidos fenólicos

Tiempo (min)	Flujo	%A	%B
	0.90	75	25
7	0.90	60	40
8	0.90	70	30
9	0.90	85	15
11	1.00	90	10
12	1.00	85	15
12.50	1.00	70	30
13	1.00	75	25
13.50	1.00	75	25
14	1.00	70	30
15	1.00	75	25
20	0.90	75	25

#### 6.3.2.4 Flavonoides

- **Método de extracción**

Se obtiene el extracto metanólico descrito en el punto 6.3.1.2 Flavonoides totales, para el caso del HPLC se utilizó metanol grado HPLC y se pasó por un filtro Millipore 0.45µm.

- **Identificación por cromatografía en capa fina**

Se utilizaron placas de sílice como fase estacionaria y como revelador cloruro férrico al 1% en 1-butanol pero las fases móviles son diferentes para cada flavonoide.

Para rutina se utilizó como fase móvil acetato de etilo: metanol: ácido acético (7:3:1), para catequina y epicatequina se utilizó acetato de etilo: acetona: ácido acético (9:1: 0.5) y para quercetina y kaempferol se utilizó diclorometano: acetato de etilo: ácido fórmico (7:3:0.1).

- **Cuantificación por HPLC**

La cuantificación de flavonoides se obtuvo a partir de curva patrón (anexo 1) y de estándares comerciales con un método de elución por gradiente.

Tabla 12. Sistema del HPLC para ácidos fenólicos.

<b>Sistema</b>	<b>Condiciones</b>
<b>Columna</b>	ODS Hypersil (250x4.6 mm; 5µm)
<b>Fase móvil</b>	A: Ácido fosfórico 1% B: Acetonitrilo
<b>Flujo (mL/min)</b>	1.0
<b>Inyección (µL)</b>	20
<b>Longitud de onda (nm)</b>	254 y 280
<b>Tiempo de corrida (min)</b>	30

Tabla 13. Gradiente de elución de flavonoides

<b>Tiempo (min)</b>	<b>%A</b>	<b>%B</b>
	95	5
<b>2</b>	85	15
<b>5</b>	80	20
<b>9</b>	80	20
<b>11</b>	80	20
<b>14</b>	75	25
<b>17</b>	70	30
<b>20</b>	70	30
<b>22</b>	50	50
<b>24</b>	50	50
<b>26</b>	95	5
<b>30</b>	95	5

### **6.3.3 TERCERA PARTE: Identificación de ácidos grasos en semillas por cromatografía de gases**

Las semillas utilizadas para la identificación de ácidos grasos únicamente pertenecen a las dos especies de tunas y a la pitaya.

- **Método de extracción**

Para la extracción del aceite, las semillas se molieron y pesaron, por cada gramo de muestra se le agregaron 10 mL de hexano, se sonicó por 30 min, se filtró y se concentró en el rotavapor.

- **Perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases**

Se obtuvieron los metil ésteres de los ácidos grasos a partir del método Ce 2-66 de la Sociedad Americana de Químicos de Aceites (AOCS), este consistió en pesar aproximadamente 0.3 g de aceite, agregar 5 mL de NaOH (0.5M en metanol) para saponificar y dejar en ebullición por 30 minutos con un sistema de reflujo. Posteriormente se agregó por el condensador 7 mL de  $\text{BF}_3$  (14% en metanol) y se calentó a ebullición por 3 minutos más, después se agregaron de 2 a 5 mL de hexano grado HPLC por el condensador, se retiró de la fuente de calor y se dejó enfriar.

Lo resultante se colocó en un embudo de separación y se agregaron 15 mL de una disolución de cloruro de sodio saturada, se agitó vigorosamente y se recuperó la fase orgánica para ser inyectada en el cromatógrafo de gases.

Tabla 14. Sistema del cromatógrafo de gases para ácidos grasos

<b>Sistema</b>	<b>Condiciones</b>
<b>Columna</b>	HP-INNOWAX (30 m x0.25 mm, 0.25µm)
<b>Inyección (µL)</b>	1
<b>Inyector</b>	Temperatura: 220 °C Presión: 10.70 psi Flujo total 23.3 mL/min
<b>Detector FID</b>	Temperatura: 275 °C Flujo H <sub>2</sub> : 40 mL/min Flujo N <sub>2</sub> : 20 mL/min Flujo aire: 450 mL/min
<b>Programa de Temperatura</b>	Rampa 1: 150 °C por 1 minuto Rampa 2: 15 °C/min hasta 225 °C por 5 minutos Rampa 3: 5 °C/min hasta 230 °C por 20 minutos

#### 6.3.4 CUARTA PARTE: Análisis de compuestos bioactivos en matrices alimentarias

##### 6.3.4.1 Formulaciones

Tabla 15. Formulación del aderezo

<b>Ingrediente</b>	<b>g/100 g</b>
<b>Garambullo fresco</b>	60.34
<b>Aceite de oliva</b>	15.52
<b>Vinagre balsámico</b>	8.62
<b>Agua</b>	2.58
<b>Miel de abeja</b>	12.93

Tabla 16. Formulación de la salsa

<b>Ingrediente</b>	<b>g/100 g</b>
<b>Garambullo fresco</b>	28.57
<b>Chile de árbol</b>	1.63
<b>Chile piquín</b>	0.68
<b>Chile chipotle</b>	3.26
<b>Chile guajillo</b>	2.45
<b>Ajo</b>	0.81
<b>Cebolla</b>	8.16
<b>Agua</b>	54.42

Se cuantificaron los compuestos bioactivos totales en las dos matrices alimentarias, siguiendo la metodología antes descrita en los puntos 6.3.1.1 Fenoles totales, 6.3.1.2 Flavonoides totales, 6.3.1.3 Flavonoles totales, 6.3.1.4 Betalaínas totales y 6.3.1.5 Carotenos totales.

#### **6.3.4.2 Actividad antioxidante por inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)**

El poder antioxidante de un extracto se puede expresar en función del porcentaje reducido de DPPH. Tovar del Rio, 2013 explica que la molécula 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) es un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa. La deslocalización del electrón intensifica el color violeta típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando el DPPH reacciona con el antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno (figura 14), el color violeta se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros de las propiedades antioxidantes.



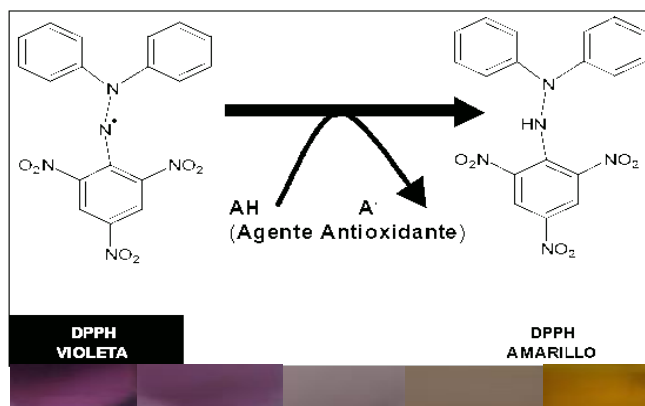


Figura 14. Reacción de DPPH con antioxidante

Para medir la actividad antioxidante se llevó a cabo el método reportado por (Muñoz Juárez & Gutiérrez, 2004) descrito a continuación:

Por cada gramo de muestra se agregaron 30 mL de metanol al 80% y se sonicó por 20 minutos, se filtró, se concentró a sequedad y se resuspendió en metanol.

La reacción entre el DPPH y el extracto resultante se llevó a cabo durante 30 minutos a temperatura ambiente y protegida de la luz de la siguiente manera, se adicionaron 2 mL de una disolución metanólica de DPPH 150  $\mu$ M a 200  $\mu$ L de extracto. El decremento de la absorbancia a 517 nm se registró a los 30 segundos, 1, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos.

La actividad antioxidante se expresa como porcentaje de inhibición de DPPH, lo cual corresponde al radical neutralizado por el extracto a una determinada concentración, dicho porcentaje se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{A - A_1}{A}$$

Dónde:

A = Absorbancia del blanco (2 mL de DPPH 150  $\mu$ M+200  $\mu$ L de metanol)

A<sub>1</sub> = Absorbancia de la muestra

Para obtener el valor de IC<sub>50</sub> que representa la concentración de extracto que causa el 50% de la inhibición de DPPH, se prepararon cinco diferentes concentraciones del extracto. Para cada concentración se llevó a cabo la misma reacción antes descrita pero con la diferencia de que sólo se registró la absorbancia pasados los 30 minutos y se hizo por triplicado.

### **6.3.5 QUINTA PARTE: Cultivo de tejidos de xoconostle**

El callo de xoconostle (tejido desorganizado formado por una masa de células vegetales no diferenciadas) utilizado para este trabajo fue desarrollado por Zac Nicthee Elizabeth López Rocha, alumna de la M. en C. Ma. Teresa de Jesús Olivera Flores, coordinadora del laboratorio de cultivo de tejidos vegetales del Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, UNAM.

Se utilizaron cladodios de plantas sanas de xoconostle (*O. matudae*) variedad rosa, se le quitaron las espinas seguido de un proceso de lavado y desinfección. Posteriormente los cladodios se cortaron siguiendo las líneas formadas por la disposición de las yemas y se sembraron en el medio de cultivo.

El medio de cultivo en el que fue propagado el callo estaba conformado por sales inorgánicas Murashige y Skoog (MS), mezcla de aminoácidos, adenina, caseína, ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), prolina, bencilaminopurina (BAP), sacarosa y agargel en un pH de 5.7.

El proceso de propagación se realizó cada cuatro semanas en el laboratorio de cultivo de tejidos y consistió en hacer el medio de cultivo, esterilizarlo en autoclave (121 °C, 1.2 atm, 18 min) y subcultivar el callo en una campana de flujo laminar.

Una vez obtenido suficiente callo, se secó por liofilización y se le cuantificaron los compuestos bioactivos totales, se le hizo identificación por CCF de betalaínas, esteroides, ácidos fenólicos y flavonoides y se cuantificaron los ácidos fenólicos y flavonoides por HPLC.

Para la cuantificación de compuestos bioactivos totales se siguió el mismo procedimiento antes descrito en los puntos 6.3.1.1 Fenoles totales, 6.3.1.2

Flavonoides totales, 6.3.1.3 Flavonoles totales, 6.3.1.4 Betalaínas totales y 6.3.1.5 Carotenos totales.

En la identificación por cromatografía en capa fina y cuantificación por HPLC se hizo el mismo procedimiento descrito en los puntos 6.3.2.1 Betalaínas, 6.3.2.2 Esteroles, 6.3.2.3 Ácidos fenólicos y 6.3.2.4 Flavonoides.

### **6.3.6 Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó con el software IBM SPSS Statistics Base, Version 20, se hizo análisis de varianza de un factor para las determinaciones de compuestos bioactivos totales con 95 % de confianza. Una vez que se determinó que existía diferencia entre las medias se hizo la prueba de diferencia significativa honesta (DSH) de Tukey a un 95 % de confianza.

## 7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las plantas de la familia *Cactaceae*, y por lo tanto sus frutos, crecen principalmente en zonas desérticas o semidesérticas lo que las hace tener excelentes sistemas de defensa debido a las condiciones ambientales en las que se desarrollan, como la escasez de agua, la fuerte radiación o las diferencias de temperatura. Dichos sistemas de defensa son los compuestos bioactivos que se ha demostrado que tienen actividades biológicas contra enfermedades como el cáncer y la diabetes (Harlev, Nevo, Solowey, & Bishayee, 2013).

La concentración de compuestos bioactivos puede variar en los frutos debido a que dependen del estado de madurez, la variedad, las condiciones climáticas en las que se desarrolló, entre otras. A continuación se presentaran los resultados de cada parte de este trabajo de investigación:

- Primera parte: Cuantificaciones de compuestos bioactivos totales.
- Segunda parte: Identificación por CCF y cuantificación por HPLC.
- Tercera parte: Identificación de ácidos grasos en las semillas.
- Cuarta parte: Cuantificación de compuestos bioactivos totales en las matrices alimentarias y la medición de actividad antioxidante.
- Quinta parte: Cuantificación e identificación de compuestos bioactivos en un cultivo de tejidos de xoconostle.

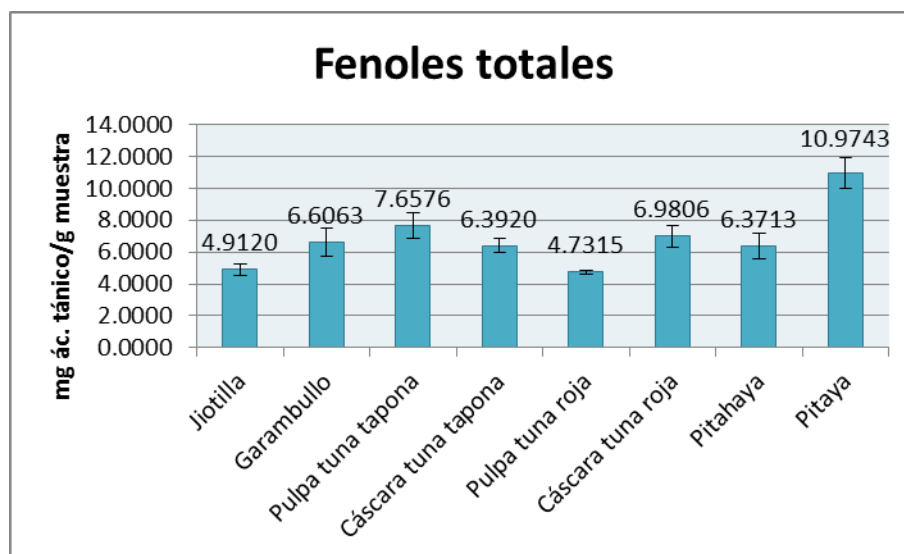
### 7.1 PRIMERA PARTE: Cuantificación de compuestos bioactivos totales

#### 7.1.1 Fenoles totales

Para obtener los resultados de fenoles totales se hizo una curva patrón con ácido tánico por lo que los resultados están expresados en miligramos equivalentes en ácido tánico por gramo de muestra.

Los resultados obtenidos se muestran en la gráfica 1, como puede observarse la pitaya obtuvo el valor más alto ( $10.9743 \pm 0.9432$  mg/g), seguido de la pulpa de tuna tapona ( $7.6576 \pm 0.8372$ ) mientras que la pulpa de la tuna roja tiene la cantidad más baja ( $4.7315 \pm 0.1052$  mg/g); sin embargo, el análisis estadístico

(anexo 2) no mostró diferencia significativa entre la pulpa de la tuna roja, la jiotilla, la cáscara de la tuna tapona, la pitahaya y el garambullo.



Gráfica 1. Resultados de fenoles totales

El contenido de fenoles totales de estas frutas es comparable con el de otras más populares; por ejemplo, de acuerdo a la base de datos del Laboratorio de Análisis de Antioxidantes del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), 2013 de Chile, el arándano contiene  $10.08 \pm 0.85$  mg EAG/g, la frambuesa  $8.22 \pm 0.69$  mg EAG/g y el melón  $3.95 \pm 0.35$  mg EAG/g.

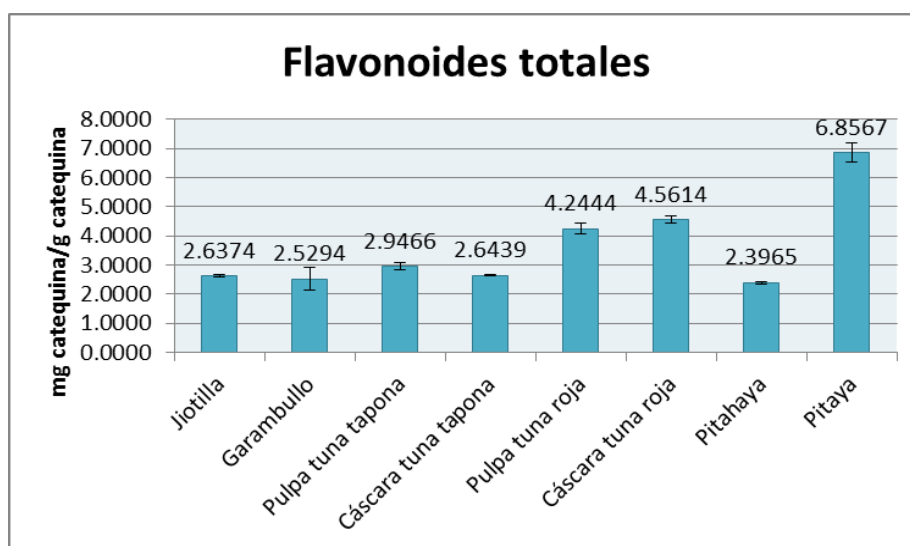
Debido a que los fenoles no son esenciales en la dieta no existe un IDR pero se ha reportado que el consumo promedio de fenoles en la dieta es de 25 mg a 1 g por día (Gimeno Creus, 2004), estas frutas endémicas de México pueden ser fuente de estos fenoles y pueden incluirse en la dieta diaria.

### 7.1.2 Flavonoides totales

Para obtener la cantidad de flavonoides totales se obtuvo una curva patrón a partir de catequina, por lo tanto los resultados presentados a continuación están expresados en mg equivalentes de catequina por gramo de muestra.

La pitaya es la muestra con mayor contenido de flavonoides totales ( $6.8567 \pm 0.3111$  mg/g), como se observa en la gráfica 2. Teniendo esta cantidad se sabe que los flavonoides representan el 62.48 % de los fenoles totales en esta muestra.

En segundo lugar está la cáscara de la tuna roja ( $4.5614 \pm 0.1157$  mg/g) y es importante mencionar que de acuerdo al análisis estadístico (anexo 2) no existe diferencia significativa entre la cáscara y la pulpa de la tuna roja.



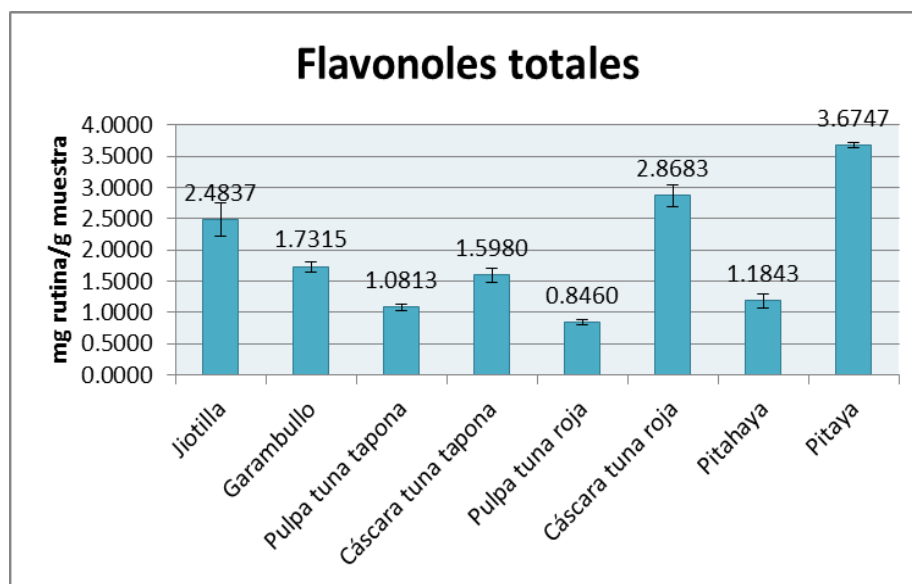
Gráfica 2. Resultados de flavonoides totales

La cantidad más baja de flavonoides totales está en la pulpa de la tuna tapona ( $1.0813 \pm 0.0449$  mg/g), el análisis estadístico también indica que no existe diferencia significativa entre la pulpa y cáscara de la tuna tapona, la pitahaya, el garambullo y la jiotilla.

Se ha demostrado que algunos flavonoides además de su capacidad antioxidante, tienen actividad antimicrobiana (Baigorí, Quarenghi, González, & Tereschuk, 2007; Hervet Perera Córdova & González Mesa, Leonora Payo Hill, 2006), por lo tanto su presencia en el fruto es importante ya que sirven de protección, principalmente en las partes expuestas al medio ambiente como lo son las cáscaras.

### 7.1.3 Flavonoles totales

Para obtener la concentración de flavonoles totales se hizo una curva patrón con rutina, los resultados están expresados en mg equivalentes de rutina por gramo de muestra.

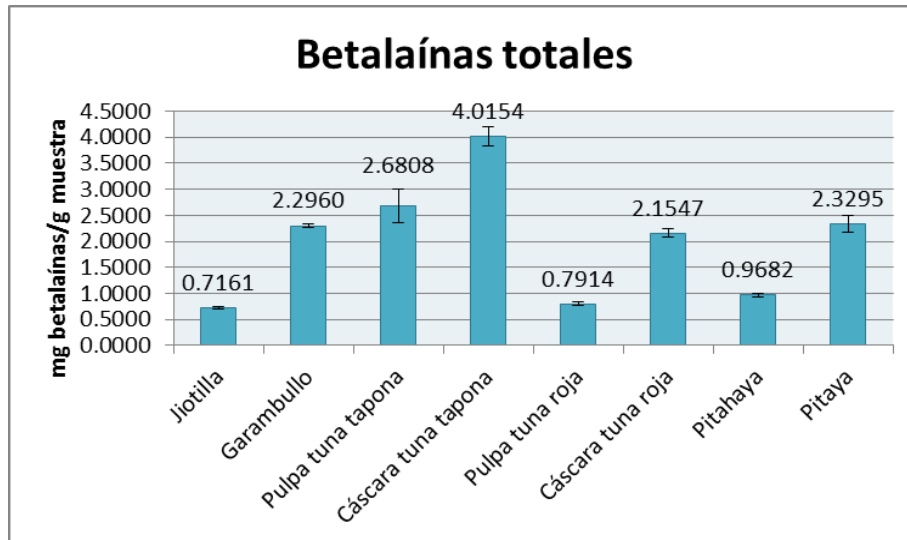


Gráfica 3. Resultados de flavonoles totales

Para flavonoles totales la pitaya obtuvo la cantidad mayor ( $3.6747 \pm 0.0508$  mg/g), como se observa en la gráfica 3, seguido de la cáscara de la tuna roja ( $2.8683 \pm 0.1745$  mg/g) y las concentraciones más bajas están en la pulpa de la tuna roja ( $0.8460 \pm 0.0376$  mg/g); sin embargo, de acuerdo con el análisis estadístico (anexo 2) no existe diferencia significativa entre la pulpa de la tuna roja, la pulpa de la tuna tapona y la pitahaya.

Comparando los resultados de flavonoles totales y flavonoides totales se observa que los flavonoles son el grupo predominante de los flavonoides.

#### 7.1.4 Betalaínas totales



Gráfica 4. Resultados de Betalaínas totales

Las betalaínas se extraen principalmente del betabel para utilizarlo como colorante en la industria alimentaria, se ha considerado que otras fuentes de obtención de betalaínas pueden ser del género *Opuntia* y como se puede observar en los resultados (gráfica 4) la cáscara de la tuna tapona tiene  $4.0154 \pm 0.1882$  mg/g y la pulpa  $2.6808 \pm 0.3287$  mg/g siendo en conjunto (cáscara y pulpa) la muestra con mayor cantidad de betalaínas. La pitaya ( $2.3295 \pm 0.1650$  mg/g) y el garambullo ( $2.2960 \pm 0.0287$  mg/g) son las siguientes en cantidad de betalaínas y de acuerdo con el análisis estadístico (anexo 2) no existe diferencia significativa entre estas dos muestras y la pulpa de la tuna tapona.

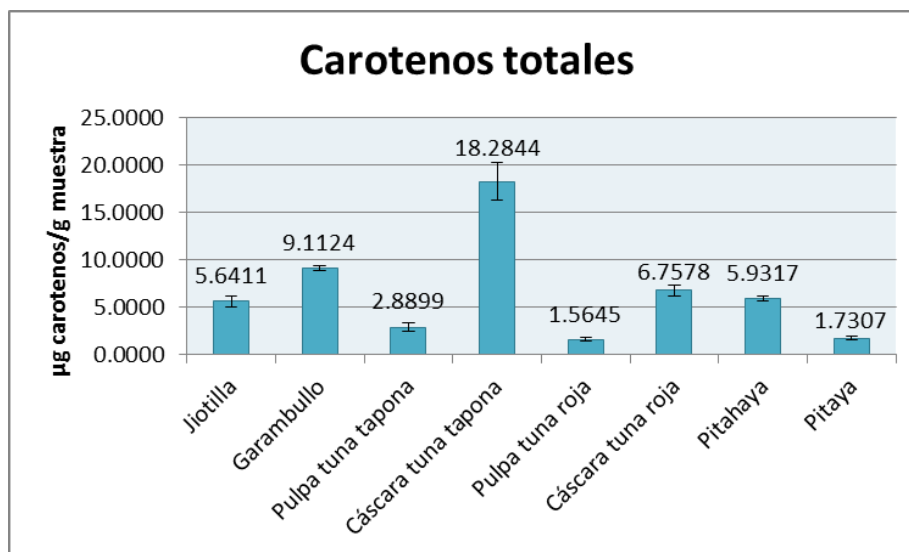
Las muestras con menor cantidad de betalaínas son la jiotilla ( $0.7161 \pm 0.0209$  mg/g), la pulpa de la tuna roja ( $0.7914 \pm 0.0328$  mg/g) y la pitahaya ( $0.9682 \pm 0.0377$  mg/g), el análisis estadístico indica que no hay diferencia significativa entre estas tres muestras.

Comparando los resultados obtenidos con el jugo de betabel liofilizado ( $8.7 \pm 0.3$  mg/g) que reporta Franco Zavaleta, 2004, el valor más alto ( $4.0154 \pm 0.1882$  mg/g) es un poco menos del 50% de la cantidad presente en el betabel; sin embargo si se desean extraer las betalaínas de estas muestras para uso industrial se puede



optimizar el método, estableciendo las mejores condiciones de extracción para cada muestra debido a que las betalaínas pueden verse afectadas por distintos factores como la luz, pH o temperatura.

### 7.1.5 Carotenos totales



Gráfica 5. Resultados de carotenos totales

El contenido de carotenos se determinó con el coeficiente de extinción del  $\beta$ -caroteno. En la gráfica 5, la cáscara de la tuna tapona muestra el mayor contenido de carotenos ( $18.2844 \pm 2.0058$   $\mu\text{g/g}$ ) seguido del garambullo ( $9.1124 \pm 0.2965$   $\mu\text{g/g}$ ). Por lo contrario, la pulpa de tuna roja ( $1.5645 \pm 0.2059$   $\mu\text{g/g}$ ), la pitaya ( $1.7307 \pm 0.1744$   $\mu\text{g/g}$ ) y la pulpa de tuna tapona ( $2.8899 \pm 0.4685$   $\mu\text{g/g}$ ) tienen la menor cantidad de carotenos y de acuerdo con el análisis estadístico (anexo 2) no muestran diferencias significativas. En este caso se puede observar nuevamente que las cáscaras de ambas tunas contienen mayor cantidad de estos compuestos que sus respectivas pulpas.

De acuerdo con Meléndez-Martínez, Vicario, & Francisco J., 2004 algunos carotenos son precursores de vitamina A como el  $\beta$ -caroteno y se estima que entre el 26% y 34% de la vitamina A consumida es proporcionada por los carotenoides.

En las ingestas recomendadas de vitamina A se consideran estos carotenoides como provitamínicos. Estas ingestas recomendadas están expresadas como equivalentes de retinol (ER) donde un equivalente de retinol es igual a un miligramo de retinol y este a su vez es igual 12 mg de  $\beta$ -caroteno. Se ha estimado que el consumo promedio de vitamina A oscila entre 744 y 811 equivalentes de retinol por día en hombres y los 530 y 716 equivalentes de retinol por día en mujeres. Con base a lo anterior, la cantidad de carotenos equivalentes en  $\beta$ -caroteno que contienen estas muestras es baja; sin embargo pueden ser consideradas una de las fuentes de  $\beta$ -caroteno en la dieta.

## **7.2 SEGUNDA PARTE: Identificación por CCF y cuantificación por HPLC**

Una vez determinado los compuestos bioactivos totales, se hizo una identificación y cuantificación más específica como se muestra a continuación.

### **7.2.1 Betalaínas**

Se realizó una placa de cromatografía en capa fina de los extractos metanólicos para observar la presencia de betacianinas y betaxantinas, los cuales son los componentes de las betalaínas.

Las muestras se aplicaron en el siguiente orden de izquierda a derecha: jiotilla (Ji), garambullo (Ga), pulpa de tuna taponada (Tp), cáscara de tuna taponada (Tc), pulpa de tuna roja (Rp), cáscara de tuna roja (Rc), pitahaya (Ph) y pitaya (Pi).

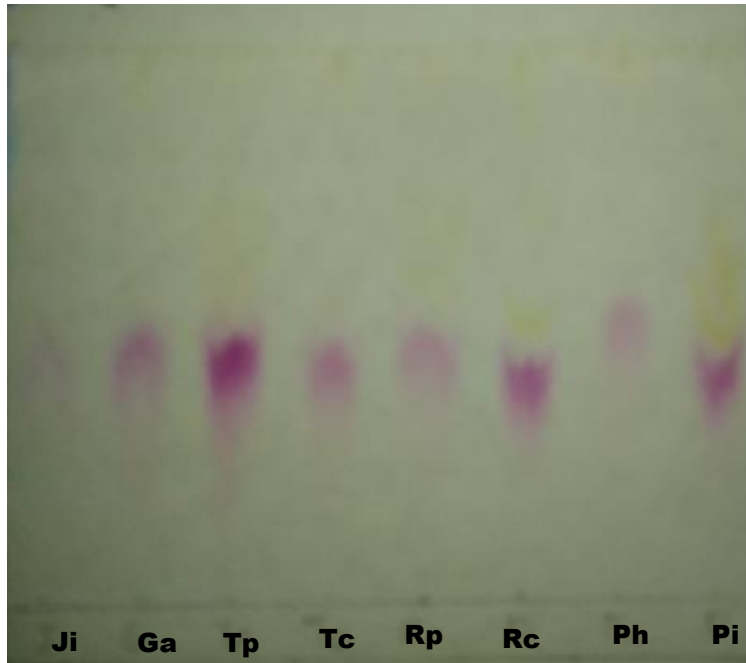


Figura 15. CCF de betaláinas

En la figura 15 se pueden observar las dos coloraciones que conforman las betaláinas, las violetas (betacianinas) y las amarillas (betaxantinas). También, se observa que las betacianinas son el componente mayoritario sobre las betaxantinas debido a que estas últimas son las menos visibles, además el color de las frutas es rojo por lo tanto, se esperaba tener más concentración de betacianinas que de betaxantinas.

Se han reportado algunas betacianinas y betaxantinas en las muestras analizadas (tabla 17), siendo la betanina y la vulgaxantina las que están presentes en casi todas las muestras.

Tabla 17. Betalaínas reportadas en frutas de la región semiárida.

Nombre	Betalaínas reportadas	
	Betacianinas	Betaxantinas
<i>Stenocereus spp.</i>	Betanina, Isobetanina y Filocactina	Vulgaxantina e Indicaxantina
<i>Escontria chiotilla</i>	Betanina	Vulgaxantina I y II e Indicaxantina
<i>Myrtillocactus geometrizans</i>	Betanina, iso-betanina, filocactina, cis-isomero de gomfrenina II, sogomfrenina.	Indicaxantina, muscaaurina, derivado de histinina, fenilalanina.
<i>Hylocereus spp.</i>	Betanina, Isobetanina	
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Betanina, betanidina, isobetanidina, isobetanina, filocactina, isofilocactina, gomfrenina.	Muscarina, vulgaxantina I, ácido aminobutírico betaxantina, indicaxantina, valina-betaxantina, isómero de valina betaxantina, isoleucina betaxantina, vulgaxantina IV, fenilalanina betaxantina.

(Cejudo-Bastante, Chaalal, Louaileche, Parrado, & Heredia, 2014; González Nava, 2015; Mardujano, 2006; Soriano-Santos et al., 2007; Wu et al., 2006)

### 7.2.2 Esteroles

Para la hacer CCF de esteroles se utilizó un comprimido comercial de esteroles como estándar y se hicieron dos cromatoplasmas, en la primera se muestran los esteroles sin saponificar y la segunda muestra los esteroles después de la saponificación.

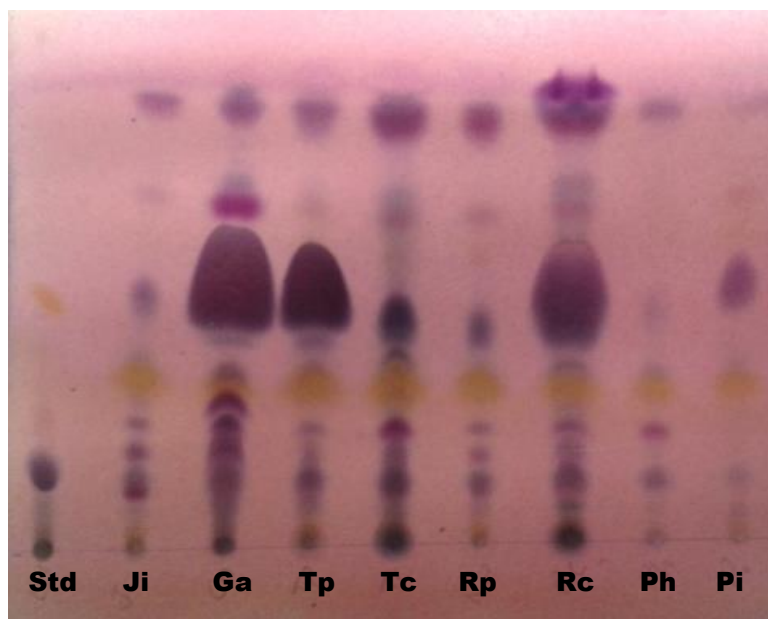


Figura 16. CCF de esteroides antes de saponificar

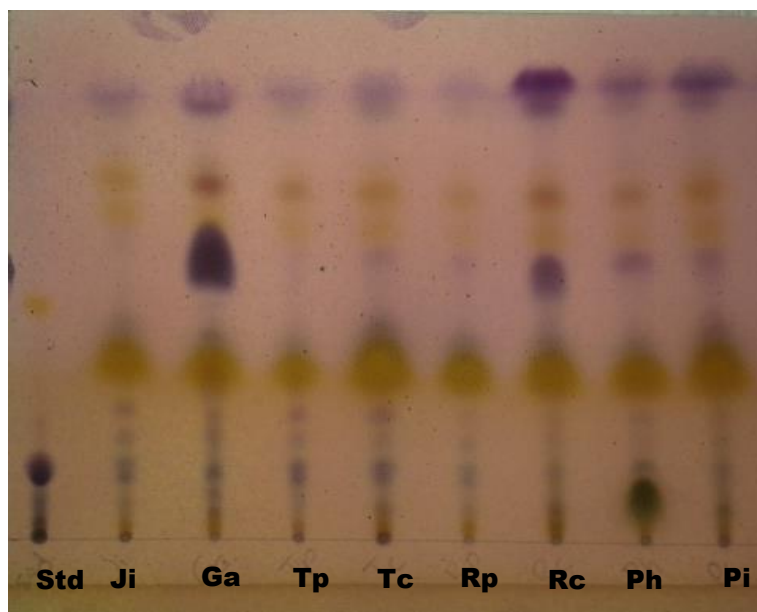


Figura 17. CCF de esteroides después de saponificar

En ambas cromatoplasmas las muestras se aplicaron en el siguiente orden de izquierda a derecha: Estándar (Std), jiotilla (Ji), garambullo (Ga), pulpa de tuna

tapona (Tp), cáscara de tuna tapona (Tc), pulpa de tuna roja (Rp), cáscara de tuna roja (Rc), pitahaya (Ph) y pitaya (Pi).

Como se puede observar en la figura 16 y 17, hay una diferencia notoria antes y después de la saponificación, siendo la figura 17 en la que se puede identificar mejor la presencia de esteroides, lo que indica que la mayoría de los esteroides presentes en estas muestras se encuentran esterificados y al llevarse a cabo la saponificación se obtienen de forma libre.

Respecto al contenido de esteroides, a partir de la segunda cromatoplaqueta se puede ver que en todas las muestras están presentes, en el caso especial de la Pitahaya se nota una mayor concentración que en las otras muestras.

Existe escasa información acerca del tipo de esteroides que se encuentran en estas muestras. Salt, Tocker, & Adler, 1987 analizaron ocho géneros de la familia *Cactaceae*, entre ellas *Hylocereus* spp., y reportaron que en los ocho géneros el esteroide dominante fue el sitoesteroide. En *Hylocereus* también reportan la existencia de estigmasterol.

El-Mostafa et al., 2014 reportaron el contenido de esteroides en varias partes de la tuna *O. ficus-indica* incluyendo pulpa, semillas y cáscara. Entre ellos están el campesterol, estigmasterol, lanosterol,  $\beta$ -sitoesteroide,  $\Delta^5$ -Avenasterol,  $\Delta^7$ -Avenasterol y Ergosterol.

### **7.2.3 Identificación por CCF y cuantificación por HPLC de ácidos fenólicos**

- **Identificación por cromatografía en capa fina**

La CCF mostrada a continuación se realizó con estándares comerciales que se aplicaron de la siguiente manera: ácido p-cumárico (Cum), ferúlico (Fer), cafeico (Caf), sinápico (Sin), gálico (Gal) y vainillina (Vai); las muestras se aplicaron en el siguiente orden jiotilla (Ji), garambullo (Ga), pulpa de tuna tapona (Tp), cáscara de tuna tapona (Tc), pulpa de tuna roja (Rp), cáscara de tuna roja (Rc), pitaya (Pi) y pitahaya (Ph).

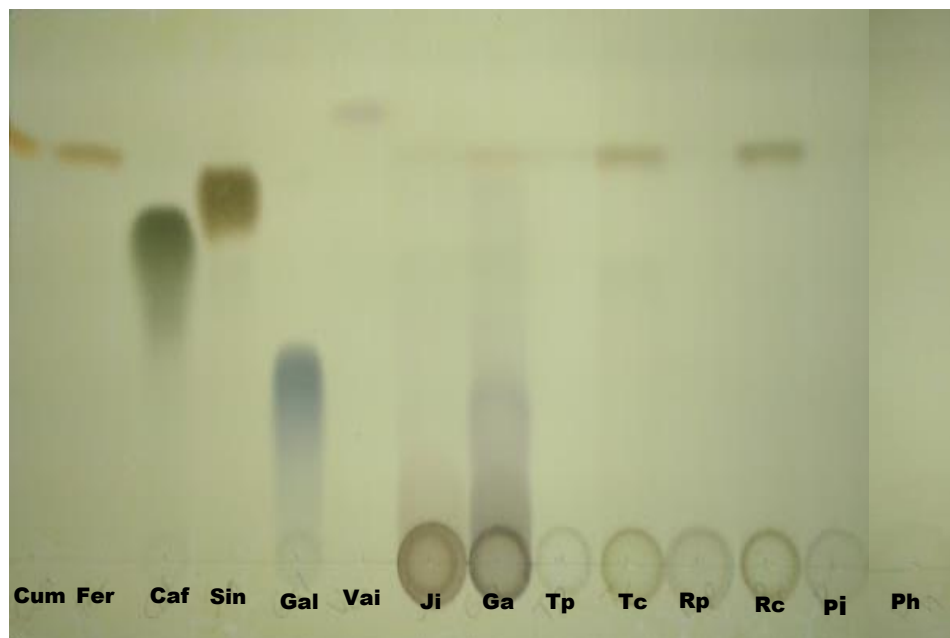


Figura 18. CCF de ácidos fenólicos

En la figura 18 podemos observar que el ácido que predomina en casi todas las muestras es el ácido ferúlico, de acuerdo con la placa este ácido se encuentra en mayor concentración en las cáscaras de ambas tunas seguido del garambullo.

El ácido cafeico podría estar presente en el garambullo y en las cáscaras de las tunas en concentraciones muy bajas. También, se observa que el garambullo y la jiotilla contienen ácido gálico.

En el trabajo de González Nava, 2015 se reporta que además de ácido ferúlico, cafeico y gálico, el garambullo contiene vainillina y ácido sinápico que en la cromatoplaqa no se pueden observar. También, Tenore et al., 2012 reportan que la pitahaya contiene ácido gálico, cafeico y p-cumárico pero sólo se observa una baja concentración de ácido ferúlico. Estos ácidos pudieron no haberse observado debido a que se encuentran en muy baja concentración haciéndolos muy poco o nada visibles.

- **Cuantificación por HPLC**

Se cuantificaron los ácidos fenólicos (Tabla 18) por HPLC de los cuales el ácido p-cumárico, ferúlico, sinápico y cafeico son ácidos hidroxicinámicos, mientras que el ácido gálico es hidroxibenzoico. De acuerdo con Robbins, 2003 en algunos casos los análogos de aldehídos son también agrupados con los ácidos fenólicos como la vainillina.

Tabla 18. Cuantificación de ácidos fenólicos por HPLC

Muestra	Ácido fenólico (µg/g)					
	Ferúlico	Cafeico	Gálico	p-Cumárico	Sinápico	Vainillina
<b>Jiotilla</b>	< 5.0000	Ausente	2318.5471	Ausente	12.6713	< 5.0000
<b>Garambullo</b>	300.4177	210.5029	198.2153	< 5.0000	Ausente	49.4264
<b>Pulpa tuna taponada</b>	< 5.0000	Ausente	924.4797	< 5.0000	Ausente	< 5.0000
<b>Cáscara tuna taponada</b>	586.2515	219.6223	384.0604	475.1404	49.9572	9.7540
<b>Pulpa tuna roja</b>	< 5.0000	104.8768	2102.6795	Ausente	< 5.0000	Ausente
<b>Cáscara tuna roja</b>	807.9497	135.9596	659.7369	Ausente	Ausente	Ausente
<b>Pitahaya</b>	Ausente	182.8764	198.4098	< 5.0000	Ausente	78.0544
<b>Pitaya</b>	8.1296	116.4721	955.5997	Ausente	Ausente	Ausente

En la tabla 18 se puede observar que algunos ácidos están presentes pero en muy baja concentración, menos de 5 µg/g y los ácidos marcados como “Ausente” indican que este ácido no está presente en la muestra.



El ácido fenólico de mayor concentración es el ácido gálico, el cual se encuentra en la jiotilla y la pulpa de la tuna roja con más de 2 mg mientras que el ácido sinápico fue el que se encontró en menor cantidad y menos muestras, esto coincide con lo observado en la cromatografía en capa fina porque el ácido sinápico no se observó en la cromatoplaca en ninguna muestra. Por otra parte, es importante resaltar que el garambullo y la cáscara de tuna taponada tienen el mayor número de ácidos fenólicos.

El arándano es una de las principales fuentes de ácido gálico y Song & W. Olmstead, 2016 reportaron la cantidad de este ácido en distintas variedades de arándano. Comparando los resultados obtenidos en los arándanos con los de las muestras aquí analizadas, tanto la jiotilla como la pulpa de la tuna taponada superan la cantidad de ácido gálico en el arándano de variedad Jewel (1350  $\mu\text{g/g}$ ) pero se encuentran por debajo de otras variedades como la Rebel (3300  $\mu\text{g/g}$ ).

El ácido cafeico está presente en casi todas las muestras y la vainillina que no se logró apreciar en la cromatografía en capa fina también está presente en cinco de las ocho muestras pero en concentraciones bajas.

En la identificación por cromatografía en capa fina, las cáscaras de las tunas presentaban mayor concentración de ácido ferúlico que sus respectivas pulpas e incluso que el resto de las muestras. De acuerdo con la tabla de resultados de la cuantificación, las cáscaras sí contienen la mayor cantidad de este ácido. Es de gran interés porque el ácido ferúlico tiene poder antioxidante y puede ser utilizado en la industria cosmética o en la industria alimentaria.

Así como el ácido ferúlico es importante en la industria también lo son el resto de los ácidos, con base en lo anterior las cáscaras que generalmente son desechadas podrían ser aprovechadas siendo una fuente de extracción de estos ácidos para ser utilizados en los alimentos, fármacos o cosméticos.

## 7.2.4 Identificación por CCF y cuantificación por HPLC de flavonoides

- **Identificación por cromatografía en capa fina**

Para la cromatografía en capa fina de flavonoides, las cromatoplasmas se hicieron por separado. En la primera se muestra la rutina (Ru), en la segunda la catequina (Ca) y la epicatequina (Epi) y en la tercera el kaempferol (K) y la quercetina (Q).

Las muestras se aplicaron en el siguiente orden jiotilla (Ji), garambullo (Ga), pulpa de tuna taponada (Tp), cáscara de tuna taponada (Tc), pulpa de tuna roja (Rp), cáscara de tuna roja (Rc), pitahaya (Ph) y pitaya (Pi).

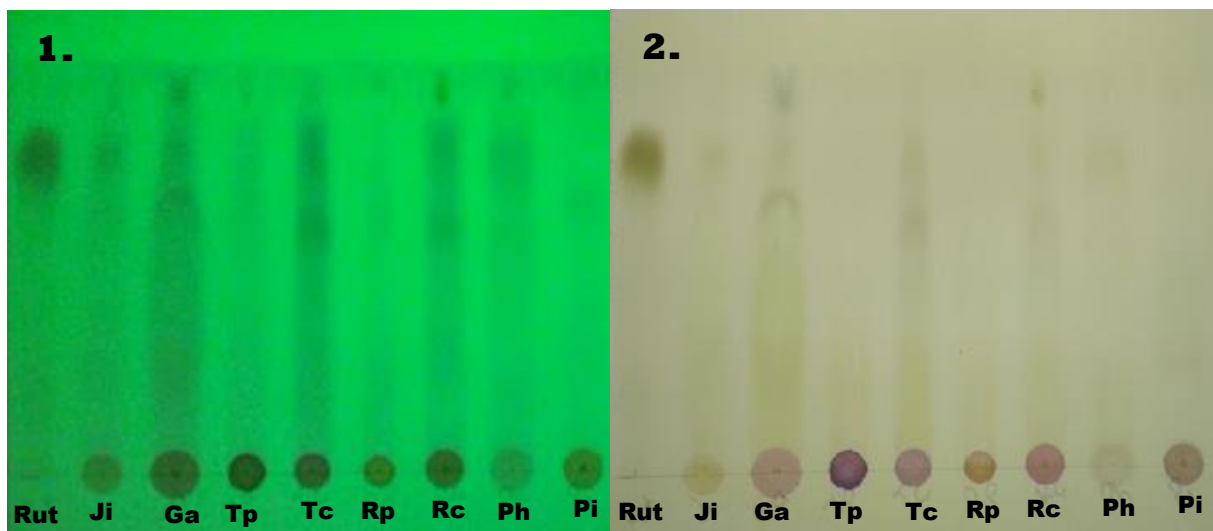


Figura 19. CCF de Rutina 1. Revelador UV 2. Revelador cloruro férrico

En la figura 19 se muestra la misma cromatoplasma pero utilizando diferentes reveladores y como puede observarse, todas las muestras contienen rutina siendo las pulpas de las tunas y la pitaya las de menor concentración.

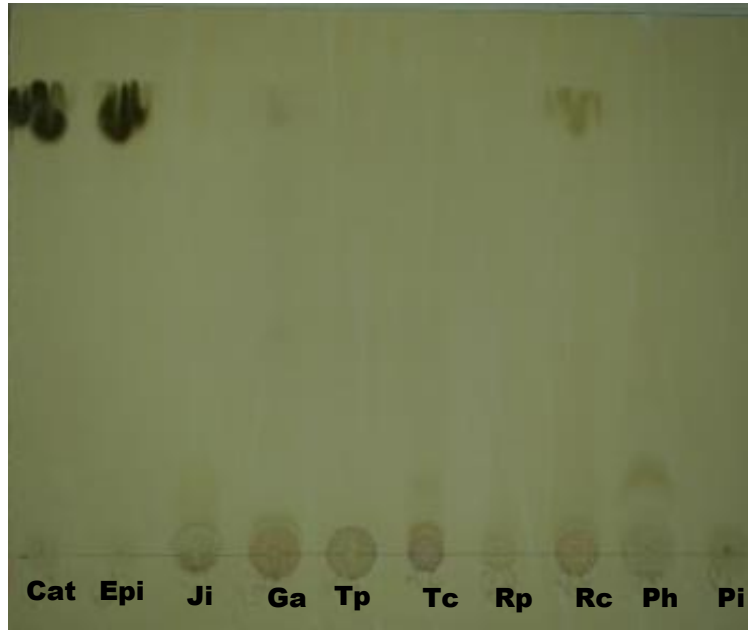


Figura 20. CCF de catequina y epicatequina

En la figura 20 se observa que la cáscara de la tuna roja y el garambullo son las dos muestras en las que se nota la presencia de catequina y/o epicatequina. González Nava, 2015 confirma la presencia de catequina y epicatequina en el garambullo.

En el resto de las muestras no se observa la presencia de estos flavonoides, puede deberse a la baja concentración o a la ausencia de estos.

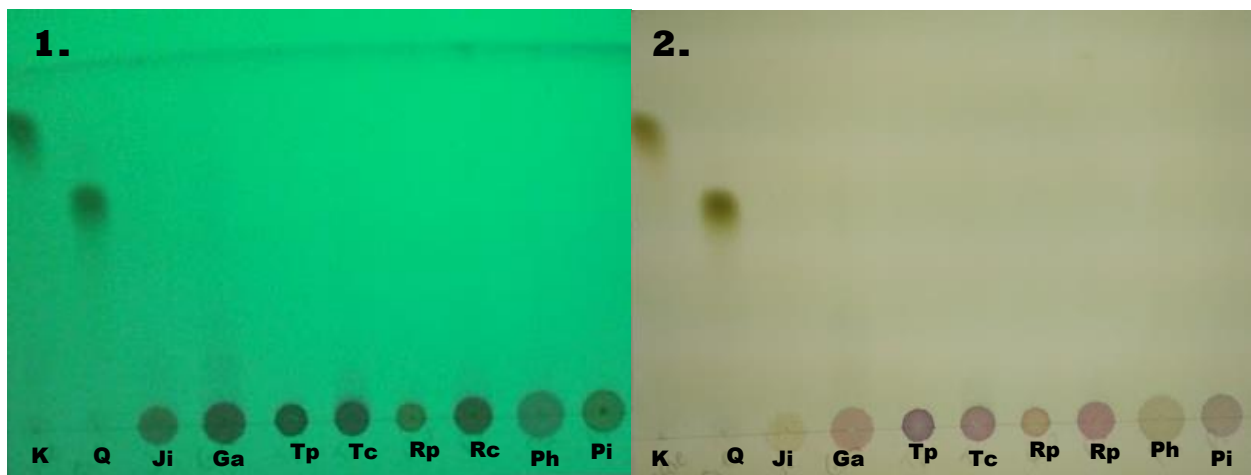


Figura 21. CCF de kaempferol y quercetina 1. Revelador UV 2. Revelador cloruro férrico

En el caso de kaempferol y quercetina (Figura 21), no se observa la presencia en ninguna de las muestras pero si se han reportado en otros estudios, por ejemplo El-Mostafa et al., 2014 indica en sus resultados la presencia de kaempferol y quercetina en la pulpa y cáscara de la tuna *Opuntia ficus-indica*, Tenore et al., 2012 también reporta la presencia de ambos flavonoides en la pitahaya.

- **Cuantificación por HPLC**

En la tabla 19 se muestran los resultados obtenidos para la cuantificación de flavonoides por HPLC y se puede observar que algunos ácidos están presentes pero en muy baja concentración y los ácidos marcados como “Ausente” indican que este ácido no está presente en la muestra.

Tabla 19. Resultados de flavonoides en HPLC

Muestra	Flavonoide (µg/g)		
	Rutina	Quercetina	Epicatequina
Jiotilla	80.2212	< 5.0000	54.1155
Garambullo	85.1474	< 5.0000	30.4850
Pulpa tuna tapon	58.6482	< 5.0000	112.9675
Cáscara tuna tapon	120.5628	< 5.0000	128.4545
Pulpa tuna roja	67.5936	< 5.0000	Ausente
Cáscara tuna roja	115.3770	< 5.0000	546.6335
Pitahaya	63.6320	< 5.0000	61.9410
Pitaya	58.1744	< 5.0000	< 5.0000

La rutina es el flavonoide que se encuentra, en una cantidad significativa, presente en todas las muestras siendo las cáscaras de las tunas las que presentan mayor cantidad de este compuesto, mientras que la quercetina se encuentra igualmente en todas las muestras pero en cantidades tan bajas que no se logró cuantificar y

esto justifica que no se haya logrado ver en la cromatografía en capa fina de ninguna muestra. La epicatequina no está presente en la pulpa de la tuna roja pero si en las otras muestras donde la cáscara de la tuna roja es la que tiene mayor cantidad de este flavonoide y es esta misma muestra la que se observó en la CCF que tenía mayor concentración.

Comparando los resultados con la cantidad de rutina presente en las hojas secas de amaranto (24.5 mg/g ) que reportó Kalinova & Dadakova, 2009, la cantidad que se encuentra en las muestras analizadas es bajo.

### 7.3 TERCERA PARTE: Identificación de ácidos grasos en semillas por cromatografía de gases.

En la tabla 20 se muestran los ácidos grasos identificados en los extractos obtenidos de las semillas de las muestras.

Tabla 20. Identificación de ácidos grasos en semillas

Ácido graso	Muestra		
	Pitaya	Tuna taponada	Tuna roja
<b>C16:0</b>	X	X	X
<b>C16:1</b>	X	X	X
<b>C18:0</b>	-	-	-
<b>C18:1</b>	X	X	X
<b>C18:2</b>	X	X	-
<b>C18:3</b>	-	-	-
<b>C20:1</b>	-	X	-
<b>C22:1</b>	X	X	-

El extracto obtenido de las semillas de la pulpa taponada es la que muestra mayor variedad de ácidos grasos mientras la tuna roja es la que tiene menos variedad; sin embargo, ambas tunas tienen en común el ácido palmítico, palmitoleico y oleico. Distintos estudios han indicado que las semillas de la tuna son ricas en

ácido linolénico, oleico y palmítico. En la tabla 21 se muestran algunos ácidos grasos reportados en el aceite de las semillas de tuna.

Tabla 21. Ácidos grasos en aceite de la semilla de tuna.

<b>Ácido Graso</b>	<b>Resultado <sup>a</sup> (g/100 g ácidos grasos)</b>	<b>Resultado <sup>b</sup> (g/100 g ácidos grasos)</b>
<b>C16:0</b>	20.1	9.32
<b>C16:1</b>	1.80	1.42
<b>C18:0</b>	2.72	3.11
<b>C18:1</b>	18.3	16.77
<b>C18:2</b>	53.5	70.29
<b>C18:3</b>	2.58	ND

<sup>a</sup> Ramadan & Mörsel, 2003 / <sup>b</sup> Ennouri, Evelyne, Laurence, & Hamadi, 2005 / ND No determinado

Las semillas de pitaya también contienen ácido oleico, palmítico y palmitoleico además de ácido linoleico y erúcico. Ortega-Nieblas, Molina-Freaner, Robles-Burguenño, & Vázquez-Moreno, 2001 analizaron los ácidos grasos de dos especies diferentes de pitaya y de acuerdo con sus resultados el ácido linoleico es el que se encuentra en mayor proporción respecto a los otros seguido del ácido oleico. En la tabla 22 se muestran los resultados obtenidos en las dos especies de pitaya.

Tabla 22. Ácidos grasos en aceite de la semilla de pitaya

Ácido graso (g/100 g ácido graso)	<i>Stenocereus thurberi</i>	<i>Stenocereus gummosus</i>
<b>C16:0</b>	6.0	5.5
<b>C18:0</b>	5.0	3.7
<b>C18:1</b>	35.0	36.0
<b>C18:2</b>	52.0	53.0
<b>C18:3</b>	1.2	1.3
<b>C20:4</b>	0.3	0.2

Ortega-Nieblas et al., 2001

#### **7.4 CUARTA PARTE: Análisis de compuestos bioactivos en matrices alimentarias**

En general, las muestras analizadas se consumen como fruta fresca, se utilizan para preparar agua, nieve, mermelada o incluso para dulces o bebidas fermentadas. El objetivo de esta parte fue utilizar una de las muestras para agregarla como ingrediente en matrices alimentarias distintas a las que comúnmente se hacen con estas frutas.

Después de cuantificar los compuestos bioactivos de las muestras, se seleccionó una (garambullo) para utilizarla en la preparación de alimentos. Esta muestra se lavó y se aplicó directamente, es decir, no tuvo ningún tipo de tratamiento previo.

Las matrices alimentarias (figura 22) son una salsa y un aderezo. Se les cuantificaron los compuestos bioactivos totales además de determinar su actividad antioxidante y se comparó con lo obtenido previamente en el garambullo.

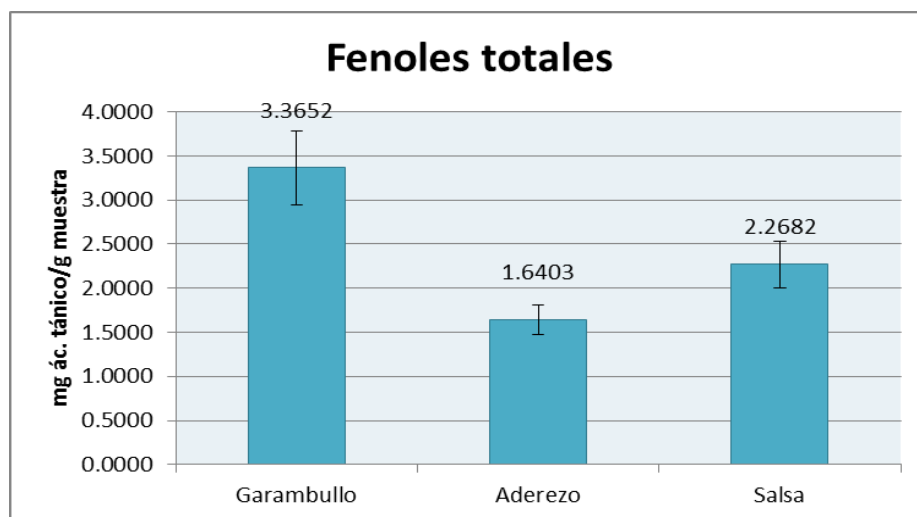


Figura 22. Salsa (A). Aderezo (B)

#### 7.4.1 Fenoles totales en matrices alimentarias

En la gráfica 6 se muestran los resultados obtenidos de fenoles totales en las dos matrices alimentarias y en el garambullo. Estos resultados están expresados en equivalentes de ácido tánico, el cual fue utilizado para la curva patrón.

De acuerdo con los resultados, el garambullo ( $3.3652 \pm 0.4185$  mg/g) por si solo tiene mayor cantidad de fenoles que las matrices alimentarias. También, se puede observar que la salsa ( $2.2682 \pm 0.2598$  mg/g) tiene una cantidad mayor de fenoles que el aderezo ( $1.6403 \pm 0.1716$  mg/g) y esto se debe a que el chile también contiene fenoles que contribuyen a elevar su valor. Castro-Concha, Tuyub-Che, Moo-Mukul, Vazquez-Flota, & Miranda-Ham, 2014 indican que el pericarpio del chile es rico en vitamina E, carotenoides y compuestos fenólicos.



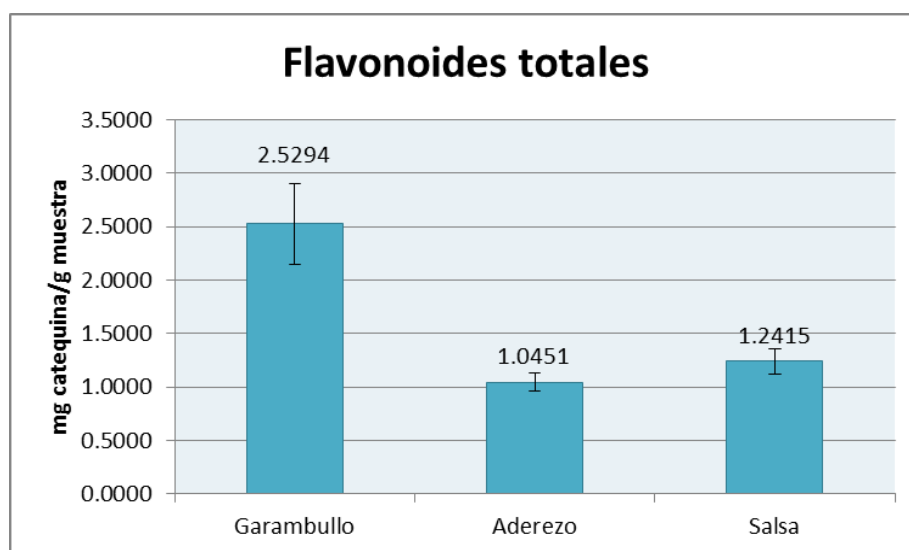
Gráfica 6. Fenoles totales en matrices alimentarias



Los resultados obtenidos muestran diferencia en cuanto a cantidad de fenoles totales pero de acuerdo al análisis estadístico realizado (anexo 3), no existe diferencia significativa entre las dos matrices alimentarias.

#### 7.4.2 Flavonoides totales en matrices alimentarias

Los resultados de flavonoides presentados en la gráfica 7 están expresados en equivalentes de catequina, ya que con este se hizo la curva patrón.

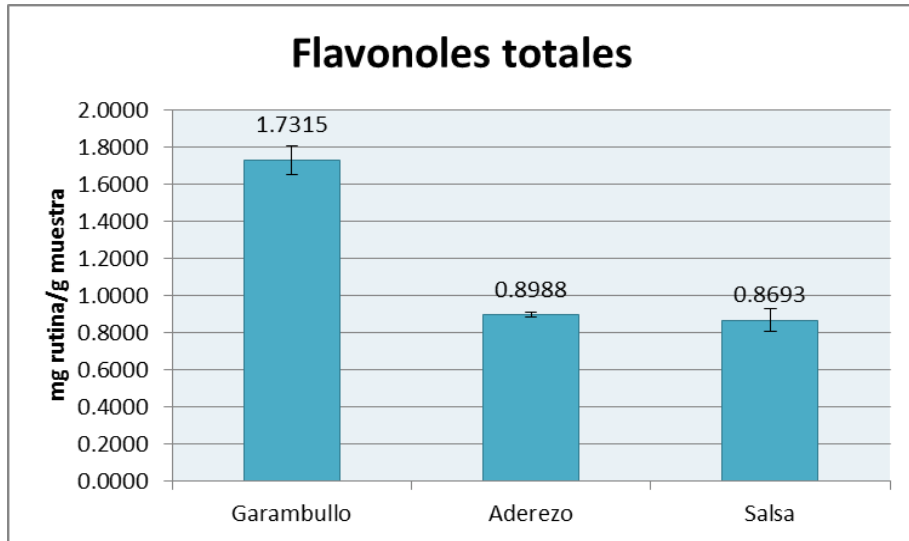


Gráfica 7. Flavonoides totales en matrices alimentarias

Como se observa en la Gráfica 7, el garambullo ( $2.5294 \pm 0.3794$  mg/g) así como en fenoles, contiene la mayor cantidad de este grupo de compuestos, seguido de la salsa ( $1.2415 \pm 0.1210$  mg/g) y del aderezo ( $1.0451 \pm 0.0855$  mg/g) con menor cantidad. En esta determinación los flavonoides presentes en la variedad de chiles que contiene la salsa incrementaron su valor. Sin embargo, el análisis estadístico (anexo 3) indica que no existe diferencia significativa entre la cantidad de flavonoides presentes en el aderezo y la cantidad presente en la salsa.

#### 7.4.3 Flavonoides totales en matrices alimentarias

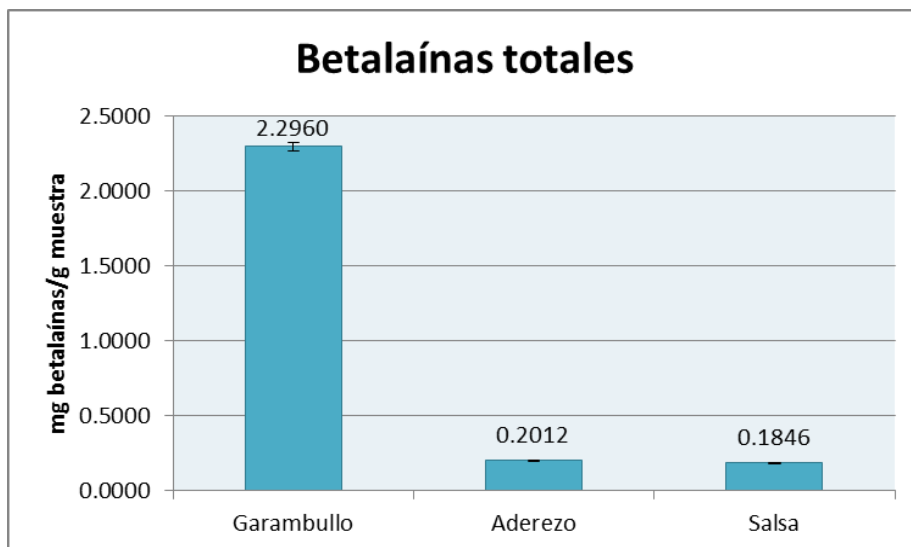
Los resultados presentados en la gráfica 8 están reportados en equivalentes de rutina, compuesto con el que se realizó la curva patrón.



Gráfica 8. Flavonoles totales en matrices alimentarias

Los resultados obtenidos para flavonoles totales (Gráfica 8) muestran la misma tendencia que los resultados anteriores, donde el garambullo ( $1.7315 \pm 0.0785$  mg/g) contienen la mayor cantidad de flavonoles aunque en este caso, los valores en salsa ( $0.8988 \pm 0.0588$  mg/g) y aderezo ( $0.8988 \pm 0.0129$  mg/g) son más similares y en efecto, el análisis estadístico (anexo 3) indica que no hay diferencia significativa entre estas muestras.

#### 7.4.4 Betalainas totales en matrices alimentarias



Gráfica 9. Betalainas totales en matrices alimentarias

Como se puede observar en la gráfica 9, la diferencias entre las matrices alimentarias y el garambullo es más notoria. El análisis estadístico (anexo 3) indica que entre la salsa y el aderezo no existe diferencia significativa en la cantidad de betalaínas totales.

Para explicar la razón de los bajos valores de betalaínas en las matrices alimentarias es importante señalar que además del garambullo ninguno de los otros ingredientes presentes en ambas formulaciones contiene betalaínas, por lo tanto la fruta es la única que aporta este grupo de compuestos.

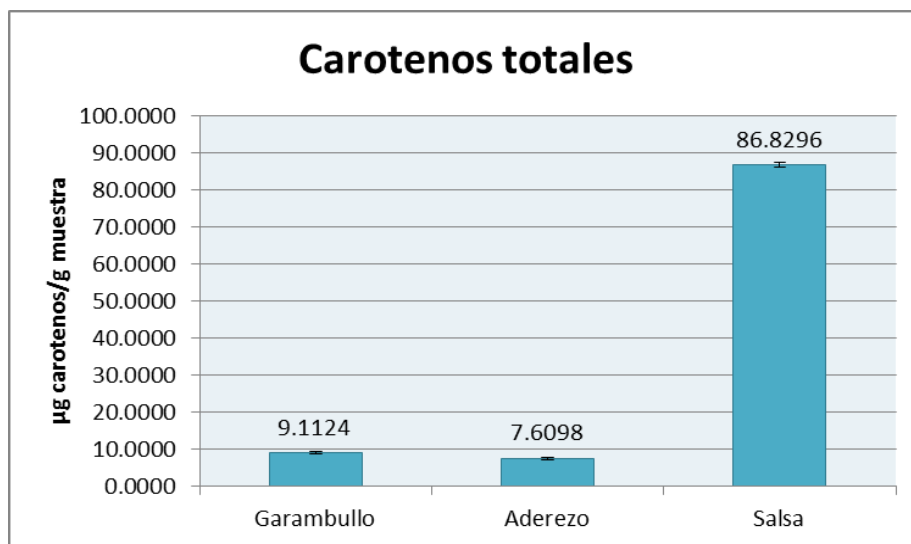
Otro punto importante es que el garambullo no estuvo previamente en altas temperaturas y los productos estuvieron en refrigeración y protegidos de la luz hasta su cuantificación, con base en esto no hubo degradación por esos factores.

La presencia de las betalaínas del garambullo en el aderezo es evidente por el color que tiene, por lo contrario en la salsa no se percibe con facilidad. Con el propósito de saber si el garambullo marcaba alguna diferencia visual en el color de la salsa, se hizo un salsa control, la cual contenía todos los ingredientes excepto el garambullo, esta comparación se observa en la figura 23 y como puede observarse si existe diferencia, incluso el color de la salsa control es más opaco.



Figura 23. A) Control B) Muestra

#### 7.4.5 Carotenos totales



Gráfica 10. Carotenos totales en matrices alimentarias

Los resultados de carotenos totales se muestran en la Gráfica 10, contrario con los resultados de los demás compuestos bioactivos totales donde el garambullo obtuvo los valores más altos, la salsa demostró tener mayor cantidad de carotenos y nuevamente este resultado se le atribuye a los diferentes chiles que contiene. De acuerdo con otras investigaciones el chile es una buena fuente de carotenoides; se han identificado alrededor de 25 incluyendo  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, zeaxantina, luteína, capsantina, capsorubina y criptocapsina (Collera-Zúñiga, García Jiménez, & Meléndez Gordillo, 2005).

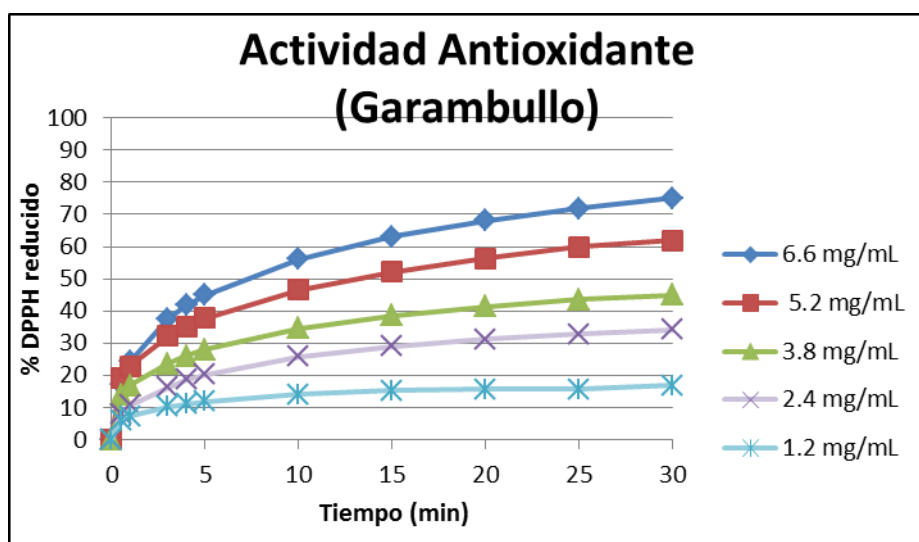
En este caso el análisis estadístico (anexo 3) indicó que las tres muestras analizadas tenían diferencia significativa, por lo tanto la salsa ( $86.8296 \pm 0.5134$   $\mu\text{g/g}$ ) contiene mayor cantidad de carotenos, seguido del garambullo ( $9.1124 \pm 0.2965$   $\mu\text{g/g}$ ) y con menor cantidad se encuentra el aderezo ( $7.6098 \pm 0.2891$   $\mu\text{g/g}$ ).

#### 7.4.6 Actividad antioxidante por inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

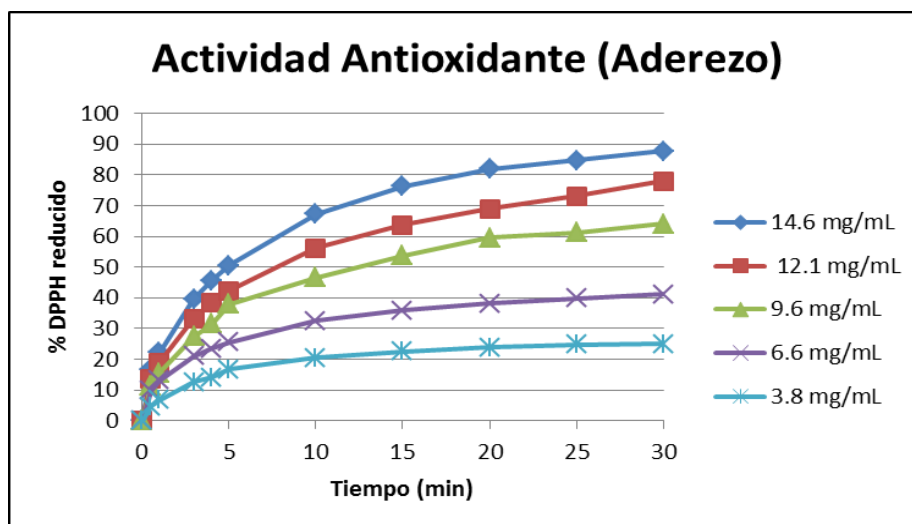
Ambos productos fueron hechos con una de las frutas analizadas, en la que ya se demostró que existen diferentes compuestos bioactivos, los cuales tienen

propiedades antioxidantes. Con el fin de darle valor agregado a los productos elaborados (salsa y aderezo) se les midió su actividad antioxidante, a continuación se muestran los resultados obtenidos.

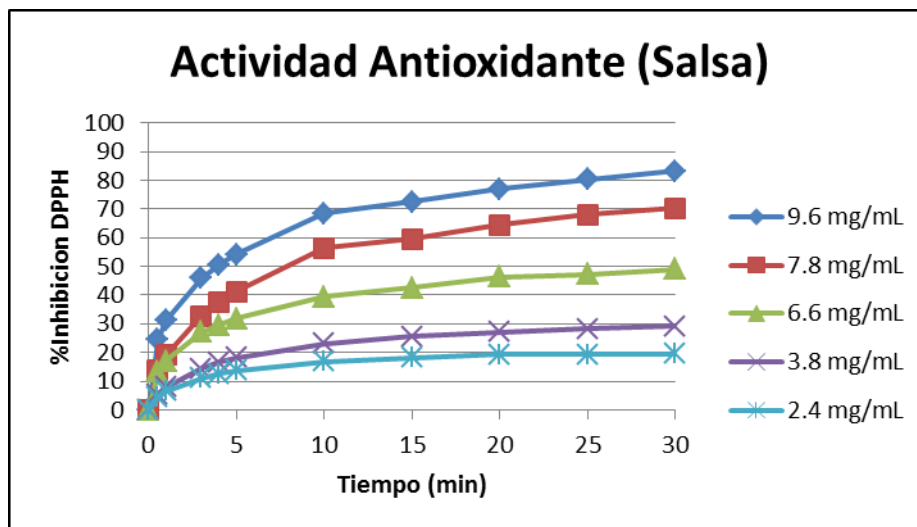
En los tres casos, garambullo, salsa y aderezo se puede observar que conforme aumenta la concentración del extracto, el porcentaje de DPPH reducido aumenta (Gráficas 11, 12, 13) por lo tanto, se demuestra que tanto el garambullo como los productos derivados de este fruto tienen poder antioxidante.



Gráfica 11. Porcentaje de DPPH reducido a diferentes concentraciones del extracto de garambullo.



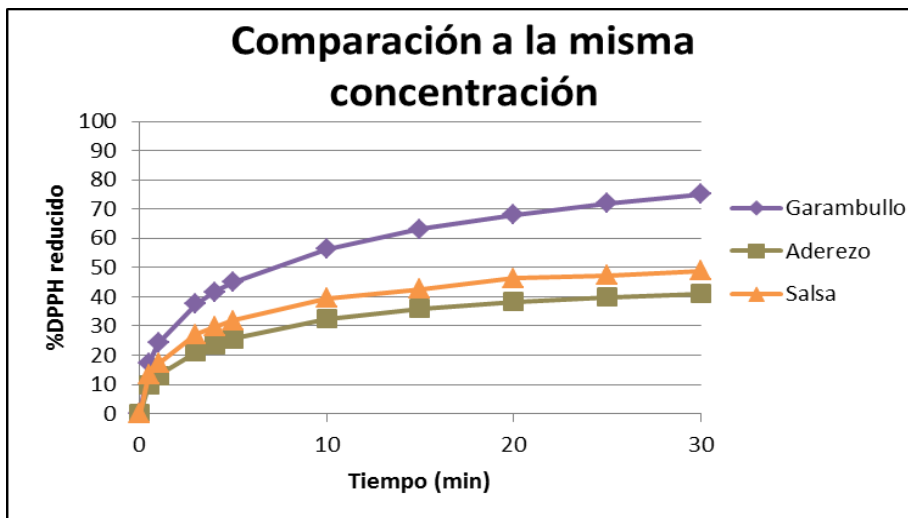
Gráfica 12. Porcentaje de DPPH reducido a diferentes concentraciones del extracto de aderezo



Gráfica 13. Porcentaje de DPPH reducido a diferentes concentraciones del extracto de salsa

En el garambullo a una concentración de 6.6 mg/mL el DPPH se reduce a 77 % mientras en el aderezo a 42 % y en la salsa a 48 %, lo que indica que la cantidad de compuestos antioxidantes es diferente en cada muestra. En esta determinación se observa que los resultados vuelven a presentar el mismo patrón que en otros análisis, por ejemplo se observó que el garambullo ( $3.3652 \pm 0.4185$  mg/g) contiene mayor cantidad de fenoles totales, seguido de la salsa ( $1.2415 \pm 0.1210$  mg/g) y con una menor cantidad está el aderezo ( $1.6403 \pm 0.1716$  mg/g) por lo tanto, el efecto del contenido de compuestos bioactivos se hace evidente en los resultados de actividad antioxidante.

En la gráfica 14 se observa el porcentaje de DPPH reducido a la concentración de 6.6 mg/mL en los tres extractos y en la figura 24 se observa la diferencia de color de los extractos a la misma concentración.



Gráfica 14. Porcentaje de DPPH reducido a la misma concentración de los extractos

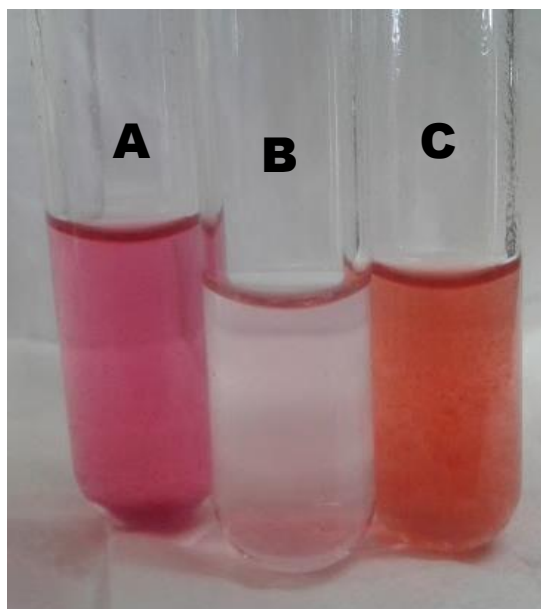


Figura 24. A. Garambullo B. Aderezo C. Salsa

Una vez obtenido el porcentaje de DPPH reducido a diferentes concentraciones se calculó el  $IC_{50}$ , el cual indica la concentración de antioxidantes necesaria para disminuir la concentración inicial de DPPH al 50 %. Para el garambullo se obtuvo un  $IC_{50}$  de  $4.1466 \pm 0.1171$  mg/mL, para la salsa fue de  $5.9529 \pm 0.0097$  mg/mL y para el aderezo de  $7.7440 \pm 0.0433$  mg/mL.

Surinrut, Kaewsutthi, & Surakarnkul, 2005 evaluó la actividad antioxidante de 12 extractos de diferentes frutas donde las que tuvieron alta actividad antioxidante estuvieron en un intervalo de 1.10 a 9.60 mg/mL (algunas son piel de uva, mango, carambola), las que tuvieron una actividad moderada estuvieron en un intervalo de 11.18 a 32.80 mg/mL y las de baja actividad en un intervalo de 50.62 a 110.46 mg/mL; comparando los resultados obtenidos del garambullo, salsa y aderezo con los intervalos anteriores se considera que estas muestras tienen alta actividad antioxidante.

### **7.5 QUINTA PARTE: Cultivo de tejidos de xoconostle**

De acuerdo con la primera evaluación mundial realizada por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), el 31 % de las cactáceas están amenazadas de extinción debido a diferentes factores, como son el comercio ilegal de plantas y semillas, su explotación no sostenible, la ganadería y agricultura en pequeña escala, el desarrollo residencial y comercial, entre otros (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, 2015).

En México existen especies que sólo se encuentran en una determinada región del país, es decir, no se encuentran en ninguna otra parte del mundo lo que hace a estas especies tener mayor riesgo de extinción.

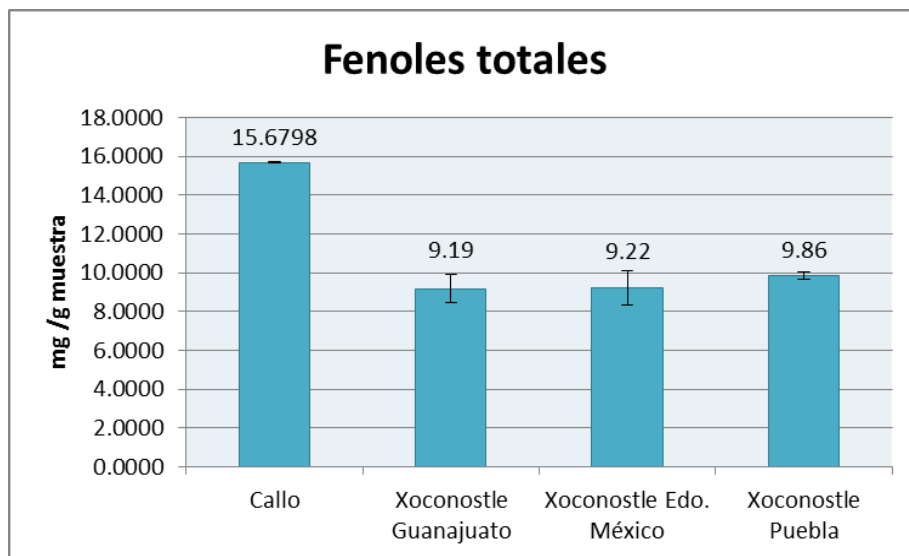
El propósito de identificar y cuantificar los compuestos bioactivos en el callo de xoconostle (tejido desorganizado formado por una masa de células vegetales no diferenciadas) es para demostrar que por medio de esta técnica de cultivo, los compuestos bioactivos continúan presentes como en una fruta obtenida de forma tradicional, además de proponer al cultivo de tejidos vegetales como alternativa para la micropropagación de las cactáceas que tienen dificultades para ser cultivadas o incluso que puedan estar en peligro de extinción.

#### **7.5.1 Fenoles totales en cultivo de tejidos de xoconostle**

En la gráfica 15 se muestran los resultados obtenidos en la cuantificación de fenoles totales en el callo en equivalentes de ácido tánico, los resultados con los que se compara son los obtenidos por Guzmán-Maldonado et al., 2010 quienes



cuantificaron fenoles totales en equivalentes de ácido gálico en la pulpa liofilizada del xoconostle (*O. matudae*) provenientes de tres regiones productoras en México, Guanajuato, Estado de México y Puebla.



Gráfica 15. Resultados de fenoles totales en callo de xoconostle

El contenido de fenoles totales en el callo es de  $15.6798 \pm 0.0373$  mg/g, esto es mayor a lo obtenido en el xoconostle de las tres regiones que contienen alrededor de 9 mg/g.

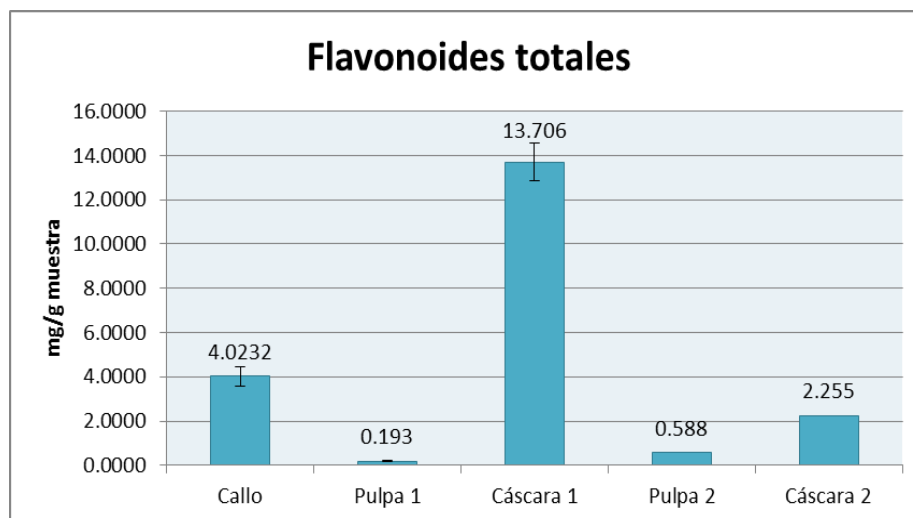
En esta determinación el callo, obtenido por cultivo de tejidos vegetales, resultó ser buena fuente de compuestos fenólicos al obtener mejores resultados que en el fruto original.

Martínez Cruz, 2012 cuantificó fenoles totales en equivalentes de ácido gálico del cultivo *in vitro* de *Robus adenotrichus* obteniendo 14.92 mg/g en el callo, concentración menor a lo obtenido en el callo de *Opuntia matudae*.

### 7.5.2 Flavonoides totales en cultivo de tejidos de xoconostle

En la gráfica 16 se observan los resultados obtenidos en la cuantificación de flavonoides totales en el callo en equivalentes de catequina, comparado con los resultados obtenidos para el xoconostle en otras investigaciones. Los resultados etiquetados como “pulpa 1” y “cáscara 1” fueron obtenidos por Frey Aguilar, 2016

en la pulpa y cáscara del xoconostle (*O. joconostle*) en equivalentes de catequina y los resultados etiquetados como “pulpa 2” y “cáscara 2” fueron obtenidos por Osorio-Esquivel, Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez, Dorantes-Álvarez, & Giusti, 2011 en la pulpa y cáscara del xoconostle (*O. joconostle*) en equivalentes de rutina.

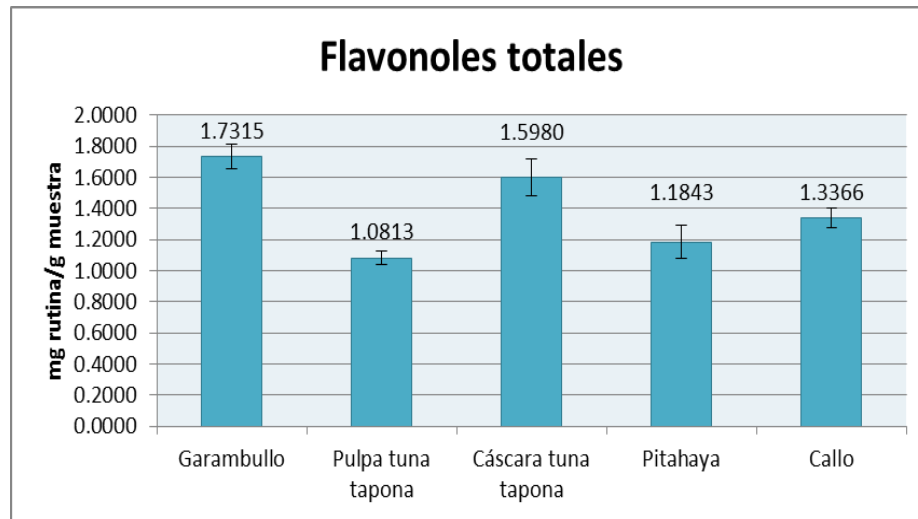


Gráfica 16. Resultados de flavonoides totales en callo de xoconostle

El resultado en esta determinación para el callo fue de  $4.0232 \pm 0.4327$  mg/g el cual es superior a lo obtenido en la pulpa ( $0.193 \pm 0.019$  mg/g) del xoconostle por Frey Aguilar, 2016 pero menor a lo que obtuvo en la cáscara ( $13.706 \pm 0.862$  mg/g); sin embargo, el callo contiene más flavonoides totales que la cáscara (2.255 mg/g) y pulpa (0.588 mg/g) del xoconostle reportado por Osorio-Esquivel et al., 2011.

Por otra parte, Martínez Cruz, 2012 obtuvo para la concentración de flavonoides totales en el callo de *Robus adenotrichus*, 2.83 mg/g en equivalentes de catequina, cantidad menor a lo obtenido para el xoconostle (*O. matudae*).

### 7.5.3 Flavonoles totales en cultivo de tejidos de xoconostle



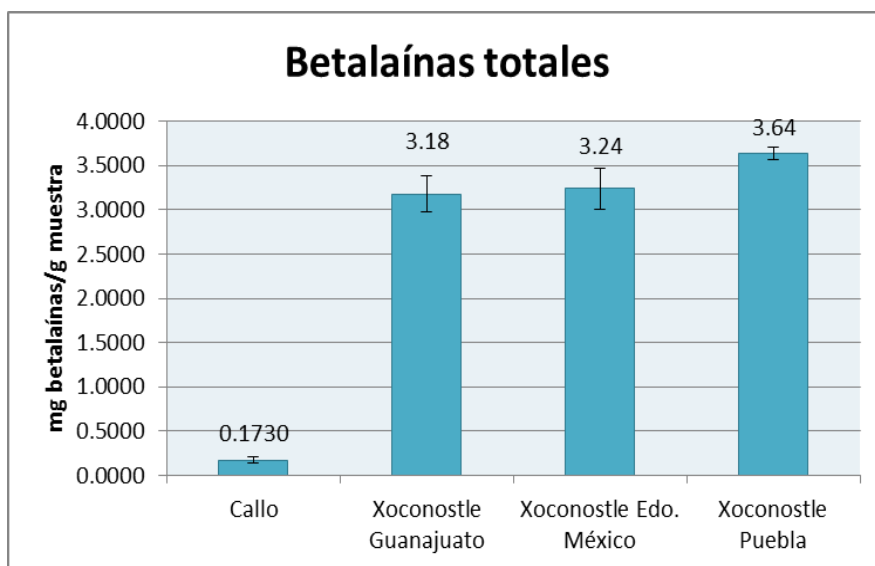
Gráfica 17. Resultados de flavonoles totales en callo de xoconostle

Los resultados de flavonoles totales del callo en equivalentes de rutina se muestran en la gráfica 17, como puede observarse obtuvo una cantidad de  $1.3366 \pm 0.0648$  mg/g este resultado es similar al contenido de flavonoles en otras muestras analizadas y que pertenecen a la misma familia que el xoconostle, demostrando que la cantidad de flavonoles obtenidos en el callo es comparable con el de otros frutos.

Como se muestra en la gráfica, el garambullo ( $1.7315 \pm 0.0785$  mg/g) y la cáscara de la tuna taponada ( $1.5980 \pm 0.1171$  mg/g) contienen más flavonoles que el callo pero la pulpa de la tuna taponada ( $1.0813 \pm 0.0448$  mg/g) y la pitahaya ( $1.1843 \pm 0.1078$  mg/g) contienen menor cantidad.

#### 7.5.4 Betalaínas totales en cultivo de tejidos de xoconostle

El contenido de betalaínas totales se muestran en la gráfica 18, comparado con los resultados obtenidos por Guzmán-Maldonado et al., 2010 en el xoconostle (*O. matudae*) de tres regiones productoras de México, Guanajuato, Estado de México y Puebla.



Gráfica 18. Resultados de betalaínas totales en callo de xoconostle

El contenido de betalaínas totales en el callo ( $0.1730 \pm 0.0296$  mg) está por debajo de lo obtenido en el fruto original que esta alrededor de 3 mg/g. Estos resultados son similares a los que obtuvo Avalos Esparza, 2010 quien obtuvo callos de pitahaya (*Hylocereus* spp.) y de la misma forma cuantificó betalaínas totales obteniendo menor cantidad de la que se había obtenido en el fruto.

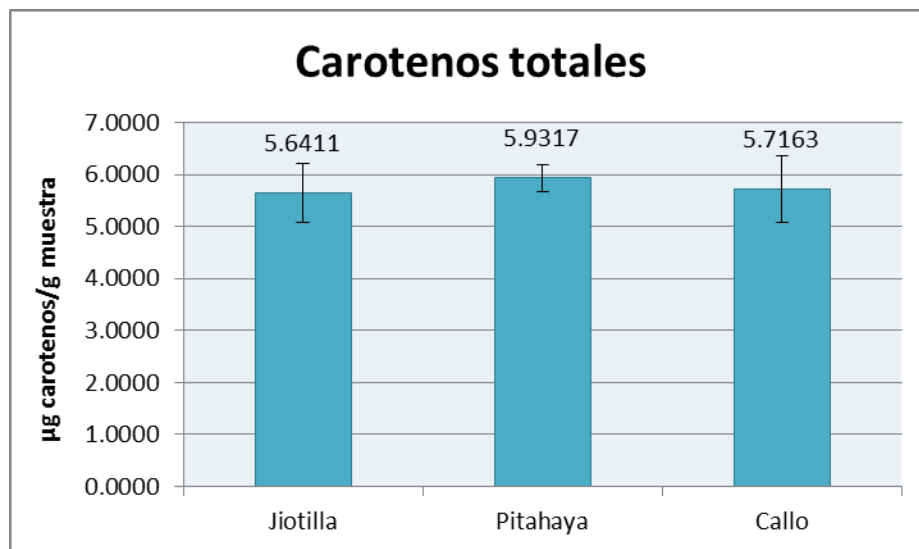
En la figura 25 se observa que el callo llegaba a tener coloración rojiza pero sólo superficialmente y no en todas las zonas, por lo tanto si había presencia del colorante pero de forma escasa. Estos resultados podrían deberse a que el callo estuvo expuesto a luz durante su desarrollo, lo que pudo provocar la degradación de las betalaínas o puede deberse a que la muestra que se colocó en el medio de cultivo para formar el callo provenía del cladodio donde predomina la clorofila.



Figura 25. Callo de xocnostle

### 7.5.5 Carotenos totales en cultivo de tejidos de xocnostle

En la gráfica 19 se observan los resultados obtenidos en la cuantificación de carotenos totales en el callo en equivalentes de  $\beta$ -caroteno.



Gráfica 19. Resultados de carotenos totales en callo de xocnostle

Los resultados obtenidos en carotenos totales en el callo ( $5.7163 \pm 0.6420 \mu\text{g/g}$ ) es similar a la cantidad presente en otros frutos de la misma familia, por ejemplo en la pitahaya se obtuvo  $5.9317 \pm 0.2679 \mu\text{g/g}$  y en la jiotilla  $5.6411 \pm 0.5649 \mu\text{g/g}$ . Por lo tanto, la cantidad de carotenos en el callo es comparable con frutas que fueron cultivadas de forma tradicional.

#### **7.5.6 Betalaínas en CCF en cultivo de tejidos de xoconostle**

Como puede observarse en la figura 26, si hay presencia de betacianinas y betaxantinas pero la concentración es tan baja que apenas logra percibirse la coloración. Lo que coincide con la cuantificación de betalaínas totales donde la cantidad obtenida fue baja comparada con lo obtenido en otras investigaciones para el xoconostle.



Figura 26. CCF de betalaínas del callo

### 7.5.7 Esteroles en CCF en cultivo de tejidos de xoconostle

La figura 27 y 28 muestran la cromatografía en capa fina de esteroles antes y después de saponificar donde primero se encuentra el estándar (Std), comprimido comercial de esteroles, y después se encuentra el callo.



Figura 27. CCF de esteroles del callo antes de saponificar



Figura 28. CCF de esteroles del callo después de saponificar

Puede observarse que después de saponificar se percibe mejor la presencia de esteroles en el callo, confirmando la presencia de estos compuestos. No se ha reportado el perfil de esteroles en xoconostle pero en otras especies del género *Opuntia* se ha identificado al sitoesterol, campesterol y estigmasterol haciendo probable su presencia en xoconostle (Ghazi, Ramdani, Fauconnier, El Mahi, & Cheikh, 2013).

### 7.5.8 Identificación por CCF y cuantificación por HPLC de ácidos fenólicos en cultivo de tejidos de xoconostle.

- **Identificación por cromatografía en capa fina**

La CCF se realizó con estándares comerciales que se aplicaron de la siguiente manera: ácido p-cumárico (Cum), ferúlico (Fer), cafeico (Caf), sinápico (Sin), gálico (Gal) y vainillina (Vai) y al final el callo.

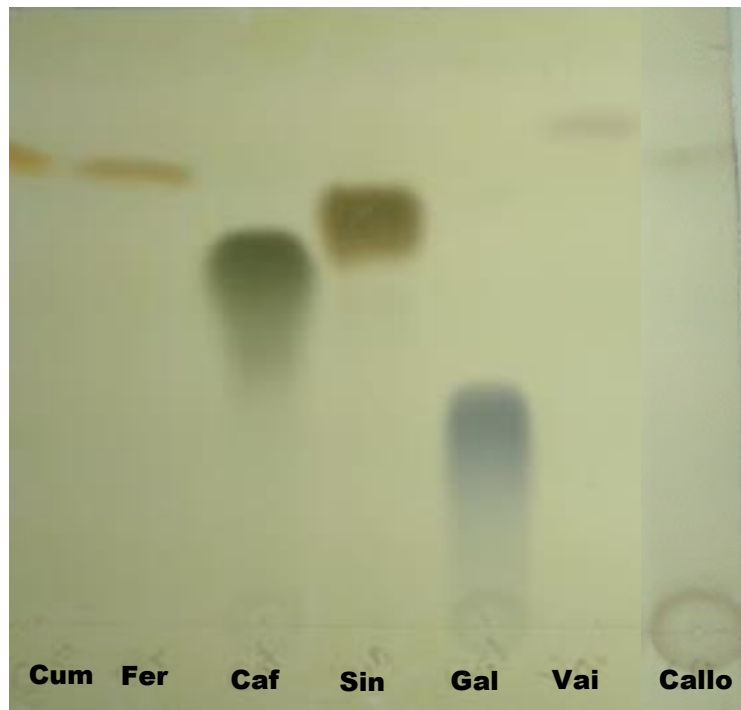


Figura 29. CCF de ácidos fenólicos del callo

En la figura 29 se puede observar que el único ácido que se identifica es el ácido ferúlico y los demás no están presentes o se encuentran en muy baja concentración. Sin embargo, Guzmán-Maldonado et al., 2010 reportan la presencia de ácido gálico y vainillina y Morales, Barros, Ramírez-Moreno, Santos-Buelga, & Ferreira, 2015 además reporta la presencia de ácido cafeico ambos en xoconostle (*O. matudae*).



- **Cuantificación por HPLC**

Tabla 23. Cuantificación de ácidos fenólicos por HPLC en callo

<b>Ácido fenólico</b>	<b>Callo (µg/g)</b>
<b>Ferúlico</b>	< 5.0000
<b>Cafeico</b>	Ausente
<b>Gálico</b>	504.3228
<b>p- Cumárico</b>	< 5.0000
<b>Sinápico</b>	Ausente
<b>Vainillina</b>	< 5.0000

En la tabla 23 se muestran los resultados obtenidos de la cuantificación de ácidos fenólicos por HPLC donde algunos ácidos están en muy baja concentración, menor a 5 µg/g y los marcados como “Ausente” no están presentes en la muestra.

De acuerdo a los resultados el callo contiene ácido ferúlico, gálico, p-cumárico y vainillina siendo el ácido gálico el que está presente en mayor cantidad. Esta cantidad de ácido gálico comparada con lo obtenido por Guzmán-Maldonado et al., 2010 en xoconostle (*O. matudae*) es menor porque reportan entre 3 y 4 mg/g de ácido gálico.

#### **7.5.9 Identificación por CCF y cuantificación por HPLC de flavonoides en cultivo de tejidos de xoconostle.**

- **Identificación por cromatografía en capa fina**

En la cromatografía en capa fina de flavonoides, las cromatoplasmas se hicieron por separado. En la primera se muestra la rutina (Ru) y callo, en la segunda la catequina (Ca), epicatequina (Epi) y callo y en la tercera el kaempferol (K), quercetina (Q) y callo.



Figura 30. CCF de rutina en callo

En la figura 30 se muestra la cromatografía en capa fina de rutina, este flavonoide está presente en el callo pero en baja concentración.

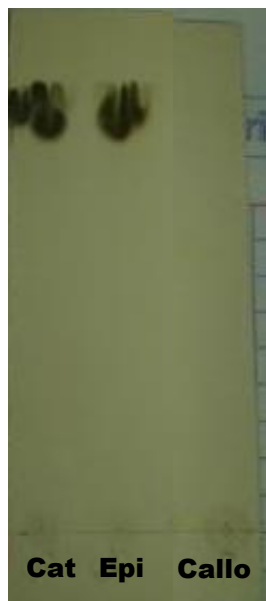


Figura 31. CCF de catequina y epicatequina en callo



Figura 32. CCF de kaempferol y quercetina en callo

De acuerdo con la figura 31, el callo no contiene catequina y tampoco contiene epicatequina o están en muy baja concentración. Guzmán-Maldonado et al., 2010

reportan la presencia de los dos flavonoides en xoconostle (*O. matudae*) siendo la epicatequina la que está en mayor concentración.

En la figura 32 tampoco se observa la presencia de quercetina y kaempferol en el callo pero Morales et al., 2015 reportan la presencia de los dos flavonoides en el xoconostle (*O. matudae*).

- **Cuantificación por HPLC**

Tabla 24. Cuantificación de flavonoides por HPLC en callo

<b>Flavonoide</b>	<b>Callo (µg/g)</b>
<b>Rutina</b>	77.0292
<b>Quercetina</b>	< 5.0000
<b>Epicatequina</b>	229.0000

En la tabla 24 se muestran los resultados obtenidos para el callo en la cuantificación de flavonoides por HPLC.

De acuerdo con los resultados los tres flavonoides están presentes, en el caso de la quercetina está en muy baja concentración mientras que la epicatequina es el más abundante de los tres; sin embargo, la cantidad de este flavonoide es baja comparándola con lo reportado por Guzmán-Maldonado et al., 2010 quienes cuantificaron más de 3 mg/g de epicatequina en xoconostle (*O. matudae*).

## 8 CONCLUSIONES

- A partir de las frutas provenientes de cactáceas se pueden extraer compuestos bioactivos para uso de industrias farmacéuticas, cosméticas y/o alimentarias.
- La pitaya fue la que obtuvo mayor cantidad de compuestos fenólicos, tanto fenoles totales como flavonoides y flavonoles.
- La cáscara de la tuna tapona fue la muestra con más betalaínas y carotenos.
- En todas las muestras predominan las betacianinas a las que se les atribuye el color rojo.
- La pitahaya es la muestra con mayor concentración de esteroides.
- El ácido ferúlico está en mayor cantidad en las cáscaras de las tunas que su pulpa, considerándolas buena fuente de este ácido.
- El ácido gálico es el ácido fenólico que está presente en todas las muestras analizadas y en mayor cantidad en jiotilla y en la pulpa de tuna roja.
- La rutina es el flavonoide presente en las muestras evaluadas y en mayor cantidad.
- Los ácidos grasos presentes en los tres tipos de semilla fueron el palmítico, palmitoleico y oleico, además las semillas de pitaya y de tuna tapona contienen ácido linoleico que de acuerdo a otras investigaciones es el ácido graso predominante.
- La tuna tapona es la muestra analizada más completa en cuanto a su contenido de compuestos bioactivos.
- En la determinación de carotenos de las matrices alimentarias, la salsa tuvo la mayor cantidad por los carotenos que contiene el chile.
- Las matrices alimentarias y el garambullo demostraron tener actividad antioxidante, donde de acuerdo con el  $IC_{50}$  el extracto de garambullo tiene mayor poder antioxidante, seguido de la salsa y el aderezo.
- El callo obtenido a partir del cultivo de tejidos vegetales de xoconostle contiene compuestos fenólicos y carotenos comparables a lo que contienen frutas cultivadas de forma tradicional.

- El cultivo de tejidos es una buena alternativa para la micropropagación de cactáceas.

## **9 PERSPECTIVAS**

- Ubicar las fuentes óptimas para la extracción de betalaínas que se han reportado en las muestras y cuantificarlas.
- Optimizar la extracción de betalaínas en cada muestra.
- Realizar el estudio de actividad antioxidante en el extracto de todas las muestras.
- Regenerar la planta del xoconostle y evaluar la concentración de compuestos bioactivos.
- Establecer un método para la extracción de compuestos bioactivos a gran escala a partir del cultivo de tejidos vegetales.

## 10 BIBLIOGRAFÍA

- Arellano, E., & Casas, A. (2003). Morphological variation and domestication of *Escontria chiotilla* (Cactaceae) under silvicultural management in the Tehuaca'n Valley, Central Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50, 239–453.
- Avalos Esparza, R. E. (2010). *Cultivo y propagación in vitro de cactáceas de los géneros Hylocereus y Selenicereus*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- Badui Dergal, S. (2006). Ácidos grasos. In *Química de los alimentos* (pp. 248–250). México: PEARSON EDUCACIÓN.
- Baigorí, M. D., Quarenghi, M. V, González, M., & Tereschuk, M. L. (2007). ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE FLAVONOIDES AISLADOS DE Tagetes DEL NOA. Retrieved September 16, 2016, from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617472026>
- Bosetti, F. (2007). Arachidonic Acid Metabolism in Brain Physiology and Pathology: Lessons from Genetically Altered Mouse Models. *Neurochem*, 102(3), 577–586.
- Bravo-Hollis, H., & Sánchez-Mejorada, H. (1991). Utilidad de las cactaceas. In *Las cactáceas en México* (1st ed., pp. 510, 511, 514). México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Castro-Concha, L. A., Tuyub-Che, J., Moo-Mukul, A., Vazquez-Flota, F. A., & Miranda-Ham, M. L. (2014). Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content in Fruit Tissues from Accessions of *Capsicum chinense* Jacq. (Habanero Pepper) at Different Stages of Ripening. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–5. <http://doi.org/10.1155/2014/809073>
- Cejudo-Bastante, M. J., Chaalal, M., Louaileche, H., Parrado, J., & Heredia, F. J. (2014). Betalain profile, phenolic content, and color characterization of different parts and varieties of *Opuntia ficus-indica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(33), 8491–8499. <http://doi.org/10.1021/jf502465g>
- Chasquibol, N., Lengua, L., Delmás, I., Rivera, D., Bazán, D., & Aguirre, R. (2003). Alimentos funcionales o Fitoquímicos, Clasificación e Importancia. *Revista*

*Peruana de Química E Ingeniería Química*. <http://doi.org/10.1590/S0066-782X2009000800010>

- Chávez-Santoscoy, R. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2009). Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia* spp.) juices. *Plant Foods for Human Nutrition*, *64*(2), 146–152. <http://doi.org/10.1007/s11130-009-0117-0>
- Child, P., & Kuksis, A. (1986). Investigation of the role of micellar phospholipid in the preferential uptake of cholesterol over sitosterol by dispersed rat jejunal villus cells. *Biochemistry and Cell Biology*, *64*(8), 847–853. <http://doi.org/10.1139/o86-113>
- Chuck-Hernández, C., Parra-Saldívar, R., & Sandate-Flores, L. (2016). Pitaya (*Stenocereus* spp.). *Encyclopedia of Food and Health*, 385–391. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00775-3>
- Collera-Zúñiga, O., García Jiménez, F., & Meléndez Gordillo, R. (2005). Comparative study of carotenoid composition in three mexican varieties of *Capsicum annum* L. *Food Chemistry*, *90*(1–2), 109–114. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.032>
- Das, U. N. (2006). Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology. *Biotechnology Journal*, *1*(4), 420–439. <http://doi.org/10.1002/biot.200600012>
- De la Rosa, L., Alvarez-Parrilla, E., & Gonz, G. a. (2010). *Fruit and Vegetable Phytochemicals Fruit and Vegetable Phytochemicals*.
- Durán C, R., & Valenzuela B, A. (2010). La experiencia japonesa con los alimentos FOSHU: ¿Los verdaderos alimentos funcionales? *Revista Chilena de Nutrición*, *37*(2). <http://doi.org/10.4067/S0717-75182010000200012>
- El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Androletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M. S., ... Cherkaoui-Malki, M. (2014). Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, *19*(9), 14879–14901. <http://doi.org/10.3390/molecules190914879>
- Ennouri, M., Evelyne, B., Laurence, M., & Hamadi, A. (2005). Fatty acid composition and rheological behaviour of prickly pear seed oils. *Food Chemistry*, *93*(3), 431–437. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.020>

- Estrada Reyes, R., Ubaldo Suárez, D., & Araujo Escalona, A. G. (2012). Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. *Salud Mental*, 35(5), 375–384. Retrieved from <https://0-dialnet.unirioja.es/catalog.uoc.edu/servlet/articulo?codigo=5229684&orden=1&info=link\nhttps://0-dialnet.unirioja.es/catalog.uoc.edu/servlet/extart?codigo=5229684>
- Figueroa-Cares, I., Martínez-Damián, M. T., Rodríguez-Pérez, E., Colinas-León, M. T., Valle-Guadarrama, S., Ramírez-Ramírez, S., & Gallegos-Vázquez, C. (2010). Pigment content, other compounds and antioxidant capacity in 12 cactus pear cultivars (*Opuntia* spp.) from Mexico. *Agrociencia*, 44, 673–771.
- Franco Zavaleta, M. E. (2004). *Caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de la jiotilla (Escontria chiotilla); una cactácea subexplotada*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Frey Aguilar, R. (2016). *Estudio de algunos fitoquímicos de capulín, xoconostle, papaya, piñón y mamey frutas originarias de México*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gallegos-Vázquez, C., Scheinvar, L., Núñez-Colín, C. A., & Mondragón-Jacobo, C. (2012). Morphological diversity of xoconostles (*Opuntia* spp.) or acidic cactus pears: a Mexican contribution to functional foods. *Fruits*, 67(2), 109–120. <http://doi.org/10.1051/fruits/2012001>
- García-Cruz, L., Salinas-Moreno, Y., & Valle-Guadarrama, S. (2012). Betalains, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Pitaya De Mayo (*Stenocereus Griseus* H.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35, 1–5. Retrieved from <Go to ISI>://WOS:000309503400001
- Gengatharan, A., Dykes, G. A., & Choo, W. S. (2015). Betalains: Natural Plant Pigments with Potential Application in Functional Foods. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 645–649. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.052>
- Ghazi, Z., Ramdani, M., Fauconnier, M.-L., El Mahi, B., & Cheikh, R. (2013). Fatty acids Sterols and Vitamin E composition of seed oil of *Opuntia Ficus Indica* and *Opuntia Dillenii* from Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 4(6), 967–972.



- Gimeno Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos: Un análisis de sus beneficios para la salud. *OFFARM*, 3(6), 80–84.
- Gioxari, A., Kogiannou, D. A. A., Kalogeropoulos, N., & Kaliora, A. C. (2016). Phenolic Compounds: Bioavailability and Health Effects. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 339–345). Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00774-1>
- González-Aguilar, G. A., Villegas-Ochoa, M. A., Martínez-Téllez, M. A., Gardea, A. A., & Ayala-Zavala, J. F. (2007). Improving Antioxidant Capacity of Fresh-Cut Mangoes Treated with UV-C. *Journal of Food Science*, 72(3), S197–S202. <http://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00295.x>
- González Nava, C. (2010). *Caracterización fisicoquímica del fruto de Garambullo (Myrtillocactus geometrizans)*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Querétaro.
- González Nava, C. (2015). Caracterización físico química del fruto de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Retrieved from <http://ri.uaq.mx/handle/123456789/2577>
- Guzmán-Maldonado, S. H., Herrera-Hernández, G., Hernández-López, D., Reynoso-Camacho, R., Guzmán-Tovar, A., Vaillant, F., & Brat, P. (2010). Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilised fruit cactus species (*Myrtillocactus*) produced in central Mexico. *Food Chemistry*, 121(2), 381–386. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.039>
- Harlev, E., Nevo, E., Solowey, E., & Bishayee, A. (2013). Cancer Preventive and Curative Attributes of Plants of the Cactaceae Family: A Review. *Planta Medica*, 79(9), 713–722. <http://doi.org/10.1055/s-0032-1328632>
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, 71(4), 41–50. <http://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x>
- Hernández Contreras, R. (2013). *Propagación por cultivo de tejidos vegetales de Epithelantha micromeris (Egerlmann) Webber ex Britton et Rose especie sujeta a protección especial*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Hernández-López, D., Vaillant, F., Reynoso-Camacho, R., & Guzman-Maldonado, S.-H. (2008). Myrtillocactus (cactaceae): botanical, agronomic, physicochemical and chemical characteristics of fruits. *Fruits*, 63(5), 269–276. <http://doi.org/10.1051/fruits:2008042>
- Hervet Perera Córdova, W., & González Mesa, Leonora Payo Hill, A. L. (2006). Metabolitos secundarios y actividad antimicrobiana de *Pluchea carolinensis*. Retrieved September 16, 2016, from [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152006000200007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152006000200007)
- Jiménez-Aguilar, D. M., Mújica-Paz, H., & Welte-Chanes, J. (2014). Phytochemical Characterization of Prickly Pear ( *Opuntia* spp .) and of its Nutritional and Functional Properties : A Review. *Current Nutrition & Food Science*, 10(81), 57–69. <http://doi.org/10.2174/157340131001140328120952>
- Jiménez Sierra, C. L. (2011). Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfren-. *Revista Digital Universitaria*, 12(1), 1–23. Retrieved from <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num1/art04/art04.pdf>
- Jones, P. J., MacDougall, D. E., Ntanios, F., & Vanstone, C. A. (1997). Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 75(3), 217–27. <http://doi.org/10.1139/y97-011>
- Kalinova, J., & Dadakova, E. (2009). Rutin and Total Quercetin Content in Amaranth (*Amaranthus* spp.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(1), 68–74. <http://doi.org/10.1007/s11130-008-0104-x>
- Khan, M. I. (2016). Stabilization of betalains: A review. *Food Chemistry*, 197, 1280–1285. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.043>
- Laboratorio de Análisis de Antioxidantes del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA). (2013). (ORAC) Base de Datos de Actividad Antioxidante y de Contenido de Polifenoles Totales (PFT) en Frutas. Retrieved September 16, 2016, from <http://www.portalantioxidantes.com/base-de-datos-de-antioxidantes/#C?mo leer esta Base de Datos>
- Lallana, V. H., & Lallana, M. del C. (2003). *Manual de Prácticas de Fisiología Vegetal* (Edición Di). Argentina.

- Mardujano, R. R. (2006). *Estudio preliminar de los pigmentos presentes en cáscara de pitaya (Stenocereus stellatus) de la región mixteca*. Tesis de Ingeniería. Universidad Tecnológica de la Mixteca de Oaxaca.
- Martínez Augustin, O., Aguilera García, C. M., & Gil Hernández, A. (2010). Nuevas fuentes de nutrientes. In *Tratado de nutrición: Composición Y Calidad Nutritiva De Los Alimentos* (p. 387).
- Martínez Cruz, N. del S. (2012). *Producción de antocianinas por cultivo "in vitro" de Rubus adenotrichus Schlttdl (zarzamora)*. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Martínez Villegas, M. Y., Andrade Rodríguez, M., Villegas Monter, A., Alia Tejacal, I., Villegas Torres, O. G., & López Martínez, V. (2011). Cultivo in vitro de Pitayo ( *Stenocereus stellatus* [ Pfeiffer ] Riccobono ). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17(3), 95–105.
- Martínez-Cárdenas, M. L., Vicente-Solano, R., Martínez-Herrera, A., Carmona, A., & Varela H., G. (2007). Survival and growth on soil of micropropagated Pitaya de mayo plants. *Acta Horticulturae*, (748), 237–239.  
<http://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.748.32>
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(6), 271–278. [http://doi.org/10.3305/nutr\\_hosp.v17in06.3338](http://doi.org/10.3305/nutr_hosp.v17in06.3338)
- Martínez-Navarrete, N., Camacho Vidal, M. del M., & Martínez Lahuerta, J. J. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética*, 2(2), 64–68. [http://doi.org/10.1016/S1138-0322\(08\)75623-2](http://doi.org/10.1016/S1138-0322(08)75623-2)
- Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & Francisco J., H. (2004). Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(2), 149–155. Retrieved from [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222004000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Méndez Gallegos, S. J., & García Herrera, J. (2006). La Tuna. *CONABIO. Biodiversitas*, 68, 1–5.

- Mínguez Mosquera, M. I., Pérez Gálvez, A., & Hornero-Méndez, D. (2005). Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales: mucho más que simples “colorantes” naturales. *Agrocsic*, 2–7. Retrieved from <http://digital.csic.es/handle/10261/5754>
- Morales, P., Barros, L., Ramírez-Moreno, E., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Xoconostle fruit (*Opuntia matudae* Scheinvar cv. Rosa) by-products as potential functional ingredients. *Food Chemistry*, 185, 289–297. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.012>
- Morales Toledo, L. (2016). *Caracterización y análisis de compuestos bioactivos en quelites de la familia Amaranthaceae*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Mroginski, L. A., & Roca, W. M. (1993). Establecimiento de cultivo de tejidos vegetales in vitro. In *Cultivo de Tejidos en la Agricultura, Fundamentos y Aplicaciones* (p. 20). Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Muñoz Juárez, M. A., & Gutiérrez, D. M. (2004). Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana glauca*. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 1–4.
- Muñoz Quezada, S., Olza Meneses, J., & Gómez Llorente, C. (2010). Compuestos bioactivos de los alimentos de origen vegetal. In *Tratado de nutrición: Composición Y Calidad Nutritiva De Los Alimentos* (p. 399).
- Navarrete, J. E., Miranda, R., Jiménez, S. N., Vázquez, M. A., & Botello, J. E. (2010). *Perfil químico de distintos frutos de cactáceas. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Universidad de Guanajuato.
- NMX-FF-030-SCFI. (2006). Productos alimenticios no industrializados para uso humano – fruta fresca – Tuna (*Opuntia* spp.) Especificaciones. Retrieved from [http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/14/2013/trimestrales/anejo\\_2251-5-2013-08-5.pdf](http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/14/2013/trimestrales/anejo_2251-5-2013-08-5.pdf)
- Nurliyana, R., Syed Z. I., Mustapha S. K., Aisyah, M. R., dan K. R. K. (2010). Antioxidant study of pulp and peel dragon fruits: a comparative study. *Int. Food. Res*, 17, 365–375.
- Ortega-Nieblas, M., Molina-Freaner, F., Robles-Burgueno, M. del R., & Vázquez-

- Moreno, L. (2001). Proximate Composition, Protein Quality and Oil Composition in Seeds of Columnar Cacti from the Sonoran Desert. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14(6), 575–584.  
<http://doi.org/10.1006/jfca.2001.1026>
- Ortiz-Hernández, Y. D., & Carrillo-Salazar, J. A. (2012). Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a short review. *Comunicata Scientiae*, 3, 220–237.
- Osorio-Esquivel, O., Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez, V. B., Dorantes-Álvarez, L., & Giusti, M. M. (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*, 44(7), 2160–2168.  
<http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.011>
- Palou Oliver, A., Picó Segura, C., Bonet Piña, M. L., Oliver Vara, P., Serra Vich, F., Rodríguez Guerrero, A. M., & Joan, R. R. (2005). *El libro blanco de los esteroides vegetales* (2nd ed.). Barcelona: Instituto Flora.
- Paredes López, O., Guevara Lara, F., & Bello Pérez, L. A. (2012). El nopal y su fruto. In *Los alimentos mágicos de las culturas indígenas mesoamericanas* (pp. 104–113). México: FCE, SEP, Conacyt, CAB.
- Pro Chile. (2013). *Productos FOSHU en Japón (Alimentos Funcionales)*.
- Puupponen, R., Hanna, A., & Kirsi, O. (2005). Bioactive Berry compounds-novel tolols against human pathogens. *Journal of Microbioogy/ Biotechnology*, 67, 8–18.
- Ramadan, M. F., & Mörsel, J.-. T. (2003). Lipid profile of prickly pear pulp fractions. *Food, Agriculture and Environment (JFAE)*, 1(2), 66–70.
- Reyes-Agüero, J. A., Aguirre R., J. R., & Valiente-Banuet, A. (2006). Reproductive biology of *Opuntia*: A review. *Journal of Arid Environments*, 64(4), 549–585.  
<http://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.06.018>
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2866–2887.  
<http://doi.org/10.1021/jf026182t>
- Rocha, M., Banuls, C., Bellod, L., Jover, A., M. Victor, V., & Hernandez-Mijares, A. (2011). A Review on the Role of Phytosterols: New Insights Into Cardiovascular Risk. *Current Pharmaceutical Design*, 17(36), 4061–4075.

<http://doi.org/10.2174/138161211798764852>

- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington: OMNI Research-ILSI Press.
- Ruiz Huerta, E. A., Márquez Guzmán, J., Pelayo Zaldívar, C., Barbosa Martínez, C., & Ponce de León García, L. (2015). Escontria chiotilla (Cactaceae): fruit development, maturation and harvest index. *Fruits*, 70(4), 201–212.  
<http://doi.org/10.1051/fruits/2015013>
- SAGARPA. (2010). Descubre INIFAP diversas propiedades nutricionales en la tuna de xoconoxtle. Retrieved from  
<http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/boletines2/2010/febrero/Documents/B089.pdf>
- Salt, T. A., Tocker, J. E., & Adler, J. H. (1987). Dominance of  $\Delta^5$ -sterols in eight species of the cactaceae. *Phytochemistry*, 26(3), 731–733.  
[http://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84774-3](http://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84774-3)
- Scheinvar, L., Olalde, G., Filardo, S., & Beckler, P. (2010). Diez especies mexicanas productoras de xoconostles: *Opuntia* spp. y *Cylindropuntia imbricata* (Cactaceae). *Universidad Nacional Autónoma de México/Universidad Autónoma Del Estado de Hidalgo/Universidad Autónoma MetropolitanaXochimilco*.
- Schoefs, B. (2002). Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 13(11), 361–371. [http://doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00182-6](http://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00182-6)
- Sellappan, S., Akoh, C., & Krewer, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grow blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2432–2438.
- SIAP-SAGARPA. (2009). Principales estados productores de tuna en México. Retrieved from <http://www.gob.mx/siap>
- Sierra, D., Zuleta, H., Aguirre, E., Reyes, B., & Guerra, D. (2016). Estudio fitoquímico y actividad antioxidante del extracto metanólico de Jiotilla (*Escontria chiotilla*). In ECORFAN (Ed.), *Química, Biología y Agronomía. Handbook T-I* (pp. 7–20).

- Sistema de Información de Fundaciones Produce. (2011). Monografía del Nopal y la Tuna. Retrieved from [http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/14/2013/anuales/anu\\_2251-6-2014-05-26.pdf](http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/14/2013/anuales/anu_2251-6-2014-05-26.pdf)
- Song, M., & W. Olmstead, J. (2016). Investigation on the Profile of Phenolic Acids and Flavonoids with Antioxidant Capacity in Florida Highbush (*Vaccinium corymbosum* L.) and Rabbiteye (*Vaccinium virgatum*) Blueberries. *Journal of Experimental Food Chemistry*, 2(1). <http://doi.org/10.4172/2472-0542.1000105>
- Soriano-Santos, J., Franco-Zavaleta, M. E., Pelayo-Zaldívar, C., Armella-Villalpando, M.A.; Yáñez- López, M. L., & Guerrero-Legarreta, I. (2007). Caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de la “Jiotilla” (*Escontria chiotilla* [Weber] Britton & Rose). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(1), 19–25.
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology*, 15(1), 19–38. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.07.004>
- Surinrut, P., Kaewsutthi, S., & Surakarnkul, R. (2005). Radical Scavenging Activity in Fruit Extracts. In *A proceedings of WOCMAP III: the IIIrd World Congress on Medicinal and Aromatic Plants. Conservation, cultivation and sustainable use of MAPs* (5th ed., pp. 201–203). International Society for Horticultural Science.
- Tenore, G. C., Novellino, E., & Basile, A. (2012). Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 129–136. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2011.09.003>
- Tovar del Rio, J. (2013). *Determinación de la actividad antioxidante por dpph y abts de 30 plantas recolectadas en la ecoregion cafetera de 30 plantas recolectadas en la ecoregion cafetera*. Universidad Tecnológica de Pereira.
- Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. (2015). El comercio ilegal contribuye a situar a los cactus entre las especies más amenazadas del mundo - Lista Roja de la UICN. Retrieved from <https://www.iucn.org/es/content/el-comercio-ilegal-contribuye-situar-los->

cactus-entre-las-especies-m%C3%A1s-amenazadas-del-mundo

Valenzuela B, A., Valenzuela, R., Sanhueza, J., & Morales I, G. (2014). Alimentos funcionales, nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? *Revista Chilena de Nutrición*, 41(2), 198–204.

<http://doi.org/10.4067/S0717-75182014000200011>

Wu, L. C., Hsu, H. W., Chen, Y. C., Chiu, C. C., Lin, Y. I., & Ho, J. A. A. (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry*, 95(2), 319–327. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.002>

Yermakov, A. I., Arasimov, V. V., & Yarosh, N. P. (1987). *Methods of Biochemical Analysis of Plants*. Agropromizdat. Leningrad.



## 11. ANEXOS

### ANEXO 1. CURVAS DE CALIBRACIÓN

<b>Tabla 1. Compuestos bioactivos totales</b>		
<b>Determinación</b>	<b>y = mx+b</b>	<b>r<sup>2</sup></b>
Fenoles totales	$y = 2.1240x + 0.0834$	0.9919
Flavonoides totales	$y = 2.4551x + 0.0061$	0.9939
Flavonoles totales	$y = 1.9677x + 0.0113$	0.9933

<b>Tabla 2. Ácidos fenólicos</b>		
<b>Determinación</b>	<b>y = mx+b</b>	<b>r<sup>2</sup></b>
Ácido p-cumárico	$y = 9E+07 + 2E+06$	0.9929
Ácido ferúlico	$y = 9E+07 + 1E+06$	0.9932
Ácido cafeico	$y = 1E+08 - 1E+06$	0.996
Ácido sinápico	$y = 9E+07 - 103984$	0.999
Ácido gálico	$y = 719793x + 5269.6$	0.9991
Vainillina	$y = 5E+07 + 63587$	0.9989

<b>Tabla 3. Flavonoides</b>		
<b>Determinación</b>	<b>y = mx+b</b>	<b>r<sup>2</sup></b>
Rutina	$y = 5E+07x - 280691$	0.9996
Quercetina	$y = 3E+07 + 400746$	0.995
Epicatequina	$y = 2E+07 + 103171$	0.9973

## ANEXO 2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE FRUTAS

- Fenoles totales

**ANOVA de un factor**  
Fenoles (Ác. Tánico mg/g)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	81.565	7	11.652	25.717	.000
Intra-grupos	7.250	16	.453		
Total	88.814	23			

**Fenoles (Ác. Tánico mg/g)**

HSD de Tukey

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Pulpa de tuna roja	3	4.731525		
Jiotilla	3	4.911976		
Cáscara de tuna taponada	3	5.827580	5.827580	
Pitahaya	3	6.371266	6.371266	
Garambullo	3	6.606304	6.606304	
Cáscara de tuna roja	3		6.980625	
Pulpa de tuna taponada	3		7.657593	
Pitaya	3			10.974250
Sig.		.055	.064	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

- Flavonoides totales

**ANOVA de un factor**

Flavonoides (catequina mg/g)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	50.424	7	7.203	187.347	.000
Intra-grupos	.615	16	.038		
Total	51.039	23			

**Flavonoides (catequina mg/g)**

HSD de Tukey

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Pitahaya	3	2.396481		
Garambullo	3	2.529429		
Jiotilla	3	2.637368		
Cáscara de tuna taponada	3	2.643889		
Pulpa de tuna taponada	3	2.946599		
Pulpa de tuna roja	3		4.244395	
Cáscara de tuna roja	3		4.561370	
Pitaya	3			6.856719
Sig.		.053	.522	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

- Flavonoles totales

**ANOVA de un factor**  
Flavonoles (Rutina mg/g)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	20.496	7	2.928	169.825	.000
Intra-grupos	.276	16	.017		
Total	20.772	23			

**Flavonoles (Rutina mg/g)**  
HSD de Tukey

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Pulpa de tuna roja	3	.846012				
Pulpa de tuna tapona	3	1.081294				
Pitahaya	3	1.184269				
Cáscara de tuna tapona	3		1.598034			
Garambullo	3		1.731536			
Jiotilla	3			2.483702		
Cáscara de tuna roja	3				2.868336	
Pitaya	3					3.674732
Sig.		.088	.906	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

- Betalaínas totales

**ANOVA de un factor**

Betalaínas (mg/g)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	26.849	7	3.836	168.890	.000
Intra-grupos	.363	16	.023		
Total	27.212	23			

**Betalaínas (mg/g)**

HSD de Tukey

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Jiotilla	3	.704200			
Pulpa de tuna roja	3	.791378			
Pitahaya	3	.968167			
Cáscara de tuna roja	3		2.154655		
Garambullo	3		2.296033	2.296033	
Pitaya	3		2.329467	2.329467	
Pulpa de tuna taponada	3			2.680767	
Cáscara de tuna taponada	3				4.015433
Sig.		.429	.835	.092	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

- Carotenos totales

**ANOVA de un factor**  
Carotenos ( $\beta$ -caroteno  $\mu\text{g/g}$ )

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	612.868	7	87.553	107.656	.000
Intra-grupos	13.012	16	.813		
Total	625.880	23			

**Carotenos ( $\beta$ -caroteno  $\mu\text{g/g}$ )**  
HSD de Tukey

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Pulpa de tuna roja	3	1.564533			
Pitaya	3	1.730700			
Pulpa de tuna taponada	3	2.889933			
Jiotilla	3		5.641100		
Pitahaya	3		5.931700		
Cáscara de tuna roja	3		6.757833	6.757833	
Garambullo	3			8.550667	
Cáscara de tuna taponada	3				18.284400
Sig.		.629	.789	.289	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

### ANEXO 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE MATRICES ALIEMNTARIAS

- Fenoles totales

**ANOVA de un factor**  
Fenoles (Ác. Tánico mg/g)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4.573	2	2.287	25.205	.001
Intra-grupos	.544	6	.091		
Total	5.117	8			

**Fenoles (Ác. Tánico mg/g)**

HSD de Tukey

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Aderezo	3	1.640260	3.365191
Salsa	3	2.268162	
Garambull o	3		
Sig.		.095	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

- Flavonoides totales

**ANOVA de un factor**

Flavonoides (catequina mg/g)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3.901	2	1.950	35.266	.000
Intra-grupos	.332	6	.055		
Total	4.232	8			

**Flavonoides (mg/g)**

HSD de Tukey

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Aderezo	3	1.045090	2.529429
Salsa	3	1.241507	
Garambullo	3		
Sig.		.591	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

- Flavonoles totales

**ANOVA de un factor**

Flavonoles (Rutina mg/g)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	17.424	2	8.712	647.896	.000
Intra-grupos	.081	6	.013		
Total	17.505	8			



### Flavonoles (Rutina mg/g)

HSD de Tukey

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Salsa	3	.869291	3.835529
Aderezo	3	.898754	
Garambull o Sig.	3	.948	
			1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

- Betalaínas totales

### ANOVA de un factor

Betalaínas (mg/g)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	8.847	2	4.423	15477.385	.000
Intra-grupos	.002	6	.000		
Total	8.848	8			

**Betalainas (mg/g)**

HSD de Tukey

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Salsa	3	.184578	2.296033
Aderezo	3	.201239	
Garambull o Sig.	3	.492	
			1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

- Carotenos totales

**ANOVA de un factor**

Carotenos ( $\beta$ -caroteno  $\mu\text{g/g}$ )

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	12318.010	2	6159.005	42457.206	.000
Intra-grupos	.870	6	.145		
Total	12318.880	8			

**Carotenos ( $\beta$ -caroteno  $\mu\text{g/g}$ )**

HSD de Tukey

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Aderezo	3	7.609786		
Garambull	3		9.112367	
o				
Salsa	3			86.829615
Sig.		1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.