



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**QUÍMICA DE ALIMENTOS ORIGINARIOS DE MÉXICO:
COMPONENTES BIO-ACTIVOS DE FLOR DE BIZNAGA
(CABUCHE, *Ferocactus histrix*).**

TESIS

para obtener el título de
Química de Alimentos

PRESENTA

MARÍA GRIMALDO MEDINA



Ciudad Universitaria, CDMX.

Noviembre, 2019.



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: Hugo Rubén Carreño Ortiz.

VOCAL: Arturo Navarro Ocaña.

SECRETARIO: José Fausto Rivero Cruz.

1er. SUPLENTE: Argelia Sánchez Chinchillas.

2o. SUPLENTE: Tania Gómez Sierra.

TEMA DESARROLLADO EN:

Departamento de Alimentos y Biotecnología

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

ASESOR DEL TEMA:

Arturo Navarro Ocaña

SUPERVISOR TÉCNICO:

Andrea Torres Alcalá

SUSTENTANTE:

María Grimaldo Medina

AGRADECIMIENTOS

Al apoyo económico del PROGRAMA DE APOYO A PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN TECNOLÓGICA PAPIIT-IN (220015) Y PAPIIT-IT (202318).

1. RESUMEN	9
2. INTRODUCCIÓN	11
3. MARCO TEORICO	12
3.1 Distribución de cactáceas en México	12
3.2 Definición botánica	13
3.3 Características morfológicas vegetativas	14
3.3.1 Hábitos	
3.3.2 Raíces	
3.3.3 Tallos	
3.3.4 Costillas y tubérculos	
3.3.5 Areolas	
3.3.6 Espinas	
3.4 Historia de biznaga	18
3.5 Ferocactus histrix	19
3.5.1 Descripción Ferocactus histrix	
3.5.2 Clasificación taxonómica	
3.5.3 Distribución	
3.5.4 Usos culinarios	

CONTENIDO

4. COMPUESTOS BIOACTIVOS	23
4.1 Compuestos fenólicos	25
4.1.1 Ácidos fenólicos	
4.1.2 Flavonoides	
4.1.3 Flavonoles	
4.1.4 Betalaínas	
4.2 Esteroles	34
4.3 Mucílago	35
5. COMPUESTOS BIOACTIVOS EN CACTACEAS	36
6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	37
7. HIPÓTESIS	37
8. OBJETIVOS	38
8.1 Objetivo general	
8.2 Objetivos particulares	

9. DESARROLLO EXPERIMENTAL	39
9.1 PROCEDIMIENTO	40
9.1.1 Estrategia experimental	
9.2 Etapa 1. Obtención y preparación de la muestra	45
9.3 Etapa 2. Extracción de los compuestos	46
9.4 Etapa 3. Ensayos Cuantitativos (Espectrofotométricos)	47
9.4.1 Cuantificación de fenoles totales.	
9.4.2 Cuantificación de flavonoides totales.	
9.4.3 Cuantificación de flavonoles totales.	
9.4.4 Cuantificación de betalaínas totales.	
9.5 Etapa 4. Ensayos Cualitativos	49
9.5.1 Identificación de ácidos fenólicos en <i>Ferocactus histrix</i> por CCF	
9.5.2 Extracción e identificación de triterpenos	
9.5.3 Extracción e identificación compuesto con actividad antioxidante.	
9.5.4 Extracción e identificación azúcares	
9.6 Etapa 5. Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de <i>Ferocactus histrix</i> (pericarpio rojo)	51
9.6.1 Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)	
9.6.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución acoplado a masas (HPLC-MS)	
9.6.3 Espectroscopia Infrarrojo	
9.7 Etapa 6. Cuantificación compuestos totales en borrachitas (<i>Ferocactus histrix</i>)	53

CONTENIDO

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
10.1 Condiciones óptimas de extracción de betalaínas	55
10.2 Cuantificación de compuestos totales del fruto de <i>Ferocactus histrix</i> .	57
10.2.1 Fenoles Totales	
10.2.2 Flavonoides Totales	
10.2.3 Flavonoles Totales	
10.2.4 Betalaínas Totales	
10.3 Extracción e identificación de compuestos bioactivos en <i>Ferocactus histrix</i>	67
10.3.1 Extracción e identificación de ácidos fenólicos	
10.3.2 Extracción e identificación de triterpenos	
10.3.3 Extracción e identificación de azúcares	
10.4 Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de <i>Ferocactus histrix</i> (pericarpio rojo)	71
10.4.1 Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) acoplado a masas: betalaínas	
10.4.2 Identificación de betalaínas y compuesto con actividad antioxidante por HPLC-MS	
10.4.3 Identificación de grupos presente en el mucílago por IR	
10.5 Etapa 4. Cuantificación de compuestos biactivos en dulce de <i>Ferocactus. histrix</i> (borrachitas)	80
11. CONCLUSIONES	83
12. BIBLIOGRAFÍA	84
13. ANEXO: ANÁLISIS ESTADÍSTICO	87

1. RESUMEN

Las cactáceas son un grupo representativo de las zonas áridas de México, desde la época prehispánica los aztecas utilizaban algunas especies de cactus para diversos remedios medicinales, algunos son: labios partidos, diarrea, limpieza de infecciones, exceso de bilis, inflamaciones, hernia y úlceras estomacales. Sin embargo, actualmente es escasa la información sobre los compuestos bioactivos en cactáceas, los cuales son responsables de las propiedades benéficas para la salud.

En México el fruto de la biznaga *Ferocactus histrix* es desconocida y poco consumida; su comercialización se realiza de manera local, en los mercados de las zonas donde es originaria esta cactácea. No existen antecedentes de investigación sobre los compuestos bioactivos de esta especie.

El objetivo de esta investigación fue **identificar** los grupos más representativos de los compuestos fitoquímicos como son: fenoles totales, betalaínas totales, flavonoides totales y flavonoles totales; en dos etapas de maduración y en una mermelada elaborada con el fruto de *Ferocactus histrix*, así como **caracterizar** algunos ácidos fenólicos, betalaínas, esteroles, azúcares y compuestos presentes en el mucilago de este fruto.

El plan de trabajo se dividió en cuatro etapas. La primera consistió en identificar y determinar la concentración de fenoles totales (F.T.), betalaínas totales (B.T.), flavonoides totales (F.V.) y flavonoles totales (F.L.) variando distintos factores como:

- El estado de maduración del cabuche;
- La estructura (pericarpio, botón y remanente floral) y
- La temperatura de extracción en el caso de las betalaínas.

Siendo el pericarpio y el remanente floral los que mostraron mayor cantidad de fenoles totales, betalaínas totales y flavonoles totales. Por otro lado al realizar la cuantificación de flavonoides totales se encontró mayor cantidad en el botón floral.

1. RESUMEN

Se obtuvo una diferencia significativa en la cuantificación de betalaínas totales al realizar la extracción en condiciones de temperatura controladas en un intervalo de 0°C a 2°C.

El remanente floral al ser la estructura con mayor cantidad de compuestos fenólicos, se utilizó para la extracción de la segunda etapa en la cual se identificaron por cromatografía en capa fina (CCF) los siguientes grupos de compuestos:

- Amirinas (α y β -amirina);
- Esteroles (β -sitoesterol, estigmasterol);
- Ácidos fenólicos (ácido 3,4-hidroxibenzoico y ácido vainillico);
- Azúcares (fructosa y ácido galacturónico);

En la tercera etapa se identificaron distintas betalaínas que componen el colorante de este fruto, entre ellas está la betanidina, 2-descarboxilbetanina, hilocerenina y celosianina. También se logró identificar la isoramnetina, responsable de la actividad antioxidante en el cabuche. Se aisló el mucílago del este fruto, se identificaron distintos compuestos principalmente pectina y grupos funcionales.

En la cuarta etapa se elaboró una matriz alimentaria. Típica del estado de San Luis Potosí llamada “borrachitas” a partir del fruto de *Ferocactus histrix*, donde el producto fue sometido a condiciones de temperatura (cocción) y continuó presentando concentraciones significativas de compuestos fenólicos.

2. INTRODUCCIÓN

La familia **Cactaceae** es originaria del continente americano, existen alrededor de 1,400 especies de cactáceas en el mundo, las cuales se encuentran distribuidas desde el norte de Canadá hasta la Patagonia, desde el nivel del mar, en dunas costeras, hasta los 5,100 msnm, en Perú (*Jiménez Sierra, 2011*).

Los cactus tienen gran importancia en México debido a su valor ornamental, medicinal, forrajero, como fuente de agua y alimenticio (los tallos, las flores y los frutos generalmente son comestibles).



Ilustración 1. Diversidad de la familia Cactaceae. Fuente: (Pinterest, 2018).

La mayoría de los frutos provenientes de las cactáceas son desconocidos por los habitantes de muchas ciudades, debido a que la producción es principalmente la colecta y a su vez la oferta es limitada a las localidades cercanas.

Las cactáceas han sido consideradas por nuestros ancestros y contemporáneos una fuente de alimento y también de medicinas. Se ha demostrado que su consumo ofrece beneficios nutricionales y promueve la salud, y debido a esto existe un marcado interés en la adquisición de nuevos conocimientos sobre su naturaleza química, de igual forma los compuestos bioactivos, los cuales aportan características valiosas que podrían interesar al mercado nacional e internacional (*García-Cruz, Salinas-Moreno, Valle-Guadarrama, & Para Correspondencia, 2012*).

Los frutos de cactáceas son fuente de diversos fitoquímicos, en especial pigmentos, por lo cual hay varios estudios sobre frutos de cactáceas para establecer mejores condiciones para su aplicación. Los frutos más estudiados como fuentes de compuestos bioactivos son del género *Hylocereus* (*Pérez-Loredo, Jesús, & Barragán-Huerta, 2017*).

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Distribución de cactáceas en México



Ilustración 2. Distribución de Cactáceas en México. Fuente: (Grimaldo, 2019).

México es el centro más importante del mundo en concentración de cactáceas. Los catálogos 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. San Luis Potosí también es el estado con mayor riqueza de géneros (33), seguido por Oaxaca con (32) y Tamaulipas (31) (Guzman, Arias, & Dávila, 2003). 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).

Las cactáceas viven en diversos ecosistemas, incluyendo las selvas tropicales, donde se encuentran como epifitas (*Rhipsalis baccifera*), la mayoría de ellas se desarrollan en ambientes áridos y semiáridos (Jiménez Sierra, 2011).

3. MARCO TEÓRICO

3.2 Definición botánica

Cactus es el nombre latino del vocablo griego *Kaktos* que significa cardo. Con esta palabra se designa comúnmente a las plantas que tienen espinas y tallos suculentos o jugosos, aunque no todas pertenecen a la familia botánica de cactáceas.

Los botánicos basan su clasificación en una de las peculiaridades de las cactáceas, basta decir que estas plantas se pueden identificar mediante la presencia en sus tallos de **areolas**.

Al poseer "grupos de espinas" hacen a esta familia de plantas particularmente distintivo.

Primero porque las espinas ocurren sólo **sobre los tallos** justo en el sitio donde deberían estar las hojas; segundo, porque las espinas de los cactus son parte de un **brote axilar**, presentándose en conjuntos denominados **areolas** (Castro & Ceroni, 2013).



Ilustración 3. Acuarela; variedad de caracteres en los cactus. Fuente: (Pinterest, 2018).

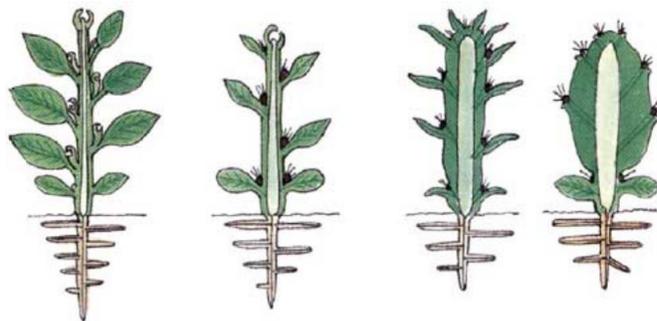


Ilustración 4. Origen y evolución de la familia Cactaceae. Fuente: (Sánchez, s.f.).

Las plantas de la familia Cactaceae son perennes, cuya vida dura más de dos años y por tiempo definido según la especie. Generalmente están muy desarrollados sus tejidos de almacenamiento (parénquima, lo que les permite conservar agua y nutrientes en sus tallos y raíces para sobrevivir durante prolongados periodos de sequía.

3.3 Características morfológicas vegetativas

3.3.1 Hábitos

Las cactáceas se consideran plantas perennes con un amplio espectro de formas de vida que incluyen desde enanas de 1 cm de diámetro hasta gigantes columnares de más de 20m de altura (Vázquez-Sánchez, Terrazas, & Arias, 2005).

La familia Cactaceae agrupa a una gran diversidad de plantas, los hábitos más comunes son (Castro & Ceroni, 2013):

- **Columnar:** tallo erecto en forma de cilindro, ramificado o no, corto o largo.
 - **Arborescente:** un tallo principal y varias ramas cortas que salen a una altura media en forma de “candelabro”
 - **Arbustivo:** presentan varias ramas que salen en la base de la cactácea.
- **Globoso:** tallo esférico con el ápice aplanando
 - **Simple:** una sola unidad.
 - **Cespitoso:** varios tallos formando una colonia. Estos pueden tener raíz independiente o en conjunto.
- **Aplanado:** tallo dividido en segmentos aplanados o cilíndricos, típicos de Opuntia.
- **Epífito:** estos cactus crecen en bosques tropicales o selvas lluviosas, trepan los árboles para alcanzar la luz.
- **Litofítico o geófito:** crecen al nivel de suelo y tienen grandes órganos de reserva.

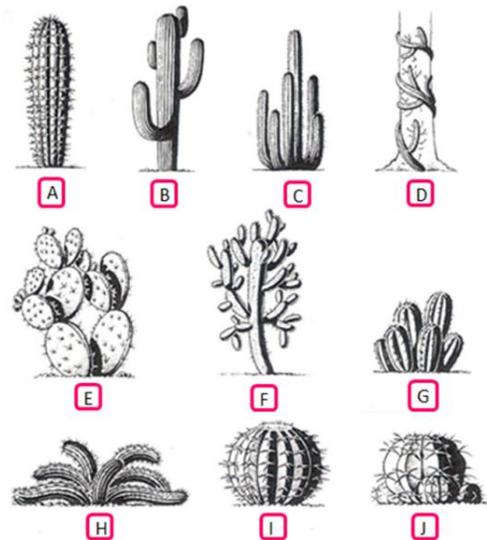


Ilustración 5. Hábitos más de la familia Cactaceae. A) Columnar simple, B) Columnar arborescente, C) Columnar arbustivos, D) Epífito, E) Tallo aplanado, F) Tallo cilíndrico, G) Globoso cespitoso conjunto, H) Geófito, I) Globoso simple, J) Globoso cespitoso independiente. Fuente: (Scoop, 2015).

3. MARCO TEÓRICO

3.3 Características morfológicas vegetativas

3.3.2 Raíces

El sistema radicular en general es superficial y ramificado. La función principal de las raíces es **absorción** de agua y brindar **soporte** a la planta. Puede estar constituido por una raíz **principal**, algunas de ellas son **fasciculada** (no tienen un eje principal de crecimiento, son raíces delgadas), **napiforme** (es ancha, tienen forma de nabo), **tuberosa** (son raíces engrosadas) y **adventicias** (estas se originan en el tallo de la planta), las raíces pueden estar o no ramificadas (Castro & Ceroni, 2013).

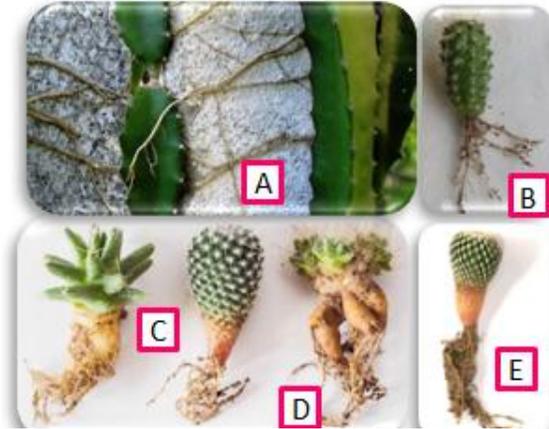


Ilustración 6. Raíces A) Adventicias, B) Fasciculada, C) Tuberosas simple, D) Tuberosa, E) Napiforme. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

3.3.3 Tallos

Los tallos son engrosados por el desarrollo de la parénquima, posee la capacidad para **almacenar** agua, son de color verde, porque en ellos se concentra la actividad **fotosintética**. El tallo frecuentemente se lignifica y se cubre de una gruesa cutícula cerosa, la cual reduce la transpiración y los protege de las radiaciones del sol. Las formas columnares, globulares o cladodios, como anteriormente se mencionó, han sido diseñadas para maximizar las reservas de agua (Castro & Ceroni, 2013).



Ilustración 7. Distintas morfologías de tallos de la familia Cactaceae. Fuente (Pinterest, 2018).

3.3 Características morfológicas vegetativas

3.3.4 Costillas y tubérculos

Estas hendiduras son valiosas para la clasificación de las especies, confieren al tallo mayor **resistencia** a la **flexión**. En la mayoría de los géneros el tallo presenta las siguientes:

- **Costillas:** hendiduras longitudinales, las cuales producen la proyección de crestas. En algunos géneros de cactus a la costilla se le denomina **ala**, ya que es más delgada.
- **Tubérculos o mamilas:** Se le denomina a las costillas que a su vez están divididas por hendiduras transversales formando protuberancias (Castro & Ceroni, 2013).



Ilustración 8. Collage cactus: A) Cactus con costillas, B) Cactus con alas, C) Cactus con costillas, D) Cactus con tubérculos. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

3.3.5 Areolas

El órgano **más característico** de los cactus son las **areolas**, estas son elementos semejantes a **yemas axilares** existentes en los tallos de las demás dicotiledóneas (Castro & Ceroni, 2013). Son zonas **meristemáticas** altamente especializadas. La areola da origen a estructuras como tricomas, exclusivas de los cactus, donde van a aparecer las espinas, los pelos, las hojas, las flores, ramas y los frutos.



Ilustración 9. Collage de areolas, con presencia de tricomas y espinas. Fuente (Grimaldo M., 2019).

3. MARCO TEÓRICO

3.3 Características morfológicas vegetativas

3.3.6 Espinas

Son **hojas modificadas** que crecen en las areolas en medio de un indumento de tricomas. Las **espinas** están presentes en todos los géneros, al menos durante las primeras etapas de su vida. Las espinas pueden presentar variaciones en tamaño y apariencia dentro de una misma areola, frecuentemente formando dos series: las **centrales** y las **radiales** (Castro & Ceroni, 2013).

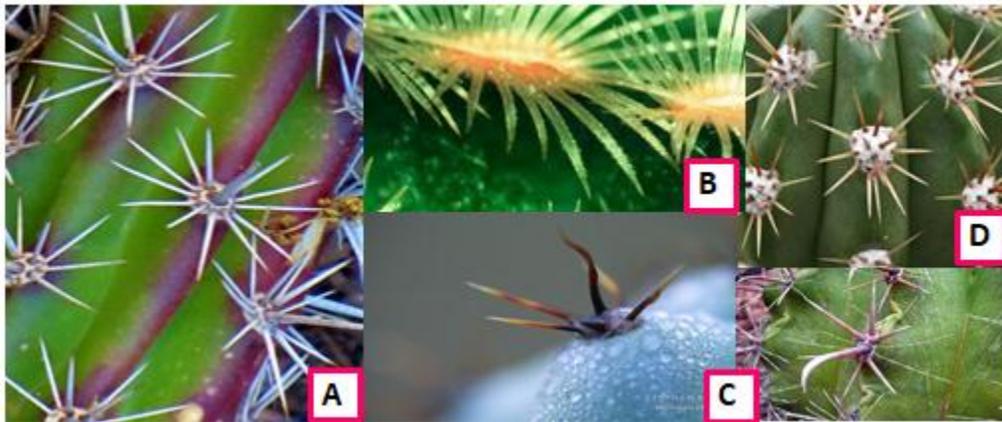


Ilustración 10. Collage de tipos de espinas. A) Espinas radiales finas con una espina central, B) Espinas pectinadas, C) Espinas radiales finas y espina central curva, D) Espinas prominentes en forma de aguja. Fuente: (Grimaldo M. , 2019).

3.4 Historia de biznaga

Las Biznagas han sido un componente significativo de la cultura del centro de México desde tiempos prehispánicos. Un naturalista español que estudió los recursos naturales de México en el siglo XVI, describió varios tipos de cactus de barril utilizados por los indígenas mexicanos. Los indígenas llamaron a estas plantas **comitl** que significa "olla" debido a la semejanza con estos recipientes; o **huitznahuac** de la lengua náhuatl, **huitztli** = espina y **nahuac** = cercado, que está "rodeado por espinas". La palabra **huitznahuac** se convierte en "**biznaga**" con la conquista española. Hoy en día "**biznaga**" es el nombre aplicado a los cactus globosos en México (*Del Castillo & Trujillo, 1991*).



*Ilustración 11. Biznagas en San Luís Potosí Echinocactus platyacanthus.
Fuente: (Grimaldo M. , 2019).*

3. MARCO TEÓRICO

3.5 Ferocactus histrix

3.5.1 Descripción del Ferocactus histrix

La biznaga *Ferocactus histrix* se describe de acuerdo a *Del Castillo & Trujillo, 1991*, como:

- Planta simple, con tallo globoso hasta sub-ovoide, mide alrededor de 50 cm de altura y diámetro; con ápice algo aplanado y tomentoso. Llega a tener de 20 a 38 costillas, rectas, agudas, de 2 a 3 cm de altura, poco tuberculadas.
- Areolas distantes entre sí 2 a 3 cm de 2 cm de longitud. Espinas gruesas, amarillas o con tinte rojizo hacia la base, posee entre 8 o más espinas radiales, ligeramente curvas, más cortas que la central, radiadas. La espina central puede medir de 1 cm hasta de 9 cm de longitud, puede ser recta o ligeramente curva. Las espinas glandulíferas de 3 mm de longitud, activas en las areolas con flores.
- Las flores son campanuladas de 3.5 cm de longitud y 2.5 cm de diámetro, amarillas, el pericarpelo tiene escamas amarillas; segmentos exteriores del perianto de 1.5 cm de longitud y de 4 mm de ancho, con el margen aserrado, segmentos interiores del perianto linear-oblongos, agudos, aserrados, estambres numerosos, filamentos de color verde amarillento, anteras pequeñas, amarillas, estilo de 15 mm de longitud, lóbulos del estigma, 16, lineares y verdes.



Ilustración 12. Vista general de *Ferocactus histrix*. Fuente: (Grimaldo M., 2019).



Ilustración 13. Areolas y morfología de espinas. Fuente: (Grimaldo M., 2019).



Ilustración 14. Flor de *Ferocactus histrix*. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

3. MARCO TEÓRICO

3.5 Ferocactus histrix

- Fruto elipsoide de unos 2 cm de diámetro, blanco y comestible. Semillas pequeñas de 1 mm de longitud de color castaño oscuro.



Ilustración 15. Fruto de *Ferocactus histrix*. Fuente: (Pinterest, 2018).

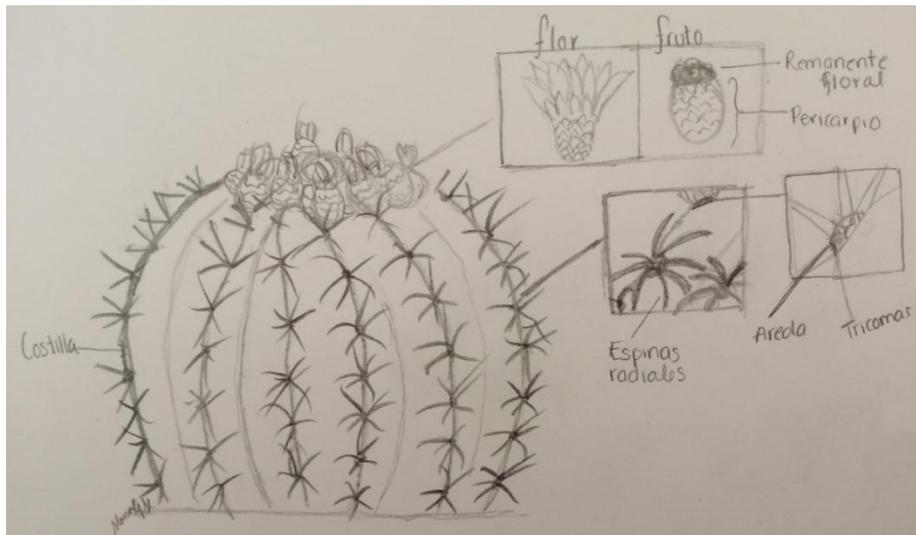


Ilustración 16. Diagrama de las estructuras de *Ferocactus histrix*. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

3.5.2 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica es:

Reino	Filo	Clase	Orden	Familia
<i>Plantae</i>	<i>Tracheophyta</i>	<i>Magnoliopsida</i>	<i>Caryophyllales</i>	<i>Cactaceae</i>
Subfamilia	Tribu	Género	Especie	Sinónimos
<i>Cactoideae</i>	<i>Cacteae</i>	<i>Ferocactus</i>	<i>F. histrix</i>	<i>Echinocactus histrix</i>

3. MARCO TEÓRICO

3.5 Ferocactus histrix

3.5.3 Distribución

Esta especie es endémica de México, está distribuida en los estados de Aguascalientes, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí, Zacatecas y Puebla (*Del Castillo & Trujillo, 1991*).



Ilustración 17. Estados en los que se encuentra distribuida Ferocactus histrix. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

3.5 Ferocactus histrix

3.5.4 Usos culinarios

Algunos usos culinarios que se les da a los botones maduros ("cabuches") y frutas ("borrachitos", "biznaguitas", "jarritos" o "guamiches") de *F. histrix* son consumidos por la población local, estos últimos se venden en los mercados locales en San Luis Potosí se conoce como "borrachitas" a un dulce elaborado con el fruto y el remanente de la biznaga. También en otros lugares el nombre "borrachitos" se da debido a la fermentación alcohólica natural de los carbohidratos eso tiene lugar en los frutos maduros, particularmente los más grandes (Del Castillo & Trujillo, 1991).



Ilustración 18. Dulce de borrachitas. Fuente: (Sibaris, 2016).



Ilustración 19. Guisado de capullos florales. Fuente: (Arredondo, 2015).

En el sur de Zacatecas y en los estados de San Luis Potosí, los capullos florales maduros de *F. histrix* son fritos o hervidos con chiles rojos o mezclados con huevos fritos (Del Castillo & Trujillo, 1991). Los frutos de *F. histrix* también se usan para preparar una bebida no alcohólica "agua de biznaga" para la venta comercial en lugares como Salinas de Hidalgo y San Luis de la Paz en Guanajuato. Los frutos fermentados se utilizan para hacer bebidas alcohólicas. En la actualidad, el uso más común del parénquima de *F. histrix* y *E. platyacanthus* el cual es utilizado en confitería (Del Castillo & Trujillo, 1991).



Ilustración 20. Agua de biznaga. Fuente: (Sibaris, 2016).

4. COMPUESTOS BIOACTIVOS

La definición de compuestos bioactivos de acuerdo a (*Biesalski et al., 2009*), establece como los componentes de los alimentos que influyen en la **actividad celular** y en los **mecanismos fisiológicos** y con efectos beneficiosos para la salud. Los vegetales sintetizan una plétora de sustancias (fitoquímicos), muchas de las cuales son fisiológicamente activas cuando se consumen y pueden jugar un papel importante como factores de protección frente al estrés oxidativo y a la carcinogénesis, algunos ejemplos de esos compuestos presentes en alimentos son: licopeno en tomates, alium en el ajo y la cebolla; luteína en vegetales de hoja verde; limoneno en los cítricos, resveratrol en las uvas, antocianinas en los arándanos, etc.) (*Carbajal Azcona, 2013*).

Estos compuestos bioactivos se clasifican en 4 grupos los cuales están presentes en las plantas, estos compuestos son:

- Terpenoides,
- Fenólicos,
- Azufrados y
- Nitrogenados.

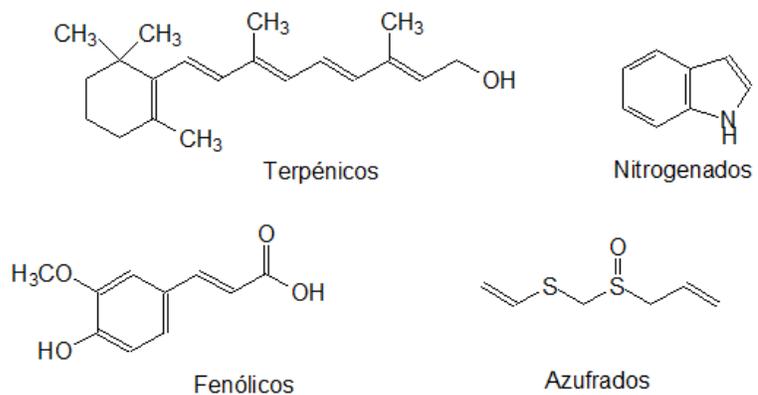
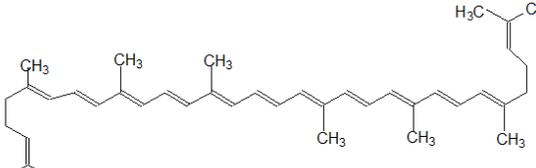
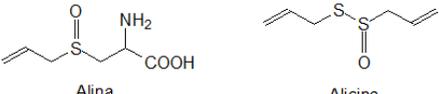
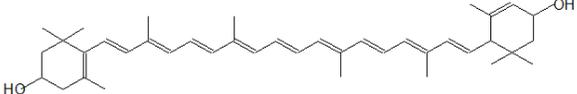
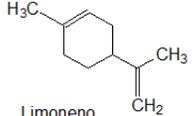
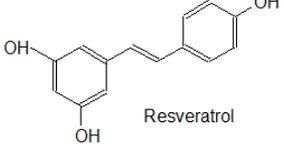
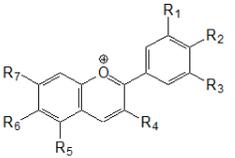


Ilustración 21. Grupos de compuestos bioactivos. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

4. COMPUESTOS BIOACTIVOS

Tabla 1. Compuestos bioactivos presentes en algunos alimentos.

Compuesto	Alimento
 <p>Licopeno</p>	
 <p>Alina</p> <p>Alicina</p>	
 <p>Luteina</p>	
 <p>Limoneno</p>	
 <p>Resveratrol</p>	
 <p>Estructura general Antocianinas</p>	

4.1 Compuestos fenólicos

El fenol es una molécula básica, se compone de un anillo aromático unido a un grupo hidroxilo. Los fenoles son compuestos que tienen dos (en las posiciones 1,2, 1,3 o 1,4) tres (en las posiciones 1,3,5 o 1,2,3) grupo hidroxilo en el

anillo aromático (Peñarrieta, Tejada, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2004).

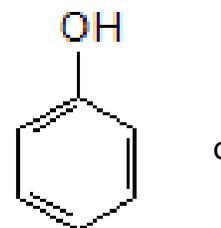


Ilustración 22. Estructura química del fenol. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

Los fenoles son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales. Existen más de 8000 compuestos fenólicos identificados, originan una de las clases más importantes de metabolitos secundarios en plantas. Estos compuestos constituyen un amplio grupo de sustancias, presentes en las plantas con diferentes estructuras químicas y actividades metabólicas (Peñarrieta et al., 2004).

Los compuestos fitoquímicos son de gran interés nutricional debido a su contribución al mantenimiento de la salud humana. Los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales en los alimentos, esta actividad se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares, diabetes, Alzheimer, Parkinson y cáncer. Además de sus propiedades antioxidantes, estos compuestos fenólicos tienen una actividad biológica importante, como los antibióticos, antiparasitarios y citotóxicos (Loaiza & Malo, 2009).

Los compuestos fenólicos se dividen en tres grupos, los más importantes son: ácidos fenólicos, flavonoles y polifenoles (Loaiza & Malo, 2009).

4. COMPUESTOS BIOACTIVOS

4.1.1 Ácidos fenólicos

Es importante recalcar que la presencia de más de un grupo hidroxilo y una mayor separación del grupo carbonilo al anillo aromático aumentan la capacidad antioxidante de estos compuestos. Por ejemplo, los **ácidos hidroxicinámicos** son más efectivos en términos de la actividad antioxidante que los **ácidos hidroxibenzóicos**.

Los ácidos fenólicos se refieren al grupo de compuestos que poseen funcionalidad de ácidos carboxílicos, están constituidos por dos estructuras de carbono características; lo conforman dos grupos:

- Ácidos hidroxibenzoicos.
- Ácidos hidroxicinámicos.

Los **ácidos hidroxibenzóicos** son compuestos que presentan un grupo carboxílico (grupo ácido) y grupos hidroxilo (uno o más) en un anillo aromático. Están presentes en alimentos tales como frutas, verduras y cereales. Muchos estudios han informado de la actividad biológica de los ácidos hidroxibenzóico, por ejemplo, el ácido protocatéquico presentó un efecto protector frente a lesiones de hígado en modelos animales (Peñarrieta et al., 2004).

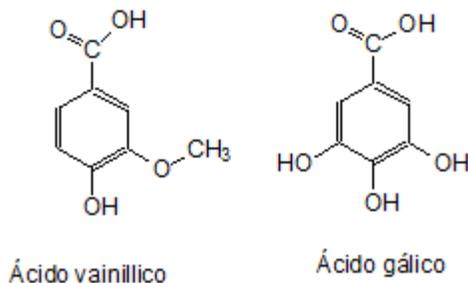


Ilustración 23. Ácidos Hidroxibenzóicos. Fuente: (Grimaldo M. , 2019).

4.2 Ácidos fenólicos

Los ácidos hidroxicinámicos se caracteriza por la presencia del grupo $\text{CH} = \text{CH}-\text{COOH}$ en remplazo del grupo COOH presente en los ácido hidroxibenzoico. El doble enlace carbono ($\text{C} = \text{C}$) de la cadena aumenta la resonancia química, que puede ser descrita como una deslocalización de los electrones en los enlaces π estabilizando los radicales libres y por lo tanto incrementa la capacidad antioxidante de la molécula. Ejemplos de fuentes de ácido hidroxicinámicos en los alimentos son las uvas, manzanas, arándanos, espinacas, brócoli, col, el café y los cereales. Aparte de su capacidad antioxidante, los ácidos hidroxicinámicos han mostrado actividad antígenotóxicos y antiproliferativa en células (*Peñarrieta et al., 2004*).

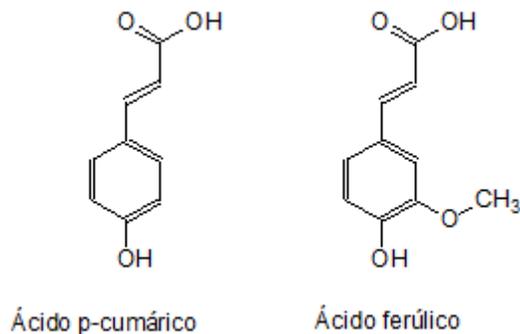


Ilustración 24. Ácidos Hidroxicinámicos. Fuente: (Grimaldo M. , 2019).

4. COMPUESTOS BIOACTIVOS

4.1.2 Flavonoides

Los flavonoides son un tipo particular de los polifenoles presentes en plantas, y son los compuestos responsables del color de las flores y frutas. La estructura química típica de flavonoides consta de tres anillos: benzopirano 2-fenil, un anillo dihidroxilados fenólicos en las posiciones 5 y 7, (denotado A), un segundo anillo fenólico generalmente mono-hidroxilado, orto-dihidroxilados o vic- trihidroxilados (que se denota B), que también pueden contener grupos metoxi (O-CH₃) como sustituyentes y el anillo C, que puede ser un anillo heterocíclicos con oxígeno pirano, pirylium o de forma pirona (*Cartaya & Reynaldo, 2001*).

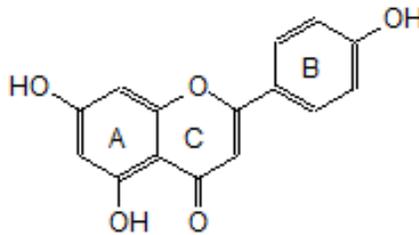


Ilustración 25. Estructura básica de un flavonoide. Fuente: (Grimaldo M. , 2019).

Dentro de esta familia se incluyen las flavononas, flavonoles antocianinas, betalainas, flavonas y flavonoles. Las diferencias están entre el número y el arreglo de los grupos hidroxilo así como la forma de acilación y glicosidación. Algunas fuentes de estos compuestos son ruda, sófora, maranta, las hojas de tabaco los cuales contienen principalmente la rutina, el durazno, vino tinto, té verde y el chocolate contienen catequina, la fuente más representativa de quercetina es la cebolla (*Cartaya & Reynaldo, 2001*).

4.1.3 Flavonoles

Este grupo en el anillo **C** presenta un enlace insaturado es en las posiciones 2 y 3 (Ilustración 25). Los flavonoles suelen estar presentes en alimentos vegetales en forma de compuestos O-glucósidos y como C-glucósidos. Estos compuestos existen en muy pequeñas cantidades comparados con otros flavonoides. Son incoloros o solo ligeramente amarillos. Por su baja concentración y su característica incolora, ellos han sido grandemente desatendidos. En cambio sus glicósidos son muy conocidos, como la hesperidina y naringina de la corteza de los frutos (*Pratopopadokis, E. y Papanikolaou, X, 1998*). En cuanto a sus propiedades en los alimentos, los flavonoles presentan varios tipos de actividad biológica. Por ejemplo, antioxidante, anti-inflamatorio, la actividad antígenotóxica y antihiper glucémiante (*Peñarrieta et al., 2004*).

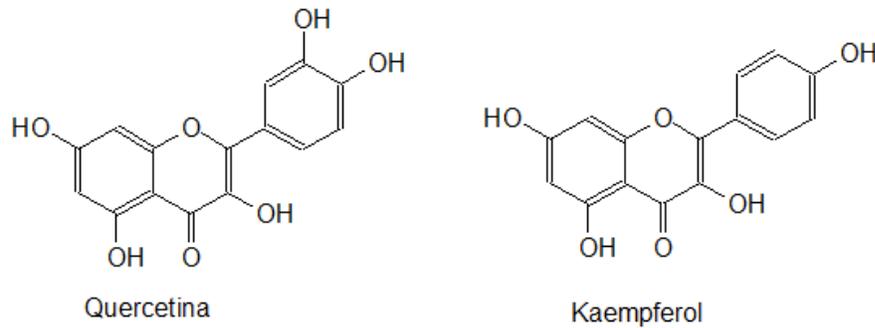


Ilustración 26. Estructuras de flavonoles. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

4. COMPUESTOS BIOACTIVOS

4.1.4 Betalaínas

Las betalaínas son pigmentos nitrogenados, solubles en agua, rojo-violeta y amarillos que forman una de las principales clases de pigmentos que proporcionan colores llamativos a los órganos de las plantas. Son derivados del ácido betalámico, es el cromóforo presente en todas las estructuras de betalaínas. El tipo de adición al residuo betalámico determina la clasificación de la betalaína. Las betalaínas se dividen en dos grupos, la betacianina (color rojo.-violeta) y betaxantinas (amarillo) (Das, Gauri, Misra, Biswas, & Dey, 2013).

Las **betacianinas** son el resultado de la condensación del ácido betalámico con un residuo del ciclo-3,4. Dihidroxifenilalanina (ciclo-DOPA), esta condensación extiende la resonancia electrónica dando una absorbancia máxima de 535-540 nm. La betanidina es el aglicón de la mayoría de las betacianinas, el patrón de coloración dependerá de los diferentes tipos de sustitución (glicosilación y acilación) en el ciclo -DOPA en las posiciones 5 o 6 de la betanidina, dando como resultado en las diferentes estructuras de las betacianinas (Polturak & Aharoni, 2018).

Las **betaxantina** son productos de condensación del ácido betalámico y aminoácidos o aminas. Dependiendo de la estructura del compuesto al que se une el ácido betalámico es el máximo de absorción que está entre 460 y 480 nm. (Polturak & Aharoni, 2018).

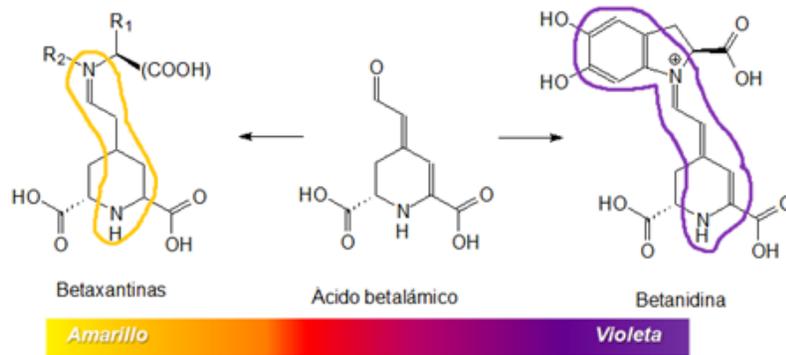


Ilustración 27. Todas las betalaínas contienen una molécula de ácido betalámico condensada con un grupo amino formando una base de Schiff. Fuente: (Pinterest, 2018).

4.1.4 Betalaínas

Una característica de las betalaínas es que este grupo de compuestos es homólogo a las antocianinas, son mutuamente excluyentes. La presencia de estos pigmentos en las plantas tiene gran importancia, ya que su distribución está limitada a 10 Familias del Orden *Caryophyllales*, esto es: *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Basellaceae*, ***Cactaceae***, *Chenopodiaceae*, *Didieraceae*, *Holophytaceae*, *Nyctaginaceae*, *Phytolaceae* y *Portulacaceae* (Alba-Jiménez, Chávez-Servia, Verdalet-Guzmán, Martínez, & Aquino-Bolaños, 2014)

Las **betalaínas** se producen en una amplia gama de tejidos vegetales, incluidas hojas, tallo, frutas, flores, raíces y semillas (García-Cruz et al., 2012). Las fuentes más conocidas son (Polturak & Aharoni, 2018):

- Betabel (*Beta vulgaris*), contiene dos pigmentos de los más conocidos betanina y la vilgaxantina I.
- Tuna (*Opuntia spp.*) se encuentra gran variedad de coloración dependiendo la especie, lo cual indica una mezcla de betacianinas con betaxantinas.
- Pitaya (*Hylocereus undatus*), conocido por su color morado intenso, el cual proviene de un alto contenido de betacianinas como betanina, filocactina, hilocerina y sus isómeros.
- En el generó *Amaranthus*, también es una fuente conocida por la amarantina de las hojas.
- *Amanita muscaria*, es un hongo venenoso, del cual se han aislado una betacianina (muscapurina) y siete betaxantinas (muscaxantina I a VII).

4. COMPUESTOS BIOACTIVOS

4.1.4 Betalaínas

Tabla 2. Algunos ejemplos de betalaínas y su presencia en productos naturales (Das et al., 2013).

NOMBRE CIENTÍFICO / NOMBRE COMÚN / PARTE DE LA PLANTA	BETALAÍNAS PRESENTES
<i>Opuntia soeherensii</i> britol/ ayrampo/ semillas	Betanina, vulgaxantina
<i>Amaranthus caudatus</i> /kiwicha/ inflorescencia	Amarantina
<i>Beta vulgaris</i> / betarraga/raíz	Betanina, isobetanina, vulgaxantinas I, II, III, IV
<i>Hylocerus polyrhzyza</i> /pitaya/frutos	Betanina, isobetanina, filocactina, isofilocactina, bougainvilleina-I
<i>Myrtillocactus geometrizans</i> /garambullo/frutos	Betanina, isobetanina, vulgaxantinas
<i>Bougainvillea glabra</i> /bugambilia/flores	Bougainvilleina
<i>Opuntia ficus-indica</i> /tuna/frutos	Betanina, indicaxantina
<i>Iresine herbstii</i>	Iresinina-I
<i>Mirabilis jalapa</i>	Miraxantina, vulgaxantina
<i>Phyllocactus hybridus</i> *	Betanina, isobetanina
<i>Chenopodium rubrum</i>	Celosianina II

*Contiene fitolacatoxina, una sapogenina tóxica por ello su uso en alimento está restringido.

4. COMPUESTOS BIOACTIVOS

4.1.4 Betalaínas

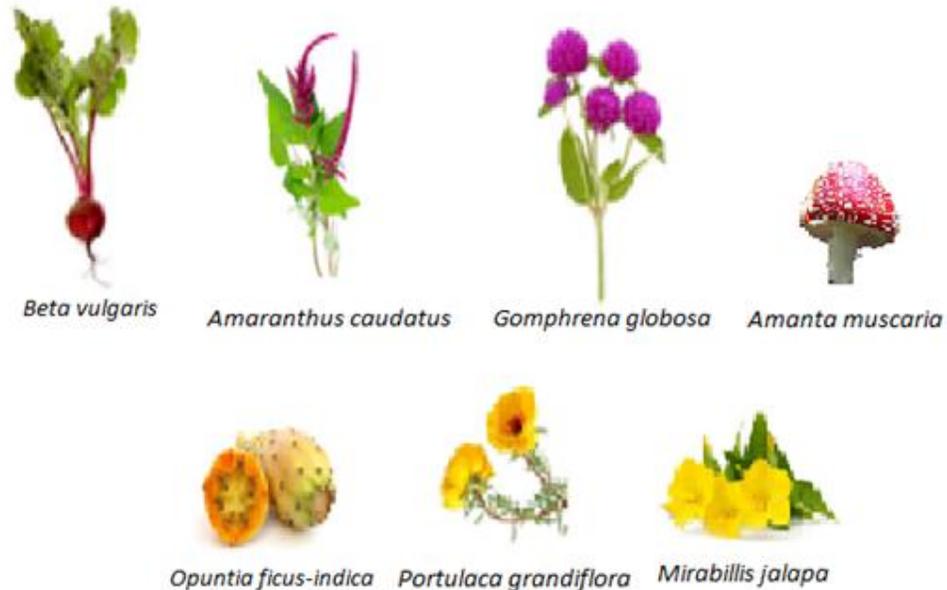


Ilustración 28. Fuentes naturales de betalaínas. Fuente: (Grimaldo M. , 2019).

Además de sus atractivos colores, también se descubrió que las betalaínas tienen una fuerte **actividad antioxidante**, se ha demostrado en extractos de betacianinas de betabel, generan una acción inhibidora de radicales *libres* (Soriano-Santos *et al.*, 2007). También han sido ampliamente estudiados con respecto a sus propiedades potenciales promotoras de la salud, como son (Polturak & Aharoni, 2018):

- Anticancerígenos.
- Hipolipidémicos.
- Hepatoprotectores.
- Antiinflamatorios.
- Actividades antidiabéticas.

4. COMPUESTOS BIOACTIVOS

4.2 Esteroles

Los esteroides vegetales 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. Se han descrito más de 200 tipos diferentes de esteroides vegetales en diferentes plantas, siendo el más abundante sitosterol o β -sitosterol, seguido por el campesterol y el estigmasterol (De Jong, Plat, & Mensink, 2003).

Prácticamente todos los alimentos vegetales contienen cantidades apreciables de esteroides vegetales. Las fuentes más concentradas son los aceites vegetales, también se encuentran en legumbres y en menor cantidad en frutos secos, pan y vegetales.

En los últimos años ha crecido el interés por estas moléculas vegetales, ya que se ha demostrado que su ingesta tiene una serie de efectos beneficiosos sobre nuestro organismo. El más evidente es la inhibición de la absorción de colesterol, debido al parecido entre las estructuras, disminuye las concentraciones de colesterol LDL (un conocido factor de riesgo para la formación y progresión de la placa aterosclerótica. Se cree que existe una competencia para su absorción en las células del intestino delgado (Palou et al., 2005).

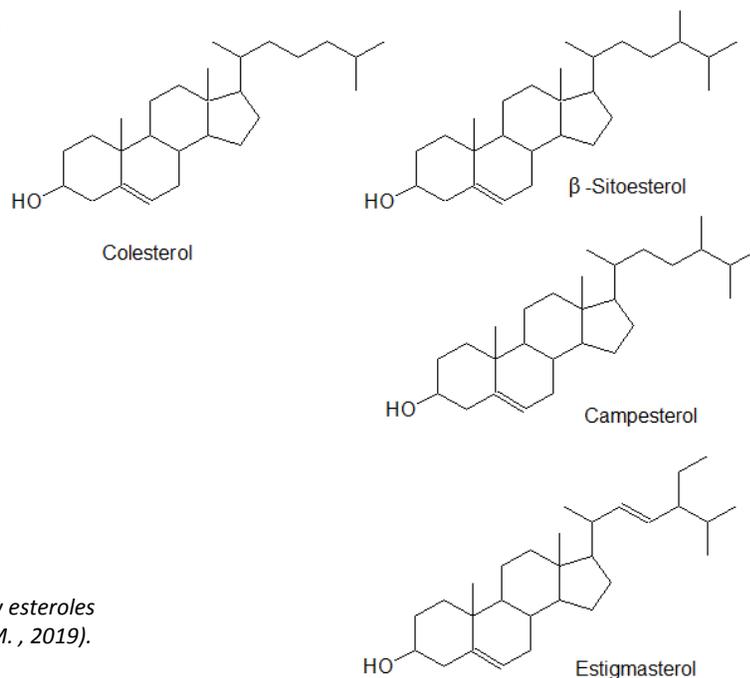


Ilustración 29. Estructura del colesterol y esteroides vegetales comunes. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

4.3 Mucílago

El mucílago del nopal es una sustancia hidrocoloidal, heteropolisacárida (con residuos de arabinosa, galactosa, ramnosa y xilosa como azúcares neutros); sus estructuras moleculares son polielectrolíticas (Majdoub, et al., 2001), altamente ramificadas y con peso molecular (PM) en el orden de los millones de los millones de Da (3×10^6 Da); 4.3×10^6 Da (Vargas Rodríguez et al., 2016).

Las aplicaciones del mucílago son muy diversas en conocimientos empíricos. Algunas de ellas han sido aproximadas a publicaciones científicas (Vargas Rodríguez et al., 2016).

Tabla 3. Aplicación del mucílago del nopal en distintas áreas.

ÁREA DE APLICACIÓN	IMPORTANCIA DEL MUCÍLAGO	BIBLIOGRAFÍA
Salud	Control de glicemia.	(Laurenz, J. C. , Collier, C. C., & Kutti, J. O, 2003).
	Identificación y aislamiento de polisacárido con propiedad hipoglucemiante.	(Alarcon-aguilar, Valdes-arzate, & Xolalpa-molina, 2003).
	Revisión bibliográfica para el mucílago sobre la acción de hipoglucemiante, colesterolemia, protección de mucosa gástrica ulcerada, analgésico, anti-inflamatorio y antiviral (herpes simple).	(Basurto, Lorenzana, & Magos, 2006).
Ecología	Tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados, coliformes fecales y mal olor.	(Basurto et al., 2006).
Construcción y restauración	La adición del mucílago como adhesivo natural en la cal, con la finalidad de restaurar y proteger edificios históricos.	
Agricultura	Mejora la infiltración de agua en suelo.	(Basurto et al., 2006).
Alimenticia	Como aglutinante de sabores y sustituto de grasas; exhibe también fuerte capacidad emulsificante.	
	Biopelículas comestibles, para alargar vida de anaquel en fruta fresca.	(Zegbe, Mena-Covarrubias, & Domínguez-Canales, 2015).

Existe poco conocimiento de la caracterización química de las sustancias del nopal, siendo este el más estudiado de la familia de las cactáceas.

5. COMPUESTOS BIOACTIVOS EN CACTÁCEAS

Las frutas de diversas cactáceas. Originarias de México han ganado popularidad en su consumo no sólo en estas regiones sino también en países de Asia y Europa. Dentro de estas frutas se encuentran la tuna (*Opuntia ficus-indica*), la pitaya (*Stenocereus* spp) y la pitahaya (*Hylocereus* spp). Estos frutos contienen compuestos fitoquímicos bioactivos en la cáscara, pulpa y semillas. En *Opuntia ficus-indica*, tanto en cladodio, el fruto y las semillas son fuentes ricas en fenoles y flavonoides, ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas, minerales, esteroides, aminoácidos y pigmentos. Este tipo de compuestos le confieren a *Opuntia* diversas actividades tales como antimicrobiana, antioxidante, citoprotectiva, anti-ulcerosa, antiinflamatoria, anticáncer, antiviral, antidiabética y hepatoprotectora, entre otras. En las frutas de *Stenocereus* e *Hylocereus*, los pigmentos más importantes son la betacianinas y betaxantinas. Dado que las betacianinas se encontraron en mayor proporción que los fenoles solubles totales, se consideran que estos compuestos son los que contribuyen a la actividad antioxidante observada en los frutos de *S. griseus*, los cuales representan una alternativa como fuente de betalaínas y de sustancias antioxidantes con propiedades inhibitorias en la proliferación de ciertas células cancerígenas. En *Hylocereus* la betanina y la filocactina son las betacianinas que presentan en mayor proporción, reportando valores de capacidad antioxidante que ubica a las frutas de *Hylocereus* entre los 10 vegetales con más antioxidantes. Se ha determinado que presentan un efecto onhitorio en la proliferación de células de melanoma, también se han estudiado los oligosacáridos presentes en la pulpa, los cuales son una potencial fuente de prebióticos (Corzorios, Bautista-ramírez, De, Gómez, & Gilberto, 2016).

6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La familia Cactaceae tiene una amplia variedad de frutos, sin embargo, se conocen pocos. Últimamente ha incrementado el interés por los compuestos bioactivos que poseen estos frutos. Por lo tanto se considera de gran importancia expandir las investigaciones a diversos frutos de cactáceas con el fin de incrementar la información y crear conciencia sobre la protección de estas especies endémicas.

7. HIPÓTESIS

De acuerdo a lo reportado en la literatura acerca de los compuestos bioactivos presentes en la familia Cactaceae, la que pertenece *Ferocactus histrix* se infiere la presencia de betalainas, compuestos con actividad antioxidante, ácidos fenólicos, flavonoides y esteroides.

8. OBJETIVOS

8.1 Objetivo General

Determinar los valores totales de compuestos bioactivos: betalaínas, fenoles, flavonoides y flavonoles por métodos espectrofotométricos de la flor y fruto de biznaga (*Ferocactus histrix*) en dos estados de madurez. Así como identificar y caracterizar los compuestos bioactivos.

8.1 Objetivos Particulares

- Caracterizar las betalaínas presentes en el fruto maduro de *Ferocactus histrix*.
- Determinar el método de extracción óptimo para las betalaínas (temperatura).
- Caracterizar el mucílago del fruto de *Ferocactus histrix*.
- En una matriz alimentaria a base de la flor y el fruto de *F. histrix*, determinar los valores totales de compuestos bioactivos.

9. DESARROLLO EXPERIMENTAL

El trabajo se dividió en seis etapas:

- **Etapa 1.** Obtención y preparación de la muestra.
- **Etapa 2.** Elaboración de los extracto.
- **Etapa 3.** Cuantificación de compuestos bioactivos totales, se cuantificaron por espectrofotometría los compuestos totales (fenoles, flavonoides, flavonoles y betalaínas).
- **Etapa 4.** Identificación cualitativa por cromatografía en capa fina, usando estándares conocidos de ácidos fenólicos, esteroles y azúcares.
- **Etapa 5.** Caracterización de las betalaínas y mucilago.
- **Etapa 6.** Cuantificación compuestos bioactivos totales en una matriz alimentaria.

9. DESARROLLO EXPERIMENTAL

9.1 Procedimiento

Material:

- Placas de sílice de 0.2mm
- Placas de celulosa de 0.2mm
- Filtros Millipore
- Celulosa
- Metanol, hexano, acetato de etilo, butanol, acetona, acetonitrilo grado HPLC
- Ácido acético (sigma)
- Agua destilada
- Agua desionizada

Reactivo

- Folin-Ciocalteau (Hycel de México S.A. de C.V.)

Reveladores para CCF

- Cloruro férrico
- Sulfuro cérico
- 2,2- difenil-1-picrilhidraziilo (DPPH)
- Anisaldehído

9.1 Procedimiento

Estándares

- Ácido ascórbico
- Ácido Gálico
- Ácido Ferúlico
- Ácido Cinámico
- Ácido Siringico
- Ácido Fumárico
- Ácido Cumárico
- Ácido 4-hidroxibenzoico
- Ácido 3,4-hidroxibenzoico
- Ácido Vainillico
- Xilosa
- Glucosa
- Fructosa
- Ácido Galacturónico
- α - amirina
- β - amirina
- β - sitoesterol
- Estigmasterol

9. DESARROLLO EXPERIMENTAL

9.1 Procedimiento

Equipos

- Molino para café casero KRUPS GX 4100.
- Lámpara UV.
- Liofilizadora Labconco 7522900.
- Congelador -80°C Revco Harris.
- Sonicator Brason 3510 potencia 100 W, 42 Hz.
- Rotavapor (Büchi) R-215, baño de calentamiento B-91, bomba de vacío V-700..
- Balanza analítica OHAUS AP1105.
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución HPLC: Auto inyector waters 2707, bomba waters 1525, detector UV Waters 2478 y desgasificador Software Empower.
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución HPLC: Agilent.
- Columna Hypersil GOLD 250x10mm, 5 Thermo Scientific μm . Thermo Scientific.
- Columna Hypersil GOLD semi preparativa 250x10mm, 5 Thermo Scientific μm .
- Espectrofotómetro GBC-CINTRA 101.

9.1 Procedimiento

9.1.1 Estrategia experimental

El siguiente diagrama muestra la metodología experimental para cumplir los objetivos de planeados.

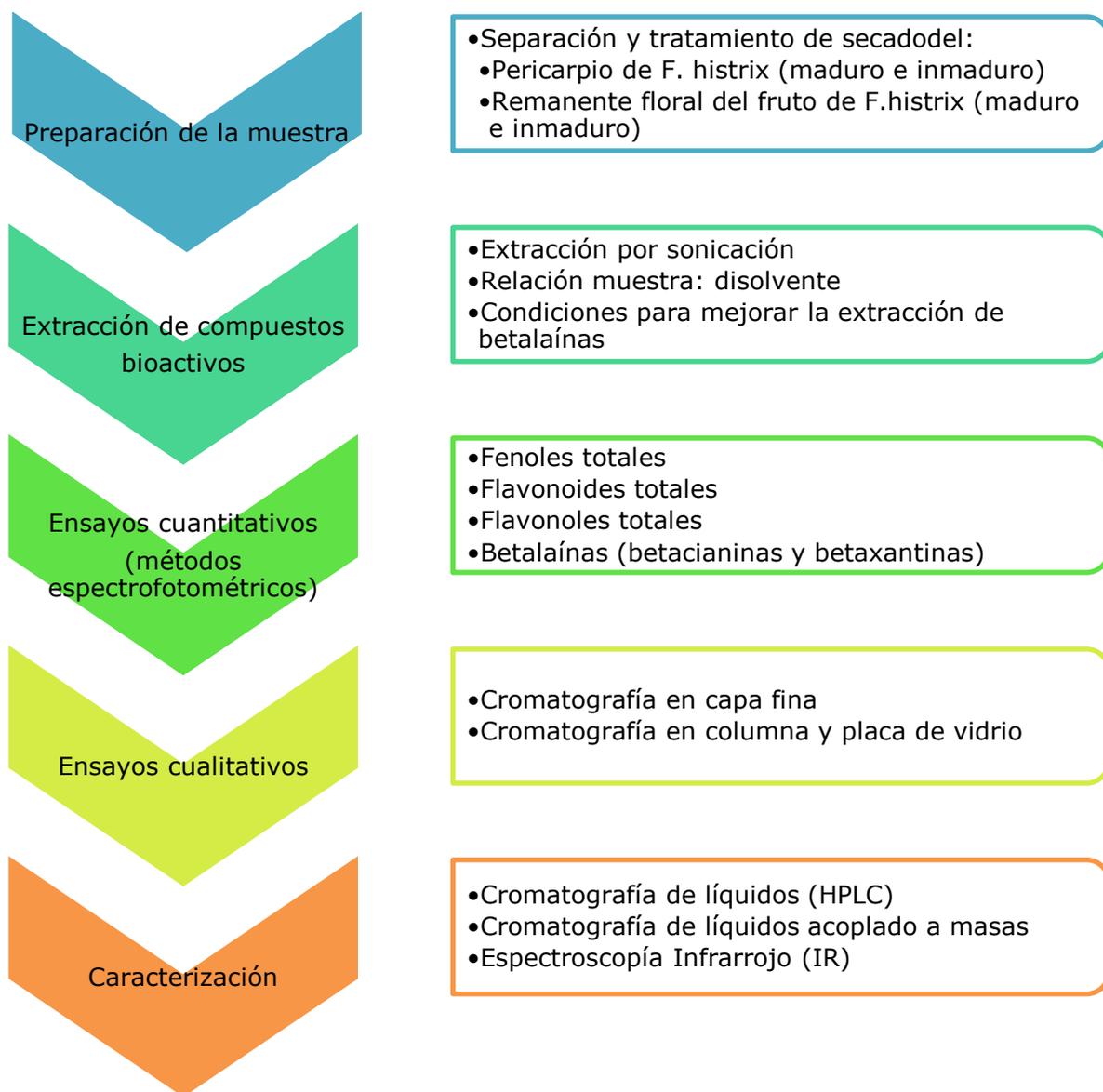


Ilustración 30. Diagrama general de la metodología (Grimaldo M. , 2019).

9. DESARROLLO EXPERIMENTAL

9.1 Procedimiento

9.1.1 Estrategia experimental

Para la purificación de los compuestos se siguió la siguiente metodología.

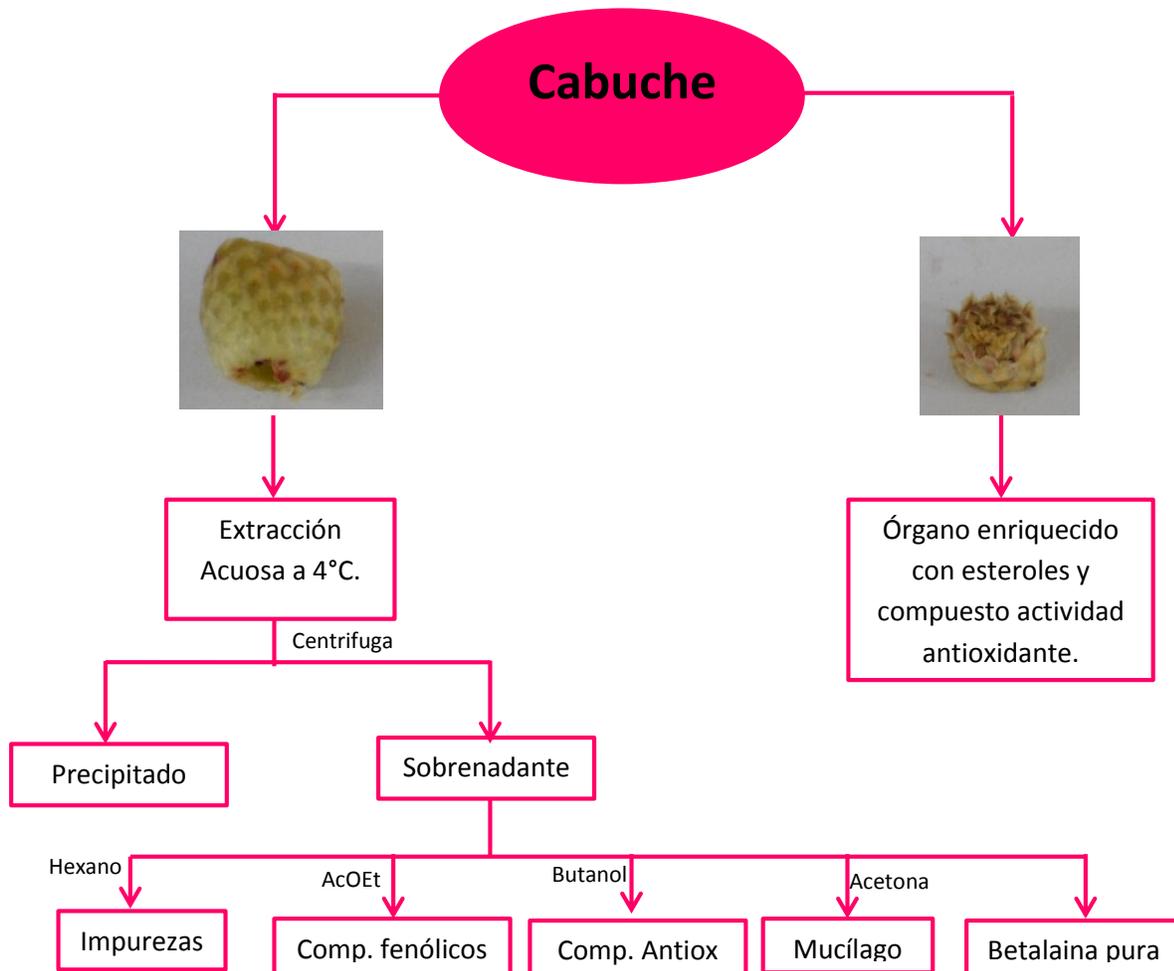


Ilustración 31. Diagrama del proceso de purificación de la betalaina y otros compuestos bioactivos.

9.2 Etapa 1. Obtención y preparación de la muestra

Las muestras utilizadas para la realización de este proyecto se obtuvieron en la comunidad Villa de Hidalgo, San Luis Potosí. La recolección se realizó en un día, se congelaron y transportaron con el cuidado de no perder la cadena de frío.

Los frutos de *F. histrix* fueron separadas primero por el estado de madurez: madura (roja y morada) e inmadura (amarilla y verde), estas a su vez se hizo la separación del remanente del perianto, pericarpio y las semillas. Una vez separadas las muestras se secaron por medio de liofilización, se molieron, tamizaron (malla 60) y se almacenaron por separados en bolsas con cierre hermético.

9. DESARROLLO EXPERIMENTAL

9.3 Etapa 2. Extracción de los compuestos

Para realizar el extracto de fenoles, flavonoides y flavonoles se utilizó como disolvente MeOH: H₂O (80:20). Se pesó 1g de muestra y se adicionó la mezcla de disolvente de acuerdo a la relación g muestra/mL de disolvente. Los ensayos se realizaron por triplicado. Posteriormente se sonicaron las muestras por 30 min, se filtraron y se tomaron las alícuotas para realizar las mediciones.

La extracción de las betalainas se usaron dos métodos diferentes, ambas se realizaron por triplicado. El primero se pesó 1g de muestra, se utilizó como disolvente metanol: agua en una proporción de 80:20. El segundo método se pesó 0.3g y se extrajo con agua y 1% de ácido acético, durante todo el proceso se controló la temperatura que no rebasara los 0°C. Ambas extracciones se sometieron a agitación durante 20 minutos a 155rpm, se sonicaron por 30 minutos, se filtraron para realizar las mediciones.

9.4 Etapa 3. Ensayos Cuantitativos (Espectrofotométricos)

9.4.1 Cuantificación de fenoles totales

Fenoles totales se realizó como lo reporta el método de Folin-Ciocalteu. Del extracto se tomó una alícuota de 100µL de extracto resultante y se adicionaron 2mL de Na₂CO₃ al 2% después de un tiempo de espera de 2 minutos se agregaron 100 µL de Folin-Ciocalteu (previamente diluido con agua 1:1), posterior a un lapso de 30 minutos se midió a una absorbancia de 750nm. La concentración de fenoles se determinó tomando como estándar el ácido tánico expresando los resultados como mg de ác. tánico/ g muestra.

9.4.2 Cuantificación de flavonoides totales

Flavonoides totales se llevó acabo de acuerdo a lo reportado en (Morales & Navarro, 2016). Se tomó 1 mL del extracto, se agregaron 1400µL de H₂O y 300 µL NaNO₃ al 5%, después de 5 minutos se adiciona 300 µL de AlCl₃ al 10%, 2ml de NaOH 1M y 5 mL de H₂O. Se midió a una absorbancia de 415nm. El cálculo de flavonoides totales se determinó a partir de la curva de calibración usando como estándar catequina y expresando los resultados como mg catequina/g muestra.

9.4.3 Cuantificación de flavonoles totales

Para cuantificar flavonoles totales se llevó a cabo el método descrito por (Yermakov, Arasimov, & Yorosh, 1987). La medición se realizó tomando 2mL de extracto y se agregaron 2mL de AlCl₃ (20g/L) y 6mL de acetato de sodio (50g/L), después de 2.5h a 20°C se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a 440nm. La concentración de flavonoles se calculó usando una nueva curva patrón de rutina y se expresaron los resultados como mg rutina/g muestra.

9. DESARROLLO EXPERIMENTAL

9.4 Etapa 3. Ensayos Cuantitativos (Espectrofotométricos)

9.4.4 Cuantificación de betalaínas totales

Se realizó la determinación de betalaínas totales de acuerdo a lo descrito en (García-Cruz et al., 2012). Directamente del extracto se realiza la medición por espectrofotometría, 535 nm para betacianinas y 480 nm para betaxantinas, la determinación anterior se realizó por triplicado, para la cuantificación de betalaínas totales se utilizó la siguiente ecuación:

$$B_{(mg\text{betalaína}/gmuestra)} = \frac{A * FD * PM * V}{\epsilon * P * L}$$

Dónde:

B: Betacianina o betaxantina.

A: Absorbancia (535 nm betacianinas y 480 nm betaxantinas).

FD: Factor de dilución al momento de leer.

PM: Peso molecular (Betanina: 550 g/mol, indicaxantina 308 g/mol).

V: Volumen del extracto.

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

P: Peso de la muestra.

L: Longitud de la celda (1cm).

9.5 Etapa 4. Ensayos Cualitativos

La identificación de compuestos se llevó a cabo a partir de la extracción con diferentes disolventes a través de cromatografía en capa fina.

9.5.1 Identificación de ácidos fenólicos en *F. hirtix* por CCF

Se realizó una extracción de 0.3 g de muestra en 5 mL de metanol, sonicando durante 10 minutos, posteriormente se filtró y se realizó la cromatografía en capa fina. El sistema de elución se fijó como hexano: acetato de etilo: ác. acético (4: 6: 0.5) usando placas de sílice como fase estacionaria. El revelador usado fue una solución de sulfato cérico al 3.5%. Se usaron estándares comerciales como referencia para el Rf.

9.5.2 Extracción e identificación de triterpenos

Se pesaron 2g de pericarpio rojo, el método de extracción usado fue el mismo que para betalaínas totales (MeOH: H₂O), se concentró en un rotavapor a 26°C hasta llegar a sequedad, posteriormente se lavó con diclorometano para separar un precipitado amarillo que se formó.

Después de obtener el precipitado amarillo se colocó en una placa de sílica gel, también se colocaron algunos estándares de amirinas y esteroides, ya que ambos provienen del escualeno, los estándares que se utilizaron: α -amirina, β -amirina, β -sitosterol, estigmasterol. La fase móvil que se utilizó fue hexano: acetona (70:30), la placa se reveló con anisaldehído.

9. DESARROLLO EXPERIMENTAL

9.5 Etapa 4. Ensayos Cualitativos

9.5.3 Extracción e identificación compuesto con actividad antioxidante

Se pesaron 50g de remanente del fruto maduro, se realizaron lavados con 150 mL de hexano después se lavó con 250mL de metanol, se agitó durante 20 minutos, posteriormente se sónico durante 30 minutos, por último con acetato de etilo. En la fracción de metanol se realizó una placa la cual se utilizó como fase móvil acetato de etilo: metanol (8:2; v/v) y fase estacionaria placas de sílica gel y se reveló con DPPH.

9.5.4 Extracción e identificación azúcares

Después al remanente del paso anterior se realizó una extracción con agua destilada se agitó durante 15 minutos después se filtró y se concentró, se realizó una placa de sílica gel, se comparó con estándares de glucosa, fructuosa, xilosa y ácido galacturónico, se utilizó como eluyente acetonitrilo: agua (85:15; v/v) y como fase estacionaria placas de sílica gel, se reveló con anisaldehído según reportado en Bolaños, N. y col. 2003.

9. DESARROLLO EXPERIMENTAL

9.6 Etapa 5. Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de *Ferocactus histrix* (pericarpio rojo)

9.6.1 Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)

Se realizó la extracción de betalaínas por las dos metodologías que se utilizaron en la cuantificación de betalaínas. Ambos extractos se filtraron a través de un acrodisco de 0.45µm (Millipore), fueron inyectados 20 µm en HPLC (Waters, para su posterior identificación, a dos longitudes de onda una 535 nm y 480 nm, se utilizó una columna Hipersil-Gold C18 (250x4.5 mm, 5µm), 20µL de inyección, flujo de 1.2 mL/min; Las fases móviles que se utilizaron fueron a: H₂O/ácido acético (99:1) y b: Acetonitrilo (100) con el siguiente gradiente de elución:

Tabla 4. Gradiente de elución en HPLC para identificación de betalaínas.

Tiempo	%A	%B
-	95	5
35	81	19
40	67	33
45	95	5

9. DESARROLLO EXPERIMENTAL

9.6 Etapa 5. Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de *Ferocactus histrix* (pericarpio rojo).

9.6.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución acoplado a masas (HPLC-MS)

La ilustración 30 ejemplifica la metodología que se utilizó para la purificación de las betalaínas. Se realizó la extracción de betalaínas controlando la temperatura.

Al extracto se le hicieron lavados de 30mL con hexano, acetato de etilo, butanol, en este orden de disolventes, a una temperatura de 0°C. Las aguas madres de los lavados se concentraron y realizaron placas, con la finalidad de obtener un extracto puro. Dichos extractos se filtraron a través de un acrodisco de 0.45µm (Millipore), posteriormente se inyectaron 20 µm.

El extracto crudo, el extracto purificado, la extracción con acetato de etilo y de butanol se caracterizaron por HPLC-EM modo positivo (IES⁺), donde se obtuvieron los pesos moleculares de betalaínas y otros compuestos que fueron asignadas las estructuras con una biblioteca de betalaínas reportada en la literatura.

9.6.3 Espectroscopia Infrarrojo

El extracto posterior a los lavados con los disolventes antes mencionados, se añadió acetona hasta obtener la precipitación del mucilago, se evaporó el disolvente, obteniendo una biopelícula la cual se analizó por espectroscopia infrarrojo.

9.7 Etapa 6. Cuantificación compuestos totales en borrachitas (dulce de *Ferocactus histrix*)

Tabla 5. Formulación de “las borrachitas”:

INGREDIENTE	G/100G DE MERMELADA
Cabuche	60g
Azúcar	20g
Agua	20 g

Se cuantificaron los compuestos bioactivos totales de la matriz alimentaria, siguiendo la metodología de la etapa 2 análisis cualitativos (espectrofotométricos).

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La familia Cactaceae crece principalmente en zonas áridas o semiáridas y habita en suelos alcalinos, es una de las características más destacadas del orden Caryophyllales, el estrés abiótico de sequias y estrés salino en que se encuentran las cactáceas inducen sistemas de defensa. Dichos sistemas de defensa son los compuestos bioactivos que han demostrado actividad biológica como antioxidante y anticancerígena. (*Hayakawa y Agarie, 2010; Nakashima et al., 2011; Jain y Gould, 2015; Jain et al., 2015*).

La concentración de compuestos bioactivos puede variar por distintas razones como son: al área geográfica, esto se debe al estrés al que este expuesto la planta, el estado de madurez del fruto y la estructura del fruto. A continuación se presentan los resultados de este trabajo de investigación, el cual se dividió en seis etapas:

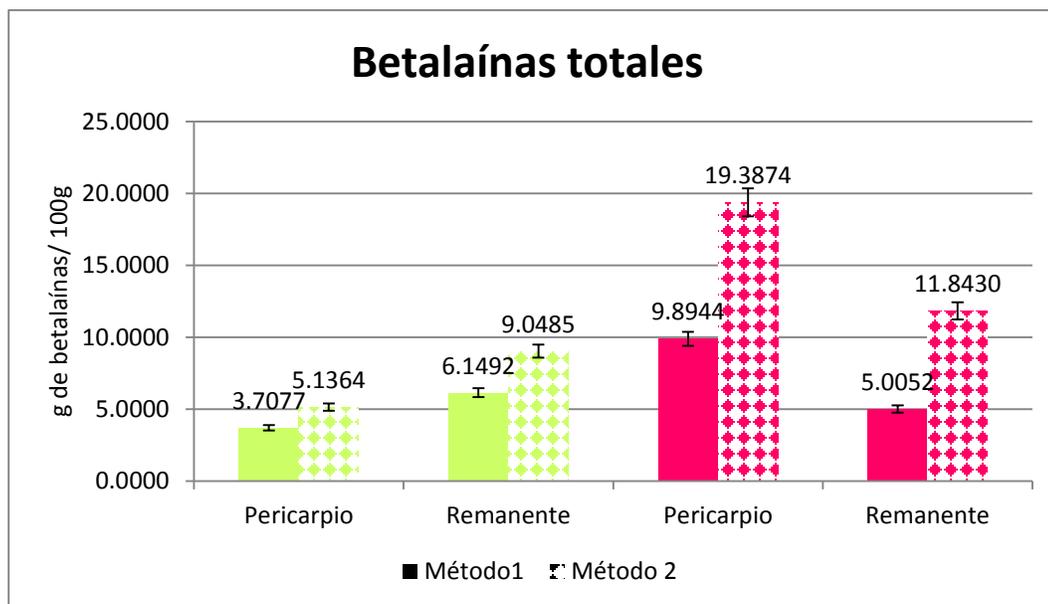
- **Etapas 1.** Obtención y preparación de la muestra
- **Etapas 2.** Elaboración de los extracto.
- **Etapas 3.** Cuantificación de compuestos bioactivos totales, se cuantificaron por espectrofotometría los compuestos totales (fenoles, flavonoides, flavonoles y betalaínas).
- **Etapas 4.** Identificación cualitativa por cromatografía en capa fina, usando estándares conocidos de ácidos fenólicos, esteroides y azúcares.
- **Etapas 5.** Caracterización de las betalaínas y mucilago.
- **Etapas 6.** Cuantificación compuestos bioactivos totales en una matriz alimentaria.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.1 Condiciones óptimas de extracción de betalaínas.

Con la finalidad de obtener mejores resultados en la cuantificación de betalaínas, se comparó el método de utilizar un disolvente acidificado así como el control de la temperatura. En esta etapa se realizó bajo condiciones reportadas en estudios previos para extracción de betalaínas (metanol:agua (80:20)) y temperatura ambiente (Morales, L. & Navarro, O., 2016).

En la gráfica 1, se muestran que el método de extracción controlando la temperatura y acidificado es superior al método convencional en el fruto de *Ferocactus histrix*. El pericarpio del fruto maduro por el método 2 (control de temperatura y pH ácido) de **19.3874 g de betalaína/100g de muestra** y por el método 1 **9.8944 g de betalaína/100g de muestra**, obteniendo mejores resultados por el tratamiento controlado. El incremento de la concentración de betalaínas, de acuerdo con el análisis estadístico realizado existe una diferencia significativa entre ambos métodos, esto quiere decir que un método es más eficiente respecto al otro.



Gráfica 1. Contenido de betalaínas totales en la fruta de *Ferocactus histrix*.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.1 Condiciones óptimas de extracción de betalaínas.

Tabla 6. Comparación de la concentración de betalaínas totales por dos métodos.

Betalaínas totales		Inmaduro		Maduro	
		Pericarpio	Remanente	Pericarpio	Remanente
Método 1	mg betalaínas/10 0g de mitra	3.7077±0.0876	6.1494±0.1495	9.8944±0.2279	5.0052±0.1402
Método 2		8.9017±0.1077	9.0485±0.1562	15.6221±0.3856	11.8430±0.3399

Los resultados obtenidos en la tabla 6 y las variables utilizadas como la temperatura y el pH del disolvente, se establece que la extracción de betalaínas es más eficiente por el método 2.

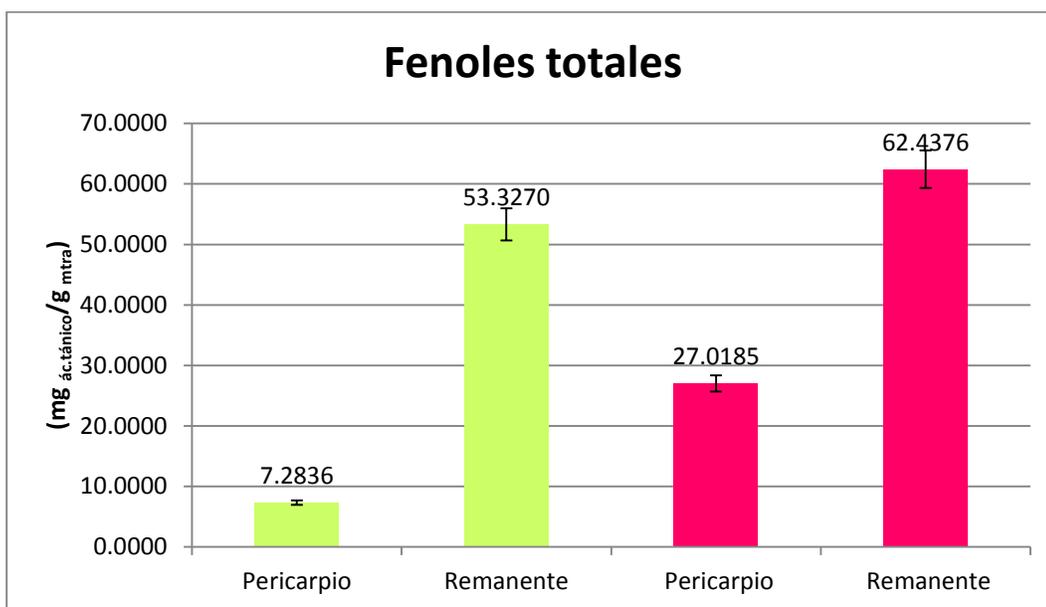
La estabilidad de las betalaínas depende del pH del medio, el Comparando los resultados de las gráficas 1 y 2 se observa la diferencia en los valores cuando se controla la temperatura durante la extracción, la condición “temperatura” juega un papel importante en el equilibrio entre betacianina y ácido betalámico. Sabiendo que las betalaínas son termosensibles, al trabajando a temperaturas bajas se logran estabilizar y conservar, obteniendo resultados deseados. De acuerdo con los resultados obtenidos al controlar la temperatura y utilizar un disolvente acidificado se observó un aumento de betalaínas totales en el pericarpio maduro de 160% y en el remanente 235%, existe diferencia significativa entre ambos métodos con base al Anexo I (análisis estadístico).

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.2 Cuantificación de compuestos totales del fruto de *Ferocactus histrix*.

10.2.1 Fenoles Totales

Se realizó la cuantificación de los fenoles totales presentes en el pericarpio y el remanente floral en dos estados de madurez del fruto de *Ferocactus histrix*.



Gráfica 2. Concentración de fenoles totales en el fruto de *Ferocactus histrix*, en dos estados de maduración.

Puede observarse que el remanente del fruto maduro tiene mayor contenido de fenoles totales (62.4376 mg/g), el pericarpio del fruto maduro tiene una cantidad de 27.0185 mg/g, al comparar estos valores con la literatura donde usan otras frutas de cactácea de acuerdo a los resultados reportados en la tesis *Cuantificación de compuestos bioactivos en frutas originarias de México de la región semiárida*, la jiotilla contiene 4.9120 mg/g, el garambullo 6.6063 mg/g, cascara de tuna 6.3920 mg/g y pitaya 10.9743 mg/g (Navarro & Ordoñez, 2017).

Se observa que el contenido de fenoles totales del fruto de *Ferocactus histrix* es mayor que el de los frutos antes mencionados.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.2 Cuantificación de compuestos totales del fruto de *Ferocactus histrix*.

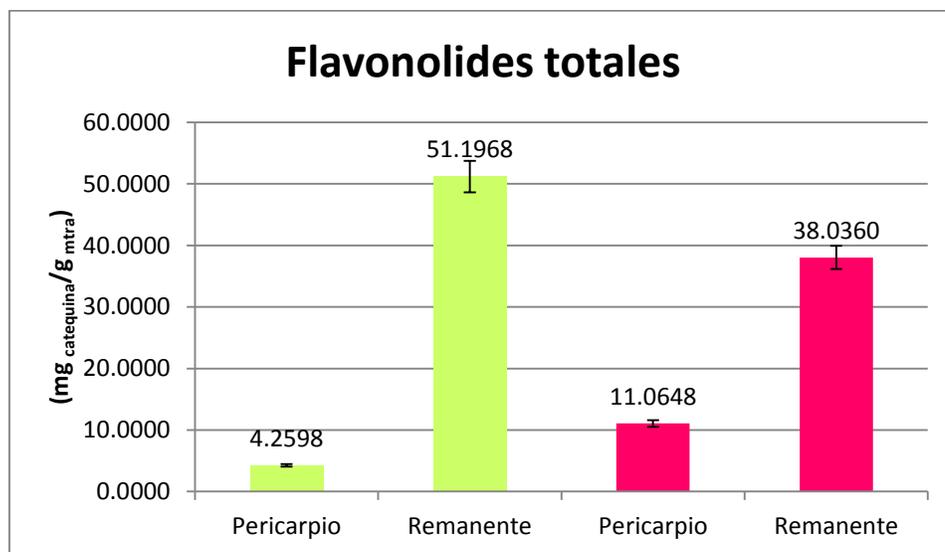
Tabla 7. Contenido de betalaínas totales en fruto de *Ferocactus histrix*.

Fenoles totales		Pericarpio	Remanente
Inmaduro	mg ác. tánico/ g de mtra	7.2836±0.5218	53.3270±0.2808
Maduro		27.0185±0.8459	62.4376±0.8130

Es importante el consumo de alimentos que contengan fenoles, ya que nuestro organismo no los produce, por ello la ingesta diaria recomendada (IDR), de acuerdo a Gimeno Creus (2014), es de 25 mg/ 1g, sin duda alguna este fruto es una fuente de fenoles, que se podría incluir en la dieta.

10.2.2 Flavonoides Totales

En la cuantificación de flavonoides también se realiza el análisis por estructura del fruto y por estado de madurez. En la gráfica que se muestra a continuación se plasman los resultados obtenidos de mg de catequina en un gramo de muestra.



Gráfica 3. Concentración de flavonoides totales del fruto de *F. histrix* en dos estados de maduración.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.2 Cuantificación de compuestos totales del fruto de *Ferocactus histrix*.

De acuerdo a la gráfica 3, la mayor cantidad de flavonoides está en el remanente del fruto inmaduro (51.1968 mg/g). Comparando los resultados obtenidos del cabuche con los valores reportados en la literatura de otros frutos de cactáceas, por ejemplo la jiotilla contiene 2.6374 mg/g, el garambullo 2.5294 mg/g y la pitaya 6.8567 mg/g (Navarro & Ordoñez, 2017); la cantidad de flavonoides de la muestra estudiada en el presente trabajo está por encima de las frutas de otras cactáceas.

Tabla 8. Contenido de flavonoides totales en *Ferocactus histrix*.

Flavonoides totales		Pericarpio	Remanente
Inmaduro	mg catequina/g de mitra	4.2598±0.3428	51.1968±0.6680
Maduro		11.0648±0.7828	38.0360±0.5676

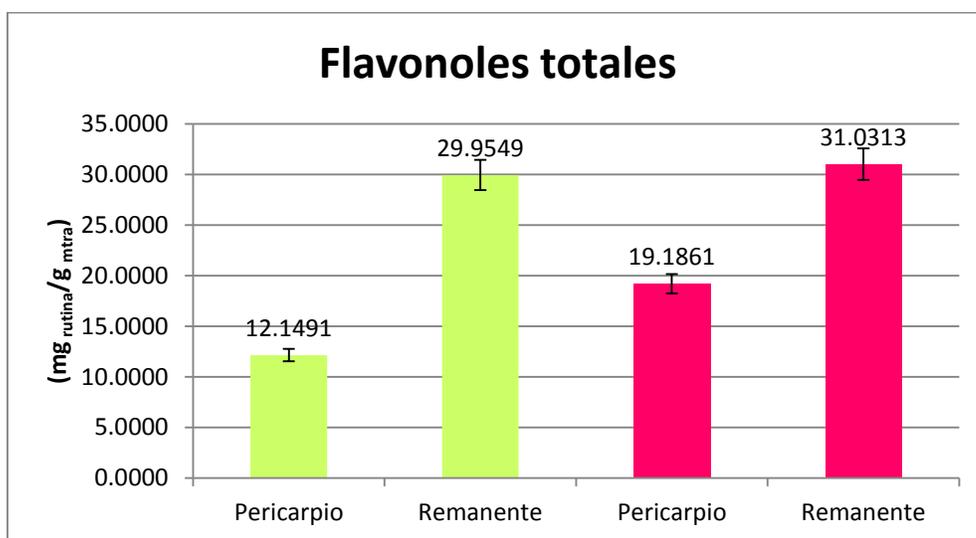
Los flavonoides proporcionan protección de la luz UV, protección contra patógenos y tienen capacidad antioxidante, por lo que es importante el consumo de estos. El remanente de esta fruta aporta una gran cantidad de estos compuestos, es importante incluirlo de alguna manera en la dieta.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.2 Cuantificación de compuestos totales del fruto de *Ferocactus histrix*.

10.2.3 Flavonoles Totales

A continuación la gráfica muestra los valores obtenidos de la cuantificación de flavonoles en miligramos equivalentes de rutina en un gramo de muestra.



Gráfica 4. Concentración de flavonoles totales presentes en el fruto de *F. histrix*.

De acuerdo a la gráfica 4, en los remanentes del fruto en ambos estados de maduración se encuentra la mayor concentración de flavonoles (remanente maduro 31.0313 mg/g y remanente inmaduro 29.9549 mg/g). También se compararon los resultados obtenidos en esta investigación con los valores reportados de otros frutos de cactácea en la tesis de Ordoñez, donde indica que la jiotilla contiene 2.4837 mg/g, el garambullo 1.7315 mg/g, la cáscara de tuna roja 2.8683 mg/g y la pitaya 3.6747 mg/g; de acuerdo a los resultados anteriores el contiene mayor concentración de flavonoles el cabuche.

Tabla 9. Contenido de flavonoles totales en *F. histrix*.

Flavonoides totales		Pericarpio	Remanente
Inmaduro	mg catequín a/g de muestra	12.1491±0.7079	29.9549±0.2271
Maduro		19.1861±0.8255	31.0313±0.0612

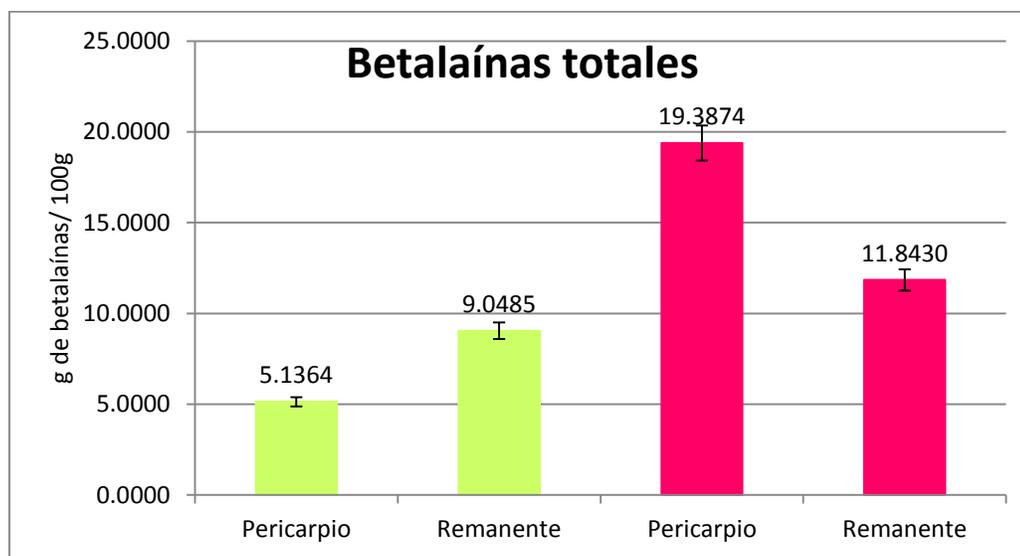
10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.2 Cuantificación de compuestos totales del fruto de *Ferocactus histrix*.

10.2.4 Betalaínas Totales

Para la cuantificación de betalaínas se utilizó el segundo método (control de temperatura y pH), al ser el más eficiente. Las betalaínas son un compuesto característico de los cactus, pertenece al grupo de los flavonoides, por ello se realizaron las determinaciones previas de dichos compuestos. Las betalaínas son las que otorgan el color a los frutos y flores.

El contenido de betalaínas y la proporción en las que se encuentran las betaxantinas y las betacianinas, está relacionado con la madurez del fruto, las condiciones climáticas y al estrés al que está expuesto, en la siguiente gráfica se observa claramente la diferencia entre el estado de maduración.



Gráfica 5. Contenido de betalaínas totales en el fruto inmaduro (verde) y maduro (rosa).

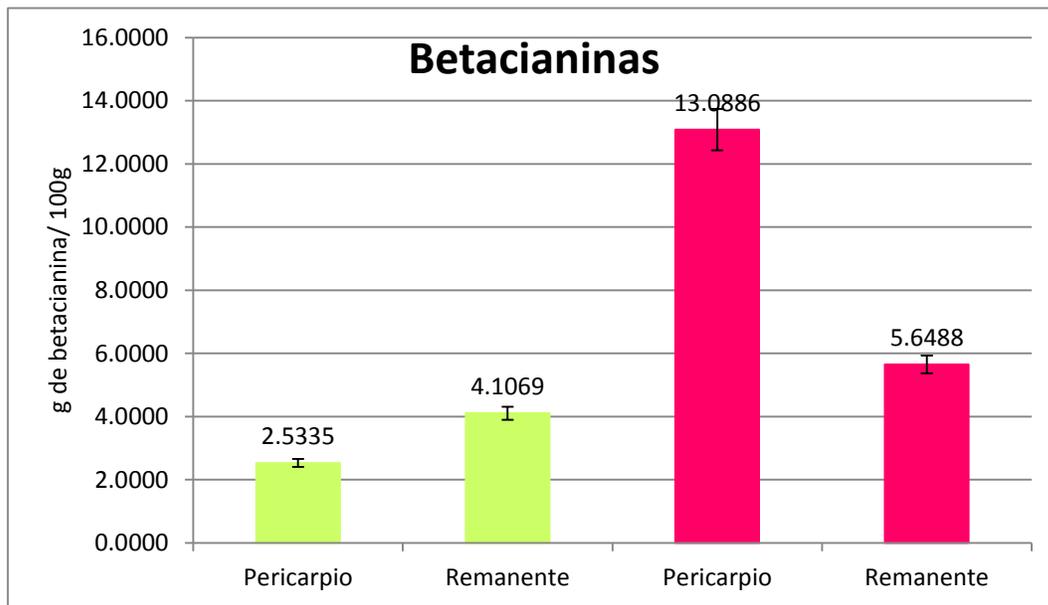
La gráfica 5 señala que el fruto maduro contiene mayor concentración de betalaínas, supera al pericarpio del fruto inmaduro, aumenta un 175% al llegar a su estado de madurez, existe diferencia significativa, de acuerdo con el análisis estadístico realizado.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.2 Cuantificación de compuestos totales del fruto de *Ferocactus histrix*.

10.2.4 Betalainas Totales

En las gráficas siguientes se muestran los valores de cuantificación de las betacianinas y betaxantinas, que como antes se mencionó, la proporción depende del estado de madurez del fruto de *F. histrix*.



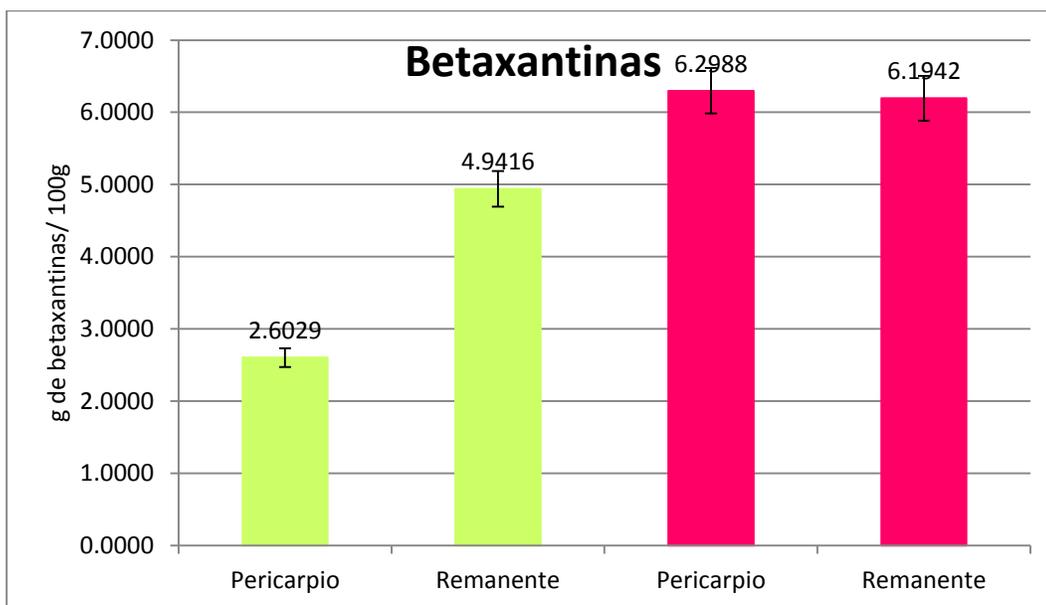
Gráfica 6. Contenido de betacianinas en el fruto en distintos estados de madurez.

Se observa en la gráfica que en el fruto maduro predominan las betacianinas, es el compuesto que le brinda el color rojo/rosa característico del fruto y flores.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.2 Cuantificación de compuestos totales del fruto de *Ferocactus histrix*.

10.2.4 Betalaínas Totales



Gráfica 7. Contenido de betaxantinas en el fruto en distintos estados de madurez.

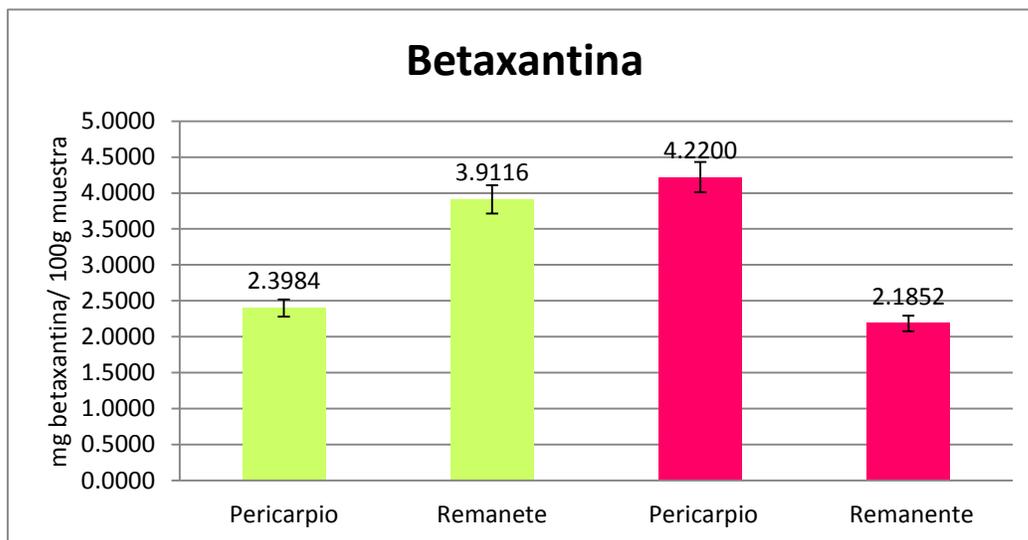
En la gráfica 7 se esperaría que hubiera mayor cantidad de betaxantina en los frutos inmaduros, sin embargo hay una cantidad significativa en el fruto maduro.

En la gráfica siguiente se realizó la extracción de betalaínas con el método 1, se midieron betaxantinas; haciendo la comparación con los valores del segundo método se reafirma que la temperatura y el pH, desplaza el equilibrio del ácido betalámico, el cual es precursor de la betaxantina y betacianina.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.2 Cuantificación de compuestos totales del fruto de *Ferocactus histrix*.

10.2.4 Betalainas Totales



Gráfica 8. Concentración de betaxantinas extraídas por el método 1.

Tomando en cuenta la estructura del fruto, al controlar la temperatura hay un aumento del 200% de betacianinas y betaxantina en el pericarpio maduro.

Se observa, de acuerdo al segundo método, el pericarpio del fruto maduro tiene un alto contenido de betacianina (13.0886 ± 0.2804 mg/100g), betaxantina (2.5335 ± 0.1600 mg/100g) y de betalainas totales (15.6221 ± 0.3856). De acuerdo al análisis estadístico hay diferencia significativa entre los métodos de extracción. Cabe destacar que estos pigmentos desempeñan un papel importante en la atracción de polinizadores, también es una defensa de las plantas frente a estrés biótico y abiótico.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.2 Cuantificación de compuestos totales del fruto de *Ferocactus histrix*.

10.2.4 Betalaínas Totales

A continuación se muestra un resumen de la cuantificación de los compuestos fenólicos.

Tabla 10. Comparación de valores de betalanas totales, betacianinas y betaxantinas por los métodos utilizados.

	Betalaínas		Pericarpio	Remanente
Futo inmaduro	Betalaínas Método 1	(mg betalaínas/100g mtra)	3.7077±0.0876	6.1494±0.1495
		(mg betacianina/100g mtra)	1.3093±0.0299	2.2378±0.0462
		(mg betaxantina/100g mtra)	2.3984±0.0579	3.9116±0.1071
	Betalaínas Método 2	(mg betalaínas/100g mtra)	8.9017±0.1077	9.0485±0.1562
		(mg betacianina/100g mtra)	6.2988±0.0126	4.1069±0.0884
		(mg betaxantina/100g mtra)	2.6029±0.1051	4.9416±0.0835
Futo maduro	Betalaínas Método 1	(mg betalaínas/100g mtra)	9.8944±0.2279	5.0052±0.1402
		(mg betacianina/100g mtra)	5.6744±0.4721	2.8200±0.0867
		(mg betaxantina/100g mtra)	4.2200±0.2683	2.1852±0.0543
	Betalaínas Método 2	(mg betalaínas/100g mtra)	15.6221±0.3856	11.8430±0.3399
		(mg betacianina/100g mtra)	13.0886±0.2804	5.6488±0.0256
		(mg betaxantina/100g mtra)	2.5335±0.1600	6.1942±0.3640

De acuerdo a la tabla 10, el método con mejores resultados es el segundo. La importancia de las betalaínas en la fotoprotección de plantas se ha establecido basándose en experimentos que muestran un daño reducido a la capacidad fotosintética en hojas pigmentadas en rojo (por la presencia de betalaínas) frente a hojas verdes después de la exposición al exceso de luz (*Das et al., 2013*).

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.2 Cuantificación de compuestos totales del fruto de *Ferocactus histrix*.

10.2.4 Betalainas Totales

En las tablas 11 y 12 se muestra el resumen de los resultados obtenidos por los métodos cuantitativos de la presente investigación.

Tabla 11. Valores promedio de fenoles, flavonoides y flavonoles del futo inmaduro.

		Pericarpio	Remanente
Betalainas Método 1	(mg betalainas/100g mtra)	3.7077±0.0876	6.1494±0.1495
	(mg betacianina/100g mtra)	1.3093±.0299	2.2378±0.0462
	(mg betaxantina/100g mtra)	2.3984±0.0579	3.9116±0.1071
Betalainas Método 2	(mg betalainas/100g mtra)	8.9017±0.1077	9.0485±0,1562
	(mg betacianina/100g mtra)	6.2988±0.0126	4.1069±0.0884
	(mg betaxantina/100g mtra)	2.6029±0.1051	4.9416±0.0835
Fenoles totales (mg ác.tánico/g mtra)		4.2598±0.3428	53.3270±0.2808
Flavonoides totales (mg catequina/g mtra)		7.2836±0.5218	51.1968±0.6680
Flavonoles totales (mg rutina/g mtra)		12.1491±0.7079	29.9549±0.2271

Tabla 12. Valores promedio de fenoles, flavonoides y flavonoles del fruto maduro.

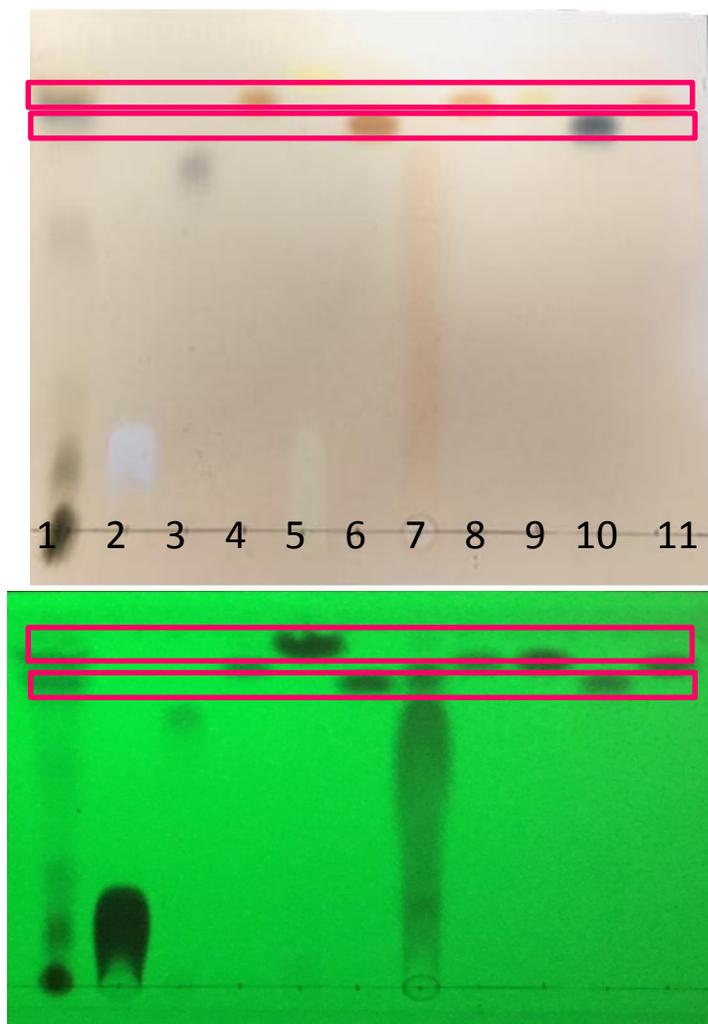
		Pericarpio	Remanente
Betalainas Método 1	(mg betalainas/100g mtra)	9.8944±0.2279	5.0052±0.1402
	(mg betacianina/100g mtra)	5.6744±0.4721	2.8200±0.0867
	(mg betaxantina/100g mtra)	4.2200±0.2683	2.1852±0.0543
Betalainas Método 2	(mg betalainas/100g mtra)	15.6221±0.3856	11.8430±0.3399
	(mg betacianina/100g mtra)	13.0886±0.2804	5.6488±0.0256
	(mg betaxantina/100g mtra)	2.5335±0.1600	6.1942±0.3640
Fenoles totales (mg ác.tánico/g mtra)		27.0185±0.8459	62.4376±0.8130
Flavonoides totales (mg catequina/g mtra)		11.0648±0.7828	38.0360±0.5676
Flavonoles totales (mg rutina/g mtra)		19.1861±0.8255	31.0313±0.0612

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.3 Extracción e identificación de compuestos bioactivos en *Ferocactus histrix*.

Para la obtención del extracto, se utilizó el remanente maduro, esta decisión se tomó con base a los resultados anteriores de cuantificación, el cual obtuvo la mayor concentración de compuestos fenólicos.

10.3 Extracción e identificación de ácidos fenólicos



Para identificar los ácidos fenólicos presentes en el *cabuche* se hizo una comparación con diez estándares comerciales. Se utilizó una mezcla de disolventes: **hexano: acetato de etilo: ác. acético** (4: 6: 0.5). En la figura 31 Se utilizaron estándares de ácidos fenólicos y se compararon con la muestra de interés; los compuestos que se encontraron presentes en el remanente de *F. histrix*, por CCF son: el ácido 3,4 hidroxibenzoico y ácido vainillico, la coloración es un indicativo para reafirmar si son el mismo compuesto; sin embargo en la placa se observa que se encuentran más compuestos, sin embargo no fueron identificados.

Ilustración 32. Cromatografía en placa fina para compuestos fenólicos, revelador sulfato cérico. La misma placa con luz UV. Fuente: (Grimaldo M. , 2019).

1. Muestra	2. Ac. Ascórbico	3. Gálico	4. Ferúlico	5. Cinámico	6. Siringico
7. Fumárico	8. Cumárico	9. 4-hidroxibenzoico	10. 3,4-hidroxibenzoico	11. Vainillico	

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.3 Extracción e identificación de compuestos bioactivos en *Ferocactus histrix*.

10.3.1 Extracción e identificación de ácidos fenólicos

Posteriormente se realizó una hidrólisis básica con el extracto obtenido, ya que la mayoría de compuestos fenólicos se encuentran ligados con otras moléculas. Por lo cual solo coincidió nuevamente con ácido 3,4-hidroxibenzoico.

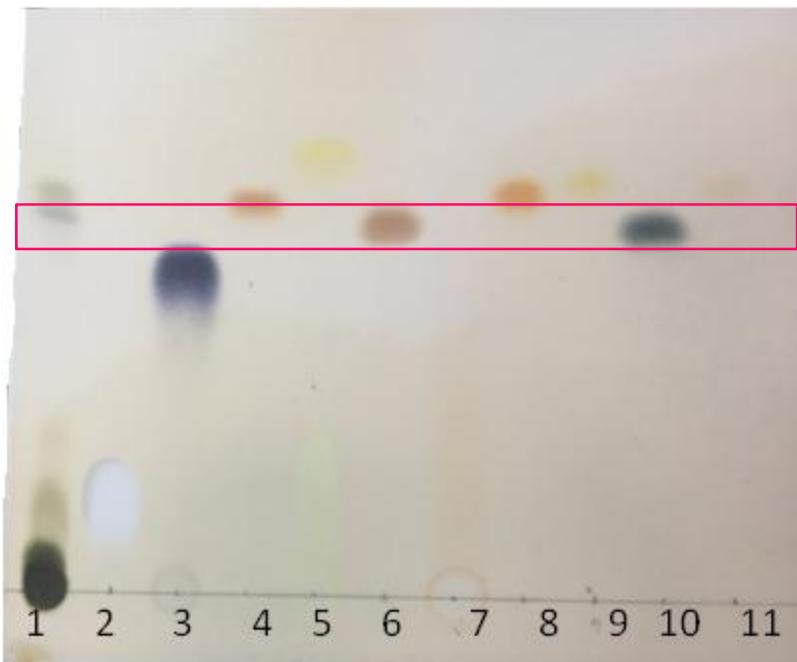


Ilustración 33. Cromatografía en placa fina para compuestos fenólicos previo a una hidrólisis básica, revelador sulfato cérico. Fuente: (Grimaldo M. , 2019).

1. Muestra	2. Ac. Ascórbico	3. Gálico	4. Ferúlico	5. Cinámico	6. Siringico
7. Fumárico	8. Cumárico	9. 4-hidroxibenzoico	10. 3,4-hidroxibenzoico	11. Vainillico	

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.3 Extracción e identificación de compuestos bioactivos en *Ferocactus histrix*.

10.3.2 Extracción e identificación de triterpenos

A realizar la extracción de betalaínas y concentrar por medio del rotavapor, se obtuvo un precipitado amarillo adherido a las paredes del matraz, se realizaron capas finas para comparar con los RF's con los estándares de amirinas y esteroides.

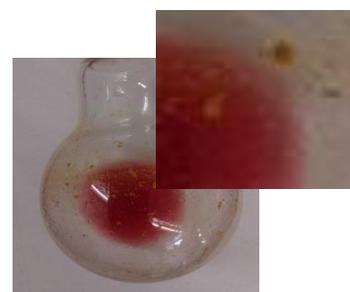
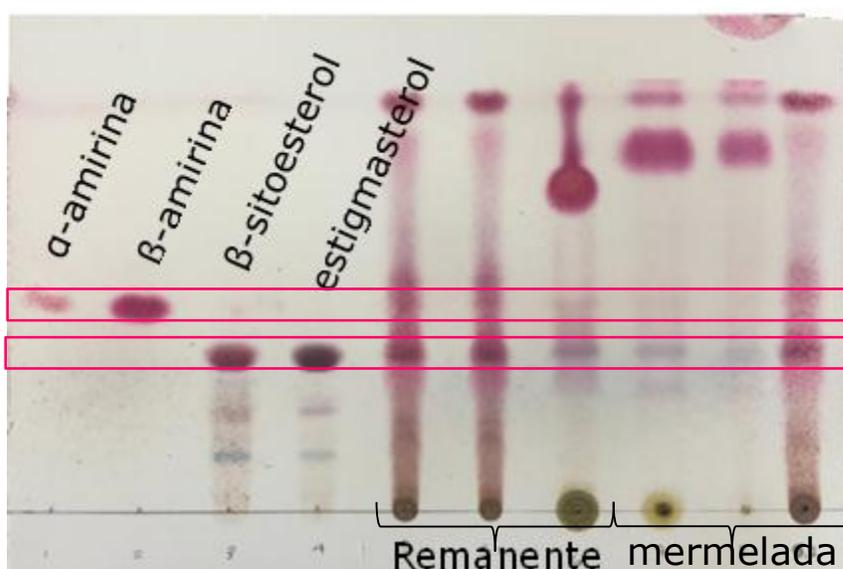


Ilustración 34. Precipitado amarillo adherido a las paredes de un matraz. Fuente: (Grimaldo M., 2019)

Ilustración 35. Cromatografía capa fina de triterpenos, revelado con anisaldehído, Fuente: (Grimaldo M., 2019)

De acuerdo a los RF's se observa que la muestra coincide con α -amirina, β -amirina, β -sitosterol, estigmasterol, también el color es un indicador que se trata del mismo compuesto.

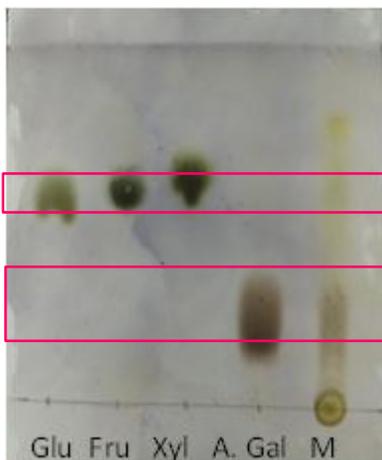
Las amirinas de acuerdo al Instituto de Química (2017) son antimicrobianos frente *Escherichia coli*; los esteroides como antes se mencionan tienen gran importancia en la salud humana se usa para enfermedades del corazón, hipercolesterolemia, modulación del sistema inmunitario, prevención del cáncer, entre otras (Saeidnia, 2014). Por lo que es importante consumir alimentos que contengan estos compuestos, los cabuches son una fuente de estos.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.3 Extracción e identificación de compuestos bioactivos en *Ferocactus histrix*.

10.3.3 Extracción e identificación de azúcares.

La extracción de azúcares se realizó con agua destilada, se concentró y se realizó la identificación por medio de capa fina, los estándares se eligieron al consultar investigaciones previas de azúcares en cactáceas y por medio de los RF's se determinaron cuales coincidían con los azúcares presentes en el cabuche.



La muestra se eluyó con distintos estándares (glucosa, fructosa, xilosa y ácido galacturónico), se compararon los RF's, los cuales coincidieron con glucosa y ácido galacturónico.

Estas pueden ser el producto de la fragmentación de pectina.

Ilustración 36. Cromatografía capa fina de azúcares, revelado con anisaldehído. Fuente: (Grimaldo M. , 2019).

10.4 Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de *Ferocactus hystrix* (pericarpio rojo).

10.4.1 Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): betalainas.

Se realizó la extracción de las betalainas, este proceso se realizó bajo dos condiciones: método convencional y condiciones controladas de temperatura y pH.

Se realizó cromatografía en capa fina de ambas, sin embargo no se observó un cambio notorio, por lo que se decidió realizar la identificación por HPLC.

Una vez obtenidos los extractos se filtraron e inyectaron en el HPLC, ambas muestras.

Los resultados que se muestran a continuación, se observa en la ilustración 36 el cromatograma presenta un desplazamiento de las señales en los primeros minutos, hay más intensidad en los minutos 2-4. En la ilustración 37 las señales comienzan a presentarse a partir del minuto 7 aproximadamente y los picos más altos se encuentran entre el minuto 6-9.

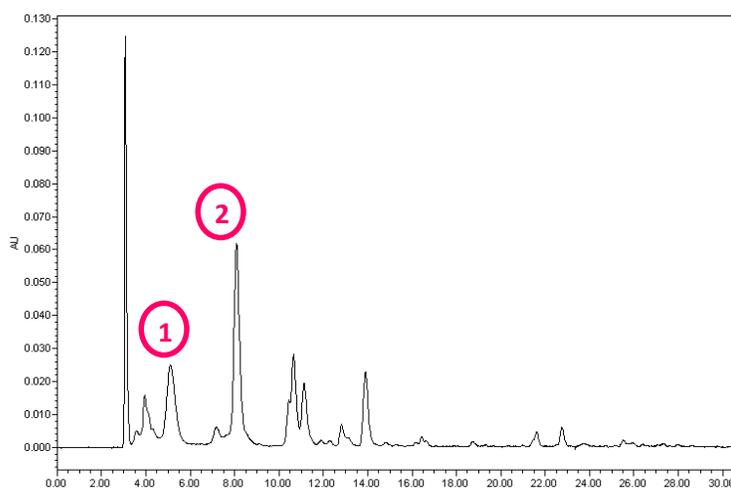


Ilustración 37. Cromatograma del extracto de betalainas, método de extracción convencional. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.4 Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de *Ferocactus hystrix* (pericarpio rojo).

10.4.1 Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): betalaínas.

Tabla 13. Compuestos tentativos encontrados en el cromatograma HPLC (Betancourt, 2015).

Pico	Tiempo de retención (t _r)	H+1	Compuesto
1	8.0	551	Betanina
2	10.0	507	2-descarboxilbetanina

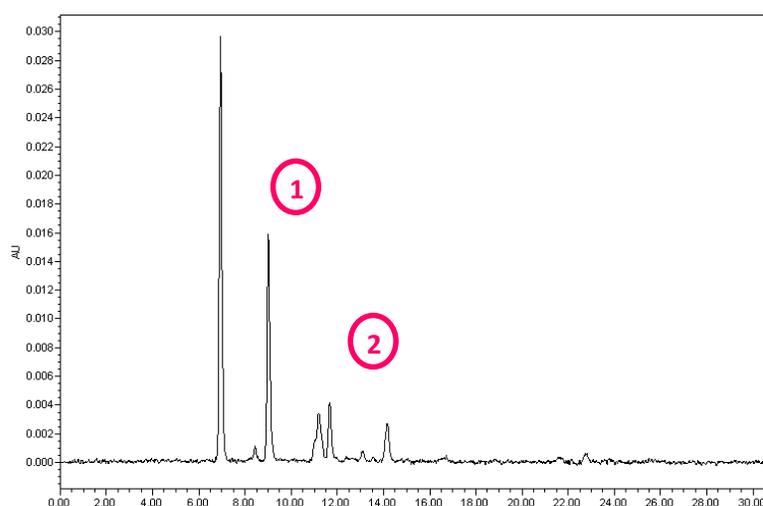


Ilustración 38. Cromatograma del extracto de betalaína, método de extracción: control de temperatura y pH. Fuente: (Grimaldo M. , 2019).

Tabla 14. Compuestos tentativos encontrados en el cromatograma HPLC (Betancourt, 2015).

Pico	Tiempo de retención (t _r)	H+1	Compuesto
1	6.5	551	Betanina
2	8.550	551	Isobetanina

Cuando no se controla la temperatura la mayor parte de las betalaínas se marcan en una zona, es aquí donde comprobamos el desplazamiento del equilibrio, al manipular la temperatura hay un aumento o decremento en la señal de los picos.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.4 Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de *Ferocactus histrix* (pericarpio rojo).

10.4.1 Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): betalainas.

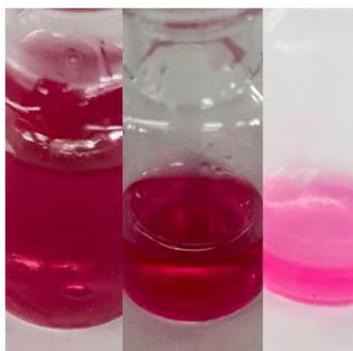


A continuación se presenta en la ilustración 39 los dos extractos crudos, es evidente el cambio de colores, el de la izquierda muestra un tono anaranjado y el de la derecha un color rosa intenso característico de las betacianinas.

Ilustración 39. Extractos crudos. Izq. Método convencional, Der. Método controlado. Fuente: (Grimaldo M. , 2019).

Al realizar los lavados al extracto crudo, se observó que la intensidad del color disminuye.

A las aguas madres, provenientes de los lavados se realizaron cromatografía para asegurar la pureza de la muestra, así como extraer otros compuestos con interés.



Extracto Hex ,AcOEt Butanol

Ilustración 40. Extracto de betalainas lavado con hexano en un matraz de separación. Fuente (Grimaldo M. , 2019).

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.4 Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de *Ferocactus hystrix* (pericarpio rojo).

10.4.1 Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): betalainas.

Los lavados se realizaron con los disolventes más polares a los menos polares. En la ilustración 40 se observa que hay aproximadamente 4 compuestos en el extracto crudo, en la betalainas purificada se observan dos compuestos, en los lavados con acetato de etilo no se observan compuesto alguno y en la fracción de butanol se encontraron compuestos con gran importancia, son compuestos con actividad antioxidante, se observa en la ilustración 41 que el compuesto al ser revelado con DPPH, compuesto que evidencia actividad antioxidante.



Ilustración 40. CCF de:
1. Extracto Crudo
2. Betalaina lavada
3. Hexano
4. AcOEt
Fuente: (Grimaldo M., 2019).

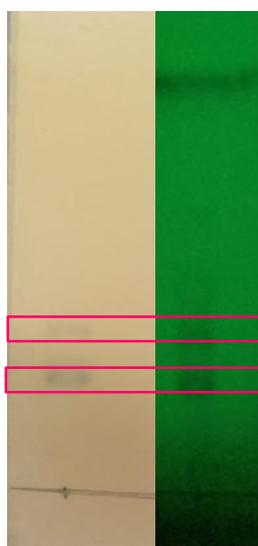


Ilustración 41. CCF de la fracción de butanol revelado con DPPH y bajo luz UV. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.4 Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de *Ferocactus hystrix* (pericarpio rojo).

10.4.2 Identificación de betalainas y compuesto con actividad antioxidante por HPLC-MS.

Las fracciones que se mandaron analizar a HPLC-MS fueron cuatro:

- Extracción de betalainas del *cabuche*.
- Acetato de etilo.
- Butanol.
- Betalaina pura.

Posterior a la purificación del extracto crudo provenientes del pericarpio del fruto maduro, se realizó la identificación de las betalainas y del compuesto que mostró tener actividad antioxidante.

En las tablas siguientes se muestran los compuestos tentativos de acuerdo a las masas correspondientes de acuerdo a la literatura.

Tabla 15. Compuestos encontrados en el cromatograma HPLC-MS extracto de betalainas crudo (Betancourt, 2015).

Tiempo (min)	Peso molecular(m/z)	Compuesto
7.5	389	Betanidina
11.7-11.8	507	2-descarboxilbetanina
32.9-33.0	757	Isoramnetina pentosilrutinosido
38.4-38.6	317	Isoramnetina

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.4 Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de *Ferocactus hystrix* (pericarpio rojo).

10.4.2 Identificación de betalaínas y compuesto con actividad antioxidante por HPLC-MS.

Tabla 16. Compuestos encontrados en el cromatograma HPLC-MS en la fracción butanol (Betancourt, 2015).

Tiempo (min)	Peso molecular(m/z)	Compuesto
21.9-22.0	677	Hilocerenina
32.9-33.0	757	Isoromerentina pentosilrutinosido
32.9-33.0	903	Celosianina

Tabla 17. Compuestos encontrados en el cromatograma HPLC-MS en la fracción acetato de etilo (Betancourt, 2015).

Tiempo (min)	Peso molecular(m/z)	Compuesto
40.1-40.2	551	Betanina e isobetanina

Tabla 18. Compuestos encontrados en el cromatograma HPLC-MS de betalaína pura (Betancourt, 2015).

Tiempo (min)	Peso molecular(m/z)	Compuesto
7.4-7.5	551	Betanina e isobetanina
40.3-40.4	610	Rutina

De acuerdo con el cromatograma HPLC-MS de la fracción betalaína pura, se identificó un pico que corresponde a betanina e isobetanina y también se logró identificar rutina.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.4 Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de *Ferocactus hystrix* (pericarpio rojo).

10.4.2 Identificación de betalainas y compuesto con actividad antioxidante por HPLC-MS.

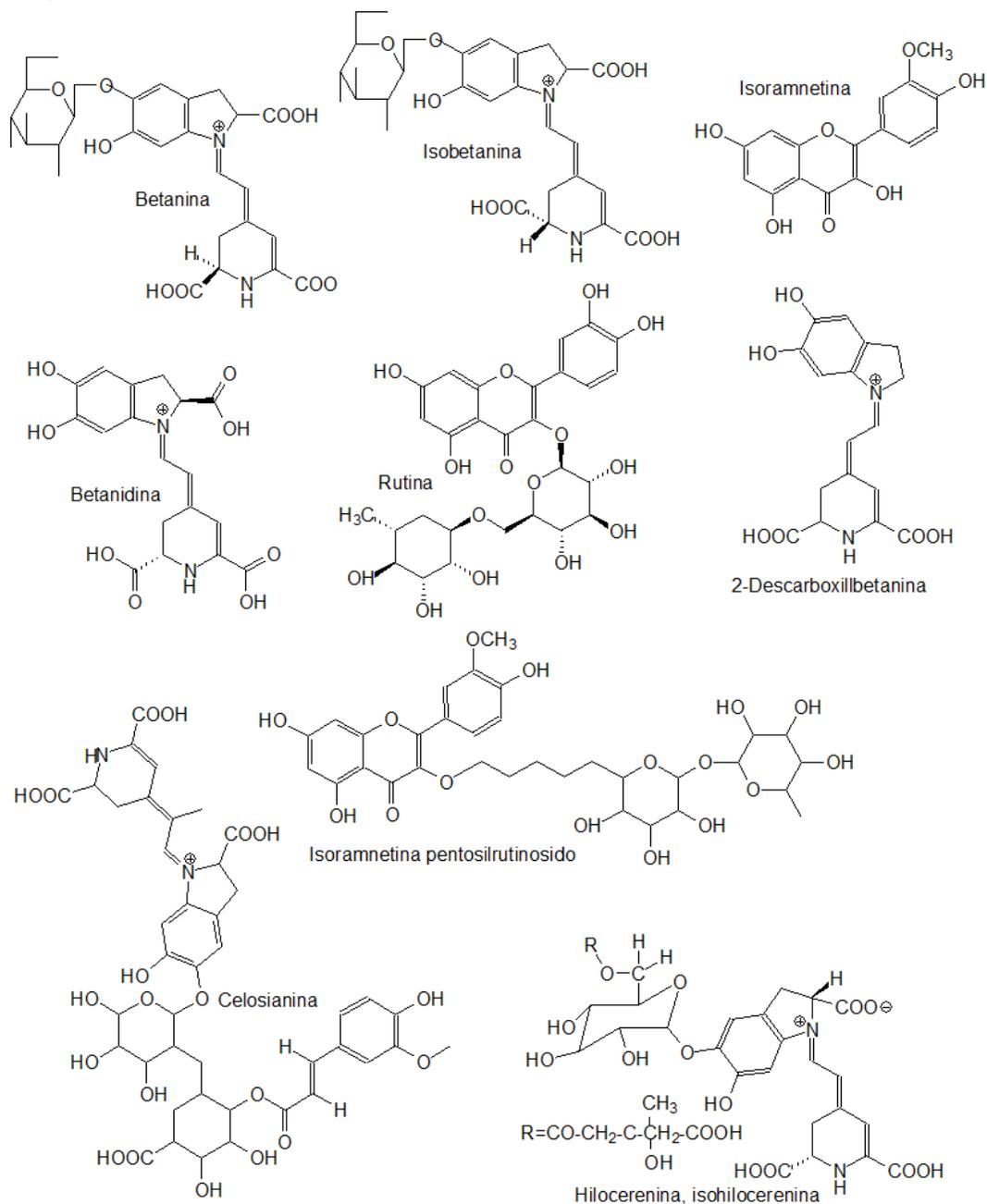


Ilustración 42. Estructuras de los compuestos tentativos de acuerdo a la masa. Método HPLC-MS.
Fuente: (Grimaldo M., 2019).

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.4 Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de *Ferocactus histrix* (pericarpio rojo).

10.4.3 Identificación de grupos presente en el mucílago por IR.

Las plantas de la familia de las cactáceas se caracterizan por sintetizar mucílago, los cuales son polisacáridos tipo pectina, altamente viscosos y con una elevada capacidad para retener agua. Según Nobel *et al.* (1992), esta propiedad parece estar relacionada con la presencia de ácido galacturónico como componente de su esqueleto o cadena principal, hecho que ha sido documentado en los mucílago de diversas especies de cactus (Forni, E. *et al.*, 1994). Es por ello que es de interés determinar la presencia de grupos funcionales.



Ilustración 43. Mucílago de *F. histrix* en biopelícula. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

En la Ilustración 44 se muestra el espectro del biopolímero del fruto de *Ferocactus histrix*, el cual fue precipitado con acetona.

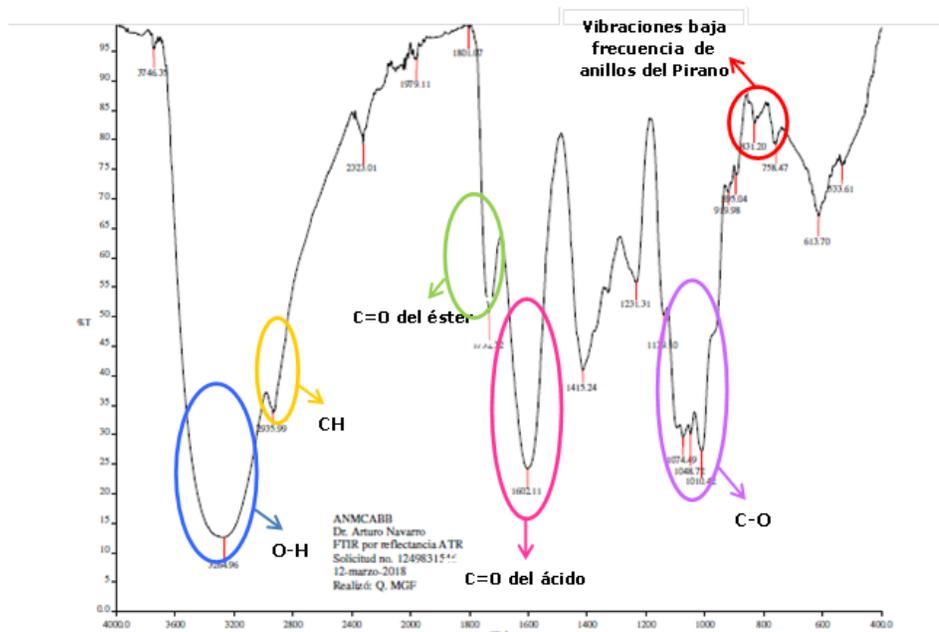


Ilustración 44. Espectro de infrarrojo de mucílago del fruto *F. histrix*. Fuente: (Grimaldo M., 2019).

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.4 Purificación y caracterización de compuestos bioactivos de *Ferocactus hystrix* (pericarpio rojo).

10.4.3 Identificación de grupos presente en el mucílago por IR.

En el espectro infrarrojo que se muestra evidencia claramente la presencia de los grupos funcionales, se observa de manera importante la banda en 3264 cm^{-1} asociadas a la tensión del enlace O-H con formación de puentes de hidrógeno y 2935 cm^{-1} hay una señal de el grupo C-H asignado a polisacáridos (aldehído), entre $1700\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ el grupo C=O de los ésteres, entre 1500 y 1700 cm^{-1} El grupo C=O de los ácidos, entre $1000\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ se encuentra una señal que pertenece a los anillos benzoicos, hay señales de vibraciones de enlaces glicosídicos C-O-C en la zona de 1050 a 1200 cm^{-1} . Comparando las señales con IR's tomados de algunos artículos de pectina y ácido galacturónico, se observa que se superponen las señales. El pico de 1231 cm^{-1} corresponde a la banda de vibración de tensión asimétrica del C-O-C, e indica la abundancia de los grupos metoxilos (-O-CH₃). Los picos entre 1010 y 1048 cm^{-1} indica la banda de vibración de tensión del grupo simétrico C-O-C, lo cual confirma también el alto grado de esterificación y la presencia de pectina de alto metoxilo.

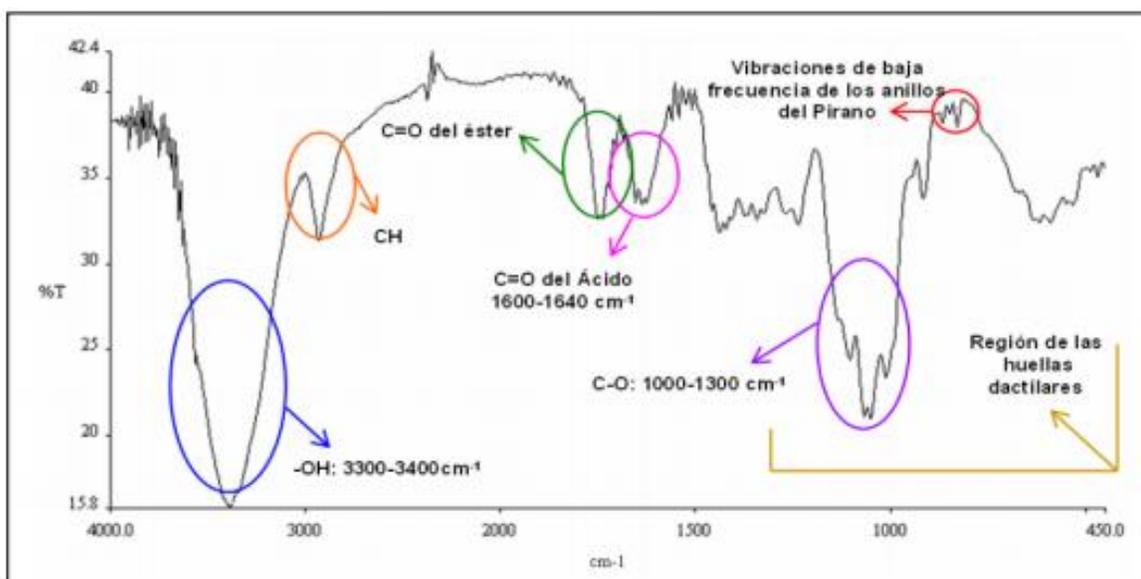


Ilustración 45. Espectro de infrarrojo de pectina estándar. Fuente: (Cabarcas, Guerra, & Henao, 2012).

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.5 Etapa 4. Cuantificación de compuesto biactivos en dulce de *F. histrix* (borrachitas).

Para la elaboración del dulce “*borrachitas*” se utilizó el fruto y el remanente provenientes de frutos maduros e inmaduros.

Al ser un producto que su proceso conlleva temperaturas altas, para la cuantificación de betalainas se utilizó el método convencional. La siguiente tabla reporta los valores los compuestos bioactivos de las “*borrachitas*”.



Ilustración 436. Dulce del fruto de *F. histrix* “*borrachitas*”. Fuente: (Grimaldo M. , 2019).

Tabla 19. Resultados generales en la cuantificación de compuestos bioactivos en el dulce de *F. histrix*.

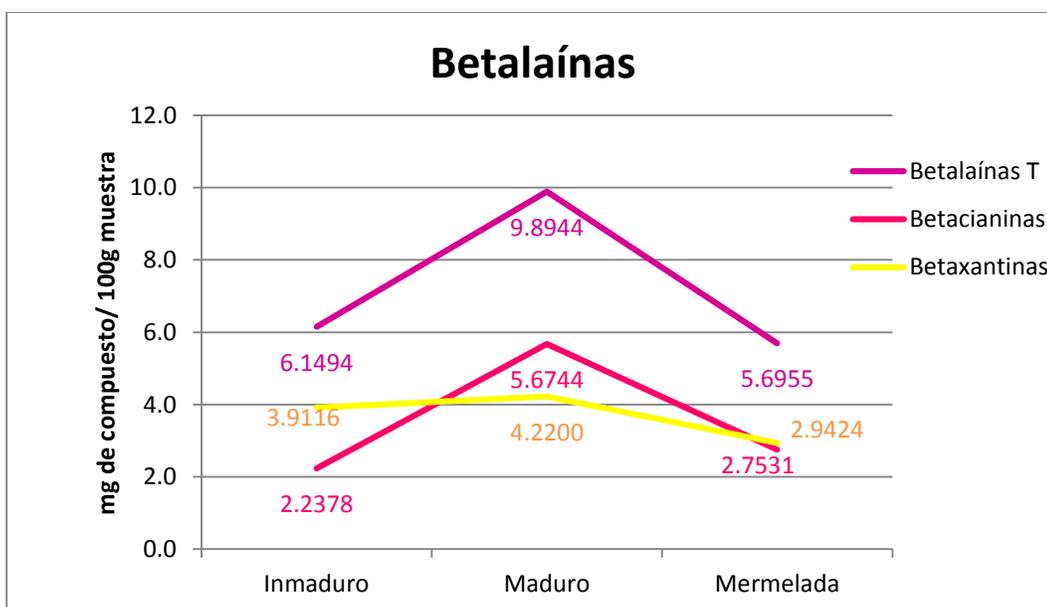
Compuestos biactivos		Valores
Fenoles totales (mg ác.tánico/g mtra)		57.3790 \pm 0.8326
Flavonoides totales (mg catequina/g mtra)		28.0588 \pm 0.4812
Flavonoles totales (mg rutina/g mtra)		11.7762 \pm 0.3673
Betalainas	(mg $\text{betalainas/100g mtra}$)	5.6955 \pm 0.5721
	(mg $\text{betacianina/100g mtra}$)	2.7531 \pm 0.3996
	(mg $\text{betaxantina/100g mtra}$)	2.9424 \pm 0.5670

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.5 Etapa 4. Cuantificación de compuesto biactivos en dulce de *F. histrix* (borrachitas).

Los valores de los compuestos son interesantes, por ejemplo en los fenoles de la mermelada son más altos en comparación con los obtenidos del pericarpio del fruto inmaduro, esto se debe a que las “borrachitas” se elaboran con el fruto y el remanente de la flor, se mezclan tanto frutos maduros como inmaduros.

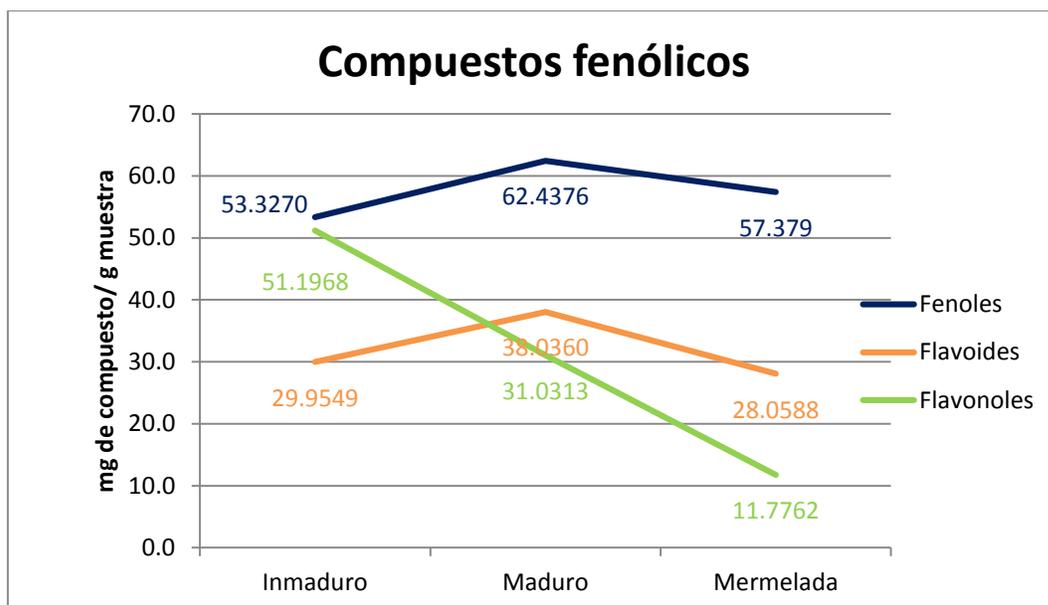
A continuación se muestran las gráficas comparativas del fruto inmaduro, madura y el dulce. Para realizar la se tomaron los valores más altos obtenidos del pericarpio o remanente.



Gráfica 9. Comparación de la concentración de betalaínas en la etapa de inmadurez, madurez y procesado.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.5 Etapa 4. Cuantificación de compuesto biactivos en dulce de *F. histrix* (borrachitas).



Gráfica 10. Comparación de la concentración de compuestos fenólicos en la etapa de inmadurez, madurez y procesado.

En las gráficas 9 y 10 se observa una disminución de betalaínas alrededor de 42% respecto al valor más alto obtenido en las borrachitas, los fenoles totales un 8%, al tratamiento de temperatura los flavonoides se redujeron un 45% y flavonoles un 62%. El tratamiento térmico afecta a los compuestos bioactivos al menos en un 50%, sin embargo gracias al mucilago presente en dicho fruto, encapsula a los compuestos, de tal forma que durante la cocción no se pierdan todas sus propiedades.

11. CONCLUSIONES

La cantidad de compuestos bioactivos varía de acuerdo al estado de madurez del fruto, así como la estructura de este. Ya que, al madurar el fruto los compuestos bioactivos aumentan entre un 200 a 300%; dentro de estos el pericarpio fue la muestra con más betacianina y betaxantina.

En los remanentes maduro e inmaduro presentaron mayor contenido de fenoles, siendo mayor la cantidad de este compuesto en el remanente maduro. En el remanente inmaduro se encontró mayor contenido de flavonoides, mientras que en el remanente maduro hay mayor concentración de flavonoles.

Se identificaron amirinas y esteroides como la α -amirina, β -amirina y estigmasterol, β -sitoesterol; fructosa y ácido galacturónico en la extracción de azúcares; ácido 3,4-hidroxibenzoico y el ácido vainillico.

Al realizar la extracción de betalaínas controlando la temperatura y la acidez en el medio de extracción, se optimizó la extracción y estabilización de betalaínas. Se caracterizaron la betanidina, 2-descarboxilbetanina, hilocerenina y celosianina.

Aparte de las betalaínas al otro compuesto que se le atribuye la actividad antioxidante se identificó como isoramnetina.

El mucílago de acuerdo al espectro de infrarrojo se identificó distintos grupos funcionales, los cuales indican la presencia de pectina de alto metoxilo y ácido galacturónico.

En la matriz alimentaria el mucílago juega un papel importante durante el proceso de elaboración, al aumentar la temperatura los compuestos fenólicos al sólo disminuir el 50% aproximadamente, asegurando una cantidad considerable de estos compuestos en la “borrachita”.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Alarcon-aguilar, F. , Valdes-arzate, A., & Xolalpa-molina, S. et al. (2003). *Hypoglycemic Activity of Two Polysaccharides Isolated from*. *Proc West Pharmacol Soc.*, 46, 139–142.
- Alba-Jiménez, J. E., Chávez-Servia, J. L., Verdalet-Guzmán, I., Martínez, A. J., & Aquino-Bolaños, N. E. (2014). *Betalainas, polifenoles y actividad antioxidante en tuna mínimamente procesada, almacenada en atmósferas controladas*. *Gayana Bot*, 71(2), 222–226. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432014000200005>
- Basurto, D., Lorenzana, M., & Magos, G. (2006). *Ingestión de nopal en el control de la diabetes mellitus tipo 2*. *Med. Interna Méx*, 15(1), 20–24.
- Biesalski, H. K., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk, D., Weber, P. (2009). *Bioactive compounds: Definition and assessment of activity*. *Nutrition*, 25(11–12), 1202–1205. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.023>
- Carbajal Azcona, Á. (2013). *Otros componentes bioactivos Manual de Nutrición y Dietética*. Retrieved from Manual de Nutrición y Dietética website: <https://www.ucm.es/nutricioncarbajal/manual-de-nutricion>
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). *Flavonoides: características químicas y aplicaciones*. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5–14.
- Castro, V., & Ceroni, A. (2013, December). Manual de cactus. Identificación y origen. 1–29. Retrieved from <http://www.minam.gob.pe/diversidadbiologica/wp-content/uploads/sites/21/2014/02/manual+de+cactus.compressed.pdf>
- Corzo-rios, L. J., Bautista-ramírez, M. E., De, Y., Gómez, M., & Gilberto, L. (2016). *Frutas de cactáceas: Compuestos bioactivos y sus propiedades nutraceuticas*. 35–65.
- Das, S. S., Gauri, S. S., Misra, B. B., Biswas, M., & Dey, S. (2013). *Purification and characterization of a betanidin glucosyltransferase from Amaranthus tricolor L catalyzing non-specific biotransformation of flavonoids*. *Plant Science*, 211, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.07.003>
- De Jong, A., Plat, J., & Mensink, R. P. (2003). *Metabolic effects of plant sterols and stanols (Review)*. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14(7), 362–369. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(03\)00002-0](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(03)00002-0)
- Del Castillo, R. F., & Trujillo, S. (1991). *Ethnobotany of Ferocactus histrix and echinocactus platyacanthus (Cactaceae) in the Semiarid Central Mexico: Past, Present and Future*. *Economic Botany*, 45(4), 495–502. <https://doi.org/10.1007/BF02930713>
- García-Cruz, L., Salinas-Moreno, Y., Valle-guadarrama, s., & para correspondencia, a. (2012). *Betalainas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en pitaya de mayo (stenocereus griseus h.) betalains, phenolic compounds and antioxidant activity in pitaya de mayo (Stenocereus griseus H.)*. *Nota Científica Rev. Fitotec. Mex*, 35(5), 1–5.
- Guzman, U., Arias, S., & Dávila, P. (2003). *Catalogo cactáceas mexicanas — — (Primera)*. México.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Jiménez Sierra, C. L. (2011). *Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan*. Revista Digital Universitaria, 12(1), 1–23. Retrieved from <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num1/art04/art04.pdf>
- Loaiza, P., & Malo, A. (2009). *Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos* (pp. 121–134). pp. 121–134. San Andrés Cholula, Pue., México.
- Morales, L., & Navarro, A. (2016). *TESIS LAURA.pdf*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Navarro, A., & Ordoñez, P. (2017). *PAOLA ORDOÑEZ.pdf*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Palou, A., Catalina, O., Segura, P., Luisa, M., Piña, B., Vara, P. O., ... Riutort, J. R. (2005). *Los Esteroles Vegetales*. Retrieved from http://www.nutricion.org/publicaciones/pdf/libro_blanco_esteroles_vegetales.pdf
- Peñarrieta, M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J., & Bravo, J. (2004). Phenolic compounds in foods. *Handbook of Food Analysis Second Edition: Physical Characterization and Nutrient Analysis*, 1, 657–715. <https://doi.org/10.1201/9781315120157-3>
- Pérez-Loredo, M. G., Jesús, L. H. De, & Barragán-Huerta, B. E. (2017). Extracción de compuestos bioactivos de pitaya roja (*Stenocereus stellatus*) aplicando pretratamientos con microondas, ultrasonido y enzimáticos. *Agrociencia*, 51(2), 135–151.
- Polturak, G., & Aharoni, A. (2018). "La Vie en Rose": Biosynthesis, Sources, and Applications of Betalain Pigments. *Molecular Plant*, 11(1), 7–22. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.10.008>
- Soriano-Santos, J., Franco-Zavaleta, M. E., Pelayo-Zaldívar, C., Armella-Villalpando, M. A., Yáñez-López, M. L., & Guerrero-Legarreta, I. (2007). *Amidiq caracterizacion parcial del pigmento rojo del fruto de la " jiotilla " (escontria chiotilla [weber] britton & rose) a partial characterization of the red pigment from the mexican fruit cactus " jiotilla " (Escontria chiotilla [Weber] Britton & Rose)*. 6(1), 19–25.
- Vargas Rodríguez, L., Arroyo Figueroa, G., Herrera Méndez, C. H., Pérez Nieto, A., García Vieyra, M. I., & Rodríguez Núñez, J. R. (2016). Physical properties of mucilage prickly pear. *Acta Universitaria*, 26(NE-1), 8–11. <https://doi.org/10.15174/au.2016.839>
- Vázquez-Sánchez, M., Terrazas, T., & Arias, S. (2005). Morfología y anatomía del cefalio de *Cephalocereus senilis* (Cactaceae). *Anales Del Jardín Botánico de Madrid*, 62(2). <https://doi.org/10.3989/ajbm.2005.v62.i2.16>
- Yermakov, A. I., Arasimov, V. V., & Yarosh, N. P. (1987). *Methods of Biochemical Analysis of Plants*. Agropromizdat. Leningrad
- Zegbe, J. A., Mena-Covarrubias, J., & Domínguez-Canales, V. S. I. (2015). Cactus mucilage as a coating film to enhance shelf life of unprocessed guavas (*Psidium guajava* L.). *Acta Horticulturae*, 1067(18), 423–427. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1067.58>

12. BIBLIOGRAFÍA

IMÁGENES Y REFERENCIAS EXTERNAS

Arredondo, B. (30 de Agosto de 2015). *El Bable*. Obtenido de <http://vamonosalbable.blogspot.com/2015/08/cabuche-la-flor-de-la-biznaga-que-es.html>

Cabarcas , E., Guerra, A., & Henao, C. (17 de mayo de 2012). Extracción y Caracterización de pectina apartir de cáscara de plátano para desarrollar un diseño general del proceso de producción. Cartagena de Indias.

Grimaldo, M. (2019). *Cactaceas*. Ciudad de México.

Grimaldo, M. (12 de Agosto de 2019). *Mapa de distribución de Cactáceas en México*. Ciudad de México.

Laurenz, J. C. , Collier, C. C., & Kutti, J. O. (2003). Hypoglycaemic effect of *Opuntia lindheimeri*. Englem in a diabetic pig model. , 17(1),. *Phytotherapy Research*, 26-29.

Pinterest. (2018). *Pinterest*. Obtenido de <https://www.pinterest.com.mx/pin/615022892836896109/>

Sánchez, M. (s.f.). *Jardineria On*. Obtenido de <https://www.jardineriaon.com/origen-evolucion-y-cuidados-de-los-cactus.html>

Scoop. (14 de Agosto de 2015). Obtenido de <https://www.scoop.it/topic/cactus-1/p/4049491745/2015/08/14/variedad-de-cactus-y-clases-cactus-errores-plantas-flores-cactus>

Sibaris. (2016). *Sibaris*. Obtenido de <https://sibaris.com.mx/blog/la-fruta-borracha-o-guamisha-ingrediente-de-guanajuato>

13. ANEXO: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

BETACIANINAS

ANOVA Multifactorial - CONCENTRACIÓN

Variable dependiente: CONCENTRACIÓN

Factores: Madu Número de casos completos: 8

Método

Órgano

El StatAdvisor

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de varios factores para CONCENTRACIÓN. Realiza varias pruebas y gráficas para determinar qué factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre CONCENTRACIÓN. También evalúa la significancia de las interacciones entre los factores, si es que hay suficientes datos. Las pruebas-F en la tabla ANOVA le permitirán identificar los factores significativos. Para cada factor significativo, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La Gráfico de Medias y la Gráfica de Interacciones le ayudarán a interpretar los efectos significativos. Los Gráficos de Residuos le ayudarán a juzgar si los datos han violado los supuestos subyacentes al análisis de varianza.

Análisis de Varianza para CONCENTRACIÓN - Suma de Cuadrados Tipo III.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GI</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Maduración	16.9907	1	16.9907	7.87	0.0486
B:Método	30.4032	1	30.4032	14.08	0.0199
C:Órgano	23.724	1	23.724	10.98	0.0295
RESIDUOS	8.63979	4	2.15995		
TOTAL (CORREGIDO)	79.7577	7			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

13. ANEXO: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

BETACIANINAS

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de CONCENTRACIÓN en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre CONCENTRACIÓN con un 95.0% de nivel de confianza.

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Madu</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
I	4	3.70622	0.734838	X
M	4	6.6209	0.734838	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
I - M	*	-2.91467	2.88534

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas.

13. ANEXO: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

BETACIANINAS

No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para CONCENTRACIÓN por Método

Método: 95.0 porcentaje LSD

Método	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	4	3.2141	0.734838	X
2	4	7.11302	0.734838	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-3.89893	2.88534

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

13. ANEXO: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

BETACIANINAS

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para CONCENTRACIÓN por Órgano

Método: 95.0 porcentaje LSD

Órgano	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
R	4	3.4415	0.734838	X
P	4	6.88562	0.734838	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
P - R	*	3.44412	2.88534

* indica una diferencia significativa.

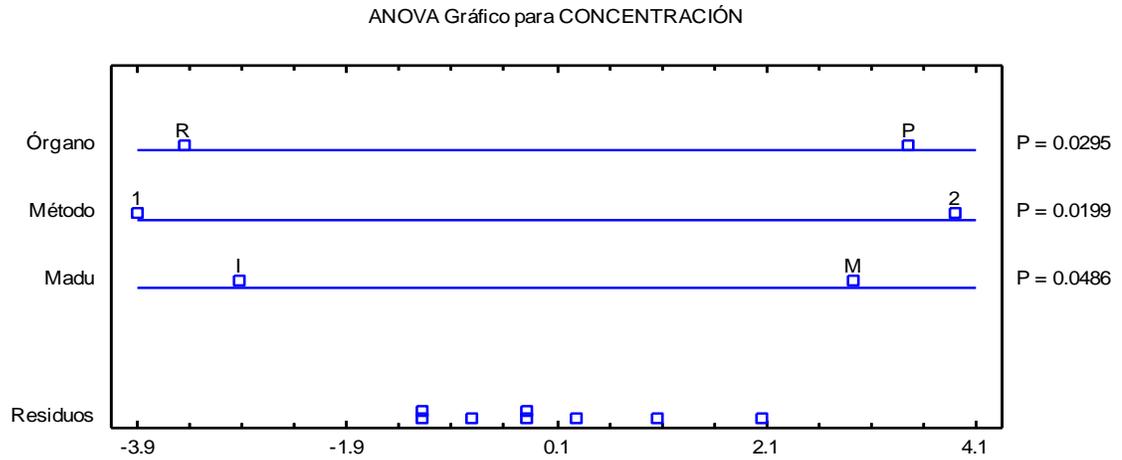
El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

13. ANEXO: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

BETACIANINAS

Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.



13. ANEXO: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

BETAXANTINA

ANOVA Multifactorial - CONCENTRACIÓN

Variable dependiente: CONCENTRACIÓN

Factores: Maduración Número de casos completos: 8

Método

Órgano

El StatAdvisor

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de varios factores para CONCENTRACIÓN. Realiza varias pruebas y gráficas para determinar que factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre CONCENTRACIÓN. También evalúa la significancia de las interacciones entre los factores, si es que hay suficientes datos. Las pruebas-F en la tabla ANOVA le permitirán identificar los factores significativos. Para cada factor significativo, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuales medias son significativamente diferentes de otras. La Gráfico de Medias y la Gráfica de Interacciones le ayudarán a interpretar los efectos significativos. Las Gráficos de Residuos le ayudarán a juzgar si los datos han violado los supuestos subyacentes al análisis de varianza.

Análisis de Varianza para CONCENTRACIÓN - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Madu	0.648888	1	0.648888	3.24	0.1464
B:Método	2.59578	1	2.59578	12.94	0.0228
C:Órgano	13.723	1	13.723	68.43	0.0012
RESIDUOS	0.802145	4	0.200536		
TOTAL (CORREGIDO)	17.7699	7			

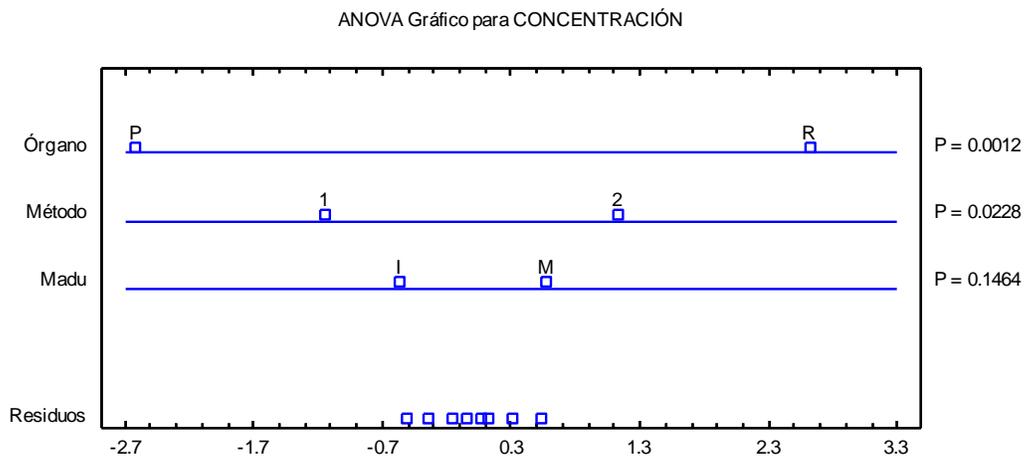
Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

13. ANEXO: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

BETAXANTINA

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de CONCENTRACIÓN en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre CONCENTRACIÓN con un 95.0% de nivel de confianza.



Pruebas de Múltiple Rangos para CONCENTRACIÓN por Maduración

Método: 95.0 porcentaje LSD

Madu	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
I	4	3.21363	0.223906	X
M	4	3.78323	0.223906	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
I - M		-0.5696	0.879168

* indica una diferencia significativa.

13. ANEXO: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

BETAXANTINA

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para CONCENTRACIÓN por Método

Método: 95.0 porcentaje LSD

Método	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	4	2.9288	0.223906	X
2	4	4.06805	0.223906	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-1.13925	0.879168

* indica una diferencia significativa.

13. ANEXO: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

BETAXANTINA

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para CONCENTRACIÓN por Órgano

Método: 95.0 porcentaje LSD

Órgano	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
P	4	2.1887	0.223906	X
R	4	4.80815	0.223906	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
P - R	*	-2.61945	0.879168

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.