



**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CELAYA**

**DEPARTAMENTO DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**“DETERMINACIÓN DE LOS CAMBIOS ORIGINADOS POR LOS PROCESOS DE ASADO Y FREÍDO DEL NOPAL VERDURA (*Opuntia ficus-indica*) SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
Maestro en Ciencias en Ingeniería Bioquímica**

**PRESENTA:**

**IBQ. Jocelyn Blanca Esthela Hernández Castillo**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**Dr. Leopoldo González Cruz**

**CO-DIRECTOR DE TESIS:**

**Dra. Aurea Benardino Nicanor**



"2015, Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón"

Celaya, Gto., [REDACTED]

INGENIERÍA BIOQUÍMICA

No. de Oficio PIBQ-04-01-2015

ING. TERESA SÁNCHEZ PÉREZ  
JEFA DEL DEPTO. DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA  
P R E S E N T E.

De acuerdo con la convocatoria hecha por la jefatura a su digno cargo, con el fin de determinar la aprobación de impresión del proyecto de maestría titulado:

"DETERMINACIÓN DE LOS CAMBIOS ORIGINADOS POR LOS PROCESOS DE ASADO Y FREÍDO DEL NOPAL VERDURA (*Opuntia ficus-indica*) SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES"

Presentado por el (la) pasante: C. IBQ. Jocelyn Blanca Esthela Hernández Castillo, comunicamos a Usted que esta Comisión Revisora ha tenido a bien aprobar la impresión de este trabajo.

Dr. Leopoldo González Cruz  
Presidente

Dra. Aurea Bernardino Nicanor  
Secretario

Dr. Eloy Conde Barajas  
Vocal

Dr. Santiago Filardo Kerstupp  
Asesor Externo



SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA  
INSTITUTO TECNOLÓGICO  
DE CELAYA  
POSGRADO ING. BIOQUÍMICA

Vo.Bo.

M.C SANDRA HERRERA PÉREZ  
COORDINADORA DEL POSGRADO  
DE ING. BIOQUÍMICA



## Índice

Índice de figuras	V
Índice de tablas	VII
Resumen	IX
Abstract	X
Introducción	1
Capítulo I. Antecedentes	2
1.1 Características generales del nopal	2
1.1.1 Morfología	2
1.1.2 Metabolismo	2
1.1.3 Usos	3
1.2 Nopal verdura ( <i>Opuntia ficus-indica</i> )	4
1.2.1 Taxonomía	5
1.2.2 Producción	6
1.2.2.1 Mundial	6
1.2.2.2 Nacional	7
1.2.3 Composición química del cladodio	8

1.2.3.1 Compuestos con propiedades nutraceuticas	10
1.2.3.1.1 Compuestos fenolicos	12
1.2.3.1.1.1 Función biológica	15
1.2.3.1.1.2 Biodisponibilidad	16
1.2.3.1.2 Vitamina C	17
1.2.3.1.3 Carotenoides	18
1.2.3.1.3.1 Biosíntesis	19
1.2.3.1.3.2 Función biológica	20
1.2.3.1.3.3 Biodisponibilidad	21
1.2.3.2 Efecto de los tratamientos térmicos sobre los compuestos nutraceuticos	21
1.2.3.2.1 Fenoles totales	22
1.2.3.2.2 Vitamina C	22
1.2.3.2.3 Carotenoides	23
Justificación	24
Objetivos	25
General	25
Específicos	25

Capítulo II. Materiales y métodos	26
2.1 Material biológico	26
2.1.1 Acondicionamiento de la muestra	26
2.1.2 Determinación de la pérdida de peso por efecto del tratamiento térmico	26
2.1.3 Tratamientos térmicos	26
2.1.3.1 Asado	27
2.1.3.2 Freído	27
2.1.4 Determinación de actividad antioxidante	27
2.1.5 Concentración de fenoles totales	28
2.1.6 Análisis de datos	28
Capítulo III. Resultados y discusión	30
3.1 Pérdida de peso por efecto del tratamiento térmico	30
3.2 Efecto del tratamiento térmico sobre la actividad antioxidante	32
3.2.1 Efecto del tiempo de tratamiento sobre la actividad antioxidante (asado)	32
3.2.2 Efecto del tiempo de tratamiento sobre la actividad antioxidante (freído)	36
3.3 Efecto del tratamiento térmico sobre la concentración de fenoles totales	40
3.3.1 Efecto del tiempo de tratamiento sobre la concentración de fenoles totales (asado)	40

3.3.2 Efecto del tiempo de tratamiento sobre la concentración de fenoles totales (freído)	43
Conclusiones	47
Bibliografía	48
Anexos	58
A) Preparación de DPPH	58
B) Curva de calibración para actividad antioxidante	60
C) Preparación de ácido gálico	61
D) Curva de calibración para concentración de fenoles totales	65
E) Cálculos para concentración de fenoles totales	66
F) Análisis estadístico	69

## Índice de figuras

Figura 1.1 Morfología del nopal	2
Figura 1.2 Metabolismo CAM	3
Figura 1.3 Nopal verdura ( <i>Opuntia ficus-indica</i> )	5
Figura 1.4 Ruta de biosíntesis de compuestos fenólicos.	13
Figura 1.5 Estructura base de los flavonoides	14
Figura 1.6 Estructura base de los ácidos fenólicos	14
Figura 1.7 Compuestos fenólicos presentes en el cladodio de nopal verdura	16
Figura 1.8 Oxidación del ácido ascórbico	18
Figura 1.9 Ruta de biosíntesis de carotenoides	20
Figura 1.10 Estructura de la vitamina A	21
Figura 3.1 Gelificación de las pectinas	30
Figura 3.2 Cambios durante el proceso de freído	31
Figura 3.3 Efecto del asado sobre la actividad antioxidante	34
Figura 3.4 Tipos de interacciones entre compuestos fenólicos y fibra dietaria	35
Figura 3.5 Posible interacción entre pectina y beta-caroteno	35
Figura 3.6 Efecto del freído sobre la actividad antioxidante	38

Figura 3.7 Efecto del asado sobre la concentración de fenoles totales	43
Figura 3.8 Efecto del freído sobre la concentración de fenoles totales	45

## Índice de tablas

Tabla 1.1 Principales usos del nopal o sus componentes	4
Tabla 1.2 Producción mundial de nopal	7
Tabla 1.3 Producción de nopal verdura en México	8
Tabla 1.4 Componentes químicos del cladodio de nopal	9
Tabla 1.5 Factores relacionados con la biodisponibilidad de compuestos fenólicos	17
Tabla 1.6 Reacciones de degradación de vitaminas	23
Tabla 3.1 Pérdida de peso por efecto del asado	30
Tabla 3.2 Pérdida de peso por efecto del freído	31
Tabla 3.3 Efecto del tiempo de asado a 75° C sobre la actividad antioxidante	32
Tabla 3.4 Efecto del tiempo de asado a 100° C sobre la actividad antioxidante	33
Tabla 3.5 Efecto del tiempo de asado a 125° C sobre la actividad antioxidante	33
Tabla 3.6 Efecto del tiempo de freído a 75° C sobre la actividad antioxidante	37
Tabla 3.7 Efecto del tiempo de freído a 100° C sobre la actividad antioxidante	37
Tabla 3.8 Efecto del tiempo de freído a 125° C sobre la actividad antioxidante	38
Tabla 3.9 Efecto del tiempo de asado a 75° C sobre la concentración de fenoles totales	40
Tabla 3.10 Efecto del tiempo de asado a 100° C sobre la concentración de fenoles totales	41

Tabla 3.11 Efecto del tiempo de asado a 125° C sobre la concentración de fenoles totales 42

Tabla 3.12 Efecto del tiempo de freído a 75° C sobre la concentración de fenoles totales 43

Tabla 3.13 Efecto del tiempo de freído a 100° C sobre la concentración de fenoles totales 44

Tabla 3.14 Efecto del tiempo de freído a 125° C sobre la concentración de fenoles totales 44

## Resumen

El nopal (*Opuntia ficus-indica*) ha sido utilizado en México como alimento desde la época prehispánica, en la actualidad su consumo per cápita es de 10 a 17 g\*día<sup>-1</sup>, consumiéndolo de distintas formas (hervido, asado, frito o crudo), sin embargo, en su composición química se han reportado concentraciones significativas de compuestos fenólicos, vitamina C y carotenoides, responsables de la actividad antioxidante que presenta este vegetal, la cual, puede ser afectada por los tratamientos térmicos a los que el nopal es sometido tradicionalmente para su consumo y considerando que el asado y freído son los más comunes, se evaluaron los cambios en la concentración de dichos compuestos y su efecto sobre la actividad antioxidante; para evaluar los cambios originados en el nopal por efecto de los tratamientos térmicos, estos se sometieron a los procesos de asado y freído, utilizando tres temperaturas (75, 100 y 125° C) con diferentes tiempos de tratamiento (5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos) considerando al nopal fresco como control.

Los resultados indicaron que existe un incremento de la actividad antioxidante y de la extractibilidad de fenoles totales en los nopales asados de 61 y 62 %, respectivamente con respecto al nopal fresco, contrario a las muestras fritas, en las cuales se genera un decremento de 25 y 54 %, respectivamente, con respecto al control; el incremento del tiempo en ambos tratamientos genera un aumento en la actividad antioxidante hasta los 25 minutos, posterior a este tiempo existe una disminución de 7.1 y 4.9 % en las muestras asadas y fritas respectivamente; el mismo efecto de incremento de la extractibilidad de fenoles totales se observa al aumentar el tiempo de tratamiento, a partir de los 20 minutos.

Los resultados obtenidos sugieren que debido a los procesos de asado y freído, se generan cambios en la matriz del nopal, los cuales facilitan la liberación de compuestos fenólicos conjugados en el caso del nopal asado, favoreciendo su degradación, por lo que aparentemente, la actividad antioxidante proviene de otros compuestos (carotenoides), por otra parte, durante el proceso de freído, la presencia del aceite facilita aparentemente la solubilización y degradación de carotenoides y flavonoides.

## **Abstract**

Nopal (*Opuntia ficus-indica*) has been used in Mexico as food since prehispanic times, in actuality, its consumption per capita is of 10-17 g\*day<sup>-1</sup>, consuming it in different ways (boiled, roasted, fried or raw), however, in its chemical composition have been reported significant concentrations of phenolic compounds, vitamin C and carotenoids, responsible for the antioxidant activity presented by this vegetable, which, can be affected by thermal treatments, to which the nopal is traditionally subjected for consumption, and considering that, roasting and frying are the most common, were evaluated the changes in the concentration of such compounds and their effect on the antioxidant activity; to evaluate the changes in the nopal caused by the effect of thermal treatments, these were subjected to the processes of roasting and frying, using three temperatures (75, 100 and 125° C), with different treatment times (5, 10, 15, 20, 25 and 30 minutes) considering to the fresh nopal as a control.

The results indicated that there is an increase in antioxidant activity and total phenolics in roasted nopales of 61 and 62 %, respectively with respect to fresh nopal, contrary to fried nopal, in which, a decrease of 25 and 54 %, respectively, is generated, relative to the control; the increase in time for both treatments generates an increase in antioxidant activity up to 25 minutes, after this time, there is a decrease of 7.1 and 4.9 % in roasted and fried samples, respectively; the same effect of increasing in the extractability of total phenolics is observed with increasing treatment time, from 20 minutes.

The results obtained suggest that due to the processes of roasting and frying, are generated changes in the matrix of nopal, which facilitate the release of phenolic compounds conjugated in the case of roasted nopal, favoring its degradation, therefore, apparently, antioxidant activity comes of other compounds (carotenoids). On the other hand, during the frying process, the presence of oil apparently facilitates solubilization and degradation of carotenoids and flavonoids.

## Introducción

El nopal (*Opuntia* spp.) es una planta perteneciente a la familia de las cactáceas que ha sido utilizada en México desde la época prehispánica como alimento o con fines medicinales, además, forma parte de la identidad de los mexicanos al tratarse de un símbolo fundamental en la historia de México (Tenochtitlán: lugar donde está el nopal silvestre), en la actualidad, está presente en dos símbolos patrios, el escudo Nacional y la bandera de México. Económicamente, su importancia radica en el hecho de que México cuenta con la mayor superficie destinada para la producción de nopal, con un total de 3,227,500 ha, siendo la región semiárida central de México, la zona de mayor diversidad de estos especímenes, los cuales, se caracterizan por su adaptación a climas extremos y su alta producción de tallos tiernos comestibles o cladodios jóvenes, que se consumen como vegetales, del gran número de especies productoras de nopal tierno, la especie *ficus-indica* es la que actualmente destaca por la superficie de cultivo, siendo México el principal productor, al contar con el 98 % del total de la superficie destinada para su producción. Se considera un alimento básico en la dieta de los mexicanos, alcanzando en la actualidad un consumo per cápita de 10-17 g\*día<sup>-1</sup> (Bensadón *et al.*, 2010; Hernández-Cruz y Paredes-López, 2010; Scheinvar *et al.*, 2009).

Se ha reportado que en el cladodio de nopal se encuentran compuestos fenólicos, vitamina C y carotenoides, los cuales presentan propiedades nutraceuticas debido a su actividad antioxidante, la cual, proporciona beneficios a la salud, permitiendo la prevención y tratamiento de algunas enfermedades como diabetes y cáncer, por lo que su demanda ha aumentado en los últimos años. Sin embargo, se ha observado que al someter los alimentos a tratamientos térmicos, se generan modificaciones en la concentración de dichos compuestos (Ramírez-Moreno *et al.*, 2013; Gülçin, 2012; Jaramillo-Flores *et al.*, 2003).

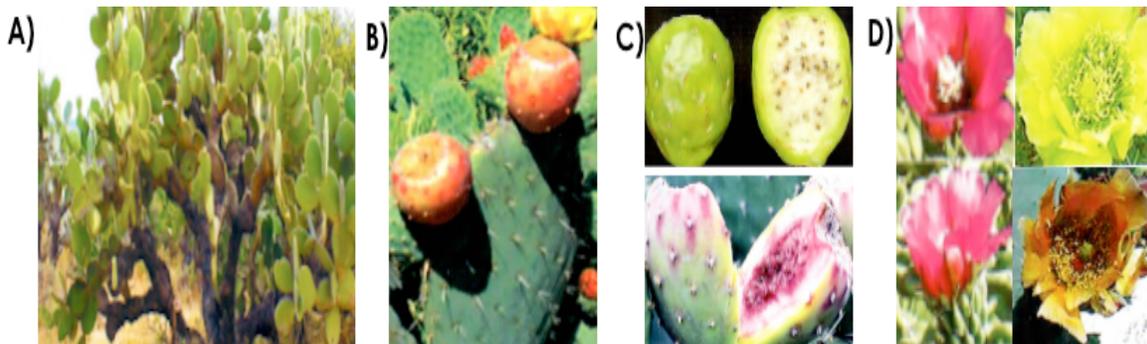
Por esta razón y considerando que en los últimos años el consumo de alimentos con compuestos antioxidantes ha generado gran interés por los beneficios que proporcionan en la salud, el estudio del nopal es relevante, tanto en fresco como sometido a tratamientos térmicos, para determinar los cambios en la actividad antioxidante después de someterlo a los distintos procesos y establecer condiciones adecuadas para su tratamiento.

## Capítulo I. Antecedentes

### 1.1 Características generales del nopal

#### 1.1.1 Morfología

El nopal es una planta perenne suculenta arborescente, puede crecer en forma rastrera o arbustiva; como árbol alcanza hasta 5 metros de altura y se caracterizan por presentar un tronco leñoso con tallos llamados cladodios, los cuales son planos de color verde opaco. Sobre ambas caras de los cladodios se presentan areolas características de la familia de las cactáceas, formadas por tricomas o pelos vegetales y espinas de color blanco. Los cladodios producen flores hermafroditas, generalmente de color rojo, blanco o amarillo. El fruto es llamado tuna, se encuentra en diversos tamaños y colores (amarillo, rojo o verde), pudiendo ser ácidas o dulces (Figura 1.1) (Boutakiout *et al.*, 2015; FND, 2011; Guevara-Figueroa *et al.*, 2010).



**Figura 1.1** Morfología del nopal. A) Planta, B) Cladodio, C) Fruto, D) Flor. Adaptada de Sheinvar *et al.*, 2009

#### 1.1.2 Metabolismo

El nopal es una planta con alta capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales, principalmente a zonas áridas y semiáridas, por lo que se ha considerado un alimento importante para estas regiones, debido a la baja disponibilidad de recursos hídricos, la ventaja ecológica de crecimiento del nopal en todo el mundo se atribuye a su metabolismo CAM (Metabolismo Ácido de las Crasuláceas) (Figura 1.2), lo que les permite conservar una mayor concentración de agua mediante el intercambio de gases en una atmósfera relativamente fresca durante la noche (Temperatura promedio de 12 a 16° C),

momento en el que los estomas se abren y, a través de ellos capta  $\text{CO}_2$ , el cual es incorporado como oxalacetato (OAA) vía carboxilación del fosfoenolpiruvato (PEP), y posteriormente es reducido a ácido málico, el cual se almacena en vacuolas intracelulares. Durante el día (Temperatura promedio de 20 a 27° C), la luz genera que los estomas se cierren, el ácido málico se libera de las vacuolas, se descarboxila para sintetizar ribulosa 1,5-difosfato (RuBP) y gliceraldehído 3-fosfato (G3P), los cuales se incorporan al ciclo de Calvin. A partir del gliceraldehído 3-fosfato se sintetiza glucosa en el citosol y almidón en los cloroplastos, lo que ocasiona que la acidez del nopal fluctúe durante el día, modificando su sabor al generar valores de mayor intensidad por la mañana y menor acidez durante la tarde, por esta razón su cosecha se realiza de 5:00 a 7:00 a.m. (Osorio-Córdoba *et al.*, 2011; Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Sang-Lee, 2010).

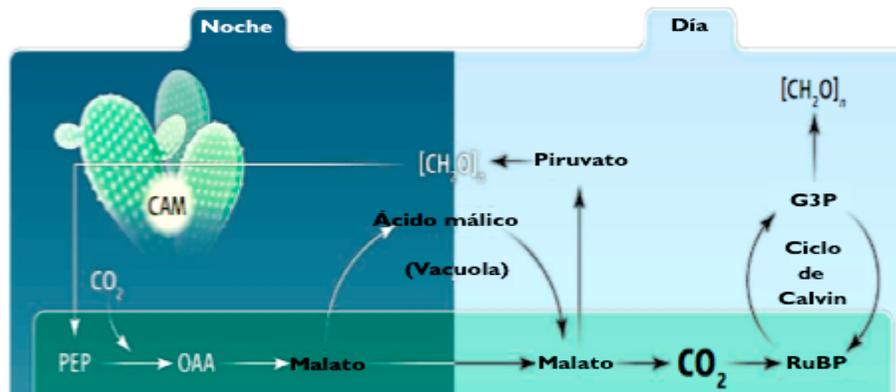


Figura 1.2 Metabolismo CAM. Adaptada de West-Eberhard *et al.*, 2011

### 1.1.3 Usos

El nopal tiene diversos usos según la parte que se utilice (cladodio joven, cladodio maduro, mucílago o fruto), los principales se encuentran indicados en la Tabla 1.1. Se consideran cladodios jóvenes aquellos que se encuentran entre 3 y 4 semanas de edad, son consumidos como verdura, ya sea en fresco o sometidos a tratamientos térmicos (posteriores a la remoción de espinas, lavado y troceado) como el asado, freído, hervido o como mermelada (Ramírez-Moreno *et al.*, 2013; González-Cruz *et al.*, 2012; Hernández-Urbiola *et al.*, 2010; López-Callejas *et al.*, 2009; Jaramillo-Flores *et al.*, 2003).

Los cladodios maduros son utilizados como forraje y como sustrato para la producción del pigmento carmín. El mucílago extraído de los cladodios se utiliza para la elaboración de

aderezos tipo mayonesa, además como adherente de pinturas, clarificador de agua y conservador de suelo. El fruto, al igual que los cladodios jóvenes, es consumido tanto en fresco como procesado, principalmente como mermeladas y dulces (Bernardino-Nicanor *et al.*, 2015; Corrales-García, 2011; López-Callejas *et al.*, 2009).

Las principales especies utilizadas para la producción de nopal verdura son *O. ficus-indica*, *O. robusta* y *O. Leucotricha*; para obtener forraje se utilizan *O. robusta* y *O. leucotricha*, como sustrato para grana cochinilla es empleada *O. Cochinillifera*, mientras que el fruto es obtenido de especies cultivadas como *O. ficus-indica*, *O. amyclaea*, *O. joconostle*, *O. megacantha* y *O. Streptacantha*, así como a partir de especies silvestres como *O. hypticantha*, *O. leucotricha* y *O. robusta* (FND, 2011).

**Tabla 1.1** Principales usos del nopal o sus componentes

Parte	Uso	Especie
Cladodio joven	Consumo de nopal verdura en fresco y procesado (asado, frito, hervido, mermeladas, dulces, etc.)	<i>O. ficus-indica, robusta</i> <i>Leucotricha</i>
	Elaboración de jugos y bebidas alcohólicas	
	Materia prima en la industria cosmetológica para la producción de acondicionador, champú, crema, etc.	
	Materia prima en la industria farmacéutica para la producción de cápsulas y polvos utilizados como alimento funcional	
Cladodio maduro	Forraje	<i>O. robusta</i>
	Sustrato para producción del pigmento carmín	<i>O. cochinillifera</i>
Mucilago	Aderezo tipo mayonesa	<i>O. robusta</i>
	Adherente de pinturas	<i>O. ficus-indica</i>
	Clarificador de agua	
	Conservador de suelo	
Fruto	Consumo de tuna en fresco y procesada (mermeladas, dulces, etc.)	<i>O. ficus-indica, joconostle, robusta</i>

(Bernardino-Nicanor *et al.*, 2015; Ramírez-Moreno *et al.*, 2013; González-Cruz *et al.*, 2012; Corrales-García, 2011; FND, 2011; Hernández-Urbiola *et al.*, 2010; López-Callejas *et al.*, 2009; Jaramillo-Flores *et al.*, 2003)

## 1.2 Nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*)

Los cladodios jóvenes de la especie *O. ficus-indica* se utiliza para producir nopal verdura, siendo la especie más difundida y de mayor importancia económica en México, sus cladodios son planos y usualmente elípticos, siendo preferidos por el 70 % de los

consumidores con una longitud entre 12 y 17 cm, aunque pueden alcanzar dimensiones de 27 cm de largo, 14 cm de ancho y 3 cm de espesor, presentan areolas de 2 mm de longitud y espinas blancas de 10 mm de longitud en cladodios maduros de 2 a 3 años de edad, se caracteriza por tener menos espinas que las demás especies (Figura 1.3) (Meraz-Maldonado, 2012; Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Reyes-Agüero *et al.*, 2005).



**Figura 1.3** Nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*)

### 1.2.1 Taxonomía

La familia *Cactaceae* se originó hace aproximadamente 35 millones de años, contiene 130 géneros y cerca de 1800 especies, divididas en 6 subfamilias, siendo las dos principales *Cactoideae* y *Opuntioideae*. La subfamilia *Opuntioideae* comprende al género *Opuntia* y cuatro géneros asociados (*Cumulopuntia*, *Maihueniopsis*, *Pterocactus* y *Puna*) (Kaur *et al.*, 2012; Majure *et al.*, 2012).

El género *Opuntia* se originó en el sureste de Sudamérica, posteriormente se dispersó a los Valles Centrales de los Andes y a la región del desierto occidental de América del Norte (México). En México, el género *Opuntia* se ha cultivado durante al menos 14,000 años, este género se divide en los subgéneros *Cylindropuntias* y *Platyopuntia*. El subgénero *Cylindropuntias* corresponde a especies arbustivas con tallo cilíndrico, mientras que *Platyopuntia* presenta tallos aplanados llamados pencas, incluye especies agrónomicamente importantes que se cultivan para obtención del fruto y forraje (Caruso *et al.*, 2010).

La especie de mayor importancia económica en México es *ficus-indica*, la cual es cultivada tanto para el consumo del fruto (tuna) y para consumo como vegetal (cladodio), se calcula que en México fue domesticada hace aproximadamente 9,000 años (Caruso *et al.*, 2010). Actualmente la clasificación biológica del nopal verdura es la siguiente (Shetty *et al.*, 2011):

Reino:	<i>Plantae</i>
Phylum:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Caryophyllales</i>
Familia:	<i>Cactaceae</i>
Género:	<i>Opuntia</i>
Especie:	<i>ficus-indica</i>
Nombre científico:	<i>Opuntia ficus- indica</i>

## **1.2.2 Producción**

### **1.2.2.1 Mundial**

México cuenta con la mayor superficie destinada para la producción de nopal para diversos usos, con un total de 3,227,510 hectáreas (63.89 %), de las cuales, 227,510 ha corresponden a nopaleras cultivadas y 3,000,000 ha a nopaleras silvestres. De las nopaleras cultivadas, 150,000 ha se utilizan para obtener forraje (pencas), 67,000 ha para producción del fruto (tuna), 10,500 ha para producir nopal verdura (nopalitos) y 10 ha para obtención de colorante (sustrato para grana cochinilla), encontrándose la mayor superficie utilizada para la producción de nopal verdura, equivalente al 98 % del total (Tabla 1.2). El segundo productor a nivel Internacional es Estados Unidos, con un total de 510,450 ha, de las cuales, 200 ha son utilizadas para la producción de nopal verdura, mientras que Brasil se encuentra como el tercer productor, con un total de 500,000 ha (Scheinvar *et al.*, 2009).

**Tabla 1.2** Producción mundial de nopal

País	Nopaleras cultivadas				Total	Nopaleras Silvestre	Superficie Total
	Verdura	Fruta	Forraje	Colorante			
	(ha)						
México	10,500	67,000	150,000	10	227,510	3,000,000	3,227,510
EUA	200	250	10,000		10,450	500,000	510,450
Brasil			500,000		500,000		500,000
Sudáfrica		4,500	350,000	100	354,600		354,600
Norte de África		20,000	250,000		270,000		270,000
Namibia, Mozambique			100,000		100,000		100,000
Perú				70,000	70,000		70,000
Argentina		1,000	10,000	50	11,050		11,050
Chile		1,000	2,000	500	3,500		3,500
Italia		2,500			2,500		2,500
Bolivia				1,000	1,000		1,000
Colombia		500			500		500
Israel		300			300		300
España				300	300		300
<b>SUMAS</b>	<b>10,700</b>	<b>97,050</b>	<b>1,372,000</b>	<b>71,960</b>	<b>1,551,710</b>	<b>3,500,000</b>	<b>5,051,710</b>

(Scheinvar *et al.*, 2009)

### 1.2.2.2 Nacional

Para el año 2014, la producción de nopal verdura en modalidad por riego fue de 139,999 toneladas, siendo el Estado de México el principal productor con 69,961 toneladas (46 %), seguido por Baja California, con una producción de 22,709 toneladas (16 %) y el tercer productor fue Jalisco con 11,243 toneladas (8 %) (SIAP-SAGARPA, 2014).

La producción en modalidad por temporal para el mismo año fue de 646,778 toneladas, siendo el Morelos el principal productor con 326,218 toneladas (50 %), seguido por el Distrito Federal, con una producción de 270,064 toneladas (42 %) y encontrándose en tercer lugar el Estado de México con una producción de 15,737 toneladas (2 %). La producción total de nopal verdura a nivel nacional en el año 2014 fue de 786,776 toneladas (Tabla 1.3) (SIAP-SAGARPA, 2014).

**Tabla 1.3** Producción de nopal verdura en México

Estado	Modalidad		Total
	Riego	Temporal (ton)	
Morelos	112	326,218	326,330
Distrito Federal	0	270,064	270,064
Estado de México	64,961	15,737	80,698
Jalisco	11,243	11,764	23,007
Baja California	22,709	108	22,817
Puebla	240	13,474	13,714
Aguascalientes	10,394	1	10,395
Michoacán	8,233	1,271	9,503
Zacatecas	7,812	952	8,764
Tamaulipas	2,407	4,320	6,727
Guanajuato	4,667	329	4,996
Durango	2,440	160	2,600
Sonora	1,806	0	1,806
Oaxaca	1,134	44	1,178
San Luis Potosí	124	1,011	1,135
Hidalgo	673	127	800
Querétaro	548	0	548
Veracruz	0	449	449
Colima	87	234	321
Baja California Sur	249	0	249
Nayarit	14	220	234
Guerrero	0	157	157
Sinaloa	122	12	134
Tlaxcala	0	126	126
Chihuahua	18	0	18
Nuevo León	6	0	6
<b>Total</b>	<b>139,999</b>	<b>646,778</b>	<b>786,776</b>

(SIAP-SAGARPA, 2014)

### 1.2.3 Composición química del cladodio

La composición del cladodio de nopal depende de la variedad, estado de madurez y condiciones medioambientales, su valor energético promedio es de 27 Kcal por cada 100 gramos, siendo el agua el principal componente de los cladodios jóvenes de nopal verdura, encontrándose en aproximadamente 93.1 % (Tabla 1.4) (Blanco-Macías *et al.*, 2011; Bensadón *et al.*, 2010).

**Tabla 1.4** Componentes químicos del cladodio de nopal

<b>Compuesto</b>	<b>Cantidad (g/100g)</b>
Energía	27.00 Kcal
Humedad	93.1 %
<b>Fibra dietética total</b>	<b>49.3</b>
Fibra insoluble	42.9
Fibra soluble	6.4
Carbohidratos disponibles totales	22.2
<u>Carbohidratos solubles</u>	
Glucosa	5.6
Fructosa	5.6
Sacarosa	2.5
Carbohidratos solubles totales	13.7
Cenizas	18.3
Proteína	13.4
Grasa	1.0
<b>Fenoles totales</b>	<b>1,589.00 µgEAG</b>
<u>Minerales</u>	
Calcio	5.64*
Potasio	2.35*
Sodio	0.40*
Magnesio	0.19*
Hierro	0.14 µg*
<u>Vitaminas</u>	
<b>Vitamina C total</b>	<b>60.48 mg</b>
<b>Ácido ascórbico (C)</b>	<b>22.37 mg</b>
<b>Ácido dehidroascórbico (C)</b>	<b>38.11 mg</b>
<b>Retinol (A)</b>	<b>41.00 mg*</b>
Riboflavina (B <sub>2</sub> )	0.60 mg*
Niacina (B <sub>3</sub> )	0.46 mg*
Tiamina (B <sub>1</sub> )	0.14 mg*
<u>Pigmentos</u>	
<b>Carotenoides</b>	<b>23,180.00 µg</b>
Clorofila	28.70 g

\*= base húmeda.

(Ramírez-Moreno *et al.*, 2013; Jana, 2012; Blanco-Macías *et al.*, 2011; Aguilar-Becerril y Peña-Valdivia, 2006; Jaramillo-Flores *et al.*, 2003)

Los cladodios jóvenes de nopal verdura contienen 49.3 g de fibra dietética total por cada 100 gramos en base seca, de la cual, 42.9 g corresponden a fibra insoluble y 6.4 g de fibra

soluble, durante su edad temprana es una fuente rica de fibra soluble y para edades avanzadas incrementa su contenido de fibra insoluble (Hernández-Urbiola *et al.*, 2010).

El mucílago encontrado en los cladodios de nopal verdura se encuentra formado por L-arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa, D-Xilosa y ácido galacturónico. Los procesos térmicos modifican las propiedades fisicoquímicas de la fibra dietética y por lo tanto su función (Kaur *et al.*, 2012).

El contenido de carbohidratos disponibles totales es de 22.2 g, de los cuales, 13.7 g corresponden a carbohidratos solubles, encontrándose 5.6 g de glucosa, 5.6 g de fructosa y 2.5 g de sacarosa. Con respecto a cenizas, proteínas y grasa contiene 18.3, 13.4 y 1.0 g/100 g, respectivamente (Ramírez-Moreno *et al.*, 2013).

Respecto a los compuestos nutraceuticos, Jaramillo-Flores *et al.*, en el año 2003 reportaron una concentración de compuestos fenólicos de 1,589 µgEAG por cada gramo de nopal en base seca, por otra parte se ha reportado la presencia de pigmentos como clorofila y carotenoides en concentraciones significativas, respecto a la clorofila, Aguilar-Becerril y Peña-Valdivia en el año 2006 reportaron una concentración de 19.6 mg de clorofila en la colénquima y 9.1 mg en la parénquima por cada 100 g de nopal fresco, en el año 2003, Jaramillo-Flores *et al.*, reportaron una concentración de carotenoides de  $23,180 \pm 19.3$  µg por cada 100 g de producto en base seca.

Con relación a otros microelementos, el nopal representa una fuente importante de minerales, ya que contiene 5.64 g de calcio, 2.35 g de potasio, 0.40 g de sodio, 0.19 g de magnesio y 0.14 µg de hierro por cada 100 g de cladodio en base húmeda. En su composición de encuentran 60.48 mg/100 g de vitamina C, de lo cuales, 22.37 mg corresponden a ácido ascórbico y 38.11 mg a ácido dehidroascórbico. Contiene 41 mg/100g de vitamina A y vitaminas B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y B<sub>1</sub> en concentraciones menores (0.60, 0.46 y 0.14 mg/100 g respectivamente) (Jana, 2012; Blanco-Macías *et al.*, 2011).

### **1.2.3.1 Compuestos con propiedades nutraceuticas**

Los compuestos nutraceuticos se caracterizan por proporcionar protección al organismo contra enfermedades, generando un beneficio extra a la salud, incluyendo prevención y tratamiento de enfermedades, además del valor nutricional básico del alimento; dentro de esta clasificación se encuentran los compuestos que presentan actividad antioxidante, de los

cuales se han encontrado compuestos fenólicos, vitamina C y carotenoides en los cladodios de nopal verdura (Ramírez-Moreno *et al.*, 2013; Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011; Jaramillo-Flores *et al.*, 2003).

Es sabido que la oxidación consiste en la transferencia de electrones de un átomo a otro, forma parte esencial del metabolismo generador de energía en el cuerpo humano, siendo el oxígeno el último aceptor en la cadena de transporte de electrones; cuando el flujo de electrones es desacoplado se generan especies químicas con uno o más electrones no apareados, llamados radicales libres, oxidantes o pro-oxidantes; los radicales libres centrados en oxígeno son conocidos como especies reactivas de oxígeno (ERO), dentro de las cuales se encuentran los radicales superóxido, hidroxilo, peróxido, alcoxi y óxido nítrico (Gülçin, 2012).

Las ERO son producidas continuamente a partir de funciones normales del uso del organismo como la respiración y algunas funciones inmunes, también pueden ser generadas por diversos factores ambientales a los cuales estamos comúnmente expuestos como contaminación, radiación y tabaquismo; tienen la capacidad de generar estrés oxidativo en el cuerpo humano, ya que propician el desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes, a favor de los oxidantes. Si los radicales libres no son neutralizados efectivamente por los constituyentes celulares, pueden desarrollar una reacción en cadena, produciendo daño celular en proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos, por lo que se pueden generar mutaciones en el ADN, lo que conlleva al surgimiento de enfermedades como cáncer, diabetes, enfermedades cardíacas, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, hipertensión y envejecimiento, entre otras (Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011).

Sin embargo existen sustancias antioxidantes, las cuales tienen la capacidad de evitar o retrasar significativamente la oxidación de un sustrato oxidable, cuando se encuentra en concentraciones bajas en comparación con el sustrato, por lo que protegen al cuerpo humano, animal y a las células de las plantas contra los efectos dañinos de los radicales libres, al reducir de manera eficiente un pro-oxidante con la formación simultánea de productos no tóxicos o de baja toxicidad, retardando el deterioro de los alimentos y productos farmacéuticos durante su procesamiento y almacenamiento (Gülçin, 2012; Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011).

A partir de estas bases se utiliza el término actividad antioxidante para determinar la velocidad de una reacción entre un oxidante y un antioxidante específicos, la cual depende de las características estructurales de los compuestos, de la concentración, temperatura, luz, tipo de sustrato, estado físico del sistema, así como de numerosos microcomponentes que actúan como pro-oxidantes o sinergistas (Gülçin, 2012).

El cuerpo humano ha desarrollado sistemas de defensa para hacer frente al estrés oxidativo, sin embargo, en los últimos años se ha demostrado que antioxidantes exógenos obtenidos a partir de los alimentos son esenciales para la resistencia, por lo que en los últimos años se ha generado una tendencia global por el consumo de alimentos con compuestos antioxidantes por parte de los consumidores, por lo que existe un gran interés por parte de las compañías procesadoras de alimentos, farmacéuticas e industrias de cosméticos por identificar alternativas naturales y fuentes seguras de alimentos naturales de origen vegetal, ya que se ha asociado el consumo de frutas y vegetales con la reducción del riesgo de enfermedades crónicas, por lo que los antioxidantes son incluso agregados a los alimentos (Gülçin, 2012; Cardoso-Silva *et al.*, 2010; Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Materska, 2010).

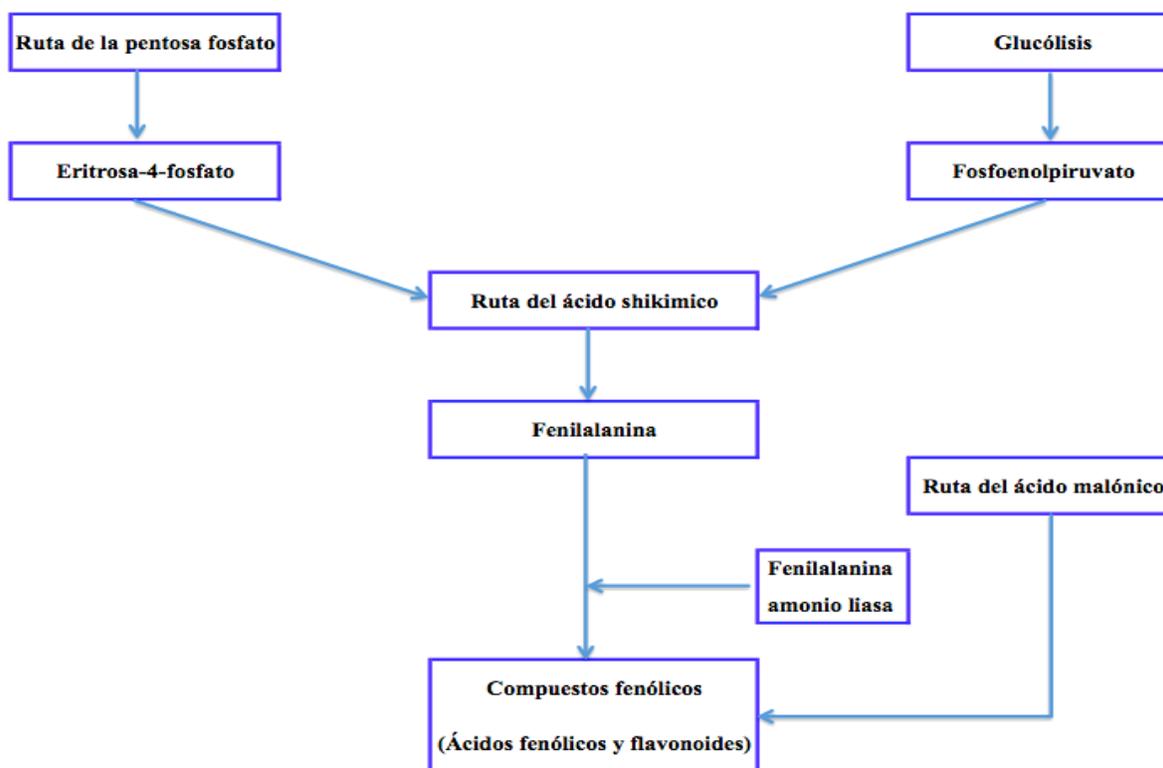
#### **1.2.3.1.1 Compuestos fenólicos**

Los fenoles son un grupo de más de 8,000 compuestos que caracterizan por tener una estructura de por lo menos un anillo aromático con grupos hidroxilo como sustituyentes, son clasificados en flavonoides (polifenoles, compuestos con más de un anillo) y no flavonoides (fenoles simples o ácidos fenólicos, con un solo anillo), se sintetizan a través de la vía del ácido shikímico (Figura 1.4), la cual inicia con la unión de fosfoenolpiruvato y eritrosa-4-fosfato para generar el anillo aromático base con un grupo carboxilo y tres sustituyentes hidroxilo (Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011; Cardoso-Silva *et al.*, 2010; Khadem y Marles, 2010).

Actúan en las plantas como metabolitos secundarios, ya que cumplen funciones no esenciales para su crecimiento, reproducción, fotosíntesis y otros procesos primarios, sin embargo, son producidos como respuesta a factores medioambientales, tales como protección contra rayos UV, contaminación y disminución de temperatura, proporcionan color, textura y sabor a las plantas, están involucrados en el proceso de resistencia a enfermedades, ya que los flavonoides generan un sabor en la planta utilizado como

mecanismo de defensa natural contra insectos depredadores, hongos, virus y bacterias, que a su vez atrae insectos que facilitan la dispersión de semillas y la polinización y tienen un papel importante como antioxidantes (Cartea *et al.*, 2011; Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011; Khadem y Marles, 2010).

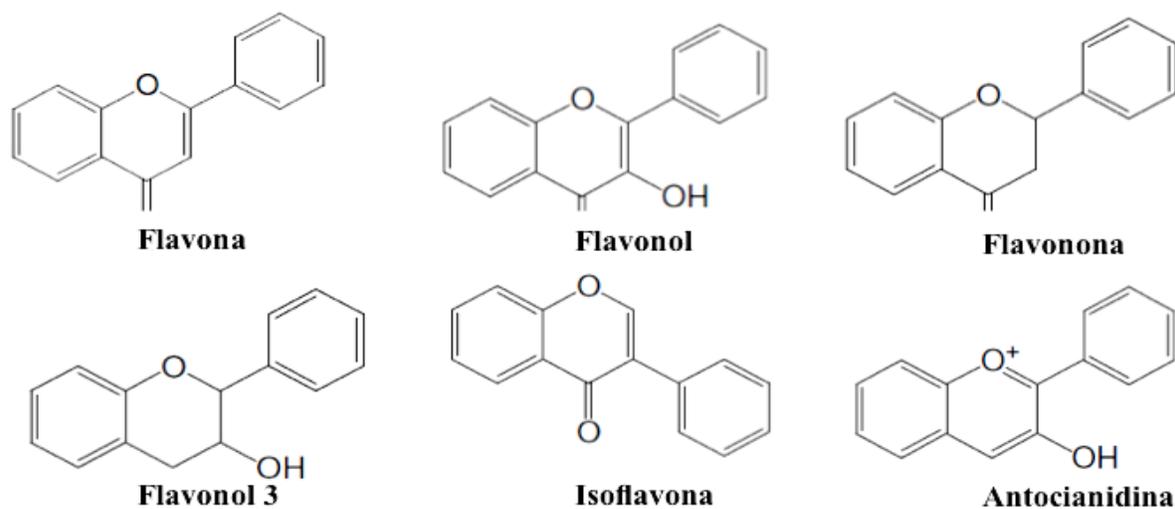
Se pueden encontrar tanto libres como unidos a la pared celular, generalmente se unen a azúcares ó ácidos orgánicos, también pueden almacenarse en vacuolas; no son estables cuando se exponen a oxidación o a la luz, por lo que interactúan con pectinas de bajo metoxilo (Jantrawut *et al.*, 2013).



**Figura 1.4** Ruta de biosíntesis de compuestos fenólicos. Adaptada de Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011

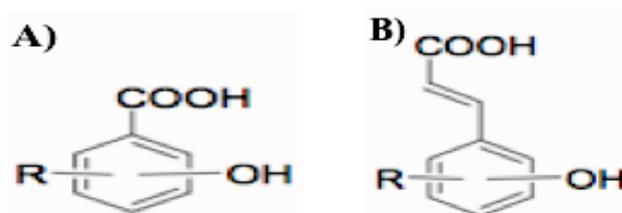
Se han identificado alrededor de 6,000 flavonoides, los cuales se caracterizan por tener una estructura base C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> que consiste en dos anillos aromáticos y un anillo heterocíclico, el cual contiene un átomo de oxígeno; están presentes en la epidermis de las hojas y de los frutos, encontrándose principalmente acumulados en las vacuolas; son moléculas apolares, en su mayoría lipofílicas que pueden interactuar con proteínas a través de interacciones hidrófobas o hidrofílicas, lo que lleva a la formación de complejos solubles o insolubles, modificando las propiedades de los componentes individuales y por lo tanto, su

biodisponibilidad y actividad antioxidante. Se clasifican en seis grupos: flavonas (luteonina), flavonoles (quercitrina, kaempferol, miricetina, isoharmnetina, taxifolina), flavonoides (rutina), flavon-3-oles, isoflavonas y antocianidinas (Figura 1.5) (Bandyopadhyay *et al.*, 2012; Cartea *et al.*, 2011; Materska, 2010).



**Figura 1.5** Estructura base de los flavonoides. Modificada de Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011

Los ácidos fenólicos se clasifican en ácidos hidroxibenzóicos, que se caracterizan por tener una estructura base C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> (ácido gálico, protocatéuico, *p*-hidroxibenzóico, siríngico, isovanílico y salicílico) y ácidos hidroxicinámicos, que presentan una estructura C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> (ácido clorogénico, *p*-cumárico, ferúlico, *trans-m*-cumárico, y *trans*-cinámico); al contener grupos carboxilo son hidrofílicos (Figura 1.6) (Khadem y Marles, 2010; Materska, 2010).



**Figura 1.6** Estructura base de los ácidos fenólicos: A) Ácidos hidroxibenzóicos, B) Ácidos hidroxicinámicos. Tomada de Khadem y Marles, 2010

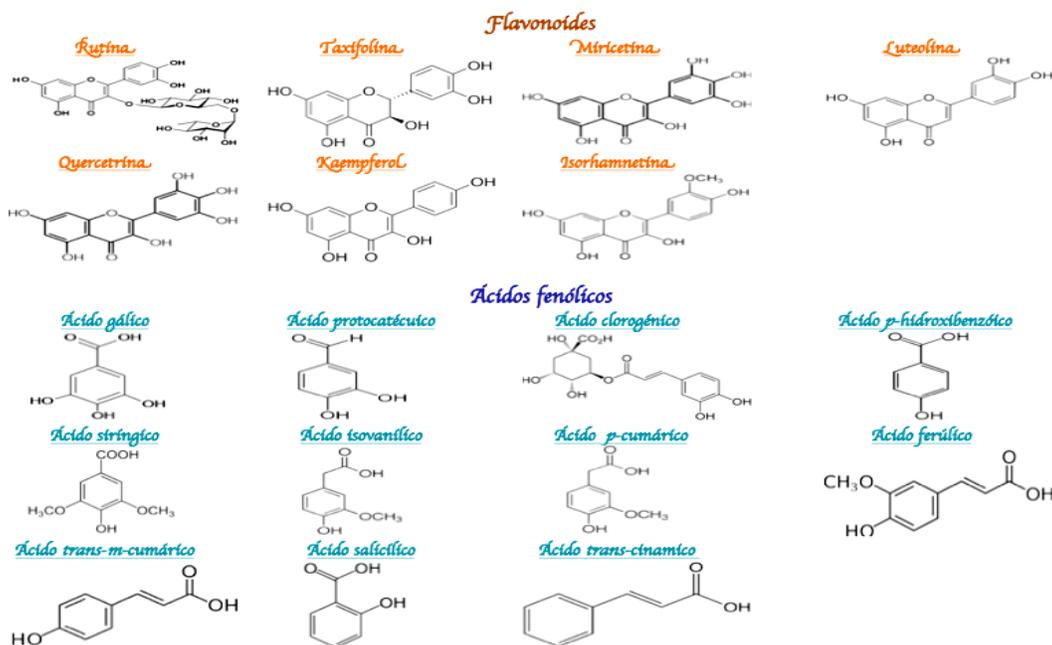
Los compuestos fenólicos tienen la habilidad de absorber oxidantes debido a la presencia de grupos hidroxilo; los factores que influyen sobre dicha actividad incluyen la cantidad y posición de los grupos hidroxilo, polaridad, solubilidad y estabilidad de cada compuestos

durante el procesamiento de los alimentos; es sabido que entre mayor sea la cantidad de grupos hidroxilo, mayor será su actividad ya que la presencia de tres grupos hidroxilo en el anillo fenil de los ácidos fenólicos o en el anillo B de los flavonoides generan una mayor actividad antioxidante, los compuestos con grupos hidroxilo en las posiciones *orto* y *para* presentan mayor actividad antioxidante, mientras que la posición *meta* tiene un efecto bastante limitado, de igual manera, la presencia y posición de grupos carbonilo aumenta su actividad antioxidante, además es sabido que la actividad de los ácidos cinámicos es mayor que la de los ácido benzóicos debido a que el grupo carbonilo se encuentra separado del anillo aromático; los flavonoides presentan mayor actividad antioxidante que los ácidos fenólicos, sin embargo, los compuestos fenólicos también pueden actuar como pro-oxidantes en sistemas que contienen oxígeno y iones metálicos como cobre y hierro (Bartosz, 2014; Gülçin, 2012; Cartea *et al.*, 2011; Siger *et al.*, 2008).

En cladodios de nopal verdura se han identificado flavonoides y ácidos fenólicos, los flavonoides que se han encontrado son siete: rutina, taxifolina, miricetina, luteolina, quercitrina, kaempferol e isorhamnetina, de los cuales, la quercitrina tiene la mayor actividad antioxidante y el kaempferol tiene la menor actividad; se han reportado once ácidos fenólicos: ácido gálico, ácido protocatéuico, ácido clorogénico, ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido siríngico, ácido isovanílico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido *trans-m*-cumárico, ácido salicílico y ácido *trans*-cinámico, de los cuales, el ácido gálico presenta la mayor actividad antioxidante, mientras que el ácido salicílico presenta la menor actividad; se ha reportado una mayor concentración flavonoides que de ácidos fenólicos (Figura 1.7) (Bartosz, 2014; El-Mostafa *et al.*, 2014; Ramírez-Moreno *et al.*, 2013).

#### **1.2.3.1.1 Función biológica**

Los compuestos fenólicos generan diversos beneficios a la salud, ya que desempeñan un papel importante en el control de algunas enfermedades, dentro de sus funciones se incluyen inhibición enzimática, actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, antialérgica, antitumoral, antidiabética, anticarcinogénica y antidepresiva (Cartea *et al.*, 2011; Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011).



**Figura 1.7** Compuestos fenólicos presentes en el cladodio de nopal verdura. Adaptada de Hyun-III *et al.*, 2013

### 1.2.3.1.1.2 Biodisponibilidad

El efecto de los compuestos fenólicos sobre la salud depende de su biodisponibilidad, es decir, la cantidad del compuesto que se libera de un alimento durante el proceso de digestión y que llega al sitio específico donde puede ejercer su acción biológica, siendo baja para estos compuestos, ya que se han encontrado cantidades muy pequeñas tanto en plasma como en tejidos, mediante el uso de modelos animales y pruebas en humanos; es sabido que las propiedades estructurales de los fenoles afectan la velocidad y el grado de absorción en el intestino delgado y el colon, así como la formación de metabolitos en el plasma, además, existen otros factores que modifican la incorporación eficiente de los compuestos fenólicos en el organismo, los cuales se encuentran descritos en la Tabla 1.5 (Fernández-García *et al.*, 2012; Cartea *et al.*, 2011; Archivio *et al.*, 2010).

**Tabla 1.5** Factores relacionados con la biodisponibilidad de compuestos fenólicos

<b>Factor</b>	<b>Ejemplos</b>
Externos (ambientales), durante la maduración de la planta	Exposición al sol y lluvia Tipo de cultivo Grado de madurez
Polifenoles en el alimento	Estructura química Concentración
Interacción de polifenoles con otros compuestos	Enlaces con proteínas o con otros polifenoles con mecanismo de absorción similar
Alimento	Matriz del alimento Presencia de efectores positivos o negativos de absorción (lípidos, fibra)
Procesamiento del alimento	Tratamientos térmicos Almacenamiento
Hospedero	Factores intestinales como actividad enzimática, tiempo de tránsito intestinal, microflora del colon Factores sistémicos como género y edad, trastornos o patologías, genética, condición fisiológica

(Archivio *et al.*, 2010)

### 1.2.3.1.2 Vitamina C

La vitamina C es requerida en diversos procesos biológicos, sin embargo, el cuerpo humano no tiene la capacidad de producirla y debe ser ingerida diariamente, siendo importante bioquímicamente debido a que presenta propiedades anticancerígenas; su forma reducida es el ácido ascórbico, es soluble en agua y presenta actividad antioxidante ya que puede transferir un electrón del grupo hidroxilo, sin embargo, puede actuar como agente pro-oxidante al interactuar con iones metálicos como cobre y hierro; en presencia de ERO se oxida reversiblemente, formando ácido dehidroascórbico (DHAA) (Figura 1.8); en el nopal verdura se ha reportado una mayor concentración de DHAA, siendo baja su contribución en la actividad antioxidante de este alimento (Bartosz, 2014; Ramírez-Moreno *et al.*, 2013; Gülçin, 2012; Bohndiek *et al.*, 2011; Bichara *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2010).

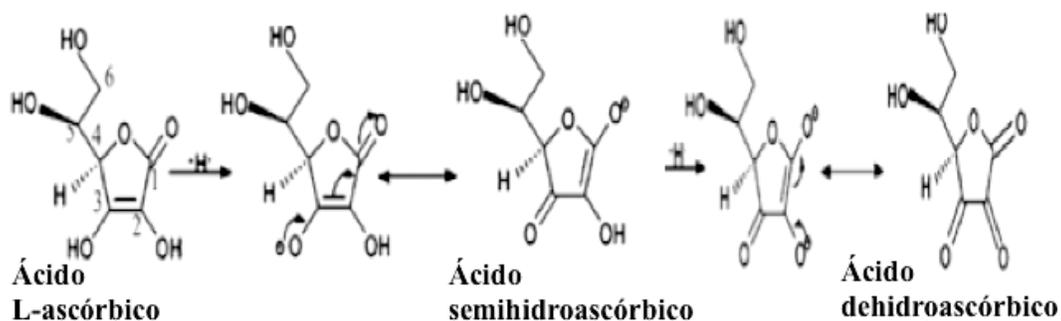


Figura 1.8 Oxidación del ácido ascórbico. Adaptado de Pan *et al.*, 2013

### 1.2.3.1.3 Carotenoides

Los carotenoides son un grupo de más de 600 pigmentos isoprenoides, formados por una cadena de polieno de 40 átomos de carbono, con un sistema conjugado de dobles enlaces; son compuestos lipofílicos que se encuentran en la naturaleza con una coloración que va de amarillo a rojo; se clasifican en carotenos, que son hidrocarburos ( $\beta$ -caroteno) y xantofilas, sus derivados oxigenados (luteína y  $\alpha$ -criptoxantina) (Strati *et al.*, 2012; Cardoso-Silva *et al.*, 2010; Valduga *et al.*, 2009).

Estos pigmentos desempeñan diversas funciones en las plantas, tales como recolección de luz para llevar a cabo la fotosíntesis, protección contra estrés térmico, actúan como antioxidantes y son precursores de hormonas que intervienen en el estrés y en la señalización para su desarrollo; se encuentran en los cromoplastos en forma cristalina o en gotas de aceite; en los cloroplastos, al igual que la clorofila, están unidos a proteínas de la membrana tilacoidal, formando parte de dos complejos supramoleculares: fotosistemas I y II, generando el 0.2 % del total de lípidos de la membrana, sin embargo, la clorofila generalmente es dominante y los carotenoides se encuentran enmascarados; en los plastoglóbulos, es decir, plastos abundantes durante la senescencia, se almacenan en forma de gotas de lípidos, generalmente esterificados (Seymour *et al.*, 2013; Morosinotto y Bassi, 2012; Shumskaya *et al.*, 2012; Cardoso-Silva *et al.*, 2010).

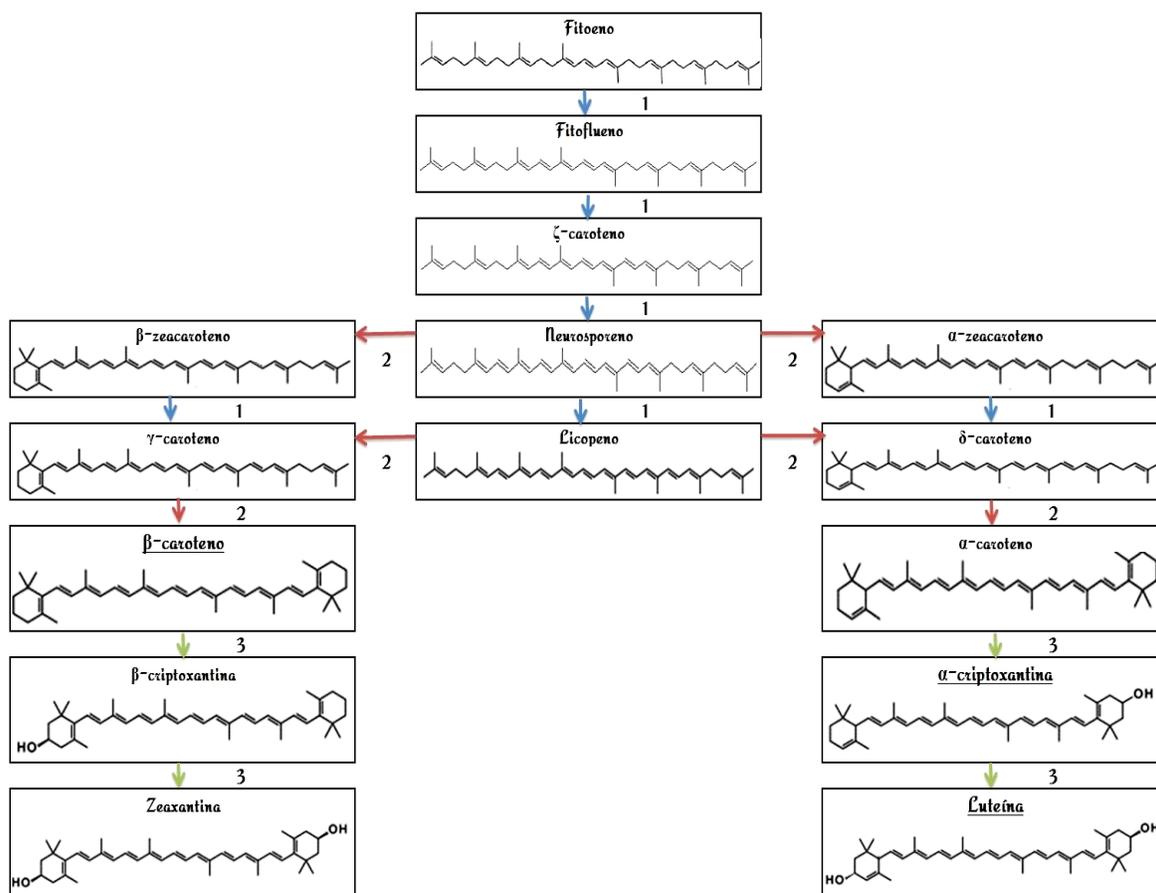
Presentan actividad antioxidante debido a su sistema conjugado de polieno, rico en electrones que les permite absorber especies reactivas de oxígeno; generando en las plantas un incremento en la tolerancia a estrés térmico y lumínico, ya que protegen a las membranas de dichos radicales libres, los carotenos presentan mayor actividad antioxidante

(principalmente licopeno y beta-caroteno con 11 enlaces dobles) que las xantofilas, con excepción de la beta-criptoxantina, sin embargo, cuando se encuentran en alta concentración y en función al potencial redox del medio en el que actúen (alta tensión de oxígeno), pueden actuar como oxidantes (Rahman, 2015; Bartosz, 2014; Shumskaya *et al.*, 2012; Cardoso-Silva *et al.*, 2010).

Los carotenoides mas importantes en la dieta humana son beta-caroteno, luteína, beta-criptoxantina, licopeno, zeaxantina y astaxantina, de los cuales, los tres primeros fueron encontrados en el cladodio de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) por Jaramillo-Flores *et al.*, en el año 2003, quienes reportaron una concentración total de  $231.8 \pm 19.3 \mu\text{g}$  por cada gramo de producto en base seca, de los cuales, 36 % correspondieron a beta-caroteno ( $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ ), 18 % a alfa-criptoxantina ( $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}$ ) y 46 % a luteína ( $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2$ ) (Gülçin, 2012).

#### **1.2.3.1.3.1 Biosíntesis**

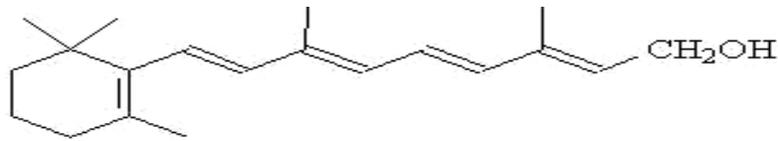
Los carotenoides se sintetizan durante la noche en los plástidos y son acumulados durante el día en las membranas tilacoidales y plastoglobulos; la ruta de biosíntesis (Figura 1.9) comienza con fitoeno, el cual, por medio de una serie de insaturaciones forma fitoflueno,  $\zeta$ -caroteno, neurosporeno y licopeno; el neurosporeno se cicla en un extremo para formar  $\alpha$ -zeacaroteno o  $\beta$ -zeacaroteno, los cuales generan  $\delta$ -caroteno y  $\gamma$ -caroteno respectivamente, por la introducción de un doble enlace; el licopeno también se puede ciclar en un extremo para generar  $\delta$ -caroteno y  $\gamma$ -caroteno; cuando estos carotenoides se ciclan en el segundo extremo se produce  $\beta$ -caroteno (estructura con dos anillos  $\beta$ , siendo el carotenoide más difundido en los alimentos, con color rojo-anaranjado característico) y  $\alpha$ -caroteno, a partir del  $\delta$ -caroteno y  $\gamma$ -caroteno respectivamente, por la introducción de un grupo hidroxilo en el anillo del  $\alpha$ -caroteno se produce  $\alpha$ -criptoxantina (estructura con dos anillos  $\beta$  con coloración anaranjado) y de la introducción de un segundo grupo hidroxilo en el segundo anillo de la  $\alpha$ -criptoxantina es generada la luteína (estructura con un anillo  $\beta$  y un anillo  $\epsilon$ , carotenoide predominante en hojas, vegetales verdes y flores, con coloración amarilla) (Shumskaya *et al.*, 2012; Valduga *et al.*, 2009).



**Figura 1.9** Ruta de biosíntesis de carotenoides. Reacciones: 1) Insaturación, 2) Ciclación, 3) Hidroxilación. Adaptado de: Valduga *et al*, 2009

### 1.2.3.1.3.2 Función biológica

La principal función biológica de los carotenoides consiste en su capacidad de funcionar como precursores de la vitamina A (Figura 1.10), debido a la presencia de anillos de beta-ionona en su estructura; esta vitamina es esencial para promover el crecimiento, mantener la función visual, regular la diferenciación de los tejidos epiteliales y presenta propiedades anticancerígenas, ya que regula los receptores nucleares que suprimen la formación de tumores, induce apoptosis celular y mejora la función inmune, se sabe que alrededor de 50 carotenoides presentan actividad provitamina A, siendo los tres principales  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno y  $\beta$ -criptoxantina, estos pigmentos son convertidos en retinol por medio dos enzimas: oxigenasa y reductasa; la vitamina A es absorbida por la mucosa intestinal (Fernández-García *et al.*, 2012; Harrison, 2012; Jaswir *et al.*, 2011; Cardoso-Silva *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2010; Tang, 2010).



**Figura 1.10** Estructura de la vitamina A. Tomado de Tang, 2010

### 1.2.3.1.3.3 Biodisponibilidad

Alrededor de 50 carotenoides se encuentran disponibles en la dieta humana, de los cuales, 15 han sido detectados en el suero sanguíneo; en el caso de compuestos lipofílicos como estos pigmentos, la biodisponibilidad suele ser baja, limitada por el grado de transformación de los alimentos y la composición de la matriz; es sabido que los tratamientos térmicos tienen un efecto positivo en la biodisponibilidad de estos compuestos, la presencia de grasa en la dieta es otro factor clave, ya que facilita su absorción, mientras que la fibra dietética tiene un efecto negativo (Fernández-García *et al.*, 2012; Li y Bernstein, 2012).

Las etapas más importantes para la biodisponibilidad de estos pigmentos son: la liberación de la matriz del alimento, dispersión en el tracto digestivo y solubilización en micelas mixtas, ya que los carotenoides solubilizados son absorbidos por las células epiteliales del intestino delgado por difusión simple o procesos mediados por transportadores, y entonces son secretados a la linfa (Nagao, 2009).

### 1.2.3.2 Efecto de los tratamientos térmicos sobre los compuestos nutracéuticos

Las formas tradicionales de consumo de nopal verdura son hervido, asado, frito o en mermeladas y dulces; su consumo en fresco no es muy común, por lo que, con frecuencia es sometido a tratamientos térmicos, los cuales, mejoran el sabor, aroma, color, textura y digestibilidad, disminuyen las enfermedades transmitidas por alimentos e incrementan la vida de almacén, ya que al aplicar calor, la composición del alimento es modificada; se definen según la forma en que se aplica el calor y la duración del proceso, por lo que el asado consiste en colocar el alimento en contacto directo con la placa de calentamiento, los mecanismos de transferencia de calor involucrados son convección (aire), radiación (comal) y conducción (comal), mientras que el freído se caracteriza por la inmersión

profunda del alimento en aceite, implica transferencia simultánea de calor y materia, cambios químicos y estructurales con eventual expansión o contracción de volumen, los mecanismos de transferencia de calor involucrados son conducción (sartén), convección (aceite) y radiación (sartén) (Barakat, 2014; Hager y Morawocki, 2013; Ramírez-Moreno *et al.*, 2013; Corrales-García, 2011; López-Callejas *et al.*, 2009; Villa-Sarabia, 2004).

#### **1.2.3.2.1 Fenoles totales**

Los procesos térmicos modifican la matriz alimentaria, permitiendo la liberación de los compuestos fenólicos almacenados en las vacuolas celulares, seguido de reacciones de polimerización u oxidación de dichos fenoles, el mismo efecto se genera sobre los ácidos fenólicos enlazados, debido al rompimiento de constituyentes como la pared celular; la proporción de los distintos compuestos fenólicos puede ser modificada debido a degradación térmica, ya que algunos ácidos fenólicos como el ácido caféico son sensibles a alta temperatura (223° C), además, algunos ácidos fenólicos pueden modificar su estructura, por ejemplo, a partir del ácido ferúlico puede producirse ácido vanílico, mientras que el ácido *p*-cumárico puede generar ácido *p*-hidroxibenzaldehído; es sabido que las condiciones del tratamiento térmico que generan el cambio en la concentración de los compuestos fenólicos son: humedad, contenido de compuestos fenólicos, tiempo y temperatura (Tiwari *et al.*, 2013).

#### **1.2.3.2.2 Vitamina C**

Los alimentos contienen vitaminas sensibles a alta temperatura por lo que, posterior al tratamiento térmico se presenta una disminución en su concentración y, por lo tanto, disminuye la actividad antioxidante y la actividad provitamina A; durante el proceso, la mayor temperatura se obtiene en las capas superficiales del alimento, sin embargo, como el área central es mayor, la pérdida total de vitaminas depende principalmente de la temperatura interna del alimento, la cual usualmente varía entre 70 y 90° C, esta temperatura se alcanza en un tiempo muy corto (pocos minutos), es sabido que los tratamientos térmicos aceleran el proceso de degradación de la vitamina C en el nopal por

medio de reacciones de oxidación o pirolisis (Tabla 1.6) (Ramírez-Moreno *et al.*, 2013; Boskou y Elmadfa, 2011).

**Tabla 1.6** Reacciones de degradación de vitaminas

<b>Tipo de reacción</b>	<b>Vitaminas</b>
Oxidación	Vitamina A Provitaminas Vitamina C Tocoferoles Tocotrienoles
Pirolisis	Vitaminas que contienen azufre Tiamina Riboflavina Vitamina C
Hidrólisis	Tiamina

(Boskou y Elmadfa, 2011)

### 1.2.3.2.3 Carotenoides

Los tratamientos térmicos aumentan los niveles de biodisponibilidad de los carotenoides, debido a que debilitan la matriz de los alimentos, permitiéndoles ser absorbidos con mayor facilidad por el organismo, sin embargo, al exponer el alimento a alta temperatura por un tiempo prolongado, los isómeros *trans*, como se encuentran generalmente en los alimentos, son convertidos en isómeros *cis*, modificando la concentración de los isómeros encontrados naturalmente en el nopal y disminuyendo la intensidad de color del alimento, así como su actividad antioxidante; otra reacción producida por efecto de los tratamientos térmicos es la formación de apocarotenoides, este término hace referencia a cualquier molécula generada a partir del rompimiento de un carotenoide con estructura inicial de 40 átomos de carbono, además; el aumento en la temperatura puede generar degradación oxidativa, teniendo como resultado la formación de carotenoides epóxidos (Eroglu y Harrison, 2013; Khoo *et al.*, 2011; Lusty *et al.*, 2006).

## **Justificación**

El nopal verdura es uno de los alimentos representativos de la cultura mexicana, al cual se le atribuyen diversas bondades, entre las que destacan su actividad antioxidante, la cual se ha demostrado que se debe principalmente a la presencia de carotenoides y compuestos fenólicos, sin embargo, son pocos los estudios enfocados a determinar los cambios originados en estos compuestos, por tratamientos térmicos tradicionales del nopal (asado y freído) por lo que es importante determinar los cambios en la actividad antioxidante y en la concentración fenoles totales, después de someter los nopales a estos procesos, y determinar los tratamientos que permitan conservar la mayor actividad antioxidante.

## **Objetivos**

### **General**

Determinar los cambios originados por los procesos de asado y freído del nopal verdura sobre la actividad antioxidante y la concentración de fenoles totales.

### **Específicos**

Determinar el efecto del asado del nopal verdura sobre la actividad antioxidante y la concentración de fenoles totales.

Evaluar el efecto del freído de nopal verdura sobre la actividad antioxidante y la concentración de fenoles totales.

Determinar cuál de los dos procesos influye en menor medida sobre cada uno de los parámetros evaluados.

## **Capítulo II. Materiales y métodos**

### **2.1 Material biológico**

Se utilizaron cladodios jóvenes de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*), los cuales fueron recolectados manualmente en el municipio de Otumba, Estado de México. Se seleccionaron de acuerdo a su tamaño con la finalidad de mantener un estado de madurez homogéneo (longitud de  $19.9 \pm 0.4$  cm). Se almacenaron en bolsas de polietileno en lotes de aproximadamente  $1.2 \pm 0.004$  Kg a  $4^{\circ}$  C por no más de una semana hasta su utilización.

#### **2.1.1 Acondicionamiento de la muestra**

Los nopales se tomaron aleatoriamente, a los cuales se les removieron las espinas, se trocearon en cubos de aproximadamente 1 cm de lado y se mezclaron. Los trozos se utilizaron para realizar los análisis en fresco, así como para someterlos al proceso de freído.

#### **2.1.2 Determinación de la pérdida de peso por efecto del tratamiento térmico**

Para determinar los cambios de peso por efecto del tratamiento térmico, se pesaron los nopales antes de ser sometidos al proceso de asado, después de cada tratamiento se pesaron por segunda vez y por diferencia se determinó el tamaño de la muestra a utilizar. Para el proceso de freído, 10 g de nopales troceados fueron sometidos al proceso térmico, posteriormente se secaron y pesaron. Por diferencia de peso se determinó el tamaño de la muestra.

#### **2.1.3 Tratamientos térmicos**

Con el propósito de evaluar las diferencias sobre la actividad antioxidante y la concentración de fenoles totales en el nopal procesado, se realizaron dos tratamientos térmicos, utilizando nopal fresco como control.

### **2.1.3.1 Asado**

Los nopales fueron colocados en una placa de calentamiento previamente acondicionada a cada una de las temperaturas establecidas (75, 100 y 125° C) y se mantuvieron en movimiento constante durante el periodo de tratamiento (5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos).

### **2.1.3.2 Freído**

Con el propósito de eliminar el mucílago del nopal, se realizó un pre-tratamiento térmico con agua (95° C durante 20 minutos) a los trozos de nopal, una vez retirados del agua se secaron y fueron sometidos al proceso de freído, para lo cual, 350 mL de aceite vegetal de girasol (marca Cristal, México) fueron colocados en un recipiente de acero inoxidable y puestos a fuego directo, al alcanzar la temperatura de cada uno de los tratamientos (75, 100 y 125° C), se insertaron los trozos de nopal y se mantuvieron durante los diferentes tiempos considerados para cada tratamiento (5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos).

### **2.1.4 Determinación de actividad antioxidante**

La actividad antioxidante fue medida utilizando la técnica espectrofotométrica de DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazil), de acuerdo a lo reportado por Gülçin, 2012. Se realizó una curva de calibración para determinar la absorbancia correspondiente a disoluciones de DPPH con concentraciones conocidas (0.02, 0.04, 0.06, 0.08 y 0.10 mM) (Anexo B). Para analizar las muestras, 6.0 g de nopal se maceraron con Celite, adicionando 45 mL de metanol al 80 % v/v, la mezcla resultante se filtró utilizando vacío, el residuo se re-extrajo dos veces con metanol al 80 %. El filtrado se centrifugó a 4,000 rpm durante 20 minutos y se recuperó el sobrenadante, del cual, se tomaron 0.1 mL, los cuales fueron agregados a un tubo de ensaye que contenía 2.9 mL de DPPH 0.1 mM (Anexo A). La mezcla se dejó reaccionar en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se midió la absorbancia a 515 nm, utilizando metanol al 80 % como control en un espectrofotómetro GENESYS10S UV/Vis. La actividad antioxidante se calculó como el porcentaje de inhibición con relación al control, utilizando la siguiente fórmula (Modificado: Hyun-II *et al.*, 2013):

$$Actividad\ antioxidante\ (\%) = \left[ \frac{Absorbancia_{control,515nm} - Absorbancia_{muestra,515nm}}{Absorbancia_{control,515nm}} \right] * 100$$

### 2.1.5 Concentración de fenoles totales

La cuantificación de los compuestos fenólicos, se realizó por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. 6.0 g de nopal se maceraron con Celite, adicionando 45 mL de etanol al 10 % v/v, la mezcla resultante se filtró utilizando vacío, el residuo se re-extrajo dos veces con etanol al 10 %. El filtrado se centrifugó a 4,000 rpm durante 20 minutos. Fue necesario diluir los extractos con etanol al 10 % (dilución al 1 % para el caso de nopal asado y fresco y al 10 % para el nopal frito). Se mezclaron 1,580  $\mu$ L del extracto y 100  $\mu$ L del reactivo de Folin-Ciocalteu, se dejó reaccionar durante 8 minutos. Se añadieron 300  $\mu$ L de carbonato de sodio al 20 % p/v. La mezcla se dejó reaccionar durante 15 minutos a 50° C. Se utilizó una mezcla de etanol al 10 %, reactivo de Folin-Ciocalteu y carbonato de sodio al 20 % bajo las mismas condiciones para calibrar el espectrofotómetro y posteriormente se determinó la absorbancia de las muestras a 765 nm. Se elaboró una curva patrón para determinar la absorbancia correspondiente a disoluciones de ácido gálico con concentraciones conocidas (0.0005, 0.0010, 0.0015, 0.0020, 0.0025, 0.0030, 0.0035, 0.0040, 0.0045 y 0.0050 mg/mL) (Anexo C). Con la ecuación obtenida a partir de la curva se determinó el contenido de fenoles totales de cada muestra al incluir los valores de absorbancia correspondientes (Anexo D). Se realizaron las operaciones necesarias para expresar los resultados en  $\mu$ g equivalentes de ácido gálico por cada gramo de nopal ( $\mu$ gEAG/g) (Anexo E). A continuación se muestra la ecuación obtenida de la curva de calibración (Modificado: Cardor-Martínez *et al.*, 2011):

$$Concentración\ de\ ácido\ gálico\ (mgEAG/g) = \frac{Absorbancia_{765nm} - 0.0068}{82.331}$$

### 2.1.6 Análisis de datos

Se utilizó un diseño experimental de dos factores completamente al azar, manejando tres niveles de temperatura y seis niveles de tiempo. Los análisis se realizaron por triplicado.

Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza (ANOVA), utilizando tres hipótesis nulas y tres hipótesis alternativas:

1.-  $H_0$ : Todos los niveles de temperatura producen el mismo efecto sobre la actividad antioxidante y la concentración de fenoles totales.

$H_a$ : Por lo menos un par de niveles de temperatura difieren en su efecto.

2.-  $H_0$ : Todos los niveles de tiempo producen el mismo efecto sobre la actividad antioxidante y la concentración de fenoles totales.

$H_a$ : Por lo menos un par de niveles de tiempo difieren en su efecto.

3.-  $H_0$ : No existe interacción entre los niveles de temperatura y tiempo en la actividad antioxidante y la concentración de fenoles totales.

$H_a$ : Existe interacción entre los niveles de temperatura y tiempo.

En los casos en los que se rechazó la hipótesis nula a favor de la hipótesis alternativa se realizó una comparación entre medias por el método de Tukey para determinar el nivel de temperatura, el nivel de tiempo y la combinación de estos factores que mostraron la mejor respuesta. Se utilizó un nivel de significancia de 0.05, empleando el paquete estadístico SAS versión 9.2 (Anexo F).

## Capítulo III. Resultados y discusión

### 3.1 Pérdida de peso por efecto del tratamiento térmico

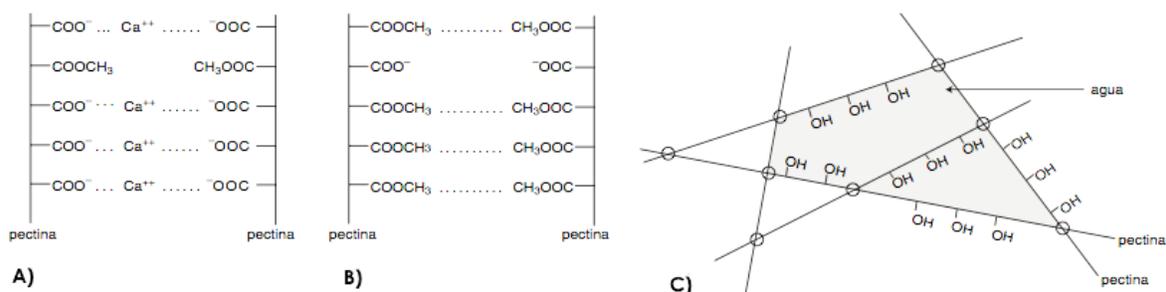
Los nopales sometidos al proceso de asado presentaron una disminución de peso promedio del 60 % con respecto al nopal fresco, siendo mayor en las temperaturas de 100 y 125° C (Tabla 3.1), en las cuales aparentemente alcanza la estabilidad.

**Tabla 3.1** Pérdida de peso por efecto del asado (Media de 3 repeticiones  $\pm$  D.E)

Temperatura (° C)	Peso (g)
25	10.1 $\pm$ 0.04 <sup>*a</sup>
75	5.3 $\pm$ 0.5 <sup>*b</sup>
100	3.6 $\pm$ 0.5 <sup>*c</sup>
125	3.0 $\pm$ 0.3 <sup>*c</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

Aparentemente, el principal motivo por el cual se presentó una disminución considerable en el peso de las muestras, es la alta temperatura empleada en los tratamientos, ya que se ha observado que la fibra dietética soluble interactúa con agua al alcanzar una temperatura al interior del alimento de alrededor de los 60° C, lo cual genera una red (Figura 3.1) que tiene la capacidad de hincharse y formar un gel al enlazarse los sustituyentes hidroxilo de los residuos del ácido galacturónico a través de puentes de hidrógeno con el agua retenida, formando una matriz compleja, capaz de aumentar la viscosidad de la fase líquida en el sistema del alimento, evitando pérdidas drásticas (Hyun-Il *et al.*, 2013; Ramírez-Moreno *et al.*, 2013; Badui-Dergal, 2006).



**Figura 3.1** Gelificación de las pectinas. A) Pectinas de alto metoxilo mediante interacciones electrostáticas con iones calcio, B) Pectinas de bajo metoxilo por puentes hidrófobos de los puentes metilo, C) Gel obtenido de la unión de a) o b). Tomada de Badui-Dergal, 2006

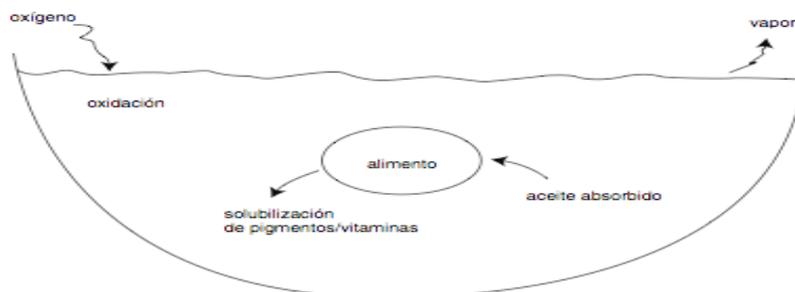
Con relación a los nopales sometidos al proceso de freído, la disminución de peso promedio fue del 57 % con respecto al nopal fresco, al igual que en los nopales asados, la pérdida de peso aumentó significativamente conforme incrementó la temperatura del tratamiento, permaneciendo constante en las muestras fritas a 100 y 125 ° C (Tabla 3.2).

**Tabla 3.2** Pérdida de peso por efecto del freído (Media de 3 repeticiones  $\pm$  D.E)

Temperatura (° C)	Peso (g)
25	10.1 $\pm$ 0.04* <sup>a</sup>
75	6.8 $\pm$ 0.4* <sup>b</sup>
100	3.9 $\pm$ 1.3* <sup>c</sup>
125	2.2 $\pm$ 0.2* <sup>c</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

La menor pérdida de peso en promedio en los nopales fritos con relación a los nopales asados puede atribuirse a que al utilizar aceite a alta temperatura, las muestras se deshidrataron, sin embargo parte de los espacios que dejó el agua fue cubierto por el aceite, generando un proceso de desplazamiento de componentes (Figura 3.2). Este fenómeno se da por la habilidad de asociación con aceites (capacidad de retención de aceite) de la fibra dietética, que en nopales se ha reportado es el principal componente (Hyun-II *et al.*, 2013; Ramírez-Moreno *et al.*, 2013; Badui-Dergal, 2006).



**Figura 3.2** Cambios durante el proceso de freído. Tomada de Badui-Dergal, 2006

Por otra parte, aunque se ha reportado que la capacidad de retención de agua de los cladodios de nopal de la especie *O. humifasa* es diez veces mayor con respecto a la capacidad de retención de aceite, la temperatura de tratamiento juega un importante papel, ya que este será uno de los factores a considerar en la selección de cualquier proceso térmico (Hyun-II *et al.*, 2013).

### 3.2 Efecto del tratamiento térmico sobre la actividad antioxidante

La actividad antioxidante promedio del nopal fresco fue de  $10.7 \pm 0.8$  %, la cual es 4 % menor a la actividad mostrada por cladodios de nopal fresco de *Opuntia humifusa*, utilizando metodologías similares, sin embargo, al compararla con muestras de *Opuntia ficus-indica* de las variedades Milpa Alta y Atlixco, la diferencia es de 3 y 4 % respectivamente, lo cual puede atribuirse a que se utilizó otra técnica para la evaluación, sin embargo se puede considerar que se encuentra dentro de un intervalo adecuado de variación (Hyun-II *et al.*, 2013; Ramírez-Moreno *et al.*, 2013).

Es importante destacar que la actividad antioxidante no solo depende del tratamiento que se dé a la muestra, sino además de la técnica empleada, por esta razón al compararla con resultados obtenidos con Jaramillo-Flores *et al.*, (2003), se nota una diferencia de 34 puntos porcentuales y de 20 % con relación a lo reportado por González-Cruz *et al.*, en el año 2012, para la misma especie, esta diferencia con respecto al porcentaje obtenido en el presente análisis puede atribuirse a que en los datos reportados anteriormente se utilizó un método específico para determinar capacidad de inhibición de la oxidación de beta-caroteno.

#### 3.2.1 Efecto del tiempo de tratamiento sobre la actividad antioxidante (asado)

El tratamiento a 75° C para los nopales asados, solo presentó cambios estadísticamente significativos a los 25 minutos, tiempo en el cual se observó un incremento del 41 % respecto al nopal fresco (Tabla 3.3), tendencia que se mantuvo hasta los 30 minutos, tiempo en el cual se obtuvo un incremento del 73 %.

**Tabla 3.3** Efecto del tiempo de asado a 75° C sobre la actividad antioxidante (Media de 3 repeticiones  $\pm$  D.E)

Tiempo (min)	Actividad antioxidante (%)
0	$10.7 \pm 0.8^{*c}$
5	$10.3 \pm 0.6^{*c}$
10	$10.6 \pm 0.2^{*c}$
15	$10.6 \pm 0.4^{*c}$
20	$10.6 \pm 0.7^{*c}$
25	$15.1 \pm 0.5^{*b}$
30	$18.5 \pm 0.6^{*a}$

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

El tratamiento de los nopales asados a 100° C, mostraron que existe una mayor actividad en un lapso de tiempo menor que los tratados térmicamente a 75° C, por lo que se obtuvo un incremento del 52 % a los 5 minutos, tendencia que se mantuvo hasta los 20 minutos, tiempo en el que se alcanzó la mayor actividad con un incremento del 98 %, a partir de los 25 minutos existe un decremento, sin embargo aun a los 30 minutos, existe un incremento del 29 % con respecto al nopal fresco (Tabla 3.4).

**Tabla 3.4** Efecto del tiempo de asado a 100° C sobre la actividad antioxidante (Media de 3 repeticiones ± D.E)

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Actividad antioxidante (%)</b>
0	10.7 ± 0.8 <sup>*d</sup>
5	16.3 ± 0.5 <sup>*b</sup>
10	17.5 ± 0.7 <sup>*b</sup>
15	17.9 ± 0.6 <sup>*b</sup>
20	21.2 ± 1.1 <sup>*a</sup>
25	20.9 ± 0.4 <sup>*a</sup>
30	13.8 ± 0.1 <sup>*c</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

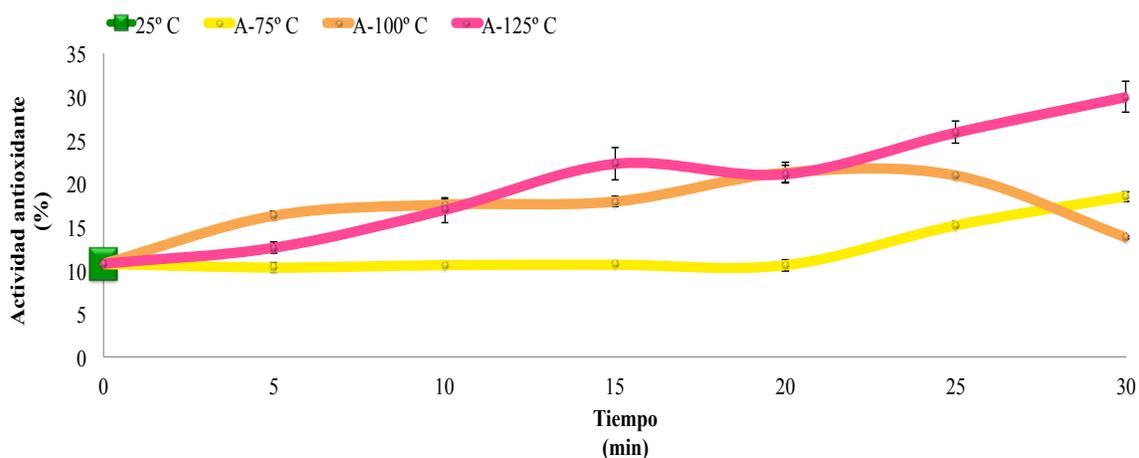
Al igual que en los nopales tratados a 100° C, las muestras tratadas a 125° C presentaron un incremento de la actividad antioxidante a los 5 minutos del tratamiento, sin embargo el comportamiento fue errático ya que después de los 15 minutos se observó una disminución, y posteriormente a los 20 minutos, nuevamente incrementó la extractibilidad, inclusive a los 30 minutos prácticamente se triplicó el porcentaje, respecto al nopal fresco (Tabla 3.5).

**Tabla 3.5** Efecto del tiempo de asado a 125° C sobre la actividad antioxidante (Media de 3 repeticiones ± D.E)

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Actividad antioxidante (%)</b>
0	10.7 ± 0.8 <sup>*c</sup>
5	12.6 ± 0.6 <sup>*c</sup>
10	16.9 ± 1.5 <sup>*d</sup>
15	22.2 ± 1.8 <sup>*bc</sup>
20	21.0 ± 1.0 <sup>*c</sup>
25	25.8 ± 1.3 <sup>*b</sup>
30	29.9 ± 1.8 <sup>*a</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

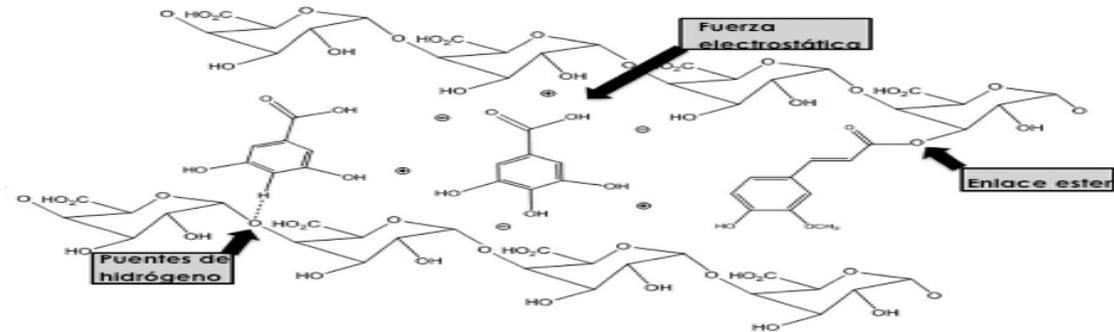
Ninguno de los tratamientos generó en las muestras actividad pro-oxidante, ya que solo se registraron valores positivos. Solo en la menor temperatura (75° C) se observaron valores similares de actividad antioxidante a los obtenidos en las muestras frescas, lo que indica que a esta temperatura, se requiere un tiempo superior a los 20 minutos, para que se facilite la extractibilidad de los compuestos responsables de dicha actividad. Considerando los resultados obtenidos, se puede apreciar que a temperaturas de o superiores a los 100° C solo es requerido un tratamiento térmico corto (5 minutos) para incrementar la extractibilidad. Se observó que la mayor actividad antioxidante se obtuvo en el nopal asado a la mayor temperatura durante el mayor tiempo (125° C; 30 minutos), mientras que los tratamientos que no generaron modificaciones respecto a lo obtenido con nopal fresco, fueron las muestras tratadas a 75° C y hasta los 20 minutos; en la Figura 3.3 se observan los cambios generados en la actividad antioxidante por efecto del proceso de asado (A-75° C, A-100° C y A-125° C) del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) con respecto al nopal fresco (25° C).



**Figura 3.3** Efecto del asado sobre la actividad antioxidante

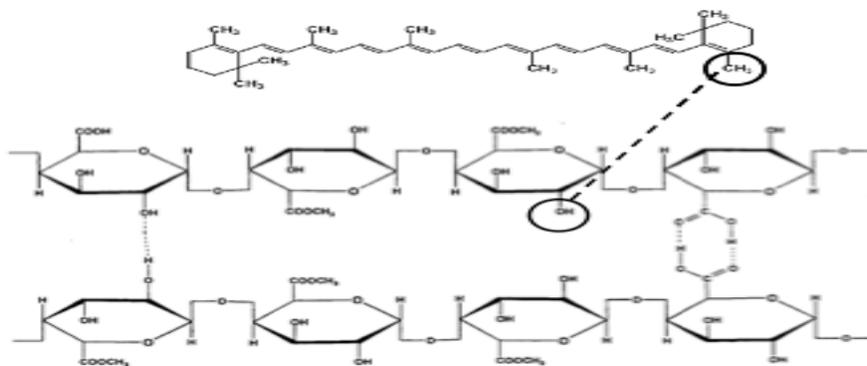
Se ha reportado que los tratamientos térmicos permiten la liberación de fenoles enlazados, lo que incrementa su extractibilidad, generando un aumento de la actividad antioxidante, en adición, la matriz compleja generada al incrementar la temperatura, interactuó con los compuestos fenólicos mediante puentes de hidrógeno (entre los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos y los átomos de oxígeno de los enlaces glicosídicos de la fibra), mediante enlaces covalentes, tales como enlaces éster o mediante interacciones hidrófobas; evitando la oxidación de los compuestos fenólicos y permitiendo que mantuvieran su

actividad dentro de la matriz del alimento (Figura 3.4) (Quirós-Sauceda *et al.*, 2014; Jantrawut *et al.*, 2013; Tiwari *et al.*, 2013; Seveg *et al.*, 2012; Shang-Choi *et al.*, 2012).



**Figura 3.4** Tipos de interacciones entre compuestos fenólicos y fibra dietaria. Tomada de Quirós-Sauceda *et al.*, 2014

De acuerdo con otros autores, la actividad antioxidante del nopal es atribuida principalmente a la presencia de los carotenoides (Jaramillo *et al.*, 2003) y por efecto de los tiempos y temperaturas de tratamiento, los cambios en la extractibilidad se atribuyen a una ruptura de la matriz del alimento provocando desnaturalización de complejos proteína-carotenoide, lo que genera mayor liberación de compuestos por acción de los disolventes empleados, por otra parte, la red generada por la interacción de fibra y agua, aparentemente generó un efecto protector en la retención de estos compuestos, ya que hubo interacción entre los sustituyentes hidroxilo libres del ácido galacturónico y los sustituyentes metilo de los anillos de beta-ionona de los carotenoides (Figura 3.5) (Morosinotto y Bassi, 2012; Armenta y Guerrero-Legarreta, 2009; Jaramillo-Flores *et al.*, 2003).



**Figura 3.5** Posible interacción entre pectina y beta-caroteno. Adaptada de Armenta y Guerrero-Legarreta, 2009

Considerando que las temperaturas empleadas fueron superiores a los 90° C, la vitamina C pudo degradarse, sin embargo, al no ser de los principales compuestos responsables de la actividad antioxidante, su pérdida probablemente no tuvo un efecto significativo, considerando que los carotenoides son los principales compuestos responsables de la actividad antioxidante del nopal verdura (Boskou y Elmadfa, 2011; Jaramillo-Flores *et al.*, 2003).

Es importante mencionar que existen evidencias del incremento en la extractibilidad de compuestos con actividad antioxidante por efecto del tratamiento térmico, lo que genera un incremento de la actividad antioxidante de muestras de nopal tratadas térmicamente respecto al nopal fresco, en el caso de nopal tratado con agua en ebullición, Jaramillo-Flores *et al.*, en el 2003 reportaron un incremento del 9 %, atribuido a la desnaturalización de los complejos proteína-carotenoides, lo cual incrementó la extractibilidad de los carotenoides, de igual manera, González-Cruz *et al.*, en el año 2012 reportaron un incremento del 18 % de la actividad antioxidante en mermeladas de nopal, con respecto al nopal fresco.

Los resultados obtenidos, también muestran congruencia con lo reportado por otros autores en pruebas con alimentos tratados térmicamente por este método de cocción, así, Seveg *et al.*, en el 2012 reportaron un incremento superior al 100 % de la actividad antioxidante de garbanzo asado (125, 150 y 175° C; 30 minutos), la cual se atribuyó a la liberación de compuestos fenólicos enlazados o a los productos formados por la reacción de Maillard, los cuales se han relacionado con la concentración de fenoles vía inhibición de la polifenol oxidasa, de igual forma, Shang-Choi *et al.*, en el 2012 reportaron un aumento de la actividad antioxidante en las hojas, fruto, raíz y tallo de melón amargo (*Momordica charantia*), sometidos a asado (200-250° C; 15 minutos) con respecto a muestras frescas, el aumento fue atribuido a la liberación de compuestos fenólicos.

### **3.2.2 Efecto del tiempo de tratamiento sobre la actividad antioxidante (freído)**

El proceso de freído presentó un efecto negativo sobre la actividad antioxidante del nopal frito a 75° C, al observarse una disminución promedio del 63 % con respecto al control, aunque se generó una recuperación gradual al aumentar el tiempo del tratamiento (Tabla 3.6).

**Tabla 3.6** Efecto del tiempo de freído a 75° C sobre la actividad antioxidante (Media de 3 repeticiones ± D.E)

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Actividad antioxidante (%)</b>
0	10.7 ± 0.8 <sup>*a</sup>
5	1.7 ± 0.1 <sup>*c</sup>
10	2.3 ± 0.1 <sup>*de</sup>
15	3.0 ± 0.3 <sup>*d</sup>
20	3.0 ± 0.2 <sup>*d</sup>
25	5.7 ± 0.3 <sup>*c</sup>
30	8.2 ± 0.6 <sup>*b</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

Al someter los nopales a una temperatura mayor de tratamiento (100° C), se observó una ligera recuperación de la actividad antioxidante con relación a los nopales tratados a 75 ° C, ya que el porcentaje de disminución fue del 40 %, sin embargo, al igual que las muestras tratadas a 75° C, se mantuvo el comportamiento de recuperación gradual al incrementar el tiempo de tratamiento (Tabla 3.7).

**Tabla 3.7** Efecto del tiempo de freído a 100° C sobre la actividad antioxidante (Media de 3 repeticiones ± D.E)

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Actividad antioxidante (%)</b>
0	10.7 ± 0.8 <sup>*a</sup>
5	4.7 ± 0.3 <sup>*d</sup>
10	5.9 ± 0.3 <sup>*cd</sup>
15	5.2 ± 0.1 <sup>*d</sup>
20	6.6 ± 0.1 <sup>*bc</sup>
25	8.0 ± 0.2 <sup>*b</sup>
30	7.9 ± 0.8 <sup>*b</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

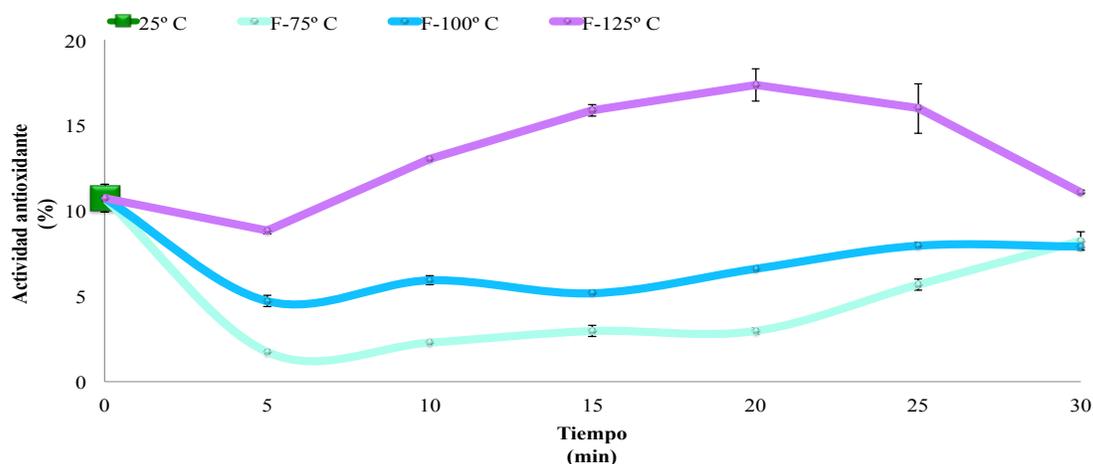
Respecto al tratamiento de los nopales a 125° C, se observó que la actividad antioxidante en promedio fue mayor en 28 % con respecto al nopal fresco, sin embargo, a diferencia de las otras temperaturas (75 y 100° C), la tendencia de incremento en la extractibilidad, solo permaneció hasta los 25 minutos de tratamiento, disminuyendo significativamente en el nopal frito durante 30 minutos (Tabla 3.8).

**Tabla 3.8** Efecto del tiempo de freído a 125° C sobre la actividad antioxidante (Media de 3 repeticiones ± D.E)

Tiempo (min)	Actividad antioxidante (%)
0	10.7 ± 0.8 <sup>*cd</sup>
5	8.8 ± 0.2 <sup>*d</sup>
10	13.0 ± 0.1 <sup>*b</sup>
15	15.9 ± 0.3 <sup>*a</sup>
20	17.4 ± 1.0 <sup>*a</sup>
25	16.0 ± 1.5 <sup>*a</sup>
30	11.1 ± 0.1 <sup>*bc</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

El proceso de freído, en términos generales presentó efectos negativos sobre la actividad antioxidante, aun cuando se mostró un incremento en la extractibilidad de compuestos con actividad antioxidante, los valores obtenidos no fueron similares a los obtenidos en las muestras de nopal asado, observándose que la temperatura a la cual se alcanza el pico máximo de extractibilidad fue a 125° C, mientras que la menor extractibilidad se registró en el nopal frito en la menor temperatura, durante el menor tiempo (75° C; 5 minutos); en la Figura 3.6 se observan los cambios generados en la actividad antioxidante por efecto del proceso de freído (F-75° C, F-100° C y F-125° C) del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) con respecto al nopal fresco (25° C).



**Figura 3.6** Efecto del freído sobre la actividad antioxidante

Dicho comportamiento puede atribuirse en primer término a que para llevar a cabo este proceso, se realiza un pre-tratamiento en agua a ebullición, lo que deja expuestos a los compuestos en un segundo tratamiento, sin embargo se observó que existen condiciones de tratamiento en las cuales la actividad antioxidante fue significativamente mayor con respecto al nopal fresco (15, 20 y 25 min; 125° C).

Considerando que la actividad antioxidante del nopal se atribuye principalmente a la presencia de carotenoides (Jaramillo-Flores *et al.*, 2003), se puede sugerir que la disminución de la actividad antioxidante de los nopales fritos con respecto al nopal fresco pudo originarse debido a que los carotenoides al ser compuestos liposolubles, pudieron solubilizarse parcialmente en el aceite utilizado para el tratamiento térmico, por lo cual, al disminuir su concentración en el alimento, la actividad antioxidante presentó al misma tendencia (Boskou y Elmadfa, 2011; Valduga *et al.*, 2009).

Por otra parte, al ingresar aceite a la matriz del alimento, probablemente se generaron isómeros *cis* de beta-caroteno, luteína y alfa-criptoxantina, así como apocarotenoides debido a la ruptura de las cadenas de 40 átomos de carbono, y epoxi-carotenoides por oxidación térmica, lo cual puede generar la disminución de la actividad antioxidante, sin embargo, aunque probablemente existe una modificación de la matriz del alimento, que permitió la solubilización de los carotenoides, el remanente pudo haber permanecido protegido por algunas gomas (Figura 3.5), por lo que solo a una mayor temperatura (125° C) fueron extraídos, generando un incremento de la actividad antioxidante (Eroglu y Harrison, 2013; Khoo *et al.*, 2011; Lusty *et al.*, 2006; Jaramillo-Flores *et al.*, 2003).

Aparentemente por efecto de la temperatura, la concentración de fenoles disminuyó, al igual que la concentración de vitamina C, la cual es termolábil (Boskou y Elmadfa, 2011).

En adición, durante el freído se generan reacciones termo-oxidativas, generando compuestos en el aceite que presentan propiedades genotóxicas (compuestos oxidantes), los cuales podrían interactuar con los compuestos antioxidantes del nopal, lo que provoca la disminución de su actividad antioxidante (Boskou y Elmadfa, 2011).

Estos datos concuerdan con los análisis realizados por Seveg *et al.*, en el 2012, en los que reportaron una disminución de aproximadamente 40 % de la actividad antioxidante en garbanzo frito (190° C; 5, 10 y 15 minutos), atribuida a la degradación de los compuestos fenólicos.

### 3.3 Efecto del tratamiento térmico sobre la concentración de fenoles totales

La concentración de fenoles totales en el nopal fresco fue de  $540.4 \pm 44.5$   $\mu\text{gEAG/g}$ , siendo mayor en 15 y 48 % con respecto a las concentraciones reportadas por Ramírez-Moreno *et al.*, en el año 2013 en nopal fresco *Opuntia ficus-indica*, de las variedades Milpa Alta y Atlixco, respectivamente, sin embargo, sin embargo, Jaramillo-Flores *et al.*, en el 2003 reportaron el triple de esta concentración, mientras que Hyun-II *et al.*, (2013) obtuvieron una concentración cuatro veces mayor en nopal fresco *Opuntia humifasa*; estas diferencias con respecto a los datos obtenidos en el presente análisis pueden atribuirse a los distintos métodos utilizados para la cuantificación, así como a la diferencia de especies analizadas y distintas regiones de donde fueron obtenidos los nopales.

#### 3.3.1 Efecto del tiempo de tratamiento sobre la concentración de fenoles totales (asado)

El tratamiento de los nopales asados a  $75^\circ\text{C}$  presentó cambios estadísticamente significativos a partir de los 15 minutos, tiempo en el cual se observó que la concentración de fenoles totales se triplicó con respecto al nopal fresco, presentando la misma tendencia de aumento a los 20 minutos, alcanzando la máxima concentración con un aumento del 205 % con respecto al control, a partir de los 25 minutos se generó un decremento, sin embargo, la extractibilidad de fenoles totales permaneció mayor en 51 % con respecto al nopal fresco (Tabla 3.9).

**Tabla 3.9** Efecto del tiempo de asado a  $75^\circ\text{C}$  sobre la concentración de fenoles totales (Media de 3 repeticiones  $\pm$  D.E)

Tiempo (min)	Concentración de ácido gálico ( $\mu\text{gEAG/g}$ )
0	$540.4 \pm 44.5^{*d}$
5	$604.2 \pm 12.6^{*d}$
10	$600.6 \pm 37.2^{*d}$
15	$1323.9 \pm 27.3^{*b}$
20	$1650.1 \pm 24.6^{*a}$
25	$868.4 \pm 30.1^{*c}$
30	$818.3 \pm 24.6^{*c}$

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

El tratamiento de los nopales asados a 100° C mostró que en promedio, existe una menor extractibilidad de los compuestos fenólicos en relación al tiempo de asado, con respecto a los tratados térmicamente a 75° C, obteniendo un incremento a los 5 y 10 minutos del 58 y 140 %, respectivamente con respecto al nopal fresco, sin embargo la concentración disminuyó de los 15 a los 25 minutos, aunque la extractibilidad permaneció mayor con respecto al control en 40, 22 y 19 %, aumentando nuevamente para los 30 minutos, tiempo en el que se registró el doble de la concentración observada en el nopal fresco (Tabla 3.10).

**Tabla 3.10** Efecto del tiempo de asado a 100° C sobre la concentración de fenoles totales (Media de 3 repeticiones ± D.E)

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Concentración de ácido gálico (µgEAG/g)</b>
0	540.4 ± 44.5 <sup>*c</sup>
5	853.8 ± 63.0 <sup>*c</sup>
10	1294.8 ± 128.5 <sup>*a</sup>
15	755.4 ± 38.3 <sup>*cd</sup>
20	657.0 ± 16.4 <sup>*de</sup>
25	640.6 ± 16.4 <sup>*de</sup>
30	1094.4 ± 71.1 <sup>*b</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa (p≤ 0.05)

Al igual que en los nopales asados a 100° C, las muestras tratadas a 125° C presentaron un incremento en la concentración de fenoles totales a los 5 y 10 minutos del tratamiento, alcanzando el doble de la concentración registrada para el nopal fresco, sin embargo, la concentración disminuyó de los 15 a los 25 minutos, generando un decremento de 25 % en relación al nopal fresco; la extractibilidad aumentó nuevamente para los 30 minutos, duplicando la concentración observada en el control.

El asado tuvo un efecto de incremento en la extractibilidad de los compuestos fenólicos con respecto al nopal fresco, solo en los nopales asados a 75° C se observaron valores similares, indicando que a esta temperatura se necesitan tiempos superiores a los 10 minutos para mejorar su extractibilidad, mientras que en los nopales asados a 125° C se observaron valores menores con respecto al control, lo que indica que a esta temperatura, tiempos superiores a los 15 minutos pueden degradar los compuestos fenólicos.

**Tabla 3.11** Efecto del tiempo de asado a 125° C sobre la concentración de fenoles totales (Media de 3 repeticiones ± D.E)

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Concentración de ácido gálico (µgEAG/g)</b>
0	540.4 ± 44.5 <sup>*d</sup>
5	807.4 ± 24.6 <sup>*bc</sup>
10	1178.2 ± 117.5 <sup>*a</sup>
15	791.9 ± 46.5 <sup>*c</sup>
20	407.4 ± 35.6 <sup>*d</sup>
25	482.1 ± 27.3 <sup>*d</sup>
30	952.2 ± 27.3 <sup>*b</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

Al considerar los resultados obtenidos, se puede observar que a temperaturas de o superiores a los 100° C solo es requerido un tratamiento térmico corto (5 minutos) para incrementar la extractibilidad. Se observó que la menor concentración de fenoles totales se obtuvo en el nopal asado a la mayor temperatura (125° C; 20 y 25 minutos), mientras que la mayor concentración de fenoles totales se registró en el nopal asado a la menor temperatura (75° C; 20 minutos); en la Figura 3.7 se observan los cambios en la extractibilidad de fenoles totales, generados por el proceso de asado (A-75° C, A-100° C y A-12° C del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) con respecto al nopal fresco (25° C).

De acuerdo con otros autores, el incremento en la extractibilidad de los compuestos fenólicos en los nopales asados con relación al nopal fresco puede atribuirse a que el tratamiento térmico facilitó la liberación de compuestos fenólicos enlazados a la pared celular, a la vez, la presencia de pectina de bajo metoxilo permitió que permanecieran estables en la matriz del alimento, sin embargo, a temperatura elevada (125° C), los compuestos fenólicos expuestos probablemente se oxidaron, generando una disminución (Jantrawut *et al.*, 2013; Tiwari *et al.*, 2013; Seveg *et al.*, 2012; Shang-Choi *et al.*, 2012).

Los resultados obtenidos, muestran congruencia con otros autores en pruebas con alimentos tratados térmicamente por este método de cocción, así, Seveg *et al.*, en el 2012 reportaron un incremento en la concentración de fenoles totales en garbanzo asado (125, 150 y 175° C; 30 minutos) de aproximadamente 50 %, la tendencia registrada se atribuyó a la liberación de polifenoles enlazados a la pared celular, de igual forma, Shang-Choi *et al.*, (2012) analizaron la concentración de fenoles totales en hojas, fruto, raíz y tallo de melón amargo (*Momordica charantia*), sometidos a asado (200-250° C; 15 minutos), obteniendo un

aumento en la concentración de fenoles totales con respecto a las muestras frescas, en donde se observó que los ácidos fenólicos y flavon-3-oles aumentaron su concentración, mientras que la concentración de flavonoles disminuyó.

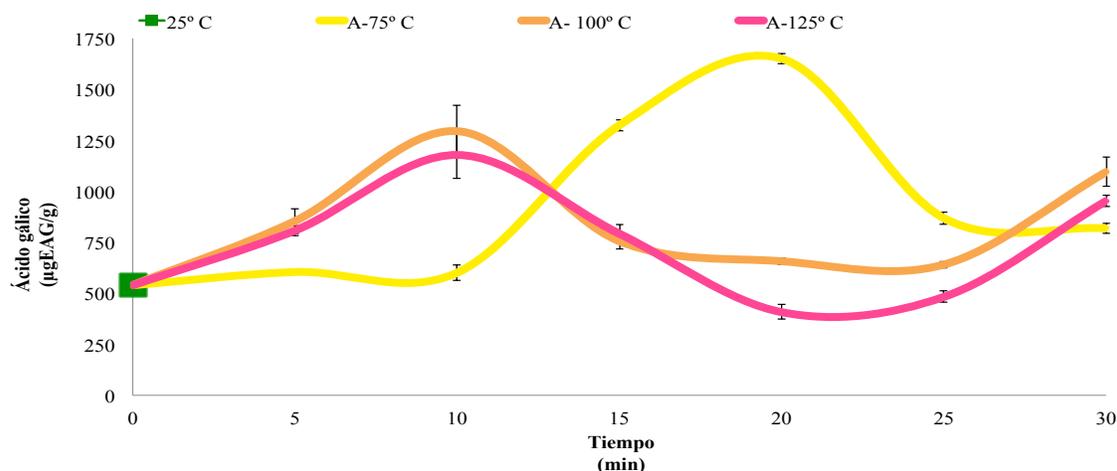


Figura 3.7 Efecto del asado sobre la concentración de fenoles totales

### 3.3.2 Efecto del tiempo de tratamiento sobre la concentración de fenoles totales (freído)

En el tratamiento de los nopales fritos a 75° C registró una disminución promedio del 56 % con respecto al nopal fresco, aunque se observó un incremento en la extractibilidad a partir de los 20 minutos (Tabla 3.12).

Tabla 3.12 Efecto del tiempo de freído a 75° C sobre la concentración de fenoles totales (Media de 3 repeticiones ± D.E)

Tiempo (min)	Concentración de ácido gálico (µgEAG/g)
0	540.4 ± 44.5 <sup>*a</sup>
5	174.3 ± 4.9 <sup>*c</sup>
10	142.5 ± 1.9 <sup>*c</sup>
15	185.4 ± 11.3 <sup>*c</sup>
20	280.0 ± 18.6 <sup>*b</sup>
25	322.9 ± 8.5 <sup>*b</sup>
30	310.0 ± 24.7 <sup>*b</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa (p≤ 0.05)

En el tratamiento de los nopales fritos a una temperatura mayor de tratamiento (100° C), se observó un ligero aumento en la extractibilidad de compuestos fenólicos con relación a los nopales tratados a 75° C, ya que el porcentaje de disminución fue de 45 %, sin embargo, al igual que en las muestras tratadas a 75° C, se mantuvo el comportamiento de recuperación gradual al incrementar el tiempo del tratamiento, a partir de los 20 minutos (Tabla 3.13).

**Tabla 3.13** Efecto del tiempo de freído a 100° C sobre la concentración de fenoles totales (Media de 3 repeticiones  $\pm$  D.E)

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Concentración de ácido gálico (<math>\mu</math>gEAG/g)</b>
0	540.4 $\pm$ 44.5 <sup>*a</sup>
5	270.0 $\pm$ 8.6 <sup>*cd</sup>
10	250.3 $\pm$ 7.1 <sup>*cd</sup>
15	241.4 $\pm$ 17.2 <sup>*d</sup>
20	343.8 $\pm$ 33.9 <sup>*b</sup>
25	312.6 $\pm$ 18.9 <sup>*bc</sup>
30	360.3 $\pm$ 23.0 <sup>*b</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

Respecto a los nopales tratados a 125° C, se observó que la concentración de fenoles totales en promedio, fue 60 % menor con respecto al nopal fresco, presentando la misma tendencia de incremento en la extractibilidad que en los nopales tratados a 75 y 100° C, a partir de los 20 minutos (Tabla 3.14).

**Tabla 3.14** Efecto del tiempo de freído a 125° C sobre la concentración de fenoles totales (Media de 3 repeticiones  $\pm$  D.E)

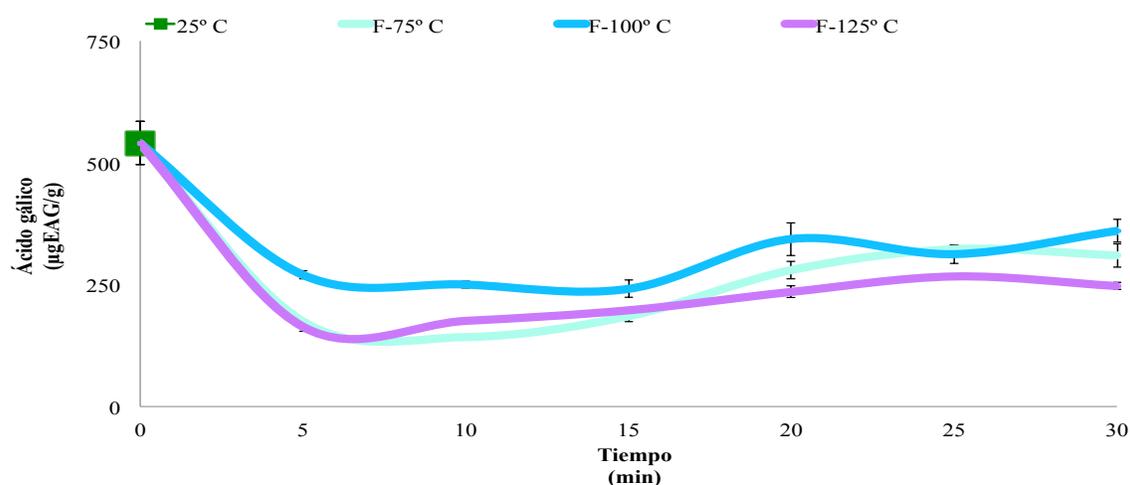
<b>Tiempo (min)</b>	<b>Concentración de ácido gálico (<math>\mu</math>gEAG/g)</b>
0	540.4 $\pm$ 44.5 <sup>*a</sup>
5	163.6 $\pm$ 10.4 <sup>*d</sup>
10	175.8 $\pm$ 1.4 <sup>*d</sup>
15	197.4 $\pm$ 3.3 <sup>*cd</sup>
20	235.2 $\pm$ 12.6 <sup>*bc</sup>
25	266.9 $\pm$ 5.5 <sup>*b</sup>
30	247.2 $\pm$ 7.1 <sup>*bc</sup>

Letras distintas dentro de la misma columna, indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

El proceso de freído presentó efectos negativos sobre la concentración de fenoles totales, lo cual puede atribuirse a que, como se mencionó anteriormente, el pre-tratamiento en agua en ebullición deja expuestos los compuestos fenólicos, por lo que en el segundo tratamiento pudieron oxidarse y, en el caso de los flavonoides, es posible que se solubilizaran en el aceite utilizado para el proceso, ya que son compuestos liposolubles (El-Mostafa *et al.*, 2014; Aladedunye y Przbylski, 2011; Materska, 2010).

El pico máximo de extractibilidad se observó en el nopal frito a 100° C (30 minutos), mientras que la menor extractibilidad se registró en los nopales fritos a 75° C (5, 10 y 15 minutos); en la Figura 3.8 se observan los cambios en la extractibilidad de fenoles totales, generados por el proceso de freído (F-75° C, F-100° C y F-125° C) del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) con respecto al nopal fresco (25° C).

Es importante mencionar que existen evidencias de la disminución de la extractibilidad de los compuestos fenólicos por efecto del tratamiento térmico, en el caso de garbanzo frito (190° C; 5, 10 y 15 minutos), Seveg *et al.*, en el 2012 atribuyeron dicha tendencia a la degradación de los compuestos fenólicos encontrados en el centro de los garbanzos, mientras que, Barakat, en el 2014 analizó el efecto del proceso de freído (180° C; 5 minutos) en dietas ovo-vegetarianas basadas en un 25 % de coliflor, calabazas, malanga, ejote o espinacas, 25 % de chícharos e ingredientes adicionales, obteniendo un decremento promedio de 10 % en la concentración de los compuestos fenólicos totales.



**Figura 3.8** Efecto del freído sobre la concentración de fenoles totales

En el caso de nopal hervido (20 minutos), Ramírez-Moreno *et al.*, en el 2013, también reportaron un decremento del 34 y 17 % en nopal (*Opuntia ficus-indica*), variedades Milpa Alta y Atlixco, respectivamente, mientras que Jaramillo-Flores *et al.*, (2003) observaron un decremento promedio del 72 % en nopal sometido al mismo tratamiento térmico (30 minutos), atribuyendo esta tendencia a que los extractos contenían principalmente fenoles solubles, susceptibles a degradación por aumento de temperatura, por su parte, Guevara-Figueroa *et al.*, en el 2010 reportaron un decremento del 80 % en polvo de cladodios de nopal liofilizado (*Opuntia ficus-indica*), con respecto al nopal fresco, atribuido a la degradación de flavonoides.

## **Conclusiones**

\* El proceso de asado presenta un efecto positivo sobre la actividad antioxidante y la concentración de fenoles totales, generando un incremento del 66 y 62 % respectivamente.

\* El proceso de freído, por el contrario, genera el efecto negativo sobre la actividad antioxidante y la concentración de fenoles totales, generando un decremento del 25 y 54 % respectivamente.

\* Se recomienda utilizar el tratamiento térmico de asado para el consumo de nopal verdura a una temperatura de 125° C durante 20 minutos.

\* No se recomienda utilizar el tratamiento térmico de freído, ya que, a partir de una temperatura de 75° C durante 5 minutos la actividad antioxidante disminuye significativamente.

## **Bibliografía**

- 1.- Aguilar-Becerril, G. y Peña-Valdivia, C. 2006.** Alteraciones fisiológicas provocadas por sequía en nopal (*Opuntia ficus-indica*). Revista Fitotecnia Mexicana. 29(3): 231-237.
- 2.- Aladedunye, F. y Przbylski, R. 2011.** Antioxidative properties of phenolic acids and interaction with endogenous minor components during frying. European Journal of Lipid Science and Technology. 113, 1465-1473.
- 3.- Archivio, M., Filesi, C., Vari, R., Sczzocchio, B. y Masella, R. 2010.** Bioavailability of the phenols: status and controversies. International Journal of Molecular Sciences. 11, 1321-1342.
- 4.- Armenta, R. y Guerrero-Legarreta, I. 2009.** Amino acid profile and enhancement of the enzymatic hydrolysis of fermented shrimp caroproteins. Food Chemistry. 112(2): 310-315.
- 5.- Badui-Dergal, S. 2006.** Química de los alimentos. 4° Edición. Ed. PEARSON EDUCACIÓN. México. Pp. 92-972 y 281-282.
- 6.- Bandyopadhyay, P., Ghosh, A. y Ghosh, C. 2012.** Recent developments on polyphenol-protein interactions: effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system. Food & Function. 3, 592-605.
- 7.- Barakat, H. 2014.** Effect of frying-cooking on nutritional and bioactive compounds of innovative ovo-vegetarian diets. Food and Nutrition Sciences. 5, 1577-1590.
- 8.- Bartosz, G. 2014.** Food oxidants and antioxidants: chemical, biological, and functional properties. 1° Edition. Taylor & Francis Group, LLC. USA. Pp. 399-405.

- 9.- **Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi y Goñi, I. 2010.** By-products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. *Plant Food for Human Nutrition*. 65(3): 210-216.
- 10.- **Bernardino-Nicanor, A., Hinojosa-Hernández, E., Juárez-Goiz, J., Montañez-Soto, J., Ramírez-Ortiz, M. y González-Cruz, L. 2015.** Quality of *Opuntia robusta* and its use in development of mayonnaise-like product. *Journal of Food Science and Technology*. 52(1): 343-350.
- 11.- **Bichara, L., Lanus, H., Nieto, C. y Brandán, S. 2010.** Density functional theory calculations of the molecular force field of L-ascorbic acid, vitamin C. *Journal of Physical Chemistry*. 114, 4997-5004.
- 12.- **Blanco-Macías, F., Valdez-Cepeda, R., Magallanes-Quintanar, R., Vázquez-Alvarado, R., Olivares-Sáenz, E., Gutiérrez-Ornelas, E. y Vidales-Contreras, J. 2011.** El rendimiento e interacciones nutrimentales en nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Revista Salud Pública y Nutrición*. 5, 255-260.
- 13.- **Bohndiek, S., Kettunen, M., Hu, D., Kennedy, B., Boren, J., Gallagher, F. y Brindle, K. 2011.** Hyperpolarized [1-13C]-ascorbic and dehydroascorbic acid: vitamin C as a probe for imaging redox status in vivo. *Journal of the American Chemical Society*. 113, 11795-11801.
- 14.- **Boskou, D. y Elmadfa, I. 2011.** *Frying of food: oxidation, nutrient and non-nutrient antioxidants, biologically active compounds and high temperatures*. 2° Edition. CRC PRESS. USA. Pp. 91-94.

- 15.- Boutakiout, A., Elothmani, D., Mahrouz, M., Hamid, I. y Hanine, H. 2015.** Phytochemical constituents and *in vitro* radical scavenging activity of different cladodes juice of cactacea cultivars from different areas in Morocco. International Journal of Technology Enhancements and Emerging Engineering Research. 3(01): 56-66.
- 16.- Cardor-Martínez, A., Jiménez-Martínez, C. y Sandoval, G. 2011.** Revalorization of cactus pear (*Opuntia* spp.) wastes as a source of antioxidants. Ciência e Tecnologia de alimentos. 31(3): 782-788.
- 17.- Cardoso-Silva, M., Silva-Costa, R., Dos Santos-Santana, A. y Bello-Koblitz, M. 2010.** Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. Ciências Agrárias, Londrina. 31(3): 669-682.
- 18.- Cartea, M., Francisco, M., Soengas, P. y Velasco, P. 2011.** Phenolic compounds in *Brassica* vegetables. Molecules. 16, 251-280.
- 19.- Caruso, M., Currò, S., Las Casas, G., La Malfa, S. y Gentile, A. 2010.** Microsatellite markers help to asses genetic diversity among *Opuntia ficus-indica* cultivated genotypes and their relation with related species. Plant Systematics and Evolution. 290(1-4): 85-97.
- 20.- Corrales-García, J. 2011.** Perspectivas agroindustriales de la post-cosecha de nopalito y la tuna. Revista Salud Pública y Nutrición. 5, 1-22.
- 21.- El-Mostafa, K., Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., Kebbaj, M., Latruffe, N., Lizard, G., Nasser, B. y Cherkaoui-Malki, M. 2014.** Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. Molecules. 19, 14879-14901.

- 22.- **Eroglu, A. y Harrison, E. 2013.** Carotenoid metabolism in mammals, including man: formation, occurrence, and function of apocarotenoids. *Journal of lipid research*. 54, 1719-1730.
- 23.- **Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Jarén-Galán, M., Garrido-Fernández, J., Pérez-Gálvez, A. y Hornero-Méndez, D. 2012.** Carotenoids bioavailability from foods: from plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*. 46(2): 438-450.
- 24.- **FND (Financiera Nacional de Desarrollo agropecuario, rural, forestal y pesquero). 2011.** Monografía del nopal y la tuna. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial. Dirección Ejecutiva de Análisis Sectorial. México, D.F.
- 25.- **Ghasemzadeh, A. y Ghasemzadeh, N. 2011.** Flavonoids and phenolic acids: role and biochemical activity in plants and human. *Journal of medicinal plants research*. 5(31): 6697-6703.
- 26.- **González-Cruz, L., Filardo-Kerstupp, S., Bello-Pérez, L., Güemes-Vera, N. y Bernardino-Nicanor, A. 2012.** Carotenoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of low-calorie nopal (*Opuntia ficus-indica*) marmalade. *Journal of Food Processing and Preservation*. 36: (267-275).
- 27.- **Guevara-Figueroa, T., Jiménez-Islas, H., Reyes-Escogido, M., Mortensen, A., Laursen, B., Lin, L., De León-Rodríguez, A., Fomsgaard, I. y Barba de la Rosa, A. 2010.** Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.) *Journal of Food Composition and Analysis*. 23, 525-532.
- 28.- **Gülçin, İ. 2012.** Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*. 86, 345-391.

- 29.- Hager, T. y Morawocki, R. 2013.** Energy consumption during cooking in the residential sector of development nation: A review. *Food Policy*. 40, 54-6.
- 30.- Harrison, E. 2012.** Mechanism involved in the intestinal absorption of dietary vitamin A and provitamin A carotenoids. *Biochemical et Biophysical Act (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1821(1): 70-77.
- 31.- Hernández-Cruz, A. y Paredes-López, O. 2010.** Enhancement of economical value of nopal and its fruits through biotechnology. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 12, 110-116.
- 32.- Hernández-Urbiola, M., Contreras-Padilla, M., Pérez-Torrero, E., Hernández-Quevedo, G., Rojas-Molina, J., Cortés, M. y Rodríguez-García, M. 2010.** Study of nutritional composition of nopal (*Opuntia ficus-indica* cv. Redonda) at different maturity stages. *The Open Nutrition Journal*. 4, 11-16.
- 33.- Hyun-II, J., Mi-Na, C., Eun-In, Y., Dong-Geun, C. y Ypung-Soo, K. 2013.** Phytochemical properties and antioxidant activity of Korean cactus (*Opuntia humifusa*) cladodes. *Horticultural Environment Biotechnology*. 54(3):288-295.
- 34.- Jana, S. 2012.** Nutraceutical and functional properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) and its utilization for food application. *Journal of Engineering Research and Studies*. 3(2): 60-66.
- 35.- Jantrawut, P., Assifaoui, A. y Chambin, O. 2013.** Influence of low methoxyl pectin gel textures and *in vitro* release of rutin from calcium pectinate beads. *Carbohydrate Polymers*. 97, 335-342.

- 36.- Jaramillo-Flores, M., González-Cruz, L., Cornejo-Mazón, M., Dorantes-Álvarez, M., Gutiérrez-López, G. y Hernández-Sánchez, H. 2003.** Effect of thermal treatment on the antioxidant activity and content of carotenoids and phenolic compounds of cactus pear cladodes (*Opuntia ficus-indica*). Food Science and Technology International. 9(4): 0271-8.
- 37.- Jaswir, I., Noviendri, D., Hasrini, R. y Octavianti, F. 2011.** Carotenoids: sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. Journal of Medicinal Plants Research. 5(33): 7119-7131.
- 38.- Kaur, M., Kaur, A. y Sharma, R. 2012.** Pharmacological actions of *Opuntia ficus-indica*: A Review. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 02(07): 15-18.
- 39.- Khadem, S. y Marles, R. 2010.** Monocyclic phenolic acids; hydroxyl- and polyhydroxybenzoic acids: occurrence and recent bioactivity studies. Molecules. 15, 7985-8005.
- 40.- Khoo, H., Prasad, K., Kong, K., Jiang, K. y Ismail, A. 2011.** Carotenoids and their isomers: color pigments in fruits and vegetables. Molecules. 16(2): 1710-1738.
- 41.- Li, B. y Bernstein, P. 2012.** Macular pigment carotenoids and their roles in human eye health and disease. Stratton, Hauswirth, Garden (Eds.). Studies on retinal and choroidal disorders. Ed. Springer. USA. Pp. 613-627.
- 42.- López-Callejas, R., de Ita, A., Vaca-Mier, M., Lizardi-Ramos, A., Morales-Gómez, J. y Lara-Valdivia, A. 2009.** Modelado de la cinética de secado del nopal (*Opuntia ficus-indica*) con energía solar. Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco. México, D.F.

- 43.- Lusty, C., Akyeampong, M., Davey, M., Newill, G. y Markham, R. 2006.** Un alimento básico de interés nutritivo. The International Magazine on banana and plantain (INFOMUSA). 15, 39-42.
- 44.- Majure, L., Puente, R., Patrick-Griffith, M., Judd, S., Soltis, M. y Soltis, D. 2012.** Phylogeny of *Opuntia* s.s. (*Cactaceae*): clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. American Journal of Botany. 99(5): 847-864.
- 45.- Materska, M. 2010.** Evaluation of the lipophilicity and stability of phenolic compounds in herbal extracts. Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria. 9(1): 61-69.
- 46.- Meraz-Maldonado, N. 2012.** Modified atmospheres in the micro perforated mode, bacteria growth and plaguicides residues in vegetable nopal (*Opuntia ficus-indica* L.). Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México.
- 47.- Morosinotto, T. y Bassi, R. 2012.** Assembly of light harvesting pigment-protein complex in photosynthetic eukaryotes. Eaton-Rye, Tripathy, Sharkey (Eds.). Photosynthesis: Plastid Biology, Energy Conversion and Carbon Assimilation. Ed Springer. USA. Pp. 113-126.
- 48.- Nagao, A. 2009.** Absorption and function of dietary carotenoids. Food Factors and Health Promotion. 61, 55-63.
- 49.- Osorio-Córdoba, J., Pelayo-Zaldívar, C., Verde-Calvo, J., Ponce-Valadez, M., Días de León-Sánchez, F., Bosquez-Molina, E. y Rodríguez-Huezo, M. 2011.** Conservación de nopal verdura “Milpa Alta” (*Opuntia ficus-indica* Mill.) desespinado en envases con atmósfera modificada. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 10(1): 9-104.

- 50.- Pan, G., Barras, A., Boussekey, L., Qu, X. y Boukherroub, R. 2013.** Photochemical reaction of vitamin C with silicon nanocrystals: polymerization, hydrolysis and photoluminescence. *Journal of Materials Chemistry*. 1, 5856-5865.
- 51.- Park, Y., Spiegelman, D., Hunter, D., Albanes, D., Bergkvist, L., Buring, J., Freudenheim, L., Giovannucci, E., Golbdohm, A., Harnack, L., Kato, I., Krogh, V., Leitzmann, M., Limburg, P., Marshall, J., McCullough, M., Miller, A., Rohan, T., Schatzkin, A., Shore, R., Sieri, S., Stampfer, M., Virtamo, J., Weijenberg, M., Willer, W., Wolk, A., Zhang, S. y Smith-Warner, S. 2010.** Intakes of vitamins A, C and E and use of multiple vitamin supplements and risk of colon cancer: a pooled analysis of prospective cohort studies. *Cancer Causes Control*. 21(11): 1745-1757.
- 52.- Quirós-Sauceda, A., Palafox-Carlos, H., Sáyago-Ayerdi, S., Ayala-Zavala, J., Bello-Perez, L., Álvarez-Parrilla, E., de la Rosa, L., González-Córdoba, A. y González-Aguilar, G. 2014.** Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and posible effect after ingestión. *Food & Fuction*. 5, 1063-1072.
- 53.- Rahman, A. 2015.** *Studies in natural products chemistry*. Elsevier. USA. Volume 45. Pp. 245-246.
- 54.- Ramírez-Moreno, E., Córdoba-Díaz, D., Sánchez-Mata, M., Díez-Marqués, C. y Goñi, I. 2013.** Effect of boiling on nutritional, antioxidant and physicochemical characteristics in cladodes (*Opuntia ficus-indica*). *LWT-Food Science and Technology*. 51(1): 296-302.
- 55.- Reyes-Agüero, A., Aguirre-Rivera, J. y Hernández, H. 2005.** Systematic notes and a detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (*Cactaceae*). *Agrociencia*. 39, 395-408.

- 56.- Sang-Lee, J. 2010. Stomatal opening mechanism of CAM plants. *Journal of Plant Biology*. 53(1): 19-23.
- 57.- Scheinvar, L., Filardo-Kerstupp, S., Olalde-Parra, G. y Zavaleta-Beckler, P. 2009. Diez especies mexicanas productoras de xocostles: *Opuntia* spp. y *Cylindropuntia imbricata* (Cactaceae). Primera edición. México, D.F. Pp. 17 y 24.
- 58.- Seveg, A., Badani, H., Galili, L., Hovav, R., Kapulnik, Y. y Shomer, I. 2012. Effects of baking, roasting and frying on total polyphenols and antioxidant activity in colored chickpea seeds. *Food and Nutrition Sciences*. 3, 369-376.
- 59.- Seymour, G., Poole, M., Giovannoni, J. y Tucker. 2013. The molecular biology and biochemistry of fruit ripening. Carotenoids biosynthesis and chlorophyll Degradation. John Wiley & Sons, Inc.US. Pp. 83-84.
- 60.- Shang-Choi, J., Young-Kim, H., Taek-Seo, W., Lee-Hwan, J. y Man-Cho, K. 2012. Roasting enhances antioxidant effect of bitter melon (*Momordica charantia* L.) increasing in flavan-3-ol and phenolic acid contents. *Food Sciences and Biotechnology*. 21(1): 19-26.
- 61.- Shetty, A., Rana, M. y Preetham, S. 2011. Cactus: a medicinal food. *Journal of Food Science and Technology*. 49(5): 530-536.
- 62.- Shumskaya, M., Bradbury, L., Monaco, R. y Wurtzel, E. 2012. Plastid localization of the key carotenoid enzyme phytoene synthase is altered by isozyme, allelic variation, and activity. *The Plant Cell*. 24, 3725-3741.
- 63.- SIAP-SAGARPA (Servicio de Información Agroalimentaria y pesquera-Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2014. Resumen Nacional de la Producción Agrícola. México, D.F.

- 64.- Siger, A., Nogala-Kalucka, M. y Lampart-Szczapa, E. 2008.** The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *Journal of Food Lipids*. 15(2008): 137-149.
- 65.- Strati, I., Sinanoglou, V., Kora, L., Miniadis-Meimaroglou, S. y Oreopoulou, V. 2012.** Carotenoids from foods of plant, animal and marine origin: an efficient HPLC-DAD separation method. *Foods*. 1(1): 52-65.
- 66.- Tang, G. 2010.** Bioconversion of dietary provitamin A carotenoids to vitamin A in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 91, 1468S-1473S.
- 67.- Tiwari, B., Brunton, N. y Brennan, C. 2013.** Handbook of plant food phytochemicals: sources, stability and extraction. 1° Edition. WILEY-BLACKWELL. UK. Pp. 149-151.
- 68.- Valduga, E., Oliveira-Tatsch, P., Tiggemann, L., Treichel, H., Toniazzo, G., Zeni, J. y Di Luccio, M. 2009.** Produção de carotenoides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. *Revisão Química-Nova*. 9, 2429-2436.
- 69.- Villa-Saravia, L. 2004.** Freído por inmersión profunda: Modelado y análisis matemático de la dinámica inicial. *Revista FACENA (Facultad de Ciencias Exactas y naturales y Agrimensura de la UNNE)*. 20, 47-63.
- 70.- West-Eberhard, M., Smith, A. y Winter, K. 2011.** Photosynthesis, reorganized. *Science*. 332(6027): 311-312.

## Anexos

### A) Preparación de DPPH

#### 1.- DPPH al 0.1 mM (0.001 mol/L)

$$M = \frac{n}{V}$$

$$n = \frac{m}{PM}$$

$$M = \frac{m}{PM * V}$$

$$m = M * PM * V$$

m = Masa (g)

M = Molaridad (mol/L)

PM = Peso molecular (g/mol)

V = Volumen (L)

n = Número de moles (mol)

$$m = \left(0.0001 \frac{\text{mol}}{\text{L}}\right) * \left(394.5 \frac{\text{g}}{\text{mol}}\right) * \left(0.1 \text{ L}\right)$$

$$m = 0.00394 \text{ g}$$

Por lo tanto se pesaron 0.00394 g de DPPH y se aforó en un matraz de 100 mL con metanol al 80 % v/v.

#### 2.- DPPH al 0.02 mM a partir de la disolución madre de DPPH al 0.01mM

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 0.1 \text{ mM} \quad C_2 = 0.02 \text{ mM}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.02 \text{ mM}) * (25 \text{ mL})}{0.1 \text{ mM}} = 5 \text{ mL}$$

Se tomaron 5 mL de la disolución madre de DPPH y se aforó a 25 mL con metanol al 80 % v/v.

**3.- DPPH al 0.04 mM a partir de la disolución madre de DPPH al 0.01mM**

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 0.1\text{mM} \quad C_2 = 0.04\text{mM}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.04 \text{ mM}) * (25 \text{ mL})}{0.1 \text{ mM}} = 10 \text{ mL}$$

Se tomaron 10 mL de la disolución madre de DPPH y se aforó a 25 mL con metanol al 80 % v/v.

**4.- DPPH al 0.06 mM a partir de la disolución madre de DPPH al 0.01mM**

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 0.1\text{mM} \quad C_2 = 0.06\text{mM}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.06 \text{ mM}) * (25 \text{ mL})}{0.1 \text{ mM}} = 15 \text{ mL}$$

Se tomaron 15 mL de la disolución madre de DPPH 0 y se aforó a 25 mL con metanol al 80 % v/v.

**5.- DPPH al 0.08 mM a partir de la disolución madre de DPPH al 0.01mM**

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

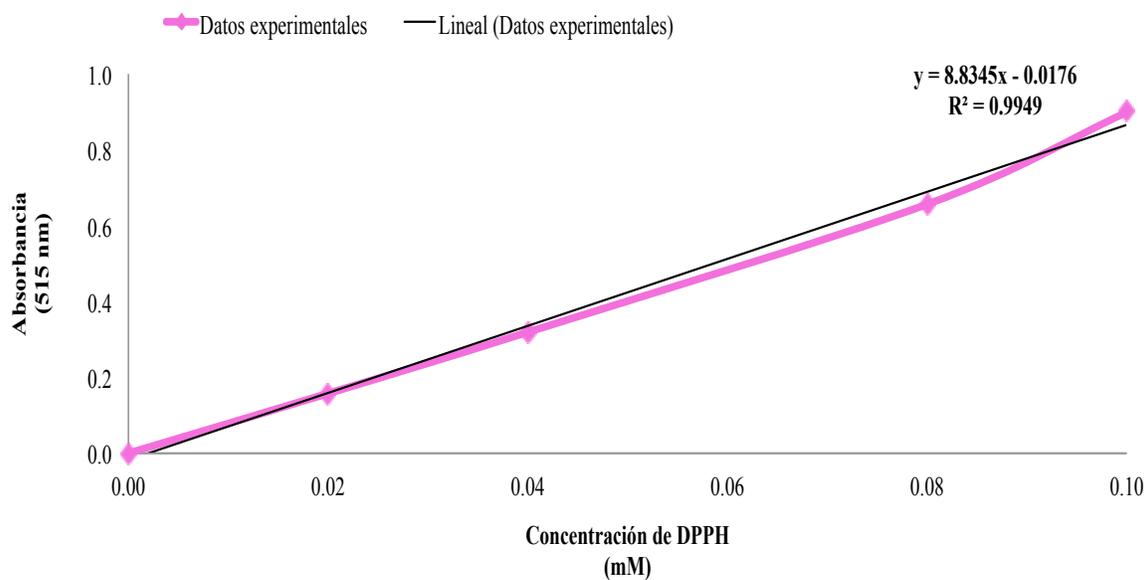
$$C_1 = 0.1\text{mM} \quad C_2 = 0.08\text{mM}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.08 \text{ mM}) * (25 \text{ mL})}{0.1 \text{ mM}} = 20 \text{ mL}$$

Se tomaron 20 mL de la disolución madre de DPPH y se aforó a 25 mL con metanol al 80 % v/v.

## B) Curva de calibración para actividad antioxidante



$$y = 8.8345x - 0.0176$$

$$Absorbancia_{515nm} = (8.8345 * Concentración de DPPH) - 0.0176$$

$$(8.8345 * Concentración de DPPH) - 0.0176 = Absorbancia_{515nm}$$

$$8.8345 * Concentración de DPPH = Absorbancia_{515nm} + 0.0176$$

$$Concentración de DPPH (mM) = \frac{Absorbancia_{515nm} + 0.0176}{8.8345}$$

### C) Preparación de ácido gálico

#### 1.- Disolución madre de ácido gálico (5 mg/mL)

Se pesaron 5 g de ácido gálico los cuales se disolvieron en 10 mL de etanol, posteriormente se aforó en un matraz de 100 mL utilizando agua destilada.

#### 2.- Ácido gálico 0.0005 mg/mL a partir de la disolución madre de 5 mg/mL

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 5 \text{ mg/mL} \quad C_2 = 0.0005 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.0005 \text{ mg/mL}) * (50 \text{ mL})}{50 \text{ mg/mL}} = 0.0005 \text{ mL} = 5 \text{ } \mu\text{L}$$

Se tomaron 5  $\mu$ L de la disolución madre de ácido gálico y se aforó a 50 mL con etanol al 10 % v/v.

#### 3.- Ácido gálico 0.0010 mg/mL a partir de la disolución madre de 5 mg/mL

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 5 \text{ mg/mL} \quad C_2 = 0.0010 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.0010 \text{ mg/mL}) * (50 \text{ mL})}{50 \text{ mg/mL}} = 0.0010 \text{ mL} = 10 \text{ } \mu\text{L}$$

Se tomaron 10  $\mu$ L de la disolución madre de ácido gálico y se aforó a 50 mL con etanol al 10 % v/v.

#### 4.- Ácido gálico 0.0015 mg/mL a partir de la disolución madre de 5 mg/mL

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 5 \text{ mg/mL} \quad C_2 = 0.0015 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.0015 \text{ mg/mL}) * (50 \text{ mL})}{50 \text{ mg/mL}} = 0.0015 \text{ mL} = 15 \text{ }\mu\text{L}$$

Se tomaron 15  $\mu\text{L}$  de la disolución madre de ácido gálico y se aforó a 50 mL con etanol al 10 % v/v.

**5.- Ácido gálico 0.0020 mg/mL a partir de la disolución madre de 5 mg/mL**

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 5 \text{ mg/mL} \quad C_2 = 0.0020 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.0020 \text{ mg/mL}) * (50 \text{ mL})}{50 \text{ mg/mL}} = 0.0020 \text{ mL} = 20 \text{ }\mu\text{L}$$

Se tomaron 20  $\mu\text{L}$  de la disolución madre de ácido gálico y se aforó a 50 mL con etanol al 10 % v/v.

**6.- Ácido gálico 0.0025 mg/mL a partir de la disolución madre de 5 mg/mL**

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 5 \text{ mg/mL} \quad C_2 = 0.0025 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.0025 \text{ mg/mL}) * (50 \text{ mL})}{50 \text{ mg/mL}} = 0.0025 \text{ mL} = 25 \text{ }\mu\text{L}$$

Se tomaron 25  $\mu\text{L}$  de la disolución madre de ácido gálico y se aforó a 50 mL con etanol al 10 % v/v.

**7.- Ácido gálico 0.0030 mg/mL a partir de la disolución madre de 5 mg/mL**

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 5 \text{ mg/mL} \quad C_2 = 0.0030 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.0030 \text{ mg/mL}) * (50 \text{ mL})}{50 \text{ mg/mL}} = 0.0030 \text{ mL} = 30 \text{ }\mu\text{L}$$

Se tomaron 30  $\mu\text{L}$  de la disolución madre de ácido gálico y se aforó a 50 mL con etanol al 10 % v/v.

**8.- Ácido gálico 0.0035 mg/mL a partir de la disolución madre de 5 mg/mL**

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 5 \text{ mg/mL} \quad C_2 = 0.0035 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.0035 \text{ mg/mL}) * (50 \text{ mL})}{50 \text{ mg/mL}} = 0.0035 \text{ mL} = 35 \text{ }\mu\text{L}$$

Se tomaron 35  $\mu\text{L}$  de la disolución madre de ácido gálico y se aforó a 50 mL con etanol al 10 % v/v.

**9.- Ácido gálico 0.0040 mg/mL a partir de la disolución madre de 5 mg/mL**

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 5 \text{ mg/mL} \quad C_2 = 0.0040 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.0040 \text{ mg/mL}) * (50 \text{ mL})}{50 \text{ mg/mL}} = 0.0040 \text{ mL} = 40 \text{ }\mu\text{L}$$

Se tomaron 40  $\mu\text{L}$  de la disolución madre de ácido gálico y se aforó a 50 mL con etanol al 10 % v/v.

**10.- Ácido gálico 0.0045 mg/mL a partir de la disolución madre de 5 mg/mL**

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$C_1 = 5 \text{ mg/mL} \quad C_2 = 0.0045 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.0045 \text{ mg/mL}) * (50 \text{ mL})}{50 \text{ mg/mL}} = 0.0045 \text{ mL} = 45 \text{ }\mu\text{L}$$

Se tomaron 45  $\mu\text{L}$  de la disolución madre de ácido gálico y se aforó a 50 mL con etanol al 10 % v/v.

**11.- Ácido gálico 0.0050 mg/mL a partir de la disolución madre de 5 mg/mL**

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

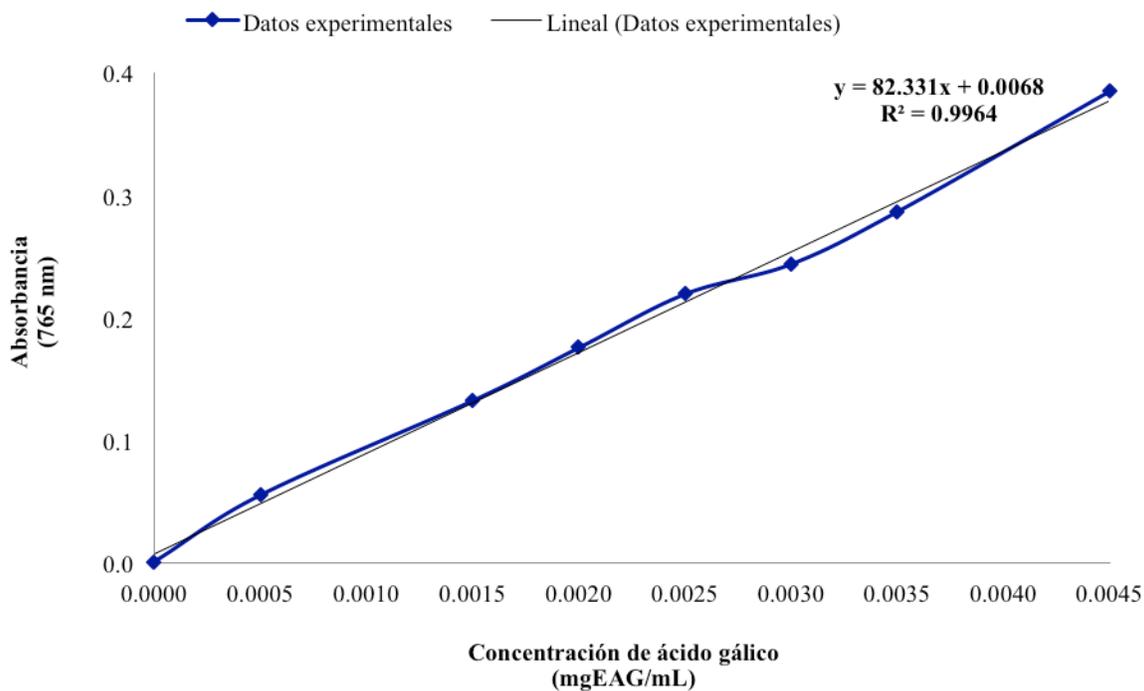
$$C_1 = 5 \text{ mg/mL} \quad C_2 = 0.0050 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \quad V_2 = 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1} = \frac{(0.0050 \text{ mg/mL}) * (50 \text{ mL})}{50 \text{ mg/mL}} = 0.0050 \text{ mL} = 50 \text{ }\mu\text{L}$$

Se tomaron 50  $\mu\text{L}$  de la disolución madre de ácido gálico y se aforó a 50 mL con etanol al 10 % v/v.

#### D) Curva de calibración para concentración de fenoles totales



$$y = 82.331x + 0.0068$$

$$Absorbancia_{765nm} = (82.331 * Concentración de ácido gálico) + 0.0068$$

$$(82.331 * Concentración de ácido gálico) + 0.0068 = Absorbancia_{765nm}$$

$$82.331 * Concentración de ácido gálico = Absorbancia_{765nm} - 0.0068$$

$$Concentración de ácido gálico (mgEAG/mL) = \frac{Absorbancia_{765nm} - 0.0068}{82.331}$$

## E) Cálculos para concentración de fenoles totales

### 1.- Extracto

$$\frac{10 \text{ g de nopal}}{45 \text{ mL de etanol}} = 0.2222 \frac{\text{g de nopal}}{\text{mL de etanol}}$$

### 2.- Dilución de los extractos de nopal fresco y asados

$$\frac{250 \text{ } \mu\text{L de extracto}}{25 \text{ mL de etanol}} \left| \frac{0.1 \text{ mL}}{100 \text{ } \mu\text{L}} \right| = \frac{25 \text{ mL de extracto}}{2500 \text{ mL de etanol}} = \frac{1 \text{ mL de extracto}}{100 \text{ mL de etanol}} = 1 \%$$

### 3.- Por lo tanto, la concentración de nopal en las muestras analizadas fue:

$$0.2222 \frac{\text{g de nopal}}{\text{mL de etanol}} \longrightarrow 100 \%$$

$$X \frac{\text{g de nopal}}{\text{mL de etanol}} \longrightarrow 1 \%$$

$$X = \frac{0.2222 * 1 \%}{100 \%}$$

$$X = 0.002222 \frac{\text{g de nopal}}{\text{mL de extracto}}$$

### 4.- La absorbancia registrada en el espectrofotómetro según la curva de calibración se encuentra en mgEAG (miligramo equivalente de ácido gálico) por mililitro

$$\frac{\text{mgEAG}}{\text{mL de extracto}} \left| \frac{1000 \text{ } \mu\text{g}}{1 \text{ mg}} \right| \longrightarrow \text{Absorbancia}_{765\text{nm}} * 1000 \frac{\text{ } \mu\text{gEAG}}{\text{mL de extracto}}$$

5.- Por lo tanto, la concentración de  $\mu\text{gEAG}$  por gramo de nopal se determina de la siguiente manera:

$$\frac{\mu\text{gEAG}}{\text{g de nopal}} = \frac{\text{Absorbancia}_{765\text{nm}} * 1000 \frac{\mu\text{gEAG}}{\text{mL de extracto}}}{0.002222 \frac{\text{g de nopal}}{\text{mL de extracto}}}$$

$\frac{\mu\text{gEAG}}{\text{g de nopal}} = \text{Absorbancia}_{765\text{nm}} * 450,045.005$
--

6.- Dilución de los extracto de nopal fritos

$$\frac{2500 \mu\text{L de extracto}}{25 \text{ mL de etanol}} \left| \frac{0.1 \text{ mL}}{100 \mu\text{L}} \right| = \frac{250 \text{ mL de extracto}}{2500 \text{ mL de etanol}} = \frac{10 \text{ mL de extracto}}{100 \text{ mL de etanol}} = 10 \%$$

7.- Por lo tanto, la concentración de nopal en las muestras analizadas fue:

$$0.2222 \frac{\text{g de nopal}}{\text{mL de etanol}} \longrightarrow 100 \%$$

$$X \frac{\text{g de nopal}}{\text{mL de etanol}} \longrightarrow 10 \%$$

$$X = \frac{0.2222 * 10 \%}{100 \%}$$

$$X = 0.02222 \frac{\text{g de nopal}}{\text{mL de extracto}}$$

8.- La absorbancia registrada en el espectrofotómetro según la curva de calibración se encuentra en mgEAG (miligramo equivalente de ácido gálico) por mililitro

$$\frac{\text{mgEAG}}{\text{mL de extracto}} \left| \frac{1000 \mu\text{g}}{1 \text{ mg}} \right| \longrightarrow \text{Absorbancia}_{765\text{nm}} * 1000 \frac{\mu\text{gEAG}}{\text{mL de extracto}}$$

9.- Por lo tanto, la concentración de  $\mu\text{gEAG}$  por gramo de nopal se determina de la siguiente manera:

$$\frac{\mu\text{gEAG}}{\text{g de nopal}} = \frac{\text{Absorbancia}_{765\text{nm}} * 1000 \frac{\mu\text{gEAG}}{\text{mL de extracto}}}{0.02222 \frac{\text{g de nopal}}{\text{mL de extracto}}}$$

$\frac{\mu\text{gEAG}}{\text{g de nopal}} = \text{Absorbancia}_{765\text{nm}} * 45,004.500$
---

## F) Análisis estadístico

**Ejemplo:** Análisis de datos obtenidos para determinar los cambios generados en la actividad antioxidante (ACT) del nopal asado a 75° C (Factor 1: T<sub>2</sub>) durante 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos (Factor 2: I<sub>2</sub>= 5 min, I<sub>3</sub>= 10 min, I<sub>4</sub>= 15 min, I<sub>5</sub>= 20 min, I<sub>6</sub>= 25 min y I<sub>7</sub>= 30 min), con respecto al de nopal fresco a temperatura ambiente (25° C) (Factor 1: T<sub>1</sub>) y sin tratamiento térmico ( Factor 2: I<sub>1</sub>= 0 minutos).

### 1.- Datos

Factor 1	Factor 2	Repetición		
		REP <sub>1</sub>	REP <sub>2</sub>	REP <sub>3</sub>
T <sub>1</sub>	I <sub>1</sub>	9.8	11.2	11.2
T <sub>2</sub>	I <sub>2</sub>	9.7	10.3	10.8
T <sub>2</sub>	I <sub>3</sub>	10.8	10.3	10.6
T <sub>2</sub>	I <sub>4</sub>	11.1	10.6	10.2
T <sub>2</sub>	I <sub>5</sub>	11.2	10.6	9.9
T <sub>2</sub>	I <sub>6</sub>	15.2	15.5	14.6
T <sub>2</sub>	I <sub>7</sub>	17.9	18.5	19.1

### 2.- Programa en SAS

```
DATA DOS FACTORES EN CA;  
INPUT T I REP ACT;  
COTI = T*10+I;  
CARDS;  
1 1 1 9.8  
1 1 2 11.2  
1 1 3 11.2  
2 2 1 9.7  
2 2 2 10.3  
2 2 3 10.8  
3 2 1 10.8  
3 2 2 10.3  
3 2 3 10.6  
4 2 1 11.1  
4 2 2 10.6  
4 2 3 10.2  
5 2 1 11.2  
5 2 2 10.6  
5 2 3 9.9  
6 2 1 15.2  
6 2 2 15.5  
6 2 3 14.6  
7 2 1 17.9
```

```

7 2 2 18.5
7 2 3 19.1
;
PROC PRINT;
PROC GLM;
CLASS T I;
MODEL ACT= T I T*I;
MEANS T I/ TUKEY;
RUN;
PROC GLM;
CLASS COTI;
MODEL ACT = COTI;
MEANS COTI/TUKEY;
RUN;

```

### 3.-Salida en SAS

#### Sistema SAS Procedimiento GLM

Variable dependiente: ACT

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	184.9361905	30.8226984	97.33	<.0001
Error	14	4.4333333	0.3166667		
Total correcto	20	189.3695238			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	VIDA Media
0.976589	4.560926	0.562731	12.33810

Cuadrado de Fuente	DF	Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
T	5	175.9227778	35.1845556	111.11	<.0001
I	0	0.0000000	.	.	(**)
T*I	0	0.0000000	.	.	.

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
COTI	6	184.9361905	30.8226984	97.33	<.0001 (**)

#### 4.- Prueba de hipótesis

a)  $H_0: T_1 = T_2$ . Todos los niveles de temperatura producen el mismo efecto sobre la actividad antioxidante.

$H_a$ : Por lo menos un par de niveles de temperatura difieren en sus efectos sobre la actividad antioxidante.

b)  $H_0: I_1 = I_2 = I_3 = I_4 = I_5 = I_6 = I_7$ . Todos los niveles de tiempo producen el mismo efecto sobre la actividad antioxidante.

$H_a$ : Por lo menos un par de niveles de tiempo difieren en sus efectos sobre la actividad antioxidante.

c)  $H_0$ : No existe interacción entre los niveles de temperatura y tiempo sobre la actividad antioxidante (T\*I).

$H_a$ : Existe interacción entre los niveles de temperatura y tiempo sobre la actividad antioxidante (T\*I).

Rechazar  $H_0$  SI  $Pr < \alpha$ , considerando  $\alpha = 0.05$ .

#### 5.- Conclusión de prueba de hipótesis

Se rechazan las tres hipótesis nulas ( $H_0$ ) concluyendo que por lo menos un par de niveles de temperatura y de tiempo difieren en sus efectos sobre la actividad antioxidante y que existe interacción  $H*I$ , con un nivel de significancia del 5 %.

#### 6.- Resultados de la prueba de Tukey

##### Sistema SAS

##### Procedimiento GLM

##### Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para ACT

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	14
Error de cuadrado medio	0.316667

Valor crítico del rango estudentizado 4.82895

Diferencia significativa mínima 1.5689

**Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.**

<b>Tukey Agrupamiento</b>	Media	<b>I</b>
<b>A</b>	18.5000	<b>7</b>
<b>B</b>	15.1000	<b>6</b>
<b>C</b>	10.7333	<b>1</b>
C		
<b>C</b>	10.6333	<b>4</b>
C		
<b>C</b>	10.5667	<b>3</b>
C		
<b>C</b>	10.5667	<b>5</b>
C		
<b>C</b>	10.2667	<b>2</b>

### **Conclusión del factor 2:**

El nivel 7 de tiempo (30 min) mostró la mejor respuesta en relación a la actividad antioxidante, seguido con el nivel 6 (25 minutos). La menor respuesta se obtuvo en los niveles 1, 2, 3, 4 y 5 (0, 5, 10, 15 y 20 minutos), sin presentar diferencia significativa entre dichos tiempos de asado.

### **Sistema SAS**

#### **Procedimiento GLM**

#### **Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para ACT**

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	14
Error de cuadrado medio	0.316667
Valor crítico del rango estudentizado	3.03319

Diferencia significativa mínima 0.7527  
 Media armónica de tamaño de celdas 5.142857  
 NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.

**Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.**

<b>Tukey Agrupamiento</b>	Media	<b>T</b>
<b>A</b>	12.6056	<b>2</b>
<b>B</b>	10.7333	<b>1</b>

**Conclusión del factor 1:**

El nivel 2 de temperatura (75° C) mostró la mejor respuesta en relación a la actividad antioxidante, seguido por el nivel 6 (25° C minutos), siendo diferentes significativamente entre sí.

**Sistema SAS**

**Procedimiento GLM**

**Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para ACT**

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	14
Error de cuadrado medio	0.316667
Valor crítico del rango estudentizado	4.82895
Diferencia significativa mínima	1.5689

**Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.**

<b>Tukey Agrupamiento</b>	Media	<b>COTI</b>
<b>A</b>	18.5000	<b>72</b>
<b>B</b>	15.1000	<b>62</b>

<b>C</b>	10.7333	<b>11</b>
C		
<b>C</b>	10.6333	<b>42</b>
C		
<b>C</b>	10.5667	<b>32</b>
C		
<b>C</b>	10.5667	<b>52</b>
C		
<b>C</b>	10.2667	<b>22</b>

**Conclusión final:**

La combinación del nivel 7 de tiempo y el nivel 2 de temperatura (30 min, 75° C) mostró la mejor respuesta en relación a la actividad antioxidante.