



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍAS
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y SALUD
HUMANA

TESIS DOCTORAL

**“ELABORACIÓN DE UN NUTRACÉUTICO A PARTIR
DE CÁSCARA DE TUNA (*Opuntia ficus-indica* L. Mill),
COMO COADYUVANTE EN EL TRATAMIENTO DE
SOBREPESO Y OBESIDAD”**

Para obtener el grado de:
Doctor en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana

Presenta:
M. en C. Salvador Manzur Valdespino

Director
Dra. Nelly del Socorro Cruz Cansino
Dr. José Arias Rico

Comité Tutorial:
Dra. Esther Ramírez Moreno
Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

San Agustín Tlaxiaca Hgo. Enero 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
 INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
 INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
 INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y SALUD HUMANA

ICSa-DCASH-Diciembre 2021
 Asunto: Asignación de Jurado de Examen

M. en A. JULIO CESAR LEINES MEDÉCIGO
COORDINACIÓN DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR

Por este medio se informa que el comité tutorial asignado al M. en C. Salvador Manzur Valdespino, con número de cuenta 186126, estudiante del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana dio terminación al trabajo de tesis titulado “Elaboración de un Nutracéutico a partir de Cáscara de Tuna (*Opuntia ficus-indica* L. Mill), Como Coadyuvante en el Tratamiento de Sobrepeso y Obesidad” y por lo tanto se autoriza la impresión del documento de tesis en extenso propuesto por el estudiante.

Lo anterior, en función de que, el estudiante realizó todas las correcciones, adiciones y/o modificaciones sugeridas por el comité en la revisión previa con fecha 25 de noviembre de 2021. Por tal motivo, solicito a usted tenga a bien permitir al doctorando dar continuidad al proceso necesario que conlleve a la obtención del grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana

Dra. Nelly del Socorro Cruz Cansino

Director de tesis

Dr. José Arias Rico

Codirector de tesis

Dra. Esther Ramírez Moreno

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

ATENTAMENTE

Pachuca, Hidalgo, 25 de Noviembre de 2021

“Amor, Orden y Progreso”

M en C Esp Adrián Escalera
 Director del Instituto de Ciencias de la Salud
 Dean

Dra. Lyda López Pontigo
 Coordinadora de Pósgrado del ICSa
 Director of Graduate Studies of ICSa

M en N C Arianna Guajón Covarrubias
 Jefa del Área Académica de Nutrición
 Chair of Academic Area of Nutrition

Dra. Esther Ramírez Moreno
 Coordinadora del Programa Educativo
 Director of Graduate Studies





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y SALUD HUMANA

ICSa-DCASH-Acta-Tit/2021
Asunto: Constancia de publicación de artículo

M. en A. JULIO CESAR LEINES MEDÉCIGO
COORDINACIÓN DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR

Por este medio se informa que el alumno M. en C. Salvador Manzur Valdespino, estudiante del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana concluyó el trabajo de tesis, publicando el artículo con un factor de impacto del *Journal Citation Report (JCR)* de 2.67.

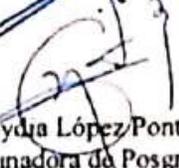
Manzur-Valdespino, S., Ramírez-Moreno, E., Arias-Rico, J., Jaramillo-Morales, O. A., Calderón-Ramos, Z. G., Delgado-Olivares, L., & Cruz-Cansino, N. D. S. (2020). Opuntia ficus-indica L. Mill residues—properties and application possibilities in food supplements. *Applied Sciences*, 10(9), 3260.

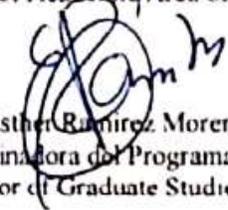
Debido a lo anterior, el estudiante cumple con los requerimientos de egreso establecidos por el programa de posgrado, al contar con un artículo aceptado en una revista indizada. Por lo que solicito a usted tenga a bien permitir al doctorando dar continuidad al proceso necesario que conlleve a la obtención del grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana.

ATENTAMENTE
Pachuca, Hidalgo, 25 de noviembre del 2021
"Amor, Orden y Progreso"


M. en C. Adrián Maya Escalera
Director del Instituto de Ciencias de la Salud
Dean


M. en N C Arianna Ormaña Covarrubias
Jefa del Área Académica de Nutrición
Chair of Academic Area of Nutrition


Dra. Lydia López Pontigo
Coordinadora de Posgrado del ICSa
Director of Graduate Studies of ICSa


Dra. Esther Ramírez Moreno
Coordinadora del Programa Educativo
Director of Graduate Studies



DIRECCIÓN

Índice

Lista de figuras	7
Lista de tablas	8
Lista de fórmulas	9
Resumen	10
Abstract	12
1. Introducción	14
2. Marco teórico	15
2.1. Generalidades de la tuna	15
2.2. Componentes del fruto	16
2.3. Cáscara de tuna	18
2.4. Composición químico proximal de la cáscara de tuna	19
2.5. Compuestos bioactivos de la cáscara	22
2.5.1. Polifenoles	22
2.5.2. Betalaínas	23
2.6. Fibra antioxidante de la cáscara de tuna	24
2.7. Bioaccesibilidad y fermentación colónica <i>in vitro</i> de los compuestos bioactivos	25
2.8. Fibra dietética y control de peso	26
2.9. Sobrepeso y obesidad	27
2.9.1. Epidemiología	28
2.9.2. Los costos del sobrepeso y la obesidad	30
2.9.3. Fisiopatología del sobrepeso y la obesidad	30
2.9.4. Tratamiento del sobrepeso y obesidad	31
2.9.4.1. Nutraceuticos	32
2.10. Exceso de peso y producción de radicales libres	32
2.11. La cáscara de tuna como coadyuvante en el control de peso y enfermedades metabólicas	34
3. Justificación	35
4. Objetivos	36
4.1. Objetivo General	36
4.2. Objetivos específicos	36
5. Metodología	37

5.1. Obtención de la materia prima	40
5.2. Rendimiento	40
5.3. Análisis químico proximal	41
5.3.1. Humedad	41
5.3.2. Cenizas	41
5.3.3. Proteína	42
5.3.4. Lípidos	43
5.3.5. Hidratos de Carbono	43
5.3.6. Fibra dietética total	43
5.3.7. Minerales	45
5.4. Propiedades tecnológicas y funcionales de la fibra	45
5.4.1. Índice de retardación de diálisis de glucosa	45
5.5. Propiedades antioxidantes	46
5.5.1. Betalaínas	46
5.5.2. Compuestos fenólicos totales	46
5.5.3. Actividad antioxidante por el método de ABTS	47
5.5.4. Actividad antioxidante por el método de DPPH	47
5.5.5. Actividad antioxidante por el método de FRAP	47
5.6. Bioaccesibilidad intestinal <i>in vitro</i>	48
5.7. Fermentación colónica	48
5.7.1. Medición de pH durante la fermentación colónica	49
5.7.2. Materia seca desaparecida y residuo no fermentado	49
5.7.3. Recuento de bacterias ácido lácticas de la fermentación colónica	49
5.7.4. Cuantificación de compuestos fenólicos y flavonoides por HPLC	49
5.8. Elaboración de los nutraceuticos	51
5.8.1. Pruebas de calidad de las tabletas	52
5.8.2. Colorimetría	52
5.8.3. Microscopía electrónica de barrido	53
5.9. Prueba de toxicidad oral aguda <i>in vivo</i> (DL ₅₀)	53
5.9.1. Cambios en el peso de los animales de experimentación	53
5.10. Suplementación en pacientes con sobrepeso u obesidad	53
5.10.1. Mediciones antropométricas	54
5.10.2. Evaluación de parámetros bioquímicos.	54
5.10.3. Evaluación dietética.	55
5.12. Consideraciones éticas.	55

6. Resultados y Discusión	56
6.1. Rendimiento	56
6.2. Análisis Químico Proximal	56
6.3. Propiedades tecnológicas y funcionales de la fibra.	58
6.4. Toxicidad aguda <i>in vivo</i> (DL50)	61
6.5. Variación de peso de los animales de experimentación	63
6.6. Bioaccesibilidad intestinal <i>in vitro</i>	64
6.7. Compuestos antioxidantes de la cáscara	65
6.8. Cambio de pH durante la fermentación colónica <i>in vitro</i>	67
6.9. Residuo no fermentado y materia seca desaparecida	68
6.10 Recuento de bacterias ácido lácticas de la fermentación colónica	69
6.11 Cuantificación de compuestos fenólicos y flavonoides por HPLC	70
6.11. Nutracéuticos en tableta	73
6.12. Parámetros de calidad de las tabletas	74
6.13. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	75
6.14. Propiedades funcionales de las tabletas	75
6.15. Color	76
6.16. Propiedades antioxidantes	77
6.17. Suplementación en pacientes con sobrepeso y obesidad	78
6.17.1. Parámetros antropométricos.	79
6.17.2. Parámetros bioquímicos.	80
6.17.3. Estimación del consumo energético y de macronutrientes	81
7. Conclusiones	84
8. Anexos	86
9. Bibliografía	90

Lista de figuras

		Pág.
Figura 1	Arbusto y frutos de Opuntia Ficus Indica	12
Figura 2	Componentes del fruto de Opuntia ficus indica	13
Figura 3	Estructura microscópica de la cáscara de tuna	16
Figura 4	Estructura básica de un polifenol	19
Figura 5	Estructura básica de las betacianinas y betaxantinas	20
Figura 6	Fuerzas electrostáticas entre los compuestos fenólicos y las cadenas de polisacáridos de la fibra dietética	22
Figura 7	Mecanismos de acción de la fibra dietética en el control de peso	24
Figura 8	Producción de radicales libres a partir de la acumulación y oxidación de grasa visceral	30
Figura 9	Diseño Metodológico.	35
Figura 10	Diagrama de Obtención de la Materia Prima.	37
Figura 11	Cromatograma del dializado de glucosa	57
Figura 12	Análisis macroscópico de los órganos de las ratas	58
Figura 13	Peso de los animales de experimentación durante la prueba de toxicidad aguda.	60
Figura 14	Imágenes de microscopía electrónica de barrido de los subproductos de tuna	72
Figura 15	Imágenes de formulaciones de tabletas de cáscara de tuna	73
Figura 16	Consumo azúcares añadidos y de sodio, del grupo control y grupo suplementado con cáscara de tuna	80

Lista de tablas

		Pág.
Tabla 1	Peso relativo de los componentes de la tuna	14
Tabla 2	Composición físico-química de la cáscara de tuna	18
Tabla 3	Condiciones de separación por HPLC. Flavonoides en colon	47
Tabla 4	Condiciones de separación por HPLC. Ácidos fenólicos en colon	47
Tabla 5	Análisis químico proximal de la cáscara de tuna púrpura	54
Tabla 6	Propiedades tecnológicas y funcionales de la fibra de la cáscara de tuna	55
Tabla 7	Bioaccesibilidad del contenido de antioxidantes y su actividad antioxidante	61
Tabla 8	Medición de pH durante la fermentación colónica in vitro.	65
Tabla 9	Residuo no fermentable y porcentaje de materia seca desaparecida después de la fermentación colónica in vitro	65
Tabla 10	Recuento de bacterias ácido lácticas durante la fermentación colónica in vitro	67
Tabla 11	Ácidos fenólicos y flavonoides durante el proceso de bioaccesibilidad y fermentación colónica <i>in vitro</i>	67
Tabla 12	Parámetros de calidad de las tabletas de cáscara de tuna	70
Tabla 13	Propiedades funcionales de la fibra de las tabletas	72
Tabla 14	Parámetros de color de las formulaciones de tabletas de residuos de tuna	73
Tabla 15	Propiedades antioxidantes de las tabletas de cáscara de tuna	74
Tabla 16	Parámetros antropométricos de los sujetos de estudio	76
Tabla 17	Parámetros bioquímicos de los sujetos de estudio	77
Tabla 18	Estimación del consumo energético y de macronutrientes de los participantes	78

Lista de fórmulas

		Pág.
Fórmula 1	Rendimiento	40
Fórmula 2	Humedad	41
Fórmula 3	Ceniza	41
Fórmula 4	Proteína	42
Fórmula 5	Lípidos	43
Fórmula 6	Fibra dietética total	44
Fórmula 7	Índice de retardación de diálisis de glucosa	46
Fórmula 8	Betalainas	46
Fórmula 9	Actividad antioxidante por el método de DPPH	47
Fórmula 10	Residuo no fermentado	49
Fórmula 11	Materia seca desaparecida	49
Fórmula 12	Friabilidad	52

Resumen

El consumo y procesamiento de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) genera una gran cantidad de residuos, como las semillas y la cáscara; siendo esta última el subproducto mayoritario. Con la finalidad de aprovechar los subproductos se han desarrollado nutracéuticos que principalmente por su contenido de fibra dietética, permitan el control de peso, ya que las complicaciones del sobrepeso y la obesidad representan un grave problema de salud pública a nivel mundial, a la que se ha llamado “la epidemia del siglo XXI”, ocasionando un estado inflamatorio crónico y que puede acarrear numerosas enfermedades.

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un nutracéutico a partir de cáscara de tuna, variedad “Rojo liso”, que funcione como coadyuvante en el tratamiento de dicha enfermedad, mejorando parámetros bioquímicos y/o antropométricos.

Los frutos fueron pelados, liofilizados, molidos y tamizados; se llevó a cabo el análisis bromatológico de acuerdo a la AOAC, y se cuantificó el contenido de antioxidantes (Betalaínas y polifenoles) y la actividad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP). Se evaluó la bioaccesibilidad y la fermentación colónica in vitro, donde se evaluó el cambio de pH, el recuento de bacterias ácido lácticas, el porcentaje de materia seca desaparecida y el residuo no fermentable, así como la cuantificación de fenoles y flavonoides por HPLC. Se realizó una prueba de dosis Letal (DL₅₀), en ratas, de acuerdo a lo establecido por la OCDE. Se desarrollaron dos formulaciones de tableta, mezcladas con diferentes excipientes (celulosa microcristalina y lactosa), y una cápsula de gel. La suplementación dietética consistió en un estudio piloto, simple ciego, con un tipo de muestreo por bola de nieve, en el que participaron 40 sujetos, divididos en dos grupos (control y experimental) y se evaluaron parámetros antropométricos y bioquímicos en los días 0 y 30.

El polvo liofilizado presentó un 4.6 % de humedad, 9.7 % de cenizas, 2.7 % de proteína, 38.1 % de carbohidratos, 1.7 % de lípidos, además de un alto contenido de fibra (43.0 %); en cuanto a sus propiedades tecno-funcionales se halló una retención de lípidos de 11.20 g / g y de agua de 12.36 g / g. Se cuantificó la presencia de betaninas (15.8 mgEB / 100g), betaxantinas (7.5 mgEB / 100g), la actividad antioxidante por DPPH (25%), ABTS (7607.7 μ mol ET/100g) y FRAP (588.8 μ mol Fe²⁺/100g); se apreció un alto contenido de compuestos fenólicos 980.0 \pm 34 mg EAG / 100 g, de los cuales un 76% resultó bioaccesible; el 32% pasó al colon y un 19 % representó los compuestos eliminados a través de las heces. Posterior a la fermentación colónica se registró crecimiento de bacterias ácido lácticas y por consiguiente una disminución en el pH.

En el modelo de toxicidad aguda (DL₅₀), no se detectaron alteraciones o muertes en los animales de experimentación al administrar una dosis de 2000 mg/kg. En cuanto al ensayo clínico, no se apreciaron cambios significativos en parámetros antropométricos; sin embargo, se observó una reducción significativa ($p < 0.05$) en los niveles de glucosa plasmática en el grupo suplementado. Al analizar el consumo de los alimentos, por parte de los sujetos de estudio, se pudo apreciar un alto

consumo de carbohidratos simples y sodio; lo que puede explicar la ausencia de resultados favorables en otros parámetros bioquímicos o en los antropométricos.

En conclusión; el polvo liofilizado de cáscara de tuna presentó un gran contenido de antioxidantes, con un alto porcentaje de polifenoles bioaccesibles; además de un alto porcentaje de fibra dietética. Su consumo en dosis de hasta 2000 mg/ kg, no representó riesgo alguno de toxicidad y su administración en pacientes con sobrepeso y obesidad permitió observar una disminución del 10% en las glicemias de individuos con sobrepeso y obesidad; por lo que se propone como un nutraceutico que permita disminuir el riesgo de desarrollar complicaciones futuras en pacientes con dicho padecimiento.

Palabras clave: Tuna, *Opuntia ficus-indica*, cáscara, antioxidantes, nutraceutico, sobrepeso, obesidad.

Abstract

The consumption and processing of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) generates many residues, such as the seeds and peels. The peel comprises the majoritary by-product. In order to take advantage of the by-products, many nutraceuticals have been developed that, mainly due to their dietary fiber content, allow the weight control, because the complications of overweight and obesity represent a serious public health issue worldwide, which has been called "the epidemic of the XXIth century", causing a chronic inflammatory state that can lead to numerous diseases.

The objective of the present investigation was to develop a nutraceutical from cactus pear peel, variety "Rojo liso", which may be an adjuvant in the treatment of overweight, improving biochemical and / or anthropometric parameters.

The fruits were peeled, lyophilized, triturated and sieved; The bromatological analysis was carried out according to the AOAC, and the content of antioxidants (betalains and polyphenols) and antioxidant activity (ABTS, DPPH and FRAP) were quantified. Bioaccessibility and colonic fermentation *in vitro* were evaluated, where the pH change, the lactic acid bacteria count, the percentage of dry matter disappeared and the non-fermentable residue, and the quantification of phenols and flavonoids by HPLC were evaluated. Also a lethal dose test (LD₅₀) was carried out in rats, according to the established by the OECD.

Two tablet formulations were developed, mixed with different excipients (microcrystalline cellulose and lactose), and a gel capsule. Dietary supplementation consisted of a pilot study, single-blind, with an accidental sampling, in which 40 subjects participated, divided into two groups (control and experimental); anthropometric and biochemical parameters were evaluated on days 0 and 30.

The lyophilized powder shown 4.6% of humidity, 9.7% of ashes, 2.7% of protein, 38.1% of carbohydrates, 1.7% of lipids, in addition to a high fiber content (43.0%); Regarding its techno-functional properties, a lipid retention of 11.20 g / g and water of 12.36 g / g were found.

The presence of betanins (15.8 mgEB / 100g), betaxanthins (7.5 mgEB / 100g) were quantified, as well as the antioxidant activity by DPPH (25%), ABTS (7607.7 μ mol ET / 100g) and FRAP (588.8 μ mol Fe₂100g); A high content of phenolic compounds was observed 980.0 \pm 34 mg EAG / 100 g, of which 76% was bioaccessible; 32% passed into the colon and 19% represented the compounds eliminated through the feces. After colonic fermentation there was growth of lactic acid bacteria and a decrease in the pH values.

In the acute toxicity model (LD₅₀), no alterations or deaths were detected in the experimental animals when administering a dose of 2000 mg / kg. About the exploratory clinical trial, no significant changes were observed in anthropometric parameters; however, a significant reduction ($p < 0.05$) in plasma glucose levels was observed in the supplemented group.

In conclusion; lyophilized cactus pear peel powder presented a high content of antioxidants, with a high percentage of bioaccessible polyphenols; in addition to a big amount of dietary fiber. Its consumption in doses of up to 2000 mg / kg did not represent any risk of toxicity. The administration

in overweight and obese patients allowed to observe a 10% decrease in the glycemia of overweight and obese individuals; Therefore, it is proposed as a nutraceutical that reduces the risk of developing future complications in patients with this condition.

Keywords: Cactus pear, *Opuntia ficus-indica*, peel, antioxidants, nutraceutical, overweight, obesity

1. Introducción

El sobrepeso y la obesidad a nivel mundial representan un grave problema de salud pública, ya que incrementan los gastos en materia de salud y disminuyen los años de vida saludable de quienes lo padecen (1); derivado de esta problemática, se han dado diferentes alternativas para mejorar el estado de salud de los individuos con exceso de peso, tales como medicamentos, alimentos de diseño y nutraceuticos, que puedan contribuir a evitar la aparición de complicaciones como la diabetes, hipertensión, dislipidemias, etc.; uno de estos es la tuna (*Opuntia ficus-indica* L. Mill), que es un fruto proveniente del nopal, nativo de las regiones áridas y semiáridas de América, por lo que tiene una notable capacidad de adaptación a ambientes hostiles, largos períodos de sequía y climas extremos, resistiendo temperaturas de hasta 60° C (2–4). Su consumo es muy popular en fresco, aunque también se procesa para elaborar productos elaborados de forma artesanal en pequeña escala, en forma de mermeladas, yogures, jugos o dulces (5).

El fruto se encuentra disponible solamente unos cuantos meses por año, por lo que su consumo *per cápita* en México es relativamente bajo (aproximadamente 3.7 kg) (6), sin embargo, derivado de su consumo o procesamiento se genera una gran cantidad de residuos como cáscaras y semillas; cáscara o piel, que forma parte de la porción no comestible comprende dos fracciones unidas entre sí (el mesocarpio y el pericarpio) y representa del 33% al 55% del peso total del fruto (7); las cáscaras son generalmente desechadas y pueden ocasionar problemas de manejo de residuos (8,9), por lo que se han buscado diferentes alternativas para su uso, adicionándolo en yogurt, mermeladas, o botanas al ser una fuente económica de nutrientes como carbohidratos (10), aminoácidos (11) y ácidos grasos poliinsaturados (12).

Se ha demostrado que los subproductos de la tuna son ricos en compuestos bioactivos, como los polifenoles (13), de los cuales, un alto porcentaje puede ser bioaccesible (del 60 al 70%) (14); tiene un alto contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, pigmentos, fibras y ácidos grasos (8) y debido a ello, brindan diversos beneficios para la salud como inhibición y protección frente a radicales libres (15), actividad inhibitoria de células cancerígenas (16), efectos anti ateroscleróticos e hipoglucemiantes (17), e incluso se ha utilizado como complemento alimenticio con propiedades hipoglucemiantes (18); a pesar de esto, los estudios a nivel clínico que den cuenta de las propiedades antes mencionadas, son muy escasos y se requiere mayor investigación para comprobar beneficios específicos en la salud humana.

El presente trabajo tuvo por objetivo desarrollar un producto nutraceutico, a partir de la cáscara de tuna liofilizada, que sea seguro y eficaz como parte del tratamiento nutricional en individuos con sobrepeso y obesidad.

2. Marco teórico

2.1. Generalidades de la tuna

La tuna *Opuntia ficus-indica* L. Mill., es el fruto del nopal (Figura 1), una planta arbustiva del género *Opuntia* y es perteneciente a la familia *Cactaceae* (19), puede presentar formas simples o de matorral, con un tronco leñoso y ramificado que puede alcanzar una altura de hasta 5 m; las pencas miden hasta 30 cm de ancho y 50 cm de largo, con aproximadamente 2 cm de espesor y generalmente tienen una coloración verde opaco, con espinas blancas o amarillas, así como flores y frutos (20).

El fruto tiene forma esférica o turbinada, con variaciones elípticas o cilíndricas; su tamaño es de aproximadamente 7 a 9 cm de largo y de 5 a 6 cm de ancho, mientras que el peso puede variar entre los 86 y los 146 g; presenta combinaciones de colores como amarillo brillante, verde, rojo o morado, que provienen de las diferentes concentraciones de pigmentos como betaninas y betaxantinas. La piel tiene el mismo color de la pulpa y tiene una zona umbilical, en la se pueden encontrar de 50 a 70 areolas, que son pequeños acúmulos de espinas de 3 a 10 mm (21).



Figura 1. Arbusto y frutos de *Opuntia Ficus Indica* (Fuente propia).

Esta especie es originaria de América, y derivado de la colonización fue llevado por los españoles a Europa, desde allí se distribuyó hacia otros países, lo que ocasionó el origen de muchos ecotipos con características locales propias (22), pues se han identificado 258 especies, de las cuales 100 están en México (20). Debido a su resistencia a las adversidades climáticas, la tuna es ampliamente producida en regiones áridas y semiáridas de México (23) y en su producción participan alrededor de 20 mil personas, ocupando una superficie aproximada de 65,000 hectáreas, con un

rendimiento de 5 a 20 toneladas por hectárea (19); también es muy cultivada en países como Italia, España y Sudáfrica, debido a que la planta no requiere grandes cuidados, ni suelos de buena calidad, puede crecer en terrenos poco fértiles, con poca humedad, (sin embargo, se ven afectadas por las bajas temperaturas); se estima que a nivel global la producción de tuna para consumo humano es de 400.000 toneladas (20).

2.2. Componentes del fruto

El fruto se compone de la pulpa (porción comestible), cáscara (o piel) y las semillas (Figura 2), siendo los dos últimos tejidos generalmente residuos, que ocasionalmente se utilizan como forraje o en la mayoría de los casos, son simplemente desechados (24).



Figura 2: Componentes del fruto de *Opuntia ficus indica* (8).

El peso proporcional aproximado de los constituyentes del fruto se detalla en la tabla 1, donde se aprecia que la cáscara representa una fracción importante del peso total del fruto, siendo el componente mayoritario (dependiendo del cultivar y la variedad estudiada), seguido de la pulpa que corresponde a la porción comestible del fruto y en la cual están inmersas las semillas, que también son consideradas parte de los subproductos de la tuna (25).

Tabla 1. Peso relativo de los componentes de la tuna

Semillas	2 -10 % (25)
Pulpa	28-58 % (25)
Cáscara	37-67 % (25)

Características de la pulpa:

El fruto posee una jugosa pulpa, de sabor dulce y ligeramente ácido, con una coloración similar a la de la cáscara, que representa la porción comestible de la tuna y se presenta con una coloración similar a la de la cáscara (26). Puede considerarse un alimento funcional, ya que contiene una gran cantidad de compuestos bioactivos, entre los que se han encontrado altas cantidades de compuestos fenólicos totales, de hasta 218,8 mg GAE/100 g, además se han identificado flavonoides como la quercetina, isorhamnetina, luteolina y kaempferol, incluso en concentraciones más altas que la pulpa de otras frutas como la papaya, plátano o sandía (27); asimismo, se han detectado ácidos fenólicos de importancia, como el ferúlico, p-cumárico, 4-hidroxibenzoico, cafeico, salicílico y gálico (28), además de una variedad de 18 betaxantinas y 6 betacianinas, hallándose concentraciones más altas en las pulpas de frutos rojos y morados (29).

Características de la semilla

Las semillas tienen una longitud aproximada de 4 a 4.5 mm, pueden ser lenticuladas o elipsoidales, cada fruto puede contener entre 188 y 335 unidades (21) y son consideradas como desechos del fruto, después del procesamiento y consumo (30); son ricas en ácidos grasos insaturados, fitoesteroles, vitaminas liposolubles, β -caroteno y polifenoles (31), e incluso se les han atribuido propiedades antimicrobianas (30,32). De las semillas se han llegado a obtener aproximadamente 99 g/kg (peso seco), de lípidos, en los cuales se han encontrado β -carotenos, fitoesteroles y ácidos grasos (16:0, C18:0, C18:1, C18:2) (32,33).

Características de la cáscara

La cáscara, además de proteger el fruto, permite conocer el momento óptimo para la cosecha (34). Este tejido se presenta del mismo color que la pulpa, posee una zona umbilical y pequeñas espinas (con tamaño de 3 a 10 mm), que se encuentran agrupadas en zonas llamadas areolas (21) y tiene

un grosor aproximado de 0,65 cm (35). Cuando el fruto madura, la cáscara constituye la fracción más importante y dependiendo del cultivar, comprende del 40 al 50% del peso total del fruto (36). Sus principales constituyentes son: celulosa, hemicelulosa y pectina (37) y poseen una gran cantidad de metabolitos activos, como las betacianinas, que se encuentran en concentraciones 1.4 veces mayores que en la pulpa (29), además de ser ricas en otros compuestos como polifenoles y flavonoides (8), como se detallará más adelante.

2.3. Cáscara de tuna

La industria alimentaria produce una gran cantidad de residuos de verduras y frutas, que afecta a los vertederos de basura, debido a su alta biodegradabilidad y a las emisiones de gas metano que generan; contienen también grandes cantidades de sólidos en suspensión, que presentan alta demanda química de oxígeno, además de que pueden contener restos de pesticidas y herbicidas (38). Los residuos de manzanas, bayas, cítricos, papa, tomate, entre otros, han sido estudiados por su alta capacidad de recuperación de compuestos bioactivos (39), de modo que a partir de los residuos se han elaborado diversos productos para la industria farmacéutica, como complementos de fibra de cáscara de piña (40) de limón (41), tabletas con residuos de cereza (42) y tabletas con residuos de tuna (43).

La porción conocida como cáscara comprende dos tejidos fibrosos, que son el epicarpio y pericarpio (8) (Figura 2), que junto con las semillas representan las porciones no comestibles de la tuna (semillas y cáscaras), las cuales han sido estudiadas para emplearlas como ingrediente adicional de productos elaborados a partir de la pulpa, siendo la cáscara la fracción que más aporta textura y sabor a los productos (10), por lo que las cáscaras deben ser evaluadas para estudiar y conocer su potencial uso en la industria alimentaria, aportando propiedades nutricionales importantes (44).

La cáscara de tuna ha sido estudiada principalmente por su importante contenido de carbohidratos y por tener un alto rendimiento para la extracción de almidones, pectinas y fibra, gracias a su estructura celular. Las células de la cáscara están compuestas principalmente por células de colénquima y parénquima, las cuales son ricas en polisacáridos pécticos (37). La organización y morfología de los diferentes tipos de células que se encuentran del exterior al interior de la cáscara, se plasma en la figura 3; donde se pueden apreciar las células epidérmicas de la cáscara, que son estructuras compactas de paredes delgadas. Es posible observar también células de colénquima, que son ricas en componentes no celulósicos y tienen paredes celulares gruesas; por otro lado, las células del parénquima presentan estructuras más amplias con paredes delgadas; dentro de los tejidos de parénquima y colénquima existen células mucilaginosas que actúan como almacenamiento de polisacáridos, que es muy común en las plantas suculentas y está relacionado con la función osmótica de retención de moléculas de agua (45).

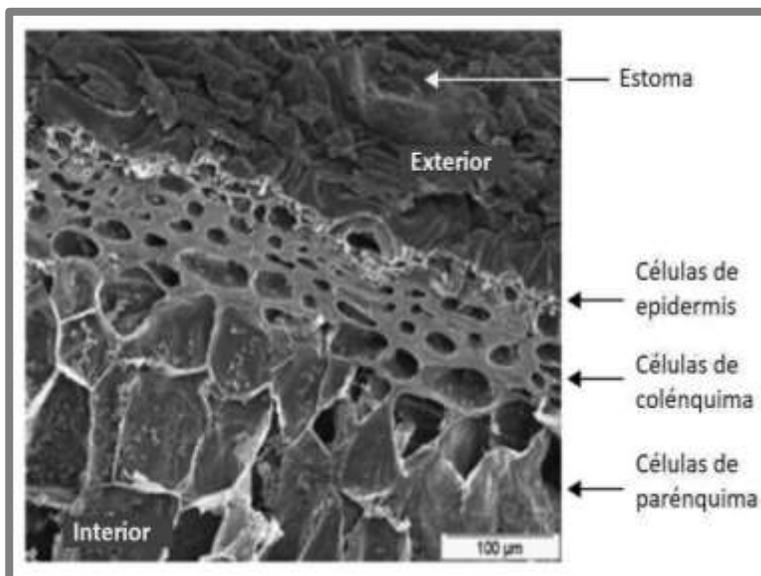


Figura 3. Estructura microscópica de la cáscara de tuna (37).

2.4. Composición químico proximal de la cáscara de tuna

La composición físico-química de la cáscara de tuna se resume en la **tabla 2**, donde se muestra el alto porcentaje de humedad (80 a 90%) y a pesar de que posee una baja cantidad de proteínas (0.90 a 4.14%), presenta aminoácidos esenciales; que se encuentran ligados los principales pigmentos del nopal (betaxantinas); que resultan de la conjugación del ácido betalámico con una proteína o aminoácido no proteico y aminas biogénicas (11).

La cáscara tiene un bajo contenido de lípidos (0.94 a 2.43 %) (46), aunque puede considerarse una fuente promisoría de ácidos grasos esenciales y antioxidantes liposolubles (47). Dependiendo de la variedad, los ácidos grasos que pueden estar presentes en las cáscaras son: ácido láurico (C12: 0), ácido mirístico (C14: 0), Palmítico ácido (C16: 0), ácido palmitoleico (C16: 1), ácido esteárico (C18: 0), ácido oleico (C18: 1), ácido linoleico (C18: 2), ácido linolénico (C18: 3), ácido araquídico (C20: 0) (12). La cantidad de lípidos se ve influenciada por el color y la variedad del fruto, así como por el procesamiento y condiciones de almacenamiento (48).

Como se muestra en la tabla 2, los carbohidratos son el componente principal de la cáscara de tuna, los cuales son ricos en fibras y polisacáridos complejos, conformados por arabinosa, galactosa, ramnosa y ácido galacturónico principalmente (48); su contenido puede variar de acuerdo al color o variedad a la que pertenece, por ejemplo: las cáscaras de tuna roja presentan mayor humedad y fibra soluble, mientras que las cáscaras verdes presentan mayor contenido de grasa y fibra insoluble (9). Es importante resaltar que el 40,8% del peso total de la cáscara de tuna es fibra, por lo que se le considera una buena fuente de dicho compuesto (37).

El pH alcanza valores de 4.5 a 5.9, el contenido de sólidos solubles totales (°Brix) oscila de 6.16 a 15.0, dependiendo del estado de madurez del fruto en el momento de la cosecha (46,48). La cáscara presenta mayores concentraciones de minerales que la pulpa, como el calcio, magnesio, potasio, zinc y manganeso (44,49); en este sentido el consumo de tan solo 20 gramos de cáscara cubriría el 90 % de la ingesta diaria recomendada (IDR) de magnesio y el 20% de calcio para la población en general (50), además de ser rico en potasio, por lo que permitiría mitigar los efectos negativos del consumo elevado de sodio sobre la presión arterial (51); se puede encontrar también manganeso, zinc y cobre, que son utilizados en el cuerpo humano para mejorar la mineralización ósea, la contracción muscular y la transmisión de estímulos nerviosos, actuando además como cofactor de muchas enzimas involucradas en la metabolismo (52)

Aunque la cáscara comparte algunas características con la pulpa, se pueden encontrar mayores concentraciones de algunos elementos con actividad biológica en la cáscara (53), como el ácido ascórbico, cuyas concentraciones oscilan entre 46.40 y 86.28 mg EAA / 100 g, y es mayor en las cáscaras de tonalidad rosa (54). Este compuesto bioactivo es un componente esencial de la dieta humana, ya que puede prevenir enfermedades como el escorbuto, además de contribuir al fortalecimiento del sistema inmune (55).

Se pueden encontrar también cantidades considerables de vitaminas B3, B6 y B9 (56); mientras que otras como tiamina, riboflavina o piridoxina se encuentran en cantidades trazas (57).

Tabla 2. Cuadro de composición físico-química de la cáscara de tuna (g / 100g).

<i>Ref</i>			<i>Ref</i>		
Humedad	80.17 – 90.33	(44,48)	pH	4.50 - 5.98	(46,48)
Ceniza	1.60 – 3.05	(44,48)	Acidez (% ácido cítrico)	0.02 - 0.12	(46,48)
Proteína	0.90 – 4.14	(46,48)	Extracto etéreo	1.69	(48)
Lípidos	0.94 – 2.43	(9,49)	Ácidos Grasos Saturados		
Carbohidratos	27.60	(49)	Palmítico	23.71	(48)
Azúcares totales	3.53	(46)	Esteárico	3.93	(48)
Azúcares reductores	2.07	(46)	Araquidónico	5.52	(48)
Sacarosa (mg/100g)	0.00225	(44)	Ácidos Grasos Insaturados		
Glucosa (mg/100g)	0.014	(44)	Palmitoléico	2.46	(48)
Fructosa (mg/100g)	0.0029	(44)	Oléico	19.73	(48)
Sucrosa	2.85	(48)	Linoléico	28.96	(48)
Ácido Galacturónico	2.23	(48)	Linolénico	15.68	(48)
Estaquiosa	1.81	(48)	Vitaminas		
Manitol	1.48	(48)	Vitamina C	27.3	(56)
Sorbitol	0.71	(48)	Vitamina B3	0.26	(56)
Arabinosa	0.05	(48)	Vitamina B6	0.19	(56)
Almidón	7.12	(49)	Vitamina B9	0.11	(56)
Fibra	40.80	(49)	Minerales		
Fibra cruda	0.96	(48)	Mg	0.987	(48)
Fibra insoluble	7.98 - 8.12	(56)	Ca	0.951	(48)
Fibra soluble	19.39 - 34.95	(56)	Na	0.925	(48)
Hemicelulosa	20.80	(49)	K	0.320	(48)
Celulosa	27.0	(9)	Fe	0.129	(48)
Pectina	7.71	(49)	Mn	0.090	(48)
Lignina	2.4	(9)	Zn	0.090	(48)
Mucílago	4.10	(9)	Cu	0.047	(48)
Sólidos Solubles (°Brix)	6.16 - 15.00	(46,48)			

2.5. Compuestos bioactivos de la cáscara

2.5.1. Polifenoles

Los polifenoles son compuestos producidos a partir del metabolismo secundario de las plantas, se caracterizan por presentar anillos aromáticos en su estructura (**Figura 4**) y se pueden clasificar de acuerdo al número de anillos y de grupos hidroxilo unidos a ellos (58). Algunos polifenoles son esenciales para las funciones fisiológicas vegetales y algunos otros participan como medios de defensa ante situaciones de estímulo y estrés (59), actuando como antioxidantes que neutralizan los radicales libres (60), inhiben la formación de especies reactivas de oxígeno, los cuales afectan procesos celulares normales y algunas funciones fisiológicas, aminorando el estado inflamatorio (61,62).

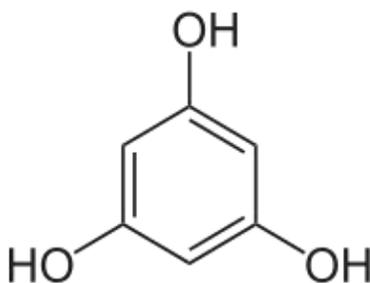


Figura 4. Estructura básica de un polifenol.

La biosíntesis de los polifenoles se lleva a cabo a través de dos rutas primarias: la ruta del ácido siquímico, que es dependiente de la luz solar y se inicia en los plastos por condensación de productos fotosintéticos, que proporciona la síntesis de los aminoácidos aromáticos; por otra parte, la ruta de los poliacetatos, que proporciona elementos como quinonas y xantonas (59).

En algunas variedades de tuna, el contenido fenólico es mayor en la cáscara que en la pulpa (25); se ha estimado el contenido de estos compuestos en frutos de color verde, naranja y rojo (24,2 mg EAG / 100 ml, 24,7 mg EAG / 100 ml y 33,5 mg EAG / 100 ml, respectivamente) (63). Se ha demostrado que una gran cantidad de estos compuestos se encuentran unidos a la estructura de la fibra dietética (9), que dependiendo de la temporada, el suelo, la variedad o la madurez, puede presentar hasta 1534 mg EAG / 100g (25,53); sin embargo, sus concentraciones pueden verse afectadas por el proceso de extracción y el tipo de solventes utilizados (64). El consumo de polifenoles en la dieta es de gran importancia para la salud, debido a que puede reducir el riesgo de sufrir padecimientos como arteriosclerosis, cáncer y enfermedades neurodegenerativas (60).

2.5.2. Betalaínas

Las betalaínas, son uno de los compuestos bioactivos más abundantes y más importantes de la tuna, se pueden encontrar en mayores concentraciones en las cáscaras, principalmente en aquellas con tonalidades rojas o púrpuras, mientras que las variedades de cáscara verde tienen las concentraciones más bajas (54). Las betalaínas son colorantes naturales solubles en agua, que generan una variedad de colores rojos y violetas (betacianinas) o amarillos y anaranjados (betaxantinas) (61); se componen de una estructura central nitrogenada denominada ácido betalámico, que posee grupos imino o aminoácidos unidos a ellos (**Figura 5**). Tan solo en la cáscara de tuna se han identificado dieciséis betaxantinas, que involucran aminoácidos en su estructura, como arginina-betaxantina, ácido aspártico-betaxantina, lisina-betaxantina, prolina-betaxantina, serina-betaxantina, tiramina-betaxantina, treonina-betaxantina (11).

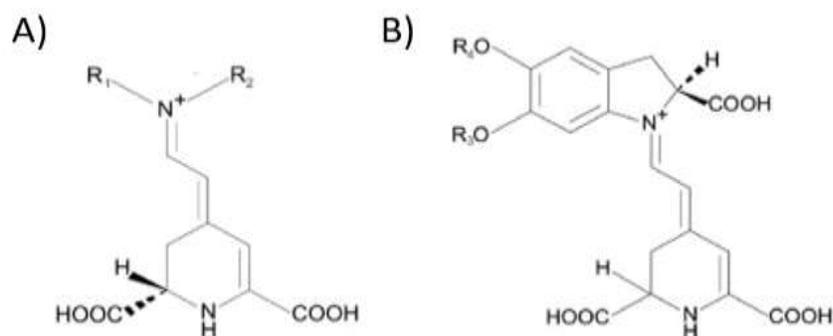


Figura 5. Estructura básica de las betacianinas (A) y betaxantinas (B) (65).

Se han encontrado altas concentraciones de dichos colorantes en la cáscara de tuna, de hasta 83.4 mg EB / 100 g, para betaxantinas y hasta 13,468 mg EB / 100 g, para betacianinas (25). Este compuesto bioactivo es de gran importancia, por sus implicaciones a nivel comercial y en la salud humana; en primer lugar, cabe resaltar que las betalaínas son colorantes alimentarios aprobados por la Asociación de Dietética de los Estados Unidos (USDA), que hoy en día se utiliza no solo en la industria alimentaria, sino también en la industria textil y farmacéutica (66). Estos colorantes son reconocidos como pigmentos con alto potencial para ser alimentos funcionales, ya que además de su acción como colorante, posee propiedades antioxidantes, acción antimicrobiana, antiproliferativa e hipolipidémica (67,68).

Las betalaínas presentan una gran actividad antioxidante, al inhibir la peroxidación lipídica, además de mermar la actividad de las lipoperoxidasas, que son capaces de ocasionar daño gastrointestinal a nivel celular (69). En modelos *in vivo*, se ha comprobado que mediante la ingestión de dosis de entre 5 y 80 mg EB / kg, mejora significativamente la actividad de las antioxidantes, como: superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, en órganos como hígado, bazo y riñón (70);

debido a que las betalainas pueden modular el desequilibrio intrínseco entre las especies oxidantes y el sistema de defensa antioxidante de un organismo (71).

Las betalainas de los frutos de *Opuntia ficus indica* poseen una actividad antiproliferativa en las células cancerosas, pues se ha demostrado que pueden inhibir el crecimiento de células de cáncer de ovario, de manera similar a un quimiopreventivo sintético, en ratones (72), además de inducir la apoptosis en cultivos celulares de leucemia mieloide crónica humana (73).

2.6. Fibra antioxidante de la cáscara de tuna

La fibra dietética es un componente clave de una dieta balanceada, que puede definirse como la fracción de las paredes celulares de los vegetales, que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, pero son fermentadas por las bacterias colónicas (74); sin embargo, existe evidencia de que estos carbohidratos complejos interactúan directamente con los antioxidantes de los alimentos e interfieren con la asimilación adecuada de estos compuestos (75). Se ha comprobado que algunos antioxidantes como los polifenoles pueden estar asociados a la fracción insoluble de la fibra, y los polifenoles de menor peso molecular, así como los flavonoides y ácidos fenólicos a la fibra soluble (76).

A partir de estudios realizados con subproductos ricos en fibra y polifenoles como cáscaras de mango, naranja, pulpa de guayaba y orujo de uva, se creó el concepto de “fibra antioxidante”, que puede definirse como *“aquella materia prima con un elevado porcentaje de fibra dietética y cantidades apreciables de antioxidantes naturales asociados a la matriz del conjunto de compuestos no digeribles”* (77). Es importante tener en mente la relación de la fibra y los antioxidantes; ya que desde un punto de vista nutricional, los compuestos asociados pueden ser responsables de los beneficios que tradicionalmente se le han atribuido a la fibra dietética (78).

Existen fuertes interacciones entre los compuestos fenólicos y la fibra dietética, ya que forman matrices ordenadas entre los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos y los grupos polares de las moléculas de fibra (Figura 6); estos son enlaces electrostáticos débiles, por lo que pueden volverse inestables ante el cambio de pH a lo largo del tracto gastrointestinal (79); de este modo su biodisponibilidad dependerá absolutamente de su bioaccesibilidad (75), como se explicará a continuación.

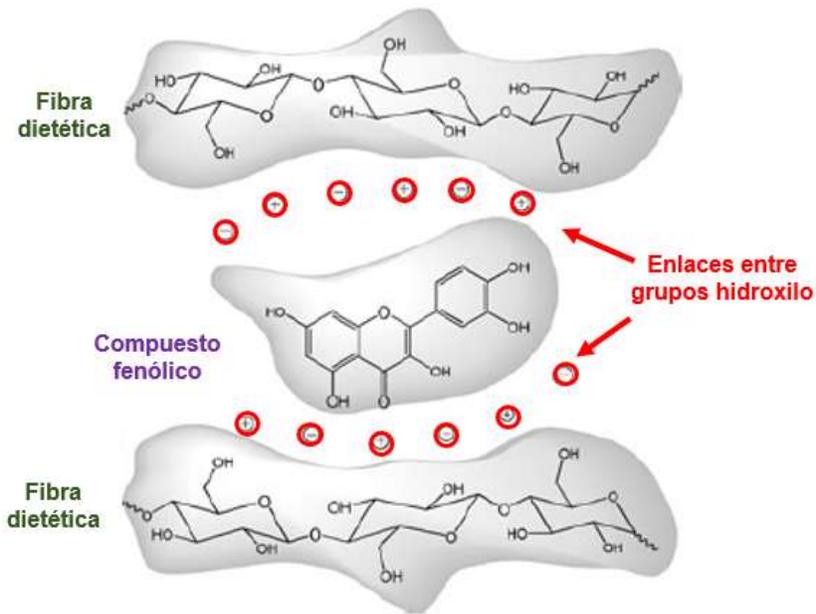


Figura 6: Fuerzas electrostáticas entre los compuestos fenólicos y las cadenas de polisacáridos de la fibra dietética (75).

2.7. Bioaccesibilidad y fermentación colónica *in vitro* de los compuestos bioactivos

Los antioxidantes experimentan cambios al ser ingeridos y metabolizados por los humanos (80); en primer lugar, los antioxidantes de los vegetales se mezclan con diferentes macromoléculas como carbohidratos, lípidos y proteínas para formar la matriz alimentaria, siendo los carbohidratos, aquellos con los que más interacciones tienen, ya sea que se encuentren de forma libre o conjugada (81), interfiriendo además con la asimilación adecuada de los compuestos bioactivos (82), ya que después de la ingesta dietética normal, las concentraciones de metabolitos plasmáticos rara vez exceden los niveles nanomolares (80).

Sólo los compuestos que son liberados de la matriz alimentaria y posteriormente absorbidos en el intestino delgado son potencialmente biodisponibles; de esa manera son capaces de proveer sus efectos benéficos, de modo que los compuestos fenólicos que son hidrolizados por las enzimas en el intestino, serán potencialmente bioaccesibles para su respectiva absorción, de lo contrario seguirán el trayecto hacia el intestino grueso (79), aunque se ha evidenciado que la microestructura de los alimentos afecta la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de varios nutrientes, principalmente los antioxidantes (83).

La biodisponibilidad se define como “la proporción en la que un compuesto antioxidante es digerido, absorbido y posteriormente utilizado en el metabolismo”; por otro lado, la bioaccesibilidad se define como “la cantidad de un nutriente ingerido que está disponible para su absorción en el

intestino después de la digestión”, por lo tanto puede decirse que la biodisponibilidad depende estrictamente de la bioaccesibilidad (84).

Por otra parte, la fermentación es una función importante del intestino grueso, que se refiere al proceso por el cual las bacterias anaeróbicas descomponen las cadenas de carbohidratos de las fibras consumidas y son degradados en metabolitos fisiológicamente activos, como ácidos grasos de cadena corta (AGCC), gases (hidrógeno, metano y dióxido de carbono) y otros metabolitos (85), lo cual ocurre por la presencia de los más de 100 billones de microorganismos colónicos, de más de 1000 especies microbianas distintas (86); posteriormente, los metabolitos que no fueron absorbidos y los compuestos fenólicos no fermentados permanecen en el ambiente colónico, donde pueden contribuir a un ambiente antioxidante, neutralizando radicales libres y contrarrestando los efectos de los oxidativos de la misma dieta y por último, algunos de estos polifenoles no absorbidos pueden eliminarse a través de las heces (87). Los compuestos antes mencionados se originan por el consumo de fibra dietética, la cual posee beneficios al sistema digestivo, muy conocidos, pero además ayuda al control del peso corporal, como se expondrá a continuación.

2.8. Fibra dietética y control de peso

En la figura 7 se detalla el mecanismo mediante el cual, el consumo adecuado de fibra dietética puede ayudar al control de peso, ya que permite regular la ingesta calórica en la dieta, disminuye la absorción de algunos macronutrientes, como los lípidos y promueve la saciedad (88) estimulando además los circuitos nerviosos que elevan la sensación de saciedad (89).

La fibra dietética permite regular la ingesta de alimentos y mitigar el incremento de peso, dependiendo de la fuente de fibra (90); se ha planteado que los alimentos ricos en fibra requieren más tiempo de masticación, por lo que la señal de saciedad será enviada al cerebro, habiendo consumido menores cantidades de alimentos (91); de manera adicional, las fibras solubles absorben más agua y crean un gel viscoso que aumenta la distensión del estómago (90). Por otra parte, se ha descrito que ayuda a mantener el peso corporal a través ya que influye en la oxidación de grasas, disminuyendo la ingesta de energía y reduciendo de este modo el contenido de grasa corporal (92); el consumo de fibra provocar la ralentización del vaciado gástrico, que crea una sensación de plenitud y satisfacción, que da origen a la disminución de la secreción de insulina y a la reducción de la ingesta alimentaria alimentos (90).

También, a través de la fermentación que la fibra dietética sufre en el colon, se producen ácidos grasos de cadena corta, que pueden modificar los patrones de alimentación, ya que se estimula la liberación de colecistoquinina y el péptido similar al glucagón; que disminuyen la sensación de hambre y promueven la saciedad reduciendo así el hambre y promoviendo la saciedad (93), de modo que puede servir como parte del tratamiento dietético de individuos que padecen

sobrepeso u obesidad, que como se analizará más adelante, constituye una gran problemática de salud a nivel global.

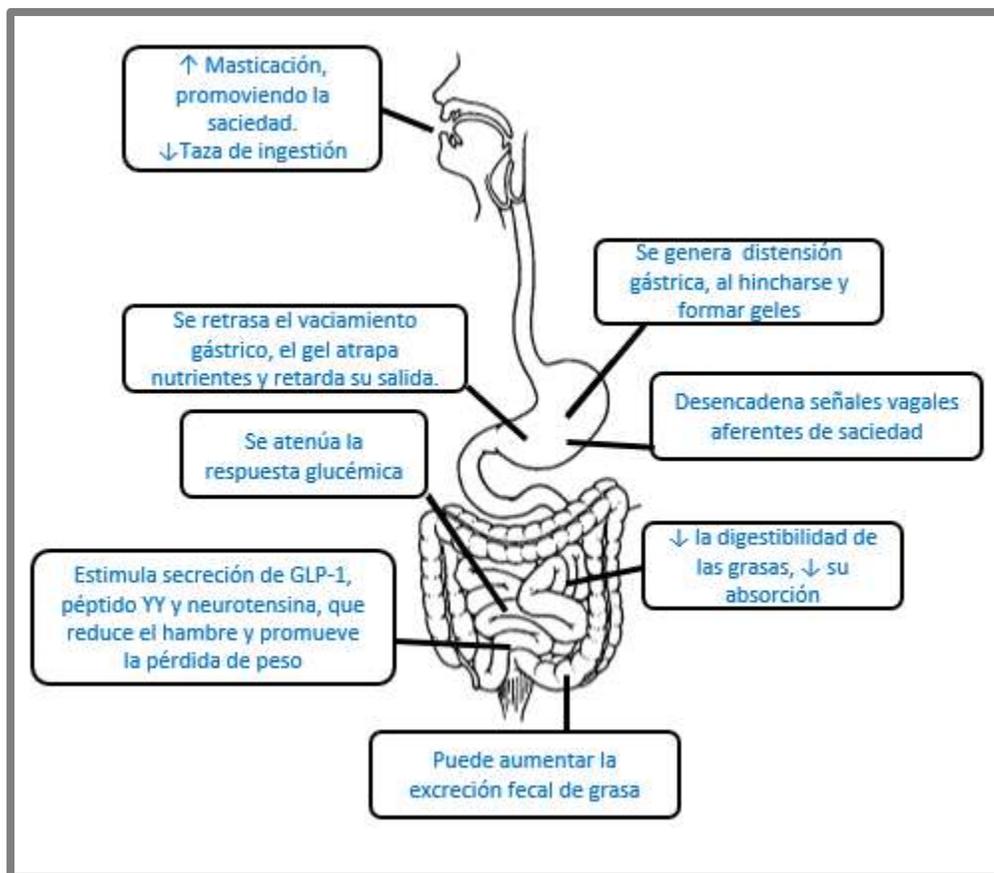


Figura 7. Mecanismos de acción de la fibra dietética en el control de peso (Fuente propia).

2.9. Sobrepeso y obesidad

La actual epidemia de sobrepeso y obesidad representa un gran desafío para la prevención de enfermedades crónicas en todo el mundo; como sobrepeso y obesidad se entiende el exceso de peso corporal, con relación a la altura del sujeto; ocasionado por factores genéticos, de comportamiento, condiciones socioeconómicos y ambientales (94).

Recientemente se ha descrito el fenómeno del exceso de peso como un estado inflamatorio crónico de bajo grado, que surge como consecuencia del aumento de tejido adiposo, que lleva a un aumento en la producción de mediadores proinflamatorios que pueden ser estimulados por señales de origen endógeno y exógeno (95) .

El criterio actual más utilizado para clasificar el peso, según la estatura, se utiliza el índice de masa corporal o IMC (definido como el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura en metros); un IMC superior a 25 kg / m² se define como sobrepeso y un IMC superior a 30 kg / m²

como obesidad (96) y puede abarcar parámetros como la obesidad severa o mórbida, evidenciada por un IMC mayor o igual a 40 kg / m² (94). En entornos clínicos y de investigación, se ha utilizado también la circunferencia de cintura, como una medida de adiposidad abdominal, bajo la premisa de que la adiposidad abdominal es principalmente grasa visceral, metabólicamente activa que rodea los órganos y está asociada con una desregulación metabólica, lo que predispone a las personas a enfermedades cardiovasculares y afecciones relacionadas (97).

El exceso de peso corporal es un proceso gradual, que suele iniciarse en la infancia y la adolescencia; surge como resultado del desequilibrio energético entre las calorías consumidas y las calorías gastadas, creando un excedente de energía y un estado de balance energético positivo que resulta en un exceso de peso corporal (98). Este desequilibrio energético es el resultado de profundos cambios sociales y económicos a niveles mucho más allá del control de cualquier individuo, que se ligan a los procesos de crecimiento económico (94); la creciente disponibilidad de alimentos abundantes pobres en nutrientes, los acelerados procesos de industrialización, el transporte mecanizado y la urbanización, que han tenido como consecuencia un estilo de vida cada vez más sedentario y una transición nutricional a alimentos procesados y dietas altas en calorías, por lo que muchos países han sido testigos del incremento en la prevalencia de la obesidad en sus ciudadanos que incluso se ha cuadruplicado en los últimos 30 años (99).

La creciente prevalencia de la obesidad en particular, presagia una carga de enfermedades y complicaciones subyacentes en las personas y una sobrecarga a los sistemas de salud en las próximas décadas, puesto que es el factor desencadenante de enfermedades crónicas no transmisibles, como la diabetes, enfermedades cardíacas, cerebrovasculares y diferentes tipos de cáncer, siendo afecciones que reducen la calidad de vida y generan mortalidad prematura (98); por lo que es de gran relevancia su prevención y tratamiento, en especial para las naciones con las mayores prevalencias a nivel mundial (94).

2.9.1. Epidemiología

El exceso de peso corporal es una de las mayores problemáticas de salud a las que se enfrenta la sociedad en el siglo XXI; de modo que desde el año 2011 se ha aceptado por parte de la OMS el uso del término “*globesidad*”, ante la alarmante realidad que arrojan los datos a nivel global, y que no apuntan hacia una mejora en el corto plazo (100). La misma organización afirma que la prevalencia mundial de obesidad se triplicó entre 1975 y 2016 y tan solo, desde la década de 1980 se ha duplicado en todo el mundo. En 2016, más de 1.900 millones de adultos mayores de 18 años presentaban sobrepeso, y de ellos, más de 650 millones eran obesos; lo que corresponde aproximadamente al 13% de la población adulta mundial (11% de hombres y 15% de mujeres), motivo por el cual, el sobrepeso y la obesidad están relacionados con más muertes que la desnutrición en todo el mundo. A nivel mundial, hay más personas obesas que con bajo peso (101).

Con respecto a la población infantil, se ha presentado un incremento de cerca de 11 millones de menores con exceso de peso en los últimos 15 años (102); además, se estima que 38,2 millones

de niños menores de 5 años presentaban sobrepeso u obesidad en 2019 y aproximadamente 340 millones de niños y adolescentes de 5 a 19 años la padecían. La prevalencia de sobrepeso y obesidad entre los menores de 19 años, ha aumentado drásticamente, del 4% en el año 1975, a poco más del 18% en 2016, cifras alarmantes dado que infantes obesos serán adultos obesos, engrosando las estadísticas de sobrepeso y obesidad (101).

En el continente americano, por primera vez en la historia la población con obesidad superó a aquella con desnutrición (103); de acuerdo con datos de la Food and Agriculture Organization (FAO); en el continente americano, el 58 % de los habitantes vive con sobrepeso y obesidad, lo que representa alrededor de 360 millones de personas) (102). Tan solo en América Latina y el Caribe, la proporción de adultos con exceso de peso duplica la prevalencia que se reporta a nivel mundial; esta condición afecta a 360 millones de adultos en América Latina, y a 104 millones en el Caribe, colocando a más de la mitad de la población adulta con un alto riesgo de padecer comorbilidades asociadas (103).

En México se ha declarado una emergencia sanitaria por el aumento descontrolado en las cifras de obesidad, que representa un grave problema de salud pública, ya que las enfermedades derivadas de esta condición dominan el panorama de la mortalidad en México, particularmente entre los adultos mayores de 40 años (1). De acuerdo con los datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2018; la prevalencia de sobrepeso fue de 39.1% y de obesidad 36.1%; además, el 81.6% de las personas presentaron adiposidad abdominal; además, las prevalencias más altas se presentan en adultos de 40 a 50 años (98,104). Se ha apreciado un aumento considerable principalmente entre las mujeres en edad reproductiva y entre los residentes de zonas rurales (1).

La problemática del exceso de peso sigue incrementando en nuestro país, sin importar nivel socioeconómico, región o localidad; tan sólo en el periodo comprendido del año 2000 al 2018, la prevalencia de obesidad aumentó un 42.2% y la de obesidad mórbida 96.5% (104); dicho aumento también es resultado de la transición dietética que ha sufrido el país en los últimos años (98), aunado a que en los últimos 20 años el poder adquisitivo de las familias mexicanas ha disminuido, y al mismo tiempo el costo de los alimentos no básicos de alta densidad energética y de bebidas azucaradas se ha reducido; en este sentido la comida chatarra resulta más barata que los alimentos saludables como frutas, verduras, lácteos y alimentos de origen animal (1); todo esto llegó como consecuencia de los cambios económicos ocasionados por la entrada en vigor del Tratado de Libre Comercio de América del Norte (98).

Por su parte, las decisiones de la población de comprar alimentos saludables o no saludables, dependen en parte de la información nutrimental que se provee a través del etiquetado frontal de alimentos y bebidas industrializados, así como de otras estrategias de comunicación. Además, el nivel de actividad física de las personas se ve influido por los espacios físicos donde la gente lleva a cabo sus actividades diarias, por ejemplo, la infraestructura peatonal, la disponibilidad de espacios públicos, incluyendo parques y áreas de esparcimiento, los espacios escolares para la actividad física y los sistemas de transporte. Otros factores sociales y culturales como la seguridad

y la percepción de seguridad y de estética, el género y la educación, por mencionar algunos, inciden en la adopción de estilos de vida activos; por ejemplo, el incremento en la violencia ha reducido el tiempo en actividades fuera del hogar, especialmente en las mujeres, lo cual repercute en la adopción de estilos de vida activos (1).

2.9.2. Los costos del sobrepeso y la obesidad

Las enfermedades ocasionadas por acumulación excesiva de tejido adiposo afectan directamente a los individuos, debido a su impacto en las capacidades físicas y mentales, y de modo indirecto a través de las ENT asociadas, ya que representan una gran carga social y económica, disminuyendo los años de vida saludable y los costos que imponen a los sistemas públicos de atención de la salud (1); este fenómeno ha captado la atención de los entornos político, económico, social, y médico (98), ya que se estima que los costos totales asociados al sobrepeso y la obesidad en México alcanzan 0.56% del Producto Interno Bruto (PIB) (102).

La creciente prevalencia de la obesidad en particular, presagia una importante carga para los sistemas de salud en las próximas décadas, sumado a la crisis de salud pública que México enfrenta actualmente (105). Los gastos en materia de salud que esta condición ocasiona, se estiman entre los 82 y 98 mil millones de pesos anuales, que equivalen entre el 73% y el 87% del gasto programable en salud, solamente considerando los costos atribuibles por diabetes. Los costos totales por complicaciones atribuibles al sobrepeso y obesidad oscilan entre 82 y 98 mil millones de pesos, lo que implica una fuerte carga sobre las instituciones de salud. Por persona, se estima que el costo aproximado del tratamiento de una persona asciende a \$1,976,054 pesos mexicanos (106).

2.9.3. Fisiopatología del sobrepeso y la obesidad

El sobrepeso y la obesidad debe de entenderse como una enfermedad crónica, multifactorial y multicausal, que se relaciona con una alteración de la correcta función del tejido adiposo en su capacidad para almacenar grasa; que además conlleva a una situación de inflamación del tejido, que está ligada a desórdenes metabólicos (107).

Para comprender esta entidad patológica, es necesario describir al adipocito, que es la principal célula del tejido adiposo y tiene como función almacenar el exceso de energía en forma de triglicéridos, y liberarlos en situaciones de necesidad energética (108). El tejido adiposo se compone también de estroma, que es el tejido conectivo reticular que confiere a los adipocitos soporte, vascularización e inervación, que interactúan con numerosas células (macrófagos, células T, fibroblastos, preadipocitos, células mesequimales, pericitos, etc.) y conforman el microambiente celular (109).

El proceso de acumulación de tejido graso puede originarse mediante dos procesos relacionados con el adipocito; que son: por hipertrofia (aumentando su tamaño) y por hiperplasia (aumentando su número a partir de una célula precursora) (110). Tradicionalmente se ha

considerado que un momento determinado en el crecimiento de un adipocito, al ir aumentando su volumen de grasa (hipertrofia), alcanzará un umbral de tamaño crítico en el que se dará un proceso de hiperplasia, estimulando a una célula precursora y generando así, una nueva célula adiposa (111).

2.9.4. Tratamiento del sobrepeso y obesidad

Los objetivos de la pérdida de peso en adultos con obesidad deben estar dirigidos a la pérdida y mantenimiento del peso a largo plazo, así como a evitar el desarrollo de las comorbilidades asociada. Las estrategias de intervención en las personas con obesidad de tipo exógena incluyen modificaciones al estilo de vida, orientados a la práctica de hábitos alimentarios saludables y a la práctica de ejercicio como hábito, de la mano de técnicas cognitivo-conductuales (112).

En primera instancia, la dietoterapia de la obesidad se basa principalmente en la disminución de la ingesta calórica para alcanzar el peso deseado, siguiendo metas realistas para la reducción del peso, mediante dietas en las que se controle la cantidad de calorías y el balance de macronutrientes. Se sugiere el empleo de dietas de balance negativo, con una reducción de 300 a 500 kcal/día (como mínimo un total de 1500 kcal por día) (113), asimismo es recomendable reducir las porciones recomendadas y disminuir los alimentos ricos en grasas y azúcares, de modo que se pueda lograr una pérdida de peso aproximada de 500 g por semana (114).

Si con la modificación de los hábitos no se ha logrado una reducción de al menos un 5% del peso corporal en 3 meses, se procede emplear tratamiento farmacológico, el cual está recomendado en sujetos con IMC ≥ 30 kg/m² o >27 kg/m² acompañado de comorbilidades; para lo cual, se ha aprobado el uso de algunos fármacos como Orlistat, Liraglutida y Naltrexona-Bupropión (112). Cuando la terapia farmacológica no es suficiente, o se presenta un exceso de peso que pone en riesgo la vida del sujeto, se opta por un procedimiento de cirugía bariátrico-metabólica (115), la técnica será elegida en función del peso y hábitos dietéticos del sujeto y se dividen principalmente en tres grupos: Técnicas restrictivas (se basan en la reducción del volumen gástrico, limitando la ingesta y obteniendo una rápida sensación de saciedad), dentro de las que se encuentra la gastroplastia vertical anillada y la banda gástrica; las técnicas malabsortivas en las que se elimina parte del intestino delgado, limitando la digestión y absorción de nutrientes, entre ellas está el bypass; y por último las técnicas mixtas que combinan la reducción gástrica con una resección intestinal, como el bypass gástrico en Y de Roux (116).

A excepción del tratamiento nutricional, las opciones de tratamiento para la obesidad, como el uso de fármacos, o la cirugía bariátrica conlleva a riesgos y posibles efectos colaterales, en contraposición, las plantas medicinales que se pueden administrar como tratamiento del sobrepeso presentan un perfil de seguridad muy amplio que poseen con compuestos anti-obesidad y se pueden utilizar para el desarrollo de productos farmacéuticos y nutracéuticos (117).

2.9.4.1. Nutraceuticos

Los nutraceuticos se consideran productos alimenticios bioactivos que brindan beneficios para la salud, como parte de la prevención y tratamiento de enfermedades. La necesidad de compuestos medicinales a base de plantas y hierbas aumenta día a día, debido a que las curas alopáticas se asocian a una gran variedad de efectos secundarios. Por lo tanto, muchas personas se inclinan por el cambio de estilo de vida y el uso de productos hechos a base de compuestos naturales; estos productos pueden variar desde alimentos procesados, suplementos dietéticos, alimentos transgénicos, etcétera (118).

El término "nutraceutico" fue acuñado por el Dr. Stephen DeFelice en 1989, y es ampliamente utilizado en marketing, refiriéndose como "*un alimento (o parte de un alimento) que proporciona beneficios médicos o para la salud, incluida la prevención y / o el tratamiento de una enfermedad*", sin embargo, sus definiciones reglamentarias son variables (119). En la actualidad, este tipo de productos representan un mercado a nivel mundial, de 68 billones de dólares anuales (120), y tan solo en México genera ganancias de alrededor de 892 Millones de dólares (121), por lo cual significan un desafío para el futuro de la farmacoterapia y al mismo tiempo, son una poderosa herramienta para la prevención de enfermedades crónicas. No se proponen como alternativa a los fármacos, sino que pueden ser útiles para complementar una terapia farmacológica y prevenir la aparición de enfermedades crónicas en sujetos que no califican para el tratamiento farmacológico convencional (122).

2.10. Exceso de peso y producción de radicales libres

El estrés oxidativo se genera por un exceso en la producción de radicales libres, que se forman como parte de algunos procesos fisiológicos del cuerpo y pueden causar daño de manera directa o indirecta en diferentes órganos (123). La alimentación guarda una estrecha relación con la aparición de los agentes pro oxidativos; ya que se ha comprobado que en primer lugar, las dietas ricas en calorías y carbohidratos ocasionan picos en las glicemias, lo cual genera la aparición y proliferación de especies reactivas de oxígeno (ROS), como se muestra en la **Figura 8**, y a su vez se va involucrando en procesos patológicos como obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares y aterosclerosis (124).

La obesidad induce el estrés oxidativo sistémico, que traerá consigo una producción anormal de adipocinas (sustancias de origen lipídico, derivadas del tejido adiposo blanco que intervienen en los procesos de homeostasis del cuerpo); la proliferación de dichas contribuye directamente al desarrollo de enfermedades como el síndrome metabólico (125). Los biomarcadores de daño oxidativo son mayores en individuos con obesidad, se correlacionan directamente con el IMC, el porcentaje de grasa corporal, la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y los niveles de triglicéridos; por su parte, se ha descrito que los marcadores de defensa antioxidante son más bajos mientras la cantidad de grasa corporal y la obesidad central aumenta (124).

El incremento en el estrés oxidativo asociado a obesidad, se debe a que los adipocitos se han identificado como precursores de citocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), e interleucinas 1 y 6 (IL-1 e IL-6); éstas a su vez incrementan la producción de oxígeno y nitrógeno reactivos por parte de los macrófagos y monocitos. El TNF- α ocasiona un aumento de la interacción de los electrones con el oxígeno para generar el anión superóxido (126) y por otro lado, se estimula la actividad de la Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), que representa la vía principal para la producción de radicales libres en los adipocitos (127).

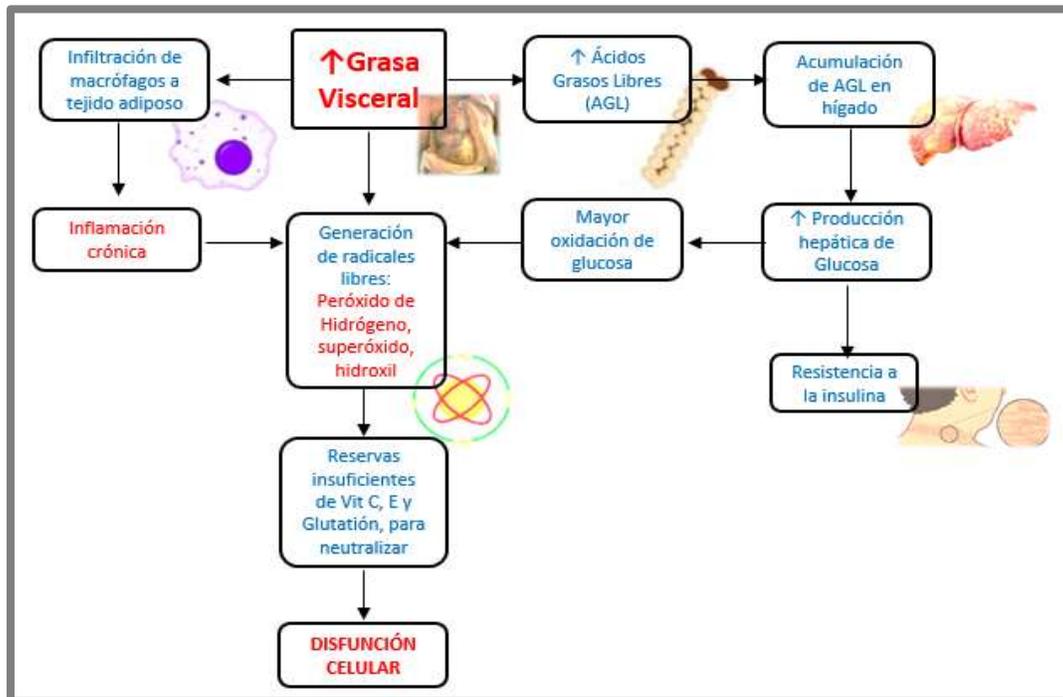


Figura 8. Producción de radicales libres a partir de la acumulación y oxidación de grasa visceral (Elaboración propia).

Por lo tanto, para evitar las complicaciones que trae esta condición, se han buscado tratamientos que permitan mejorar esta condición; algunos de ellos elaborados a partir de plantas con propiedades terapéuticas; una de estas alternativas naturales, es la tuna (*Opuntia ficus-indica*), que ha sido ampliamente estudiada por poseer compuestos bioactivos que proporcionan beneficios como la salud intestinal, cardiovascular y hepática, así como prevención del cáncer, por su acción hipoglucemiante y antioxidante (12,25).

2.11. La cáscara de tuna como coadyuvante en el control de peso y enfermedades metabólicas

La cáscara de tuna puede ayudar en el proceso de control y pérdida de peso, a través de diferentes mecanismos, que van desde el control glicémico, la disminución en la tasa de absorción de lípidos, y la disminución del estrés oxidativo; sobre los beneficios en los niveles de glucosa, en un estudio con un grupo de ratas alimentadas con harina de cáscara de tuna, la glucemia fue menor en comparación con un grupo alimentado con una harina con residuos de manzana, y la ganancia de peso fue menor, en comparación con el control (inulina) (128), debido al bajo contenido de azúcares solubles, el contenido de fructanos y el alto contenido de fibra (129).

Existe evidencia de un producto llamado “OpunDia™”, que consiste en una mezcla herbolaria, elaborada con cladodio de nopal cactus y extracto de cáscara de tuna (70:30 p / p), que demostró tener una potencial actividad hipoglucémica. La administración de 400 mg / día, durante 16 semanas, en hombres y mujeres obesos prediabéticos, produjo una disminución significativa de las concentraciones de glucosa en sangre en la prueba de tolerancia oral a la glucosa (130); además, en los deportistas, este complemento alimenticio estimula la secreción de insulina antes y después del ejercicio, reduciendo los niveles de glucosa en sangre y disminuyendo en un 30% el área bajo la curva de glucosa en sangre; una reducción del 10% en los niveles de glucosa y mayores concentraciones de insulina tras la ingestión (18).

En cuanto al control de los lípidos en el organismo, el extracto de cáscara demostró después de cinco semanas de administración, una disminución en el colesterol plasmático y hepático de hasta un 35%, en comparación con la dieta control (131). En un estudio con ratas, el colesterol LDL disminuyó significativamente a través del tratamiento con cáscara de tuna (48), debido al alto contenido de ácido ascórbico, que protege los ácidos grasos esenciales de la oxidación (132,133); además del alto contenido de fibra que ayuda a reducir el colesterol (48).

3. Justificación

En México, la producción de tuna posee gran importancia comercial, pues forma parte de la alimentación tradicional de los mexicanos. Sin embargo, la porción comestible del fruto es de tan solo el 35 al 55%, generando una gran cantidad de residuos como las cáscaras, que son desechadas y eventualmente utilizadas como forraje, lo cual representa pérdidas para los productores y comercializadores. Dichos residuos agroindustriales constituyen una gran preocupación por la ecología, ya que pueden ocasionar problemas de manejo de desechos, incrementando el interés por su uso, puesto que contienen compuestos bioactivos de interés, como el alto contenido de fibra y antioxidantes, de los cuales ha sido ampliamente descrito que pudieran tener efectos benéficos en la disminución del peso corporal. Por lo que su utilización y valorización del residuo de tuna permitirá desarrollar productos comerciales para aprovechar los compuestos bioactivos presentes en padecimientos que aquejan a nuestro país como el sobrepeso y la obesidad.

Por su parte, el sobrepeso y la obesidad representan un grave problema de salud pública en México, ya que de acuerdo con los datos de la encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018, el 75.2% de la población presenta exceso de peso; además las complicaciones derivadas de esta enfermedad incrementa de manera significativa el gasto en materia de salud. El incremento en la incidencia de este grave problema está estrechamente ligado al consumo de una dieta inadecuada, con una pobre ingesta de fibra dietética, que deriva de la transición nutricional desarrollada en las últimas décadas y que da como resultado altas concentraciones de azúcares y colesterol en sangre, que generan un exceso en la producción de radicales libres, conllevando a una respuesta inflamatoria en el individuo y rompiendo el equilibrio homeostático en el cuerpo.

La elaboración de un nutracéutico con propiedades funcionales y antioxidantes a partir de la cáscara de tuna, se propone como una alternativa natural para favorecer el control de peso, ya que puede otorgar beneficios gastrointestinales, debido a su contenido de fibra, que mejora el proceso digestivo, acelera el tránsito intestinal, ayuda a disminuir las calorías consumidas en la dieta, genera una rápida sensación de saciedad e impide la absorción de algunos lípidos, favoreciendo la pérdida de peso, además de disminuir la respuesta inflamatoria por su contenido de polifenoles.

4. Objetivos

4.1. Objetivo General

Elaborar un nutracéutico con propiedades funcionales y antioxidantes, a partir de cáscara de tuna (*Opuntia ficus-indica* L. Mill.) liofilizada, que pueda ser utilizado como parte del tratamiento dietético en individuos con sobrepeso y obesidad.

4.2. Objetivos específicos

- Realizar el análisis químico proximal (Humedad, cenizas, proteína, carbohidratos y lípidos) así como las propiedades tecnofuncionales de la fibra (retención de agua y lípidos) del polvo liofilizado de cáscara de tuna.
- Determinar el contenido de compuestos antioxidantes (fenoles totales, betalainas y la capacidad antioxidante por los métodos de ABTS, DPPH y FRAP de la muestra liofilizada de cáscara de tuna.
- Evaluar la bioaccesibilidad intestinal *in vitro* de los compuestos antioxidantes y la fermentación colónica *in vitro* (pH, conteo de bacterias ácido lácticas, materia seca desaparecida, residuo no fermentable, cuantificación de ácidos fenólicos y flavonoides).
- Evaluar la toxicidad aguda de la muestra, en un modelo *in vivo*, mediante la metodología establecida por la OECD (prueba de dosis letal 50 (LD₅₀), mediante la administración del polvo de cáscara de tuna liofilizada.
- Determinar la calidad fisicoquímica (Disolución, friabilidad, dureza, color y microscopía electrónica) de diferentes formulaciones de tabletas y la disolución del encapsulado a partir del polvo de cáscara de tuna liofilizada para obtener un producto nutracéutico.
- Analizar el cuestionario de recordatorio de 24 horas, aplicado a los participantes del ensayo clínico.
- Evaluar los efectos de la suplementación dietética de cápsulas de cáscara de tuna (1g / día), sobre parámetros bioquímicos (glucosa, colesterol y triglicéridos) y antropométricos (peso, IMC y circunferencia de cintura) en adultos con sobrepeso u obesidad durante 4 semanas.

5. Metodología

El presente estudio fue de tipo experimental, dividido en 5 etapas (figura 9); la primera etapa consistió en la obtención de la muestra y la caracterización bromatológica y la cuantificación de antioxidantes, así como de su actividad antioxidante. La segunda fase comprendió los procesos de bioaccesibilidad intestinal y fermentación colónica *in vitro*, evaluando los cambios que sufrieron los compuestos bioactivos a través del proceso de digestión, así como los cambios en los polímeros de la muestra, mediante la determinación de materia seca desaparecida, residuo no fermentado, el cambio de pH y el conteo de bacterias ácido lácticas.

En la tercera etapa, se evaluó la inocuidad de la muestra, mediante una prueba de DL₅₀, donde se midió el cambio de peso de los animales de experimentación, y posterior al sacrificio, se llevó a cabo la inspección de algunos órganos de interés. La cuarta fase consistió en la elaboración de los nutraceuticos (dos formulaciones en tableta y una en cápsula); ésta y todas las fases anteriores se llevaron a cabo en el Laboratorio de tecnofuncionalidad de alimentos del instituto de ciencias de la Salud, de la Universidad Autónoma de Hidalgo.

La quinta y última fase consistió en un estudio clínico de tipo exploratorio, simple ciego, mediante un muestreo accidental (o de bola de nieve), realizado en consultorios privados de las ciudades de Tulancingo de Bravo y Pachuca de Soto, Hidalgo. El proyecto fue realizado con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (No. de beca 708817).

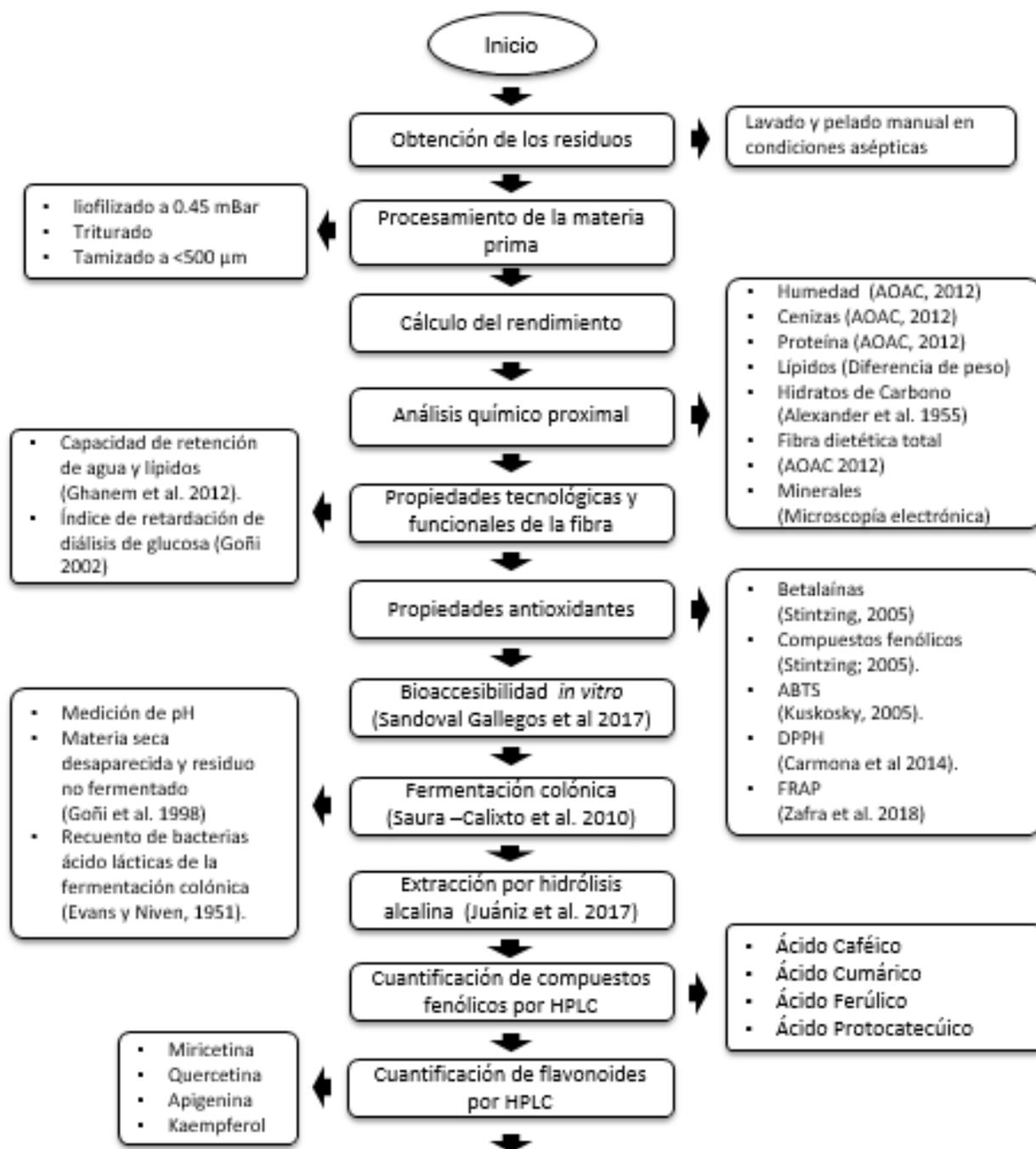


Figura 9. Diseño metodológico

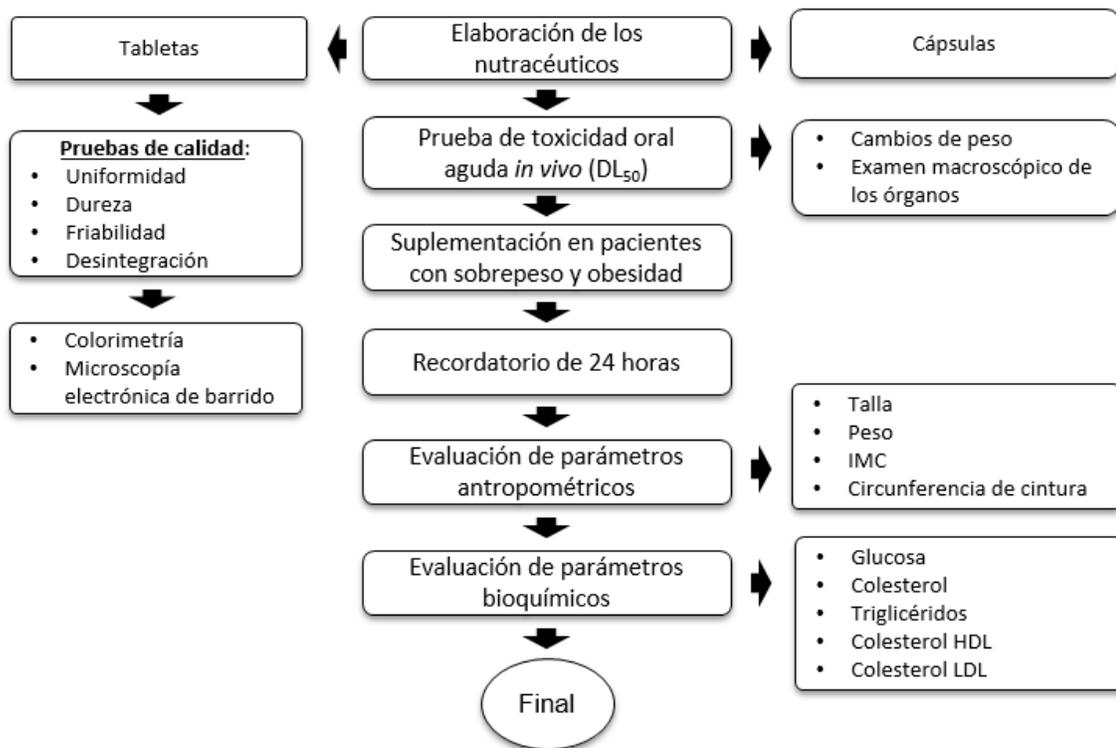


Figura 9. Diseño metodológico (continuación)

5.1. Obtención de la materia prima

Las muestras de tuna (*Opuntia ficus-indica*) fueron proporcionadas por el Consejo Mexicano del Nopal y la Tuna (CoMeNTuna), ubicado en Actopan Hidalgo. Los frutos fueron lavados y pelados manualmente, separando el pericarpio del resto de los componentes y se descartaron todas aquellas piezas que presentaron lesiones externas.

Las cáscaras fueron congeladas a -30 °C, posteriormente picadas manualmente y liofilizadas (liofilizadora VWR26671-581 Labconco, USA). La muestra seca, fue molida en un equipo (Waring Commercial Blender 38BL52 LBC10, USA), posteriormente homogeneizada y tamizada para lograr un tamaño de partícula <500 µm (Figura 10).



Figura 10. Diagrama de Obtención de la Materia Prima.

5.2. Rendimiento

El rendimiento fue obtenido mediante la diferencia de peso entre la muestra fresca y la muestra seca. Se pesaron 100 g. de muestra fresca, por triplicado y se colocaron en tubos de Borosilicato Labconco® de 250 mL; después de 72 horas de liofilizado se pesaron nuevamente las muestras. Los resultados fueron expresados como porcentaje de rendimiento, utilizando la siguiente fórmula.

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{P_0 - P_1}{P_0} * 100$$

Donde:

P_0 : Peso de la muestra fresca.

P_1 : Peso de la muestra liofilizada.

(1)

5.3. Análisis químico proximal

5.3.1. Humedad

El método según la AOAC 2012 (134), se basa en una determinación gravimétrica en la que se determina humedad por la diferencia de pesos obtenidos en una muestra antes y después de secarla a una temperatura constante.

La muestra fresca homogenizada (2 g) pesada en cápsulas de porcelana, puestas previamente a peso constante. Las cápsulas se colocaron en un horno a 105 °C durante 3 h. Posterior a ello se tomó el peso y nuevamente se introdujeron en un horno de calentamiento a 105° durante 3 horas. Una vez obtenido el peso constante, el cálculo se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100$$

Donde:

P_i : Peso de la muestra fresca.

P_f : Peso de la muestra seca.

(2)

5.3.2. Cenizas

Su principio se basa en una determinación gravimétrica en la que se obtiene la diferencia del peso inicial de la muestra menos el peso que se obtiene al final después de realizar una carbonización y un incinerado. El análisis se realizó por el método de incineración de la AOAC 2012 (134), empleando una mufla marca FURNACE 1500 Thermolyne. En cápsulas de porcelana, puestas previamente a peso constante, se pesaron 2 g muestra liofilizada y tamizada; las cápsulas se colocaron en un horno a 105 °C durante 3 h. Posterior a este tiempo se realizó una carbonización con mechero y pinzas para crisol en el interior de una campana de extracción, para después llevar a incineración en la mufla a 500 °C durante 5 h. Al término de este tiempo se disminuyó la temperatura a 200 °C para pasar las muestras al desecador, dejándolas enfriar durante 1 h. Finalmente se pesaron en una balanza analítica obteniendo el porcentaje de cenizas por diferencia de peso. El resultado fue expresado como porcentaje (%) de ceniza y los cálculos se obtuvieron con la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Ceniza} = ((A - B)/C) * 100$$

Dónde:

A = Peso del crisol a peso constante con muestra seca (g).

B = Peso del crisol con ceniza (g).

C = Peso de la muestra seca (g).

(3)

5.3.3. Proteína

El método de digestión Kjeldahl, es un proceso de análisis químico para determinar el contenido en nitrógeno de una sustancia química y se engloba en la categoría de medios por digestión húmeda y se usa comúnmente para estimar el contenido de proteínas de los alimentos.

La determinación de nitrógeno total se realizó por el método de kjeldahl, utilizando la metodología oficial de la AOAC 2012 (134), con el factor 6.25 para obtener el porcentaje de proteína. El procedimiento determina la materia nitrogenada total, basándose en la digestión de la muestra utilizando ácido sulfúrico para reducir el nitrógeno orgánico hasta amoníaco el cual queda en forma de sulfato de amonio. Concluida la digestión se alcaliniza y se destila directamente o por arrastre con vapor para desprender el amoníaco, el cual es atrapado por una solución ácida y titulada automáticamente por el equipo. En esta medición se utilizó el equipo de digestión, destilación y neutralización marca Gerhardt modelo Vapodest 50 USA. Se pesaron 500 mg de muestra por triplicado y se colocaron en tubos de digestión, añadiendo una tableta catalizadora marca Gerhardt. Se adicionaron 2 mL de agua destilada y 15 mL de ácido sulfúrico al 97.9 %. Fue necesario la utilización de dos blancos durante todo el proceso.

La determinación se llevó a cabo en 2 pasos:

a) Digestión: una vez que el digestor alcanzó la temperatura de 230 °C, se colocaron los tubos de digestión y se conectaron al sistema de neutralización, verificando que los gases formados fueran neutralizados con una solución de NaOH al 10%. Se mantuvieron a la misma temperatura durante 30 min. Una vez transcurrido este tiempo, se elevó la temperatura a 260 °C (5 min), 300 °C (10 min), 400 °C (20 min) y finalmente a 405 °C hasta que se observó un tono verde esmeralda (aproximadamente 2 h). Y finalmente se dejaron enfriar los tubos.

b) Destilación: una vez enfriados, los tubos se colocaron uno a uno en el destilador automático programado para realizar la destilación del amoníaco adicionando automáticamente NaOH 32%. Posteriormente se realizó la titulación automática con H₃BO₃ al 3% (pH 4.6 – 4.7). El porcentaje de nitrógeno presentado por el equipo fue utilizado para calcular el % de proteína total de acuerdo con la siguiente fórmula.

$$\text{Proteína (\%)} = \% \text{ de Nitrógeno} * 6.25 \quad (4)$$

5.3.4. Lípidos

En general, la cáscara de tuna presenta un bajo contenido de lípidos, por lo que el contenido total de grasa se calculó por la diferencia entre el peso total de la muestra, con respecto a las determinaciones de humedad, proteína, cenizas, carbohidratos y fibra dietética total. El resultado fue expresado como porcentaje (%) de lípidos y se obtuvo utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{Lípidos} = 100 - (A + B + C + D + E) \quad (5)$$

Dónde:

A= % de Humedad

B= % de Proteína

C= % de Cenizas

D= % de Carbohidratos

E= % de Fibra dietética total

5.3.5. Hidratos de Carbono

La determinación de carbohidratos se llevó a cabo mediante el análisis espectrofotométrico que se aplica a los carbohidratos al reaccionar con el reactivo Orcinol - Ácido Sulfúrico, en el que se genera una variación de colores que van del amarillo al rojo azulado. Se preparó una solución de Orcinol al 0.01 %; para la cual se colocó un matraz de 500 mL en un baño de hielo con agitación constante y se adicionaron 50 mL de agua destilada, después de 5 minutos de agitación, se adicionaron lentamente 200 mL de Ácido Sulfúrico concentrado (H₂SO₄). Al término de la adición del Ácido, se adicionaron 0.25 g de Orcinol. Se construyó una curva estándar con concentraciones de 0, 20, 40, 60, 80, 100 y 120 ppm, con respecto a una solución patrón de glucosa de 250 ppm (0.25 mg/mL).

Para llevar a cabo la técnica, se colocaron en una gradilla tubos de vidrio de 5 mL, dentro de un baño de hielo; se agregaron 0.25 g de muestra y posteriormente 1 ml de la solución de Orcinol, y se mezcló vigorosamente en vórtex. La gradilla fue puesta en un baño en ebullición por 5 min, después de eso fue dejado hasta alcanzar temperatura ambiente y se realizó la lectura a 540 nm, y se comparó con un blanco (135).

5.3.6. Fibra dietética total

La fibra dietética es una mezcla compleja de sustancias orgánicas resistentes a la hidrólisis por las enzimas del humano, incluyendo hemicelulosas, celulosas, ligninas, pectinas, gomas, entre otros. El análisis de la fibra dietética total consiste en una combinación de métodos enzimáticos y gravimétricos, para lo cual se empleó un kit comercial de ensayo de FDT (TDF-100A, SIGMA) (136). El ensayo se llevó a cabo mediante tres etapas: digestión, filtración, y corrección de valor de fibra dietética total (FDT) con determinación de proteína y ceniza.

En la primer etapa se pesaron 500 mg de muestra en matraces Erlenmeyer de 250 mL adicionando a cada matraz 25 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.08 M, pH 6.0, y 50 µL de α-amilasa termoestable para gelatinizar la muestra. Se cubrieron los matraces con papel aluminio y se colocaron en un baño de agua con agitación horizontal (95 °C, 15 min); una vez transcurrido el tiempo se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 15 min. Posteriormente, se ajustó el pH a 7.5 ± 0.2 con la adición de NaOH 0.275 N. Una vez ajustado el pH, en cada matraz se colocaron 50 µL de una solución de proteasa como amortiguador de fosfatos (50 mg/mL), con lo cual se dirigió enzimáticamente la proteína. Nuevamente, los matraces se cubrieron con papel aluminio y se colocaron en un baño de agua (60 °C, 30 min) con agitación continua. Las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 15 min para ajustar el pH entre 4.0 y 4.6 agregándole HCl 0.325 M. Una vez ajustado el pH, en cada matraz se añadieron 50 µL de amiloglucosidasa para hidrolizar el almidón y se colocó nuevamente en un baño de agua (60 °C, 30 min) con agitación continua. Para finalizar la primera etapa se agregaron 300 mL de etanol al 95% a cada matraz y se dejaron las soluciones durante toda la noche a temperatura ambiente para permitir la precipitación completa.

En la segunda fase las muestras se filtraron utilizando crisoles Gooch No.2 (4.5-5 µm de porosidad, capacidad 30 mL), los cuales fueron llevados previamente a peso constante, manteniéndolos en un horno a 105 °C durante 1 h, una vez transcurrido el tiempo, se colocaron 500 mg de celita a cada uno y nuevamente fueron llevados a peso constante, posterior a ello, se añadieron unas gotas de etanol (78 %) para distribuir la celita en la totalidad del fondo de cada crisol y se procedió con la filtración de cada precipitado obtenido en la etapa uno, después se realizaron lavados para vaciar la totalidad de las muestras con 30 mL de etanol al 78 %, 10 mL de etanol al 95 % y 10 mL de acetona. Posteriormente, los crisoles ya con los residuos obtenidos del filtrado, fueron colocados en el horno de secado a 105° C durante 12 h.

Por último, en la tercera etapa, con los residuos obtenidos del secado se determinó proteína de acuerdo al método de Kjeldahl y cenizas para corregir el valor total de la fibra. El resultado fue expresado como porcentaje (%) de fibra dietética total y se obtuvo mediante la siguiente operación matemática.

$$\% \text{ Fibra Dietética Total} = ((R - P - A) - B) / SP \times 100 \quad (6)$$

Dónde:

R= Peso promedio del residuo (mg)

P= Peso promedio de la proteína (mg)

A= Peso promedio de la ceniza (mg)

B= (Peso promedio del blanco – peso promedio de proteína del blanco – peso promedio de ceniza del blanco) (mg)

SP= peso promedio de la muestra (mg)

5.3.7. Minerales

Para llevar a cabo la cuantificación de minerales de las muestras, se utilizó un microscopio electrónico de barrido tipo emisión de campo (FE-SEM) JEOL IT300 con un rango de aumento de 300,000 X y una resolución de 30 k. La muestra se colocó sobre una cinta de grafito de doble cara y luego se recubrió con una fina capa de oro, utilizando una máquina de ionización (Denton Vacuum LLC, Moorestown, NJ, EE. UU.) A una presión de 20 millitorr y una corriente de 20 mA durante 4 min. El análisis cuantitativo de la composición mineral se obtuvo mediante el espectro que forma parte de la microscopía electrónica de barrido, mediante cuantificaciones individuales; el contenido de los principales minerales (potasio, magnesio y calcio) se reportó en porcentaje (%).

5.4. Propiedades tecnológicas y funcionales de la fibra

Las propiedades funcionales y tecnológicas de la fibra dietética están relacionadas principalmente con la estructura química de los polisacáridos contenidos.

Capacidad de retención de agua (CRA) y capacidad de retención de lípidos (CRL): del polvo liofilizado de cáscara de tuna. Añadiendo 250 mg de la muestra liofilizada, con 10 mL de agua desionizada o aceite en tubos de centrífuga de 15 mL, los tubos fueron sometidos a agitación por vórtex y se dejaron en reposo a temperatura ambiente por 24 hrs. Posteriormente, la muestra fue centrifugada (Beckman Coulter Allerga 25r USA) a 3000 rpm por 25 min. El sobrenadante se decantó y el tubo fue pesado en balanza analítica. La CRA fue reportada como gramos de agua / gramos de muestra seca (g/g bs). Para la CRL se utilizó aceite de soya y se reportó como gramos de lípidos / gramos de muestra seca.

Capacidad de hinchamiento (CH): Se pesó 1 g de cada muestra en una probeta graduada de 25 ml y se midió el volumen ocupado por las fibras (V_0); se adicionaron 10 ml de agua destilada y se agitó manualmente durante 5 min. Se dejó en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se midió el volumen final de las muestras (V_1) la capacidad de hinchamiento fue expresada en mililitros por gramo (mL/g) (137).

5.4.1. Índice de retardación de diálisis de glucosa

Se llevó a cabo siguiendo la metodología reportada por Goñi-Valdivieso et al (138); antes del ensayo, las muestras fueron sometidas a extracción con etanol al 80% para eliminar los azúcares solubles. Se utilizaron bolsas de diálisis (Medicell International Ltd, Londres) de 12 cm de longitud previamente hidratadas, y se llenaron con 7,5 ml de agua destilada que contenía 18 mg de glucosa (control), o bien mezcladas con 250 mg de muestra. Las bolsas se suspendieron en 200 ml de agua destilada y se mantuvieron a 37 ° C durante 1 h con agitación constante, transcurrido el tiempo se tomó una alícuota del dializado (líquido del medio exterior de la bolsa de diálisis), para su posterior inyección al equipo de HPLC. Los extractos se concentraron y se purificaron a través de cartuchos SepPak C18, para ser reconstituidos en agua y acetonitrilo (80:20). Se inyectaron 100 mL de los

extractos en el HPLC equipado con un detector de arreglo de diodos (Waters, 600, USA), con un muestreador automático (Waters, 717 plus, USA). Se utilizó una columna Simmetry C18 (4.60 x 150mm) 5µm (Waters, USA). El eluyente fue acetonitrilo / agua (80:20), con un flujo de 0,9 mL / min.

El resultado se expresó en porcentaje y fue obtenido mediante la siguiente fórmula:

$$GRI = 100 - \left(\frac{\text{Glucosa difundida en la bolsa con fibra}}{\text{Glucosa difundida en la bolsa sin fibra}} \right) * 100 \quad (7)$$

5.5. Propiedades antioxidantes

5.5.1. Betalainas

Se realizó mediante la metodología utilizada por Stintzing et al. (63); diluyendo la muestra en agua desionizada en una proporción 1:10 y se colocaron 200 µL con un blanco de agua desionizada en microplacas. Se realizó la lectura por espectrofotometría (Power Wave XS UV-Biotek, USA), con una longitud de onda de 535 nm para cuantificación de betaninas (pigmentos rojos-púrpura) y de 480 nm para betaxantinas (pigmentos amarillos). El contenido de betaninas y betaxantinas se reportó como miligramos equivalentes de betalainas por litro (mg EB/L) y se calculó con la siguiente ecuación:

$$mgEB/L = \left(\frac{A * FD * PM * 1000}{\epsilon} \right) * I \quad (8)$$

Dónde:

A = Absorbancia a 535 o 480 nm

FD = Factor de dilución

PM = Peso molecular

ϵ = Coeficiente de extinción molar

I = Volumen de celda (0.316 cm³)

Coeficientes de extinción molar:

Betaninas: ϵ = 60000 L/(mol cm).PM = 550 gr/mol

Betaxantinas: ϵ = 48000 L/(mol cm).PM= 308 gr/mol .

5.5.2. Compuestos fenólicos totales

Se realizó utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu, aplicando una solución de 1 mL de Folin aforando a 10 mL con agua desionizada; solución de Carbonato de sodio (7.5 g en 100 mL de agua); solución de ácido gálico (15 mg en 50 mL de agua). Se construyó una curva estándar de ácido gálico, con concentraciones de 0, 100, 200, 300 mg/L (ácido gálico / agua desionizada). La concentración fue determinada por espectrofotometría y la absorbancia fue medida a 765 nm en un lector de microplacas utilizando como blanco agua desionizada.

Se tomaron 100 µL de muestra de cada uno de los tratamientos, adicionando 500 µL de Folin Ciocalteu y 400 µL de carbonato de sodio en viales Eppendorf y se agitaron en vórtex, dejando

reposar 30 minutos. El contenido de fenoles totales al igual que en la curva estándar, se analizó por triplicado, expresando los resultados como mg equivalentes de ácido gálico por 100 gramos (mg EAG/100 g) (63,139).

5.5.3. Actividad antioxidante por el método de ABTS

Se preparó una solución de ABTS al 7 mmol (76.8 mg de ABTS diluido en 20 mL de agua desionizada), se agregó persulfato de potasio al 2.45 mMol, (6.6mg en 10 mL de agua); se dejó reposar por 16 horas y se realizó una dilución en agua desionizada, hasta obtener una lectura de absorbancia de 0.7 ± 0.1 a 754 nm. Se utilizará una curva estándar, con una solución con 3.75 mg de Trolox en 50 mL de etanol, realizando concentraciones de 0, 60, 120, 180, 240, 300 $\mu\text{mol/L}$.

Se tomaron 20 μL de muestra y 980 μL de la disolución de ABTS, se dejó reposar 7 min y se realizó la lectura espectrofotométrica a 754 nm en el lector de microplacas. La actividad antioxidante fue expresada como micromoles equivalentes de trolox por 100 gramos en base seca ($\mu\text{mol ET} / 100\text{g bs}$) (140).

5.5.4. Actividad antioxidante por el método de DPPH

Se preparó una solución con 7.4 mg de DPPH aforando a 100 mL de etanol; se utilizó una curva estándar de Trolox, en concentraciones de 0, 100, 200, 300 $\mu\text{mol ET/L}$. Se colocaron 100 μL de las muestras y 500 μL de la solución de DPPH, agitando en vórtex y dejando reposar durante una hora. Se midió la absorbancia del sobrenadante a 520 nm, utilizando el lector de microplacas. La actividad antioxidante fue expresada como porcentaje (%) de inhibición; tomando en cuenta la absorbancia de un blanco (con DPPH), en comparación con la absorbancia de la muestra, y fue obtenido mediante la siguiente fórmula (141).

$$\% I = (AB - AM) / AB \times 100 \quad (9)$$

Dónde:

$\% I$ = Porcentaje de inhibición

AB = Absorbancia del blanco

AM = Absorbancia de la muestra

5.5.5. Actividad antioxidante por el método de FRAP

El método de FRAP, fue realizado de acuerdo a lo descrito por Zafra et al (142). Las soluciones madre incluyeron un tampón de acetato 300 mM (3,1 g de $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y 16 mL de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) (pH 3,6), una solución de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) 10 mM en 40 mL de HCl y una solución a 20 mM de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

La solución fresca fue preparada mezclando 25 mL de tampón acetato, 2,5 mL de solución de TPTZ y 2,5 mL de solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y fue calentada a 37°C antes de su uso. 30 μL de la se mezclaron con 90 μL de agua destilada y 900 μL de la solución FRAP y se dejó reposar durante 10

min en la oscuridad. La absorbancia se midió a 593 nm usando un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software Gen5 2.09, Winooski, VT, EE. UU.).

La curva estándar se desarrolló con concentraciones de 0, 200, 400, 600, 800 y 1000 μmol de sulfato ferroso (FeSO_4) 5 M, y los resultados se expresaron como $\mu\text{mol Fe (II)}$ por 100 g de base seca ($\mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g db}$).

5.6. Bioaccesibilidad intestinal *in vitro*

Se determinó siguiendo la metodología descrita por Sandoval Gallegos et al. (143); utilizando un modelo de digestión *in vitro*, homogeneizando 250 mg de la muestra en 10 ml de agua y se ajustó el pH a 2.0 con HCl 6 mol. El homogeneizado fue incubado sucesivamente en un baño de agua bajo agitación continua con 120 μL de solución de pepsina por mL, en una solución con 0.1 mol de HCl a 37°C durante 2 h. Después de la incubación se añadieron 1,5 ml de pancreatina, colato de sodio y una solución de desoxicolato de sodio (5 mg de pancreatina P-1750 Sigma-Aldrich, más 100 mg de colato de sodio C6445 y 100 mg de desoxicolato D6750 en una solución 0,1 mol de NaHCO_3). Los productos de la digestión fueron colocados en membranas de diálisis (12,000- 14,000 de corte de peso molecular; Sigma-Aldrich) y dializado en 200 ml de solución de bicarbonato de sodio (pH 7,5) por 12 h. Se eliminaron las alícuotas de diálisis para determinar el contenido de fenoles y la capacidad antioxidante. La concentración relativa de fenoles en la fracción dializada con respecto a la muestra antes de la digestión se utilizó como indicador de bioaccesibilidad en el intestino delgado.

5.7. Fermentación colónica

Se realizó tomando en cuenta el proceso detallado por Saura –Calixto et al. (144), con algunas modificaciones; Se llevaron a fermentación las muestras en un sistema de cultivo discontinuo en condiciones anaeróbicas por 24 h. Se realizó un inóculo, mediante el uso de heces humanas, provenientes de un donador sano, de sexo masculino, sin consumo previo de antibióticos en los últimos 6 meses, con una alimentación balanceada. La muestra en fresco, con un peso aproximado de 200g, se diluyó (100 g / L) en un medio anaerobio, mezclado por 10 min y se filtró en malla de 1 mm, para utilizarlo como inóculo. Se mantuvieron las condiciones anaeróbicas utilizando dióxido de carbono sin oxígeno.

Los sustratos fueron hechos por triplicado y un control, se hidrataron con 8 mL del medio de fermentación, agregando 2 mL de inóculo y aplicando dióxido de carbono por 1 min para mantener las condiciones anaeróbicas. Los tubos se colocaron en un baño de agua con agitación (80 RPM / min, 37°C, 24 horas).

5.7.1. Medición de pH durante la fermentación colónica

El pH fue medido al inicio de la fermentación colónica (hora 0), y al final del proceso (hora 24), tomando la alícuota antes de detener el proceso de fermentación, utilizando un potenciómetro de mesa (HANNA HI 221, USA).

5.7.2. Materia seca desaparecida y residuo no fermentado

Se realizó mediante la metodología reportada por Goñi y Martín Carrón (145) . Después de la fermentación, los residuos se suspendieron en 50 ml de NaCl al 0.9% (p / v), fueron sometidos a agitación durante 3 min, y se filtraron con papel filtro; los residuos se suspendieron nuevamente en 50 ml de NaCl 0.9% (p / v) y se lavaron dos veces. Los residuos se suspendieron finalmente con 5 mL de etanol al 96% y 5 mL de acetona, para su posterior secado en horno a 60 ° C durante 16. El residuo no fermentado se determinó gravimétricamente de la siguiente manera:

$$RNF = \text{Peso final de la muestra} - \text{Peso del blanco negativo} \quad (10)$$

La materia seca desaparecida se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$MSD (\%) = \frac{Pi - Pf}{Pi} * 100 \quad (11)$$

Donde:

MSD (%) = Porcentaje de materia seca desaparecida

Pi = Peso inicial del sustrato seco

Pf = Peso del sustrato no fermentado

*Nota: La fermentabilidad de la muestra se expresa como porcentaje de sustrato desaparecido durante el proceso, respecto al mismo patrón de lactulosa (valor 100) (146).

5.7.3. Recuento de bacterias ácido lácticas de la fermentación colónica

El análisis microbiológico se realizó de acuerdo con el método de microgota establecido por Strahsburger et al. (147). Se realizaron diluciones en serie de las alícuotas de las horas 0 y 24, en disolución 1:10 (V/V) de caldo peptonado; las placas se incubaron en agar Man-Rogosa-Sharpe (MRS) incubado a 30 ° C durante 48 h. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC / mL) de muestra.

5.7.4. Cuantificación de compuestos fenólicos y flavonoides por HPLC

Previo al análisis cromatográfico, se llevó a cabo una extracción de acuerdo a lo reportado por Juárez et al (148); donde 50 mg de la fueron mezcladas con 1 ml de metanol / agua acidificada (ácido fórmico al 0,1%) (80:20 v / v), se sonicaron durante 90 min, se sometieron a vórtex y se centrifugaron durante 20 min a 14.000 rpm (Allegra 25TM, Beckman Coulter, California, USA)

El sobrenadante fue apartado y el residuo se volvió a extraer utilizando 0,5 ml de metanol / agua acidificada (80:20 v / v), se sonicó durante 25 min, se agitó en vórtex durante 1 min y se centrifugó durante 20 min a 14.000 rpm. Ambos sobrenadantes se combinaron y almacenaron en congelación.

El residuo obtenido de extracciones previas se hidrolizó con 1,5 ml de hidróxido de sodio 2 M y se mantuvo a temperatura ambiente durante 1 h. Después de la hidrólisis alcalina, el pH de la mezcla se ajustó a pH 3 añadiendo 1.7 mL de ácido cítrico 3 M. A continuación, se añadieron 4 ml de acetato de etilo. Después de 10 min de centrifugación a 14.000 rpm, se tomó 1 ml del sobrenadante y fue secado al vacío mediante rotoevaporación (Buchi R-210, Switzerland), el residuo se disolvió en 0,25 ml. de metanol / agua acidificada (ácido fórmico al 0,1%) (80:20 v / v) y se colocaron en viales de cristal, para su inyección en el equipo de cromatografía.

Para la extracción de metabolitos fecales, se utilizaron alícuotas de 0.1 mL de muestras fermentadas en un tubo eppendorf limpio. Los metabolitos derivados de la fermentación fecal se extrajeron mediante la adición de 0.1 mL de metanol / agua acidificada (ácido fórmico al 0,1%) (80:20 v / v), se agitaron en vórtex y se centrifugaron a 14.000 rpm durante 10 min. A continuación, se transfirieron alícuotas de 100 mL a viales y se sometieron a análisis

Los flavonoides se cuantificaron por HPLC de acuerdo con la metodología establecida por Díaz-Batalla et al. (149), usando un detector de arreglo de diodos (Waters, 600, USA), equipado con un muestreador automático (Waters, 717 plus, USA), detector de arreglo de diodos (Waters, 2996, USA) (Waters, Milford MA, EE. UU.) Se utilizó una columna cromatográfica Simmetry C18 (4.60 x 150mm) 5µm (Waters, USA). La fase móvil A fue acetonitrilo y la fase móvil B fue agua desionizada a pH de 2.8, ajustado con ácido acético de grado HPLC, Para la elusión de los flavonoides y ácidos fenólicos, el gradiente utilizado se describe en la tabla 3 y 4 respectivamente. El volumen de inyección fue de 20 mL.

Tabla 3 Condiciones de separación por HPLC. Flavonoides en colon

Tiempo (min)	%Fase móvil A	%Fase móvil B
0	0	100
10	65	35
15	80	20
16	95	5
17	96	4
18	20	80
19	0	100
20	0	100

Flujo: 1 mL/min. Fase móvil A: Acetonitrilo; Fase móvil B: Agua desionizada con ácido acético. pH 2.8

Tabla 4 Condiciones de separación por HPLC. Ácidos fenólicos en colon

Tiempo (min)	%Fase móvil A	%Fase móvil B
0	0	100
15	50	50
16	50	50
18	65	35
20	95	5
21	96	4
22	20	80
23	0	100
24	0	100

Flujo: 1 mL/min. Fase móvil A: Acetonitrilo; Fase móvil B: Agua desionizada con ácido acético.
pH 2.8

5.8. Elaboración de los nutraceuticos

- a) Cápsulas

El proceso se realizó de acuerdo a lo descrito por OFFARM (2004); Utilizando un encapsulador manual de 100 orificios, con juegos de placas 00; se llevó a cabo a temperatura ambiente, en un ambiente con humedad relativa <60%. Se aplicó el polvo sobre la plataforma del encapsulador, se comprimió manualmente y se repitió el proceso una vez más, al final se limpiaron las impurezas remanentes con una brocha fina.

- b) Tabletas

A partir del liofilizado de tuna, se elaboró una mezcla homogénea de la siguiente manera: Se utilizaron dos excipientes comerciales, celulosa microcristalina (Avicel® PH200 FMC Corp., España) y monohidrato de lactosa (Tabletose® 80 Meggle Milchindustrie GMBH y Co. KG, Wasserburg, Alemania), se utilizaron al 58%, mezclado con 40% de polvo de tuna, y así se desarrollaron dos formulaciones: Cáscara de tuna rojo liso con celulosa microcristalina (RM) y cáscara de tuna rojo liso con lactosa (RL). Además, se añadió como lubricante 1% de talco en polvo y 1% de estearato de magnesio (Panreac-Montplet y Esteban, Barcelona, España), para mejorar la calidad de la tableta. Todos los componentes se mezclaron en un homogeneizador (V-mill tipo MV-6; Turu Grau S.A, Tarrasa, España) durante 15 min y compactado con una máquina de tableteado excéntrica (Bonnals B-40, Barcelona, España). Estas formulaciones se establecieron de acuerdo a pruebas preliminares donde los excipientes fueron mezclados, hasta que se alcanzó la compactación deseada.

5.8.1. Pruebas de calidad de las tabletas

Se llevaron a cabo de acuerdo a las metodologías reportadas por la farmacopea estadounidense (USP), de la siguiente manera:

a) *Uniformidad de masa, espesor y diámetro*: El análisis de uniformidad se llevó a cabo seleccionando al azar 10 unidades de cada formulación y midiendo su peso (g) , grosor (mm) y diámetro (mm) usando un medidor de tabletas (WHT-1 Pharma Test, Hainburg, Alemania) (150).

b) *Dureza*: Para determinar la estabilidad mecánica de las tabletas, mediante la resistencia que opone ante una fuerza de presión que actúa diametralmente y que es capaz de romperla, se utilizó un durómetro (PT-B 311 Pharma Test, Hainburg, Alemania), aplicando presión hasta que las tabletas se rompieron diametralmente. Los resultados se expresaron en Newtons (N) (151).

c) *Friabilidad*: Para medir la resistencia a la abrasión y analizar el peso perdido durante la manufactura, empaque, se determinó la friabilidad de acuerdo con el estándar de la Comisión de Farmacopea Estadounidense (152), utilizando un friabilizador (ERWEKA, TA-UZ 127, Heusenstamm, Alemania), 10 tabletas fueron pesadas y posteriormente se sometieron a 100 rotaciones; luego se sacaron las tabletas del tambor de aparato, se cepilló el polvo excedente y se volvieron a pesar las tabletas. La friabilidad se expresó como el porcentaje de masa perdida, calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Friabilidad} = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100 \quad (12)$$

d) *Desintegración*: Esta prueba se utiliza para analizar la desintegración de tabletas o cápsulas dentro del tiempo prescrito cuando se colocan en un medio líquido. Se probaron seis tabletas usando un desintegrador (ERWEKA, DT-60, Heusenstamm, Alemania) con un medio de ácido clorhídrico 0,1 N a 37°C a 50 rpm. La prueba terminó cuando no se observó ningún residuo en el fondo del vaso desintegrador y se midió el tiempo de desintegración (min.) (153).

5.8.2. Colorimetría

Para llevar a cabo la evaluación colorimétrica, se colocaron alícuotas del polvo en recipientes circulares con 5 g cada una; el análisis se realizó con un equipo de colorimetría Minolta CM-80 (500 SM-508D, Japón), obteniendo tres coordenadas de color L^* , a^* , b^* . El instrumento se calibró de acuerdo a las instrucciones del fabricante y los valores de color se expresaron como L^* (blancura o luminosidad/oscuridad), a^* (rojo-verde) y b^* (amarillo-azul).

5.8.3. Microscopía electrónica de barrido

Se tomaron micrografías para establecer comparaciones estructurales entre las formulaciones de tabletas. Las muestras se depositaron en una base de silicón y se colocaron en un dispositivo de recubrimiento por pulverización catódica (Denton Vacuum Desk V, EE. UU.), para obtener una capa fina de recubrimiento de, aplicando 20 mTorr y 20 mA durante 4 min. Las muestras se observaron bajo un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-6300, Peabody, MA), a 250 ampliaciones.

5.9. Prueba de toxicidad oral aguda *in vivo* (DL₅₀)

Con la finalidad de comprobar la inocuidad del polvo liofilizado de cáscara de tuna, se llevó a cabo el estudio de toxicidad oral aguda, de acuerdo a lo descrito por la OCDE (2008). Para dicho ensayo se emplearon 9 ratas Wistar macho, con peso corporal de 200 ± 20 g. Los animales de experimentación fueron divididos en 3 grupos (Grupo control, Grupo de 2000 mg/kg y 5000 mg/kg). Todos los ensayos fueron realizados de acuerdo a las Buenas Prácticas de Laboratorio y con autorización del comité de ética del instituto; los animales fueron procedentes del Bioterio del Instituto de Ciencias de la Salud y fueron mantenidos en un ambiente controlado, con una temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$; ciclos de 12 horas de luz - 12 horas de oscuridad; se administró una dieta estándar para ratas y agua purificada a libre demanda, los animales fueron agrupados en jaulas con máximo 3 ratas cada una (154).

El polvo liofilizado fue reconstituido en agua destilada, a una concentración del 10% (p/v), se administraron 20 mL/kg de peso corporal del polvo reconstituido por vía oral, empleando cánula intragástrica. Se realizó la administración de una dosis cada 24 h, durante 14 días; los animales permanecieron en observación con la finalidad de detectar la presencia de posibles signos de toxicidad y al cabo de las dos semanas de experimentación, se realizó el sacrificio, mediante cámara de dióxido de carbono, para la posterior necropsia y la observación de órganos y tejidos de interés (intestino, estómago e hígado).

5.9.1. Cambios en el peso de los animales de experimentación

Durante los 14 días de la prueba de toxicidad, se registró el peso de los animales, utilizando una balanza analítica portátil (2000 Cqt, Adam Equipment, USA), el peso se registró diariamente por las mañanas, en el mismo horario y de manera previa a la aplicación de la dosis.

5.10. Suplementación en pacientes con sobrepeso u obesidad

La intervención se llevó a cabo en una muestra por disponibilidad de sujetos voluntarios, que firmaron previamente el consentimiento informado; consistió en un estudio exploratorio, simple ciego, con una población de 40 individuos, que fueron divididos en 2 grupos (cada grupo con 20

integrantes). La suplementación se realizó durante 4 semanas, y se evaluaron los parámetros bioquímicos y antropométricos al inicio y al final del estudio;

- Grupo Control: Pacientes suplementados con placebo (celulosa microcristalina)
- Grupo Experimental: Pacientes suplementados con cápsulas de cáscara de tuna

Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

- Tener un IMC mayor a 25 kg/m².
- Ser mayores de edad.
- Saber leer y escribir.
- Firmar el consentimiento informado.
- No tomar medicamentos antidiabéticos o suplementos alimenticios.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

- Presentar enfermedades asociadas, como diabetes o hipertensión.
- Estar bajo tratamiento médico, con antidiabéticos o hipoglucemiantes orales.
- No firmar el consentimiento informado.

Los criterios de eliminación fueron los siguientes

- Individuos que sufrieron alguna enfermedad durante el transcurso del estudio.
- Sujetos que interrumpieron el tratamiento.

5.10.1. Mediciones antropométricas

Las medidas antropométricas (peso, talla y circunferencia de cintura) fueron evaluadas de acuerdo a las recomendaciones establecidas por la Secretaría de Salud (SSA) en México. El índice de masa corporal (IMC) se calculó de acuerdo a las especificaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS). El encargado de la evaluación antropométrica recibió una estandarización previa, con la finalidad de minimizar los errores de medición. La talla fue evaluada utilizando un estadímetro de pared fijo (SECA 206, California, USA) pidiendo a los participantes que retiraran su calzado, y ubicando el plano de Frankfurt. El peso corporal se evaluó mediante un analizador corporal TANITA (BC-545F Fitscan, Japón) y la circunferencia abdominal se midió en la zona más prominente del abdomen, ubicando la cicatriz umbilical, con una cinta métrica (SECA 201, California, USA)

5.10.2. Evaluación de parámetros bioquímicos.

Se tomaron muestras de sangre en ayuno, recolectadas por venopunción en tubos vacutainer con suero, fueron centrifugadas (CRM Globe, Tx. USA). a 6500 rpm durante 15 min y

refrigeradas hasta su evaluación. Las muestras sanguíneas fueron procesadas en un analizador Vitros 4600 (Ortho- Clinical Diagnostics, Rochester, NY) utilizando los siguientes métodos:

- Glucosa: Glucosa oxidasa, peróxido de hidrógeno (valor óptimo 100 -125 mg / dL)
- Colesterol: Oxidasa esterasa, peroxidasa Colesterol total (valor óptimo <200 mg / dL)
- Triglicéridos: Enzimático de punto final (valor óptimo <150 mg / dL)

5.10.3. Evaluación dietética.

Las características de la dieta de los participantes del estudio se evaluaron mediante un recordatorio de 24 horas, en el cual se aplicó un cuestionario solicitando que se describiera el consumo de alimentos del día anterior y posteriormente, los datos fueron procesados utilizando la plataforma web ASA24, del Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos (NCI).

5.11. Análisis Estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el software estadístico SPSS (versión 23 para Windows). Para la evaluación de los datos de la formulación de la tableta (fase 3), se llevó a cabo una prueba de t de student para muestras relacionadas, con un nivel de significancia $p \leq 0.05$.

Para llevar a cabo la evaluación de los parámetros antropométricos, bioquímicos y los datos obtenidos del recordatorio de 24 horas, se calculó en primer lugar la homocedasticidad de las muestras, llevando a cabo la comparación de varianzas de las medias, mediante la prueba de Levene; se observó que se asumieron varianzas iguales, por lo que se procedió a la utilización de pruebas paramétricas. Al ser un tamaño de muestra <50 sujetos, se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de los datos, y por último, para comparar los datos de las evaluaciones iniciales y finales, se realizó mediante una t de Student, con un valor $p \leq 0.05$ con intervalos de confianza del 95%.

5.12. Consideraciones éticas.

La fase experimental del modelo *in vivo*, fue sometida a evaluación por parte del Comité interno de la dirección del Bioterio del Instituto de Ciencias de la Salud, de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, obteniendo su aprobación en el mes de julio de 2019; Código de aceptación: CIEQUAL/009/2019 (Anexo 1).

El protocolo de investigación del ensayo clínico, se sometió de igual forma a escrutinio por parte del Comité de Ética en Investigación del Instituto de Ciencias de la Salud, siendo aprobado en junio del 2020; Código de aceptación CEI-2020-004 (Anexo 2).

6. Resultados y Discusión

6.1. Rendimiento

El proceso de liofilizado permite la eliminación del agua mediante la sublimación de cristales de hielo y da como resultado productos secos de mejor calidad en comparación con los productos secados con métodos tradicionales (155). La cáscara de tuna presentó un rendimiento del $10.8 \pm 1.3\%$; pierde una gran cantidad de agua debido a su composición celular, ya que posee una gran cantidad de componentes no celulósicos, y paredes celulares gruesas que actúan como espacios de almacenamiento, en los que se pueden alojar moléculas de agua (45); similar a lo que ocurre en otras cáscaras ricas en compuestos lignocelulósicos, como la cáscara de plátano, que tiene un rendimiento similar (10.4 %) (156). Existen diferentes tipos de cáscaras, por lo que el porcentaje de rendimiento varía; en el caso de cáscaras con estructuras más compactas, como las del limón, puede tener un rendimiento de hasta el 45.4% (157).

6.2. Análisis Químico Proximal

En la tabla 5 se muestran los resultados obtenidos del análisis químico proximal del polvo liofilizado de cáscara de tuna; en primer lugar se puede apreciar un bajo contenido de humedad (4.60 %); sin embargo esto representa solamente la “humedad residual”, que es la cantidad agua que permanece unida a la matriz del polvo, incluso después del proceso de secado por congelación (155).

Otros estudios reportan porcentajes de humedad similares en polvos de cáscara de tuna, que van del 2.51 hasta el 15.27% (158,159); aunque para su obtención se utilizan principalmente secados convencionales, en los que se aplican altas temperaturas que pueden afectar el contenido de compuestos bioactivos, así como a las propiedades organolépticas (155).

Cabe señalar que el contenido de humedad de la cáscara en fresco, puede variar del 80.17 al 90.33 % (48,68), ya que la cáscara involucra dos tejidos (el mesocarpio y el pericarpio), que poseen una considerable cantidad de agua (8).

La ceniza es el residuo inorgánico remanente posterior a la ignición u oxidación completa de la materia orgánica en un producto alimenticio; es la medida de la cantidad total de minerales presentes en un alimento (160). La cáscara de tuna tuvo un porcentaje de cenizas de 9.77 %, similar a lo hallado en otros estudios por Azza et al. (161): 10.63% y por Mohammed et al. (162): 11.02%; sin embargo se han encontrado también cantidades inferiores por Hernández-Carranza et al. (158): 1.23% y por El-Said et al. (48): 3.05%. Las diferencias en el contenido de cenizas se ven influenciados principalmente por los minerales que la planta obtuvo del suelo de donde proviene (163), por el método de incineración, y por la interferencia de algunas sustancias inorgánicas (160).

El contenido de proteína fue de 2.78% y se encontró dentro de los rangos previamente reportados por El-Said et al. (48) y Terán et al. (46): 0.90 – 4.14. %; estos porcentajes pueden considerarse bajos, pues se conoce que las frutas tienen un contenido de proteína muy bajo (164); sin embargo se ha propuesto el uso de la cáscara de tuna como una fuente promisoría de aminoácidos esenciales como arginina, lisina, prolina, serina, tiramina, entre otros, ya que están ligados a sus principales agentes colorantes (las betalaínas) (11) y podría utilizarse como ingrediente alimentario funcional, para incorporarse a los alimentos por su contenido de proteínas de alto valor biológico (165).

Los carbohidratos son el principal componente de la planta y los frutos de *Opuntia*, siendo las pectinas los polisacáridos más abundantes en la pared celular (166), ya que se localizan en las laminillas medias donde regulan la adhesión intercelular (37); además, se pueden encontrar altas concentraciones de azúcares neutros y mucílago (166). El contenido de carbohidratos fue de 38%, por encima de lo reportado por Todaro et al. (167) y menor a lo hallado por Parafati et al. (168), (29.6 y 73.4% respectivamente). El contenido de carbohidratos en la cáscara dependerá principalmente de la variedad del fruto, aunque también el tiempo de almacenamiento puede influir (167).

La cáscara de tuna ha despertado gran interés por su alto contenido en fibra dietética, que corresponde a la fracción de la pared celular de los vegetales y es resistente a la hidrólisis por parte de las enzimas digestivas aunque es fermentada por las bacterias intestinales; es la suma de la lignina y polisacáridos no almidonosos, como celulosa, hemicelulosa, pectinas, gomas y mucílagos (169). El polvo liofilizado de cáscara de tuna tuvo un 43% de fibra dietética total, similar al referido por El-Kossori et al. (49) (40%); pero superior a lo reportado por Graça-Miguel et al. (170) y por Parafati et al. (168) (20 y 33% respectivamente).

Tomando en cuenta que la ingesta diaria recomendada de fibra para un adulto es de al menos 25 g de fibra por día, consumiendo 58 gramos de cáscara de tuna por día, sería posible cumplir con la ingesta de fibra (171). Al tener un alto contenido de fibra, se puede utilizar como ingrediente funcional de bajo costo para productos alimenticios, como panes o galletas (167). Además que su consumo provee beneficios tales como mejorar el tránsito intestinal, acelera el vaciamiento gástrico y disminuye el riesgo de desarrollar cáncer de colon (171), además de mejorar parámetros metabólicos, como la glucosa sérica y colesterol plasmático (131).

Tabla 5. Análisis químico proximal de la cáscara de tuna púrpura

Humedad	4.60 ± 0.07 %
Cenizas	9.77 ± 0.2 %
Proteína	2.78 ± 0.05 %
Lípidos	1.75 ± 0.05 %
Hidratos de carbono	38.10 ± 0.5 %
Fibra dietética	43.00 ± 0.05 %
Potasio	2.1 %
Magnesio	0.5 %
Calcio	0.4 %
Sodio	0.3 %

Valores ± desviación estándar (n=3).

6.3. Propiedades tecnológicas y funcionales de la fibra.

En la tabla 6 se muestran las propiedades tecnológicas y funcionales de la cáscara de tuna liofilizada; se les denomina así a las características especiales que posee la fibra y que la vinculan con efectos deseables para la mejora de productos alimentarios y también con efectos fisiológicos benéficos en el organismo (169), ya que la fibra dietética es capaz de atrapar algunas moléculas y mantenerlas unidas a su estructura (172).

Tabla 6. Propiedades tecnológicas y funcionales de la fibra de la cáscara de tuna

Capacidad de retención de agua (g/g)	12.36 ± 0.3
Capacidad de hinchamiento (mL/g)	0.3 ± 0.1
Capacidad de retención de lípidos (g/g)	6.6 ± 0.8
Índice de retardación de diálisis de glucosa (%)	18.61 ± 0.6

Valores ± desviación estándar (n=3).

Capacidad de retención de agua: La cáscara de tuna liofilizada presentó un alta retención de agua, que fue mayor a lo reportado en productos comerciales de fibra, en donde las retenciones fueron de 5 g/g en un suplemento de cáscara de limón y 11.1 g/g, en un producto

elaborado con cáscara de piña (41,173). Se ha sugerido que la estructura de la fibra es el factor que tiene mayor influencia en la retención, más allá del tipo de fibra (174); el tamaño de partícula también afecta esta propiedad, ya que la disminución del tamaño puede reducir la capacidad de atrapar moléculas de agua (169). Por su parte, un aumento de temperatura conlleva al incremento en la retención de agua, debido al alargamiento del polímero en presencia de temperaturas más altas (175). La variedad del fruto analizado también influye, ya que las cáscaras de tonalidades rojas presentan una mejor capacidad de hidratación que las de tonalidades verdes o amarillas (68).

A nivel tecnológico, la retención de agua mejora la viscosidad de los productos facilitando su procesamiento y confiere una sensación de frescura y suavidad en productos horneados (169); permite evitar la sinéresis y modifica la textura de algunos alimentos procesados (175).

Esta característica a nivel fisiológico influye en la capacidad de formar soluciones viscosas, que son fermentadas por las bacterias intestinales, mejorando su efectividad en aumentar la masa fecal (169). Además, cuando las moléculas de agua se unen a la estructura de la fibra (por diferencia de cargas eléctricas), las heces presentan mejor consistencia y peso, propiciando un tránsito intestinal eficiente, favoreciendo la evacuación, lo que permite aliviar y prevenir enfermedades como el estreñimiento, constipación, colitis, formación de divertículos, hemorroides, e inclusive cáncer de colon (171,174).

Capacidad de hinchamiento: A pesar de que se observó buena capacidad de retención de agua y lípidos, la fibra de cáscara de tuna no presentó una capacidad de hinchamiento significativa, debido principalmente al tamaño de partícula, ya que mientras menor sea el tamaño, se puede presentar apelmazamiento y formación de grumos, generando problemas en la hidratación (176), además el tipo de fibra que posee influye en esta propiedad (la mayor parte de la fibra de la cáscara es insoluble) (168), puesto que en las muestras con altas cantidades de fibra soluble, la capacidad de hinchamiento es mayor (177).

A nivel tecnológico, esta característica está relacionada con un aumento en el volumen y modificación en la textura de los productos alimentarios (175); a nivel fisiológico provoca un aumento en el volumen de la materia fecal, que ayuda a facilitar su tránsito por el colon (174). De acuerdo a los resultados obtenidos, 100 g de cáscara de tuna aportarían aproximadamente 9.3 g de fibra insoluble, lo que permitiría cubrir el 44% de la ingesta de este tipo de fibra, tomando en cuenta la proporción recomendada 3:1 para fibra insoluble y soluble respectivamente (178).

Capacidad de retención de lípidos: Los componentes de la fibra dietética tienen la capacidad de unir partículas de aceite a su estructura (174). En los productos de cáscara de limón y piña mencionados, se reportó la retención de lípidos de 6.6 y 5.8 g/g, (41,173) y en comparación, la cáscara de tuna puede retener casi el doble (11.20 ± 0.87 g/g); su alta

capacidad de asociación con moléculas de grasa puede deberse a la porosidad de la estructura de su fibra, ya que es responsable de la unión de aceite en los poros (179), además la superficie de contacto también influye, puesto que las partículas con gran superficie presentan mayor capacidad para absorber y atrapar componentes de naturaleza aceitosa; la grasa es atrapada en la superficie de la fibra principalmente por medios mecánicos. Se ha observado también que las fibras insolubles presentan mayores valores de absorción de grasa que las fibras solubles (169); otros factores que pueden modificar la retención de grasas son: la densidad de carga, el grosor de la partícula y su naturaleza hidrófoba; la propiedad tecnológica de retención de grasa es utilizada en la industria alimentaria ya que brinda mayor jugosidad y mejora la textura de los productos cárnicos (180), además puede brindar beneficios a nivel fisiológico, pues se asocia con la mejora del perfil lipídico (181), ya que al absorber partículas de grasa, no son absorbidas por el intestino y son eliminadas a través de las heces, permitiendo controlar los niveles de colesterol en sangre, que ayudan a disminuir el riesgo de desarrollar enfermedades como aterosclerosis, infarto al miocardio, entre otros (131).

Índice de retardación de diálisis de glucosa: El cromatograma del dializado se muestra en la figura 11, donde se aprecia el pico obtenido a 2.4 min, con una altura promedio de 152,453 unidades de absorbancia (AU) y un área de 878,938 unidades.

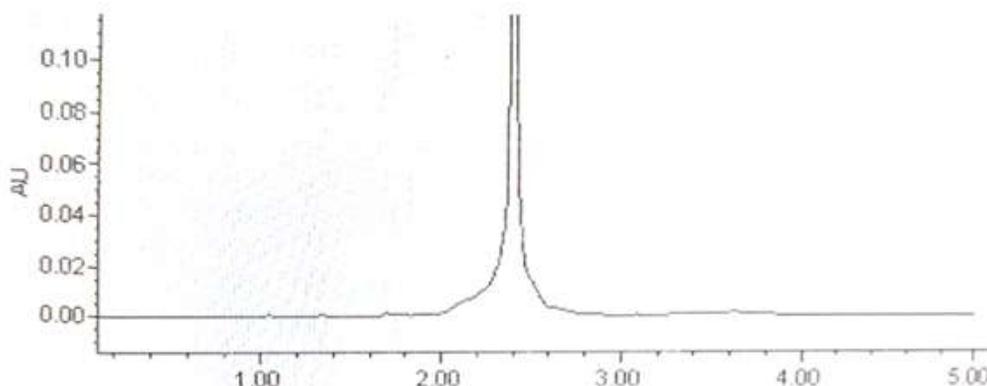


Figura 11. Cromatograma del dializado de glucosa

El índice de retardación de diálisis fue de 18.61 % de la glucosa difundida, que fue mayor a lo reportado en fibra de residuos de naranja (0.73 - 2.63 %) (182) y menor a la retención de la fibra de residuos de tamarindo (45 - 55%) (183); esto se debe principalmente a la alta proporción de fibra insoluble propia del analito, dado que las fibras solubles tienen un mejor desempeño al retener glucosa (184). Las fibras con buena capacidad de retención de glucosa podrían incorporarse en los alimentos industrializados, como ingredientes que permitan reducir las calorías y la carga glucémica (183).

En el aspecto fisiológico, la fibra aumenta la viscosidad de la materia fecal en el intestino delgado y obstaculiza la difusión de la glucosa, disminuyendo la concentración de glucosa disponible en el intestino (184). Las fibras dietéticas ricas en celulosa (como la fibra de cáscara de tuna) crean una barrera que puede inhibir la difusión y retener algunas moléculas de glucosa, siendo de gran importancia, ya que al atrapar estas moléculas, es posible disminuir niveles de glucosa plasmática, especialmente en personas con patologías metabólicas, como la resistencia a la insulina, síndrome metabólico o diabetes (185).

6.4. Toxicidad aguda *in vivo* (DL50)

Las pruebas de toxicidad aguda fueron llevadas a cabo con la finalidad de medir los efectos adversos que pueden ocurrir de manera posterior a la administración de la sustancia, ya que proporcionan información sobre los peligros para la salud, la toxicidad y letalidad de órganos diana que pueden ser atribuibles a los seres humanos (186).

A lo largo de los 14 días de administración intragástrica no se reportaron signos de toxicidad, presentaron actividad y movimiento normal durante los periodos de observación, sin alteraciones motoras o conductuales. Posterior al sacrificio de los animales de experimentación, se procedió al análisis macroscópico de órganos de interés (hígado, riñones, estómago e intestinos), observando que en el grupo de 2000 mg/kg, los órganos no presentaron alteraciones en comparación con el control (Figura 12); sin embargo, se observaron efectos no deseables en el grupo con la dosis más alta, tales como: una ligera irritación en la mucosa estomacal (evidenciada por una coloración rojiza en el epitelio) y una importante distensión por acumulación de gas, en el espacio intrainestinal, a pesar de presentar escaso residuo de materia fecal.

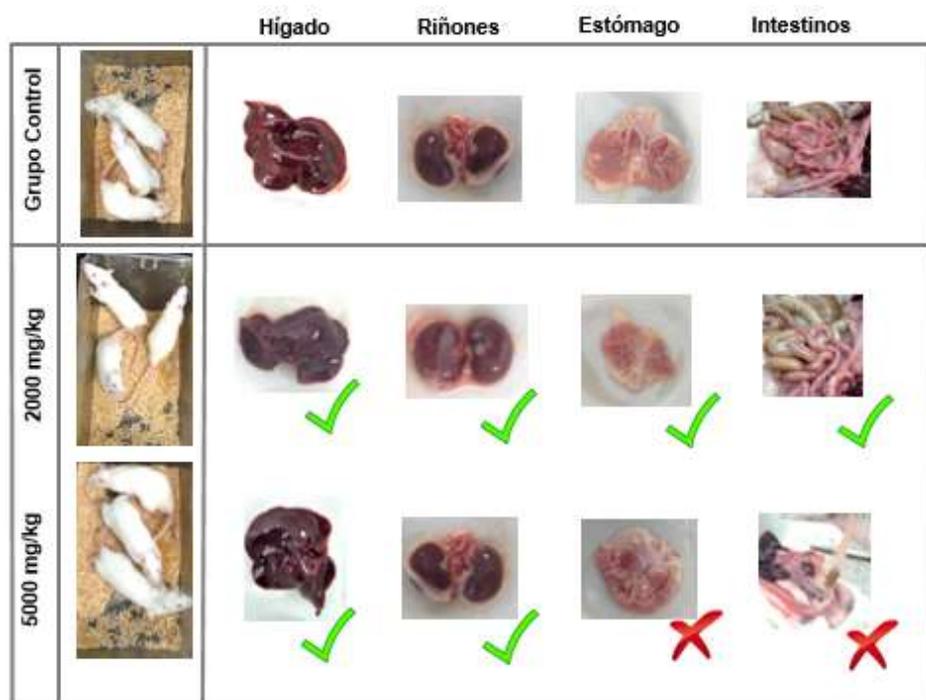


Figura 12. Análisis macroscópico de los órganos de las ratas.

El daño en el tejido de la mucosa gástrica puede deberse a la alta dosis administrada en ese grupo, ya que algunos antioxidantes como los polifenoles pueden tener un efecto prooxidante, al administrarse en grandes cantidades (187). Se ha reportado que algunos de los flavonoides y ácidos fenólicos más abundantes tienen un efecto oxidativo, como la quercetina, miricetina, kaempferol, ácido caféico, clorogénico y ferúlico, que en altas dosis o en presencia de iones metálicos pueden generar daños en proteínas del ADN, lípidos, células y tejidos, produciendo una disfunción mitocondrial, que lleva a la apoptosis (188).

Por su parte, la acumulación de gas en exceso se debe a que un aumento drástico en el consumo de fibra dietética puede ocasionar efectos gastrointestinales indeseables, como flatulencia, malestar abdominal y diarrea (189). La producción de gases es ocasionada por la fermentación de carbohidratos no digeribles, principalmente celulosa, hemicelulosa y mucílagos por parte de las bacterias intestinales, que darán pie a la producción intestinal de gases como como hidrógeno, dióxido de carbono y gas metano, que posteriormente serían expulsados como flatos (169).

La dosis en la que se observaron efectos adversos (5000 mg/kg) se llevó a cabo de manera excepcional; ya que de acuerdo a lo establecido por la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE), la dosis máxima sugerida en estos estudios es de 2000 mg/kg, cantidad en la cual no aparecieron reacciones, por lo que se puede aseverar que el consumo de cáscara de tuna variedad rojo liso, no genera toxicidad en dosis de 2000

mg/kg, al no haberse presentado signos de toxicidad en piel, pelaje, ojos, mucosas, membranas, así como también no se apreció dificultad en la motricidad o cambios en la conducta de los animales de experimentación.

No existe evidencia de efectos tóxicos de la cáscara de tuna, sin embargo, se ha evaluado la toxicidad aguda del extracto acuoso en conejos, sin haberse presentado toxicidad biológica alguna (190); por otro lado, se reportó una ligera actividad hepatotóxica en ratas tratadas con una mezcla herbolaria que contenía una pequeña proporción de tuna, sin embargo, no representaría un riesgo para la salud en personas sanas; sin embargo, puede agravar el daño en sujetos con enfermedades hepáticas preexistentes (191). En cuanto a otros sub productos de la tuna, existe una toxicidad aguda muy baja del aceite de semilla de tuna aplicando una dosis intraperitoneal máxima de 43 mL / kg (192). Se han realizado estudios sobre la presencia de agentes potencialmente tóxicos en la tuna, como residuos de plaguicidas (malatión, clorpirifos, permetrina, etc.) y metales pesados (cobre, cromo, arsénico, etc.), aunque son cantidades trazas que se encuentran por debajo de los límites máximos de residuos tóxicos establecidos por el Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLCAN), por lo que no generaría riesgos toxicológicos para la salud (193,194).

6.5. Variación de peso de los animales de experimentación

Otro dato que se recabó durante la prueba de toxicidad aguda fue la ganancia de peso de las ratas, que como se expresa en la figura 13, el grupo control tuvo una ganancia de peso final del 48%, a diferencia de los grupos experimentales (2000 mg/kg y 5000 mg/kg) cuya ganancia de peso fue menor (26.0 y 13.7 %, respectivamente), lo que se atribuye en primer lugar al contenido de fibra de la muestra, que actúa reduciendo la ingesta de energía, reduce la cantidad de energía de los alimentos que se absorbe, aumenta el gasto energético posprandial (por el aumento de la motilidad gastrointestinal), además estimula la movilización de las reservas de grasa corporal (195) y en segundo lugar puede estar vinculado con una estimulación de la diuresis, ocasionada por algunos compuestos fenólicos (196).

Se ha descrito previamente en ensayos preclínicos y clínicos que el consumo del fruto no tiene una influencia significativa en el peso, sin embargo, se le ha relacionado con una disminución en el porcentaje de grasa corporal y el IMC (197), aunque hasta el momento no se ha estudiado dicho efecto con los subproductos.

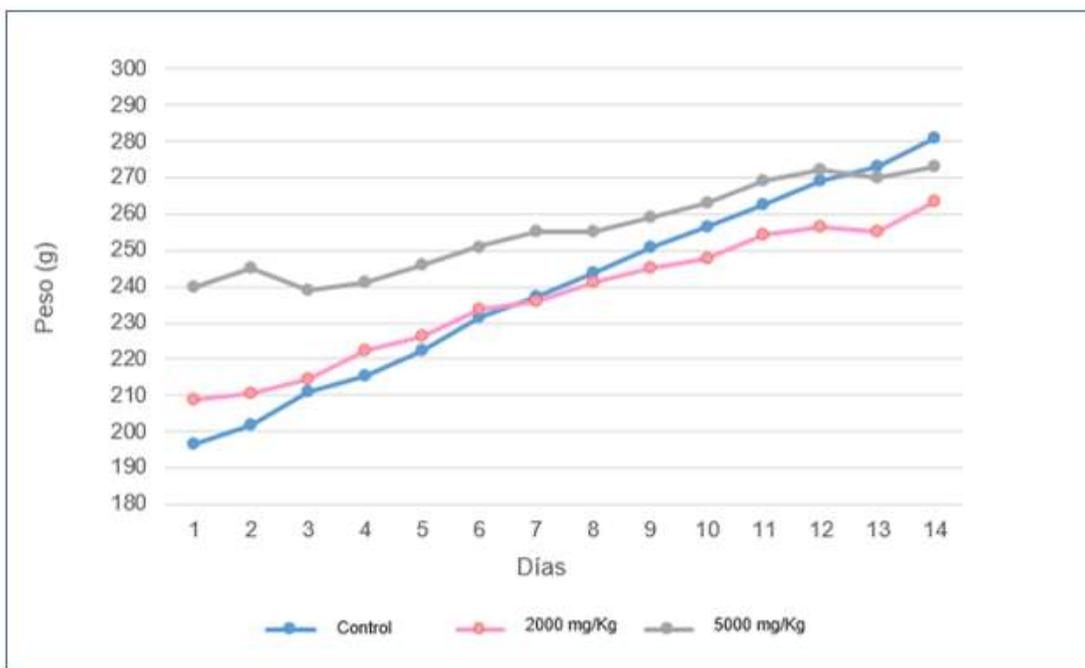


Figura 13: Peso de los animales de experimentación durante la prueba de toxicidad aguda (DL50).

6.6. Bioaccesibilidad intestinal *in vitro*

La bioaccesibilidad puede definirse como la liberación de compuestos a partir de matrices de alimentos sólidos (79), esto va a depender de su estabilidad digestiva, su liberación de la matriz alimentaria y de la eficiencia de su paso transmembranal; la biodisponibilidad difiere mucho de un compuesto a otro, y en algunos casos eso depende de la fuente dietética de donde provenga (80). Por su parte, la fermentación colónica *in vitro* es una simulación de las condiciones de digestión en el intestino grueso, que permite identificar los compuestos procedentes del metabolismo microbiano (198).

Los modelos de fermentación *in vitro* ofrecen grandes ventajas, ya que imitan la composición microbiana y la actividad en el tracto gastrointestinal, son relativamente simples y pueden ser controlados de manera efectiva, evitando la interferencia de otros componentes (85). En el presente trabajo se llevó a cabo la evaluación de los compuestos antioxidantes a lo largo del proceso de digestión *in vitro* en el intestino delgado y en la fermentación colónica y se evaluaron en la fermentación colónica algunos parámetros de actividad microbiana, como cambios en el pH, materia seca desaparecida, residuo seco no fermentable y el recuento de bacterias ácido lácticas.

6.7. Compuestos antioxidantes de la cáscara

En la tabla 7 se presentan los resultados de las propiedades antioxidantes de la cáscara de tuna variedad rojo liso liofilizada, tanto en la muestra inicial, la fracción bioaccesible, la fermentación colónica (muestra fermentada y residuo no fermentable).

Tabla 7. Bioaccesibilidad del contenido de antioxidantes y su actividad antioxidante

	Muestra Original	Fracción Bioaccesible	Fermentación Colónica	
			Muestra fermentada	Residuo no fermentado
Betaninas (mg EB/100 g)	15.88 ± 0.55	N/D	N/D	N/D
Betaxantinas (mg EB/100 g)	7.50 ± 0.49	N/D	N/D	N/D
CFT (mg EAG/100 g)	980.02 ± 34	746.09 ± 24.2	316.22 ± 11.40	183.88 ± 10.2
ABTS (µmol ET/100 g)	7607.78 ± 304	1070 ± 71.6	860.10 ± 40.22	168.14 ± 10.37
DPPH (%)	25.01 ± 0.03	6.01 ± 0.52	3.90 ± 0.20	N/D
FRAP (µmol Fe ²⁺ /100 g)	58.83 ± 1.54	N/D	N/D	N/D

Valores ± desviación estándar (n=3).

Las betalaínas son colorantes naturales solubles en agua, que generan una variedad de colores rojos o amarillos (61); representan el metabolito secundario más importante de las tunas de variedades rojas (54). En el presente estudio la cantidad hallada de betaninas y betaxantinas en la muestra original fue de 15.88 y 7.50 mg EB/100g respectivamente (Tabla 7), lo que fue mayor a lo reportado por Tesoriere et al. (199): 4.70 y 14.1 mgEB / 100 g y por Gómez-Maqueo et al. (200): 9.54 y 1.24 mgEB / 100g.

Después de la bioaccesibilidad *in vitro*, no se encontraron betalaínas, contrario a lo reportado por Gómez-Maqueo et al. (200), en donde se encontró una baja bioaccesibilidad de betalaínas en las cáscaras; dicho fenómeno puede deberse a la unión de estos compuestos a proteínas formadas durante la digestión; teniendo en cuenta además la sensibilidad del compuesto a la temperatura y al pH (199).

Los compuestos fenólicos comprenden flavonoides y ácidos fenólicos, que son los antioxidantes más abundantes en la dieta (201); y las variedades de tuna roja contienen mayor cantidad de estos fitoquímicos, que las variedades verdes o amarillas (35). La muestra original de cáscara de tuna presentó valores altos (980 mg EAG / 100g), en comparación con otros residuos ampliamente estudiados, como la cáscara de uva (329 mg EAG/100 g) (202) y de manzana (640 mg EAG/100 g) (203). El alto contenido de polifenoles puede brindar beneficios además de sus

propiedades antioxidantes, como la capacidad de quelar metales pesados como el cadmio, cobalto, cromo, entre otros (204).

La fracción bioaccesible fue de 746 mg EAG/100g (Tabla 7), lo que corresponde al 76% del total de compuestos fenólicos (muestra original); mayor a lo reportado en el fruto completo (55 - 64%) por (205) y coincide con los rangos de bioaccesibilidad de polifenoles en pulpa y semillas de tuna (69-83%) (14). La incompleta bioaccesibilidad se puede deber a que en el intestino delgado sólo pueden ser absorbidos aquellos polifenoles que se encuentran en forma de agliconas y glucósidos (80), por lo que se puede decir que gran parte de los compuestos fenólicos de la muestra inicial son capaces de atravesar la membrana intestinal, siendo absorbidos para generar en el organismo sus efectos fisiológicos (14).

De manera posterior a la bioaccesibilidad, quedan sin absorberse los polifenoles que se encuentran en forma de ésteres, glucósidos o polímeros (80); por lo que podrían llegar al colon y ejercer una actividad protectora (206).

En cuanto a la fermentación colónica, el residuo fermentado (que corresponde a los polifenoles que se absorben en el colon), se encontraron 316 mg EAG/100g (34% de absorción en relación con la muestra original) (Tabla 7). En el residuo no fermentable, se encontró un 18% de los polifenoles de la muestra original, que corresponde a 183 mg EAG/100g (Tabla 7). Esta fracción representa aquellos compuestos que no son aprovechados por el organismo y son eliminados a través de las heces (85).

Se puede apreciar que la suma de los compuestos fenólicos de la fracción bioaccesible del residuo fermentado y la muestra no fermentable, no corresponde al total de la muestra original; lo cual puede deberse a que en el intestino grueso, la microbiota colónica participa en la biotransformación de estructuras polifenólicas en metabolitos fenólicos de bajo peso molecular, generando reacciones de hidrólisis, escisión de anillos y reacciones de óxido-reducción (207). La presencia de estos compuestos en el intestino grueso es de suma importancia, ya que tienen la capacidad de unirse a los ácidos biliares, alterando la formación de micelas, generando una disminución en niveles de colesterol plasmático (208); además permiten reducir la oxidación de las moléculas de glucosa y podrían ejercer protección contra los radicales libres (60).

En cuanto a la actividad antioxidante por el método de ABTS, la muestra original presentó valores de 7607 $\mu\text{mol ET} / 100 \text{ g}$; por encima de lo que se ha encontrado en cáscaras de plátano (3440 $\mu\text{mol ET} / 100 \text{ g}$) (209). En cada paso del proceso de digestión se observó actividad por este método; en la fracción bioaccesible un 14% (1070 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$), en la muestra fermentada 11% (860 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$) y en el residuo no fermentable un 2% del total (168 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$) (Tabla 7); dicha actividad se relaciona con la presencia de los compuestos fenólicos antes descrita; puesto el método de ABTS permite una interacción con compuestos de naturaleza lipofílica e hidrofílica, a diferencia de la metodología por el radical DPPH (210).

La muestra original de cáscara de tuna presentó una actividad antioxidante por DPPH del 25%; mayor al 14% reportado en cáscara de tuna por Cardador-Martínez et al. (211). Las diferencias

en la actividad antioxidante por este método, se deben principalmente al contenido de esteroides de cada cáscara (68), que al ser agentes antioxidantes pueden elevar elevan su actividad (210). En la fracción bioaccesible se observó una actividad del 6%; por su parte, el residuo fermentado presentó una actividad del 3% y en el residuo no fermentable no se presentó actividad; lo que se debe a la oxidación y desnaturalización que sufren los esteroides en el intestino grueso (199).

Mediante el método de FRAP, se analiza el potencial de ionización que impulsa la transferencia de átomos (212); en la muestra original se encontraron 58 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/100\text{ g}$; menor a lo que reportado en cáscara de tuna por Valero-Galvan et al. (213): hasta 737 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/100\text{ g}$. Durante el proceso de digestión no se presentó actividad por esta metodología; esto se debe a los cambios estructurales que sufren los antioxidantes, (principalmente fenoles y flavonoides); y se relaciona además con la modificación en la solubilidad de los antioxidantes, debido a la interacción con iones durante la digestión; así como al cambio de pH, puesto que en un medio ácido disminuye el mecanismo de reacción y el potencial de ionización que impulsa la transferencia del átomo de hidrógeno y aumenta el potencial redox (212).

6.8. Cambio de pH durante la fermentación colónica *in vitro*

En la tabla 8 se muestran los valores de pH en la hora 0 y 24 del proceso de fermentación colónica; donde es posible apreciar que todas las muestras presentaron un pH inicial similar, pues no se observó diferencia significativa ($p>0.05$) a la hora cero. Transcurridas las 24 horas se presentó una disminución significativa ($p<0.05$) en todas las muestras, siendo el blanco positivo (Lactulosa), el que alcanzó el menor valor (6.57), ya que este es un sustrato altamente fermentable, lo que genera un menor pH (85); en segundo lugar se encontró la cáscara de tuna (6.91) y por último el blanco negativo (7.09), que tuvo los valores más altos, al no contar con un sustrato de fibra que pueda ser fermentado eficientemente por las bacterias del inóculo; sin embargo el ligero cambio de pH en esta última muestra, puede deberse a la existencia de un sustrato energético presente en el inóculo, que ocasionará fermentación por un periodo breve (75). El mismo fenómeno fue reportado por Díaz-Vela et al. (214), en un proceso de fermentación colónica de cáscara de tuna, donde se apreció una disminución del pH posterior al proceso de fermentación. En otro estudio llevado a cabo por Tejeda-Ortigoza et al. (215), donde se observó un descenso de 0.8 en el pH de la fermentación de cáscara de tuna (de 7.82 a 7.02), mayor al de cáscara de naranja (6.8) y similar al de cáscaras de mango (7.2).

Los cambios observados ocurren principalmente por la producción continua de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como son ácido acético, propiónico y butírico (216), que además se relacionan con la liberación de algunos ácidos fenólicos vinculados a los componentes de la pared celular (144), que va a depender también del tipo de bacterias utilizadas en los modelos de fermentación (214). Los ácidos grasos de cadena corta son producidos en el colon, por la fermentación de la fibra dietética por parte de la microbiota intestinal (217), éstos son aprovechados

por el epitelio intestinal como sustrato energético para mantener su integridad y función; contribuyen al mantenimiento de las funciones del intestino grueso y a prevenir patologías propias del músculo del colon y su irrigación, fortaleciendo los colonocitos; fortalecen el sistema inmune, disminuyen la proliferación de factor de necrosis tumoral alfa y se ha comprobado que puede incrementar la producción de anticuerpos y células *natural killer* en pacientes con cáncer (218).

A nivel fisiológico, la concentración de ácidos grasos de cadena corta puede modificar el pH intestinal y este a su vez se puede relacionar con cambios en el proceso de digestión humana; si el pH disminuye, se relaciona con episodios de diarrea y si aumenta, se relaciona con problemas de estreñimiento (85).

Tabla 8. Medición de pH durante la fermentación colónica in vitro.

	0 h	24 h
Blanco positivo	8.66 ± 0.05 ^{a*}	6.57 ± 0.14 ^c
Blanco negativo	8.63 ± 0.06 ^{a*}	7.09 ± 0.01 ^a
Cáscara de tuna	8.54 ± 0.30 ^{a*}	6.91 ± 0.04 ^b

^{a-c} Indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras de la misma columna. ^{*}Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las 0 y 24 horas entre las filas. Blanco positivo: lactulosa, Blanco negativo: Muestra sin sustrato

6.9. Residuo no fermentado y materia seca desaparecida

El residuo no fermentado (RNF) y la materia seca desaparecida (MSD), van a depender de los sustratos potenciales de fermentación, que comprenden todos aquellos compuestos que llegan al colon; y son conformados principalmente por almidones, fibra, proteínas, lípidos, polifenoles, oligosacáridos, entre otros (219).

Particularmente, el RNF representa la cantidad final de materia que no fue utilizada como sustrato energético por parte de las bacterias colónicas en el intestino grueso (220). El aprovechamiento del sustrato se resume en la tabla 9, donde es posible apreciar la fermentabilidad de la muestra, expresada como porcentaje de sustrato desaparecido durante el proceso (Se toma como referencia el patrón de lactulosa, como valor 100) (146).

Tabla 9. Residuo no fermentable (RNF) y porcentaje de materia seca desaparecida (MSD) después de la fermentación colónica in vitro

	Lactulosa	Cáscara de Tuna
RNF (%)	0 ± 0.56	25.35 ± 0.63 *
MSD (%)	100 ± 0.56 *	74.65 ± 0.63

Promedios ± desviación estándar. *Indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras

Al analizar la cáscara de tuna, obtuvo un RNF de 25% (un grado de fermentabilidad característico de las fibras ricas en celulosa y lignina) (221); presentando mejores valores bajos, que en otros subproductos, como cáscaras y semillas de uva (77 % y 78 %) (220), y cáscaras de pistache (53 %) (222).

Hubo una total fermentación del blanco positivo (lactulosa) en MSD, obteniendo un 100% al ser un disacárido de referencia que se aprovecha con mayor facilidad (146). Casi el 75% de la muestra de cáscara de tuna fue utilizada para el proceso metabólico de las bacterias intestinales durante el proceso de fermentación colónica; una fermentación alta en comparación con muestras de cáscara y semilla de uva (35% para ambos residuos) (220), cáscara de yuca (70%) (223), fibra de pulpa de betabel (38%) y fibra de sorgo (10 %) (224). Cabe señalar que la interacción con otros compuestos no digeribles, pueden modificar la fermentabilidad intestinal y el metabolismo de las muestras (225); aunque los resultados pueden variar por el tipo de modelo e inóculo utilizado en cada estudio (146).

Los componentes de los alimentos no digeribles son esenciales para alimentar las bacterias intestinales y mantener la salud en el tracto digestivo, para producir de manera eficiente ácidos grasos de cadena corta (85).

6.10 Recuento de bacterias ácido lácticas de la fermentación colónica

En la tabla 10 se muestra el recuento de bacterias ácido lácticas, entre la hora 0 y 24, se observó un aumento significativo al concluir el proceso de fermentación, en el blanco positivo (lactulosa) y la cáscara de tuna como sustrato energético. El crecimiento fue menor a lo reportado en otros residuos de frutos, como toronja, piña e incluso cáscaras de tuna por (226). Las bacterias ácido lácticas generalmente se acumulan rápidamente durante la fermentación y en presencia de fibra dietética; además se ha demostrado que al aumentar las colonias de bacterias ácido lácticas, existe una disminución en las bacterias productoras de tóxicos agentes de putrefacción (227).

El incremento de las bacterias ácido lácticas en el colon es de gran importancia, pues indica que tiene actividad probiótica (85), lo que acarrea beneficios a la salud, ayudando a la homeostasis en el intestino grueso y sus principales actividades metabólicas, que están asociadas con los procesos de la digestión de carbohidratos y proteínas (220), además de ayudar a la producción de ácidos grasos de cadena corta, los cuales al ser producidos, se absorben rápidamente en el área cecal y el colon, desarrollando diferentes funciones, como participar en procesos de gluconeogénesis, protegen al epitelio intestinal, disminuyen la solubilidad de los ácidos biliares e incrementa la absorción de minerales (228).

Tabla 10. Recuento de bacterias ácido lácticas durante la fermentación colónica *in vitro* (UFC / mL)

	0 h	24 h
Blanco positivo (lactulosa)	8.5 ± 0.7	27.3 ± 4.1 *
Blanco negativo	1.0 ± 0.0	4.0 ± 1.4
Cáscara de tuna	3.3 ± 1.1	28.5 ± 2.1 *

NP: La muestra no presentó actividad microbiana

*Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras de la misma columna.

6.11 Cuantificación de compuestos fenólicos y flavonoides por HPLC

Los ácidos fenólicos son metabolitos correspondientes a los polifenoles, que están unidos a componentes estructurales de las plantas, como celulosa, proteínas, lignina y a compuestos con estructuras más grandes, como los flavonoides (229). En la tabla 11 se presentan los ácidos fenólicos de la cáscara de tuna; tanto en su estado original, como a través del proceso de bioaccesibilidad y fermentación colónica.

Tabla 11. Ácidos fenólicos y flavonoides durante el proceso de bioaccesibilidad y fermentación colónica *in vitro* (mg/100g).

	Muestra original	Fracción bioaccesible	Fracción colónica biodisponible	Fracción colónica no biodisponible
<i>Ácidos fenólicos</i>				
Caféico	3.40 ± 0.42	0.32 ± 0.02	ND	0.31 ± 0.01
Cumárico	3.91 ± 0.24	0.38 ± 0.00	0.37 ± 0.00	3.70 ± 0.01
Ferúlico	1.82 ± 0.50	1.56 ± 0.00	ND	1.46 ± 0.01
Protocatecúico	2.84 ± 0.00	2.97 ± 0.00	ND	0.28 ± 0.00
<i>Flavonoides</i>				
Miricetina	5.11 ± 0.07	6.16 ± 0.00	0.48 ± 0.00	4.89 ± 0.00
Quercetina	4.25 ± 0.37	2.93 ± 0.00	1.99 ± 0.69	ND
Apigenina	1.38 ± 0.00	ND	ND	0.90 ± 0.00
Kaempferol	3.37 ± 0.00	3.39 ± 0.00	0.33 ± 0.00	ND

Promedios ± desviación estándar

ND: No detectado

En la muestra original, los ácidos fenólicos mayoritarios fueron el ácido caféico, ácido cumárico, seguido por el protocatecúico; aunque estos pueden variar, a lo largo de la del proceso de maduración del fruto, a las condiciones de crecimiento y la temperatura del medio (229), las diferentes combinaciones de ácidos fenólicos son las encargadas de algunas de las características organolépticas de los frutos, como el sabor y olor característico (68).

En cuanto al comportamiento de los ácidos fenólicos en la fracción bioaccesible, fueron los ácidos caféico y ferúlico los que presentaron bioaccesibilidad en el intestino delgado, sin embargo, en la fracción colónica no fueron absorbidos, por lo cual una parte se eliminó con las heces; comportamiento similar a lo reportado en una barra elaborada con cáscaras de mango por (230); lo antes mencionado se debe en primer lugar, a que el ácido caféico se puede transformar en ácido clorogénico, y de ese modo sus concentraciones disminuyen drásticamente (231); en segundo lugar, al provenir de residuos ricos en fibra insoluble, sólo algunos de los polifenoles asociados pueden ser liberados en el intestino delgado, resistir el proceso digestivo y llegar al colon (232) como en el caso del ácido ferúlico. La importancia de estos compuestos, radica en que el ácido caféico ayuda a disminuir el daño isquémico en el intestino (ocasionado por la reducción de flujo sanguíneo por obstrucción de vasos sanguíneos), que se genera por estrés oxidativo (231) y el ferúlico tiene un alto potencial quimiopreventivo, pues ha sido utilizado incluso en estudios celulares de cáncer de colon, debido a su efecto de inhibición de citoquinas pro inflamatorias (233)

El ácido cumárico fue el único que presentó actividad en la fracción colónica biodisponible, similar a lo que se encontró en un estudio realizado en puré de zarzamora, donde también se detectó ácido cumárico al final del proceso de digestión, debido a que este compuesto proviene de la degradación de *cyanidin 3-O-glucosido* (234).

De manera contraria a lo que se encontró en el presente estudio, en el análisis llevado a cabo por Ruihong Dong et al. (235), no detectaron la presencia de ácido cumárico después de la fase oral y gástrica en fibra de zanahoria, debido a que el ácido cumárico es capaz de ingresar a las vías metabólicas de los ácidos fenílicos y benzoicos para producir compuestos de menor tamaño. Si el ácido cumárico es absorbido, puede generar beneficios a la salud, disminuyendo el daño ocasionado por la peroxidación del colesterol LDL (236), como se reportó en un estudio realizado en ratas, en donde se especificó que el daño ocasionado por oxidación lipídica fue menor que en el grupo control, al administrar una dosis diaria 317 mg, durante 30 días (237).

El ácido protocatecúico fue el único de los ácidos fenólicos en donde se apreció un incremento en la fracción bioaccesible, debido a que éste puede originarse durante la digestión, por descarboxilación del ácido gálico (238). Estos resultados fueron similares a lo que se halló en cáscaras de jaboticaba (*Myrciaria trunciflora*) (2.9 mg/100g) (239); además, se ha demostrado que los beneficios de este compuesto van mucho más allá de su actividad antioxidante, pues en estudios en modelos celulares se ha podido mostrado actividad antimicrobiana y antiapoptótica, además en modelos *in vivo*, incluso se ha observado que ayuda a la regulación de glucosa, y a disminuir la resistencia a la insulina (240).

De los compuestos flavonoides, miricetina y quercetina tuvieron una importante fracción bioaccesible (120% y 69%, respectivamente) y biodisponible (9% y 44%, respectivamente) (Tabla 11). En el caso de la miricetina tuvo cantidades ligeramente por debajo de lo encontrado en algarrobo (*Ceratonia siliqua L.*) (241), y en cáscaras de jaboticaba (239), y se podría atribuir a la liberación de moléculas de polifenoles y a los cambios estructurales que sufren por los cambios de pH en el proceso de digestión (241). La absorción de miricetina es relevante ya que en un estudio realizado en ratas inducidas con diabetes, se mostró una mayor sensibilización a la insulina y una menor glicación de proteínas (242).

Las concentraciones de quercetina fueron disminuyendo conforme avanza el proceso de digestión, de la misma manera que sucedió en la fermentación de *Tetragium hemsleyanum* (243), ya que sufre hidrolización desde el estómago, por parte de las enzimas digestivas y puede ser degradada en agliconas en el intestino delgado, además de que son metabolizadas también por la microbiota (244). La actividad de este compuesto no se limita a su gran capacidad antioxidante, pues actúa como un efectivo antiviral, por su capacidad de unirse a las proteínas de la cubierta viral; además se ha descrito su capacidad para prevenir daños a las moléculas de ADN (245).

La apigenina sólo fue detectada en la muestra original, y no se apreció durante el proceso de digestión, debido a que tiene una gran interacción con la microbiota y es fácilmente degradada (246).

Al igual que lo reportado en el estudio de Yong Sun et al. (243), el kaempferol se comporta de manera estable en el intestino; además a nivel del colon hubo una pequeña fracción biodisponible (9.7%); lo cual es de gran importancia, ya que este flavonoide ayuda a reducir el riesgo de enfermedades como cáncer, ya que participa de manera activa en la modulación de la apoptosis, angiogénesis, inflamación y metástasis de cáncer (247).

6.11. Nutracéuticos en tableta

**A continuación se presentan los resultados correspondientes a las tabletas elaboradas con cáscara de tuna variedad rojo liso, además se llevó a cabo el análisis de dos formulaciones que incluyeron polvo de cáscara de tuna de color verde, lo anterior fue publicado en el artículo: Opuntia ficus-indica L. Mill residues—properties and application possibilities in food supplements, de la revista científica Applied Sciences (Anexo 3).*

Las presentaciones en tabletas son una de las formas de administración más consumidas de medicamentos y productos naturales (248); por lo cual deben cumplir con ciertos parámetros de calidad, de acuerdo a las regulaciones de la Farmacopea Americana, de modo que se eviten las variaciones en el contenido del producto (249). Los parámetros de calidad de las cuatro formulaciones de tabletas de cáscara de tuna liofilizada RC: Cáscara roja con celulosa microcristalina y RL: Cáscara roja con lactosa), se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12 Parámetros de calidad de las tabletas de cáscara de tuna

	RC	RL
Peso (g)	0.85 ± 0.02	1.14 ± 0.05*
Grosor (mm)	4.66 ± 0.02	5.69 ± 0.02*
Diámetro (mm)	14.06 ± 0.09	14.07 ± 0.00
Dureza (N)	163.66 ± 28.94*	96.43 ± 13.15
Friabilidad (%)	0.32 ± 0.07*	0.14 ± 0.01
Desintegración (min)	19.35 ± 0.86	67.36 ± 4.52*

Valores ± desviación estándar (n=3). *Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) entre formulaciones. **RC:** Cáscara roja con celulosa microcristalina **RL** Cáscara roja con lactosa

6.12. Parámetros de calidad de las tabletas

Las variaciones en los parámetros de calidad dependen directamente de la fuerza de prensado y los punzones seleccionados en la máquina de compresión de tabletas (250). El peso promedio de las tabletas fue de 0.85 a 1.14 g; las tabletas RL fueron significativamente más pesadas y la variación de peso del promedio fue de 0.01 a 0.05%; sin embargo, ambas formulaciones estuvieron dentro de los límites de tolerancia para la variación de masa establecidos por Farmacopea Americana USP, menor al <5% (251). El peso de las tabletas de cáscara de tuna fue mayor que el reportado en tabletas analizadas en otros estudios elaboradas con pectina de cáscara de naranja y cáscara de plátano (0.4 y 0.2 g, respectivamente) (252,253). Los valores de espesor fueron de 4.66 a 5.69 mm y las tabletas RL fueron significativamente más gruesas ($p < 0.05$) que la otra formulación.

El diámetro no difirió y fue de 14 mm, lo que podría considerarse un tamaño deseable, ya que de acuerdo a la FDA, un tamaño mayor a 22 mm podría ocasionar un tránsito esofágico prolongado, dificultad para tragar o lesiones esofágicas (254). Además la dureza de la tableta está directamente relacionada con la resistencia a los impactos mecánicos debido a la manipulación, envasado y transporte y guarda una estrecha relación con la desintegración de la tableta (255), como se menciona más adelante. La fuerza de ruptura de las tabletas de residuos de tuna varió de 96.43 a 163.66 N, siendo mayores los valores de la formulación RC. Las tabletas de cáscara de tuna presentaron valores más altos que los reportados en tabletas hechas con pectina de cáscara de naranja (17 a 29 N) (256) y cáscara de plátano (19 a 22 N) (253).

El porcentaje de friabilidad indica la cantidad de masa que se pierde debido a choque mecánico; en todas las formulaciones, la pérdida de masa fue inferior al 1%; los valores de friabilidad menores al 1% indican que la tableta es de buena calidad, mientras que los valores de friabilidad altos conducen a una pérdida inaceptable del contenido del fármaco (257). La tableta con celulosa microcristalina (RC) tuvo mayor friabilidad, en comparación con la tableta formulada con lactosa (RL), la diferencia podría atribuirse a que los aglomerados de α -lactosa tienen mayor resistencia a los impactos, pues existe mayor fuerza de cohesión entre las moléculas, mientras que las partículas de celulosa se caracterizan por tener menor compresibilidad y menor resistencia, puesto que los cristales de celulosa son más suaves y menos elásticos que la lactulosa (258,259), por lo que también la formulación con celulosa microcristalina obtuvo menores tiempos de desintegración (19.3 min), mientras que la tableta con lactosa (RL) se disolvió en un periodo más prolongado.

Las diferencias pueden estar relacionadas con la baja compresibilidad de la celulosa microcristalina y su rápida capacidad de hidratación, al estar en un ambiente húmedo (260). Otros estudios en tabletas hechas con pectina de cáscara de cítricos exhibieron tiempos de desintegración entre 12 y 15 min (252), y en tabletas de cáscara de plátano de 8 a 10 min (253). Las diferencias pueden deberse a la variación en el tamaño de partícula (261) y a la geometría de la tableta que juega un papel importante; las tabletas con una superficie más grande tienen una liberación y

desintegración más rápida del fármaco (260). En este contexto, la tableta RL obtuvo menores valores de friabilidad y un mayor tiempo de desintegración.

6.13. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las imágenes obtenidas por microscopía del polvo y las tabletas de residuo de tuna se muestran en la Figura 14, en donde se puede apreciar la estructura del polvo de cáscara roja sin excipientes (Figura 14 A), como una estructura continua, pero con bordes irregulares. Las tabletas elaboradas con celulosa RC y RL (Figura 14 B y Figura 14 C) mostraron también estructuras filamentosas alargadas con bordes angulares, correspondientes a la estructura típica de la celulosa microcristalina (a) (262). Mientras que las estructuras de lactosa (b) se observan más pequeñas, de forma esférica y sin bordes angulares.

La estructura de la matriz en sí misma, en combinación con la estructura de un excipiente, influye en el comportamiento de la muestra, por ejemplo, las estructuras filamentosas de la celulosa microcristalina, dan mayor fuerza contra la abrasión, mientras que las estructuras esféricas de lactosa proporcionan mayor cohesión entre las partículas, lo que permite tiempos de desintegración prolongados (263–265).

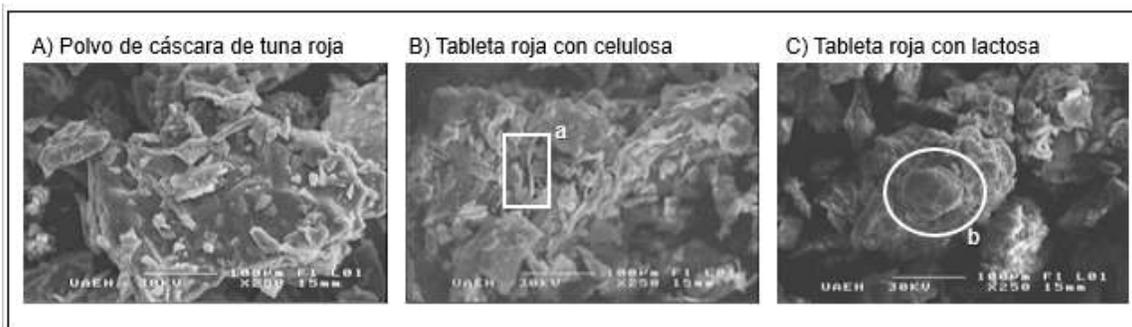


Figura 14. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de los subproductos de tuna (*Opuntia ficus-indica* L. Mill), 250x. A) Residuo de tuna roja (sin excipiente); B) RC: Residuo de tuna roja con celulosa microcristalina; C) RL: Residuo de tuna roja con lactosa. a: agregados de celulosa microcristalina; b: Agregados de lactosa

6.14. Propiedades funcionales de las tabletas

Para los parámetros de capacidad de retención de lípidos y agua (CRL y CRA, respectivamente), la formulación RC obtuvo los valores más altos, en comparación con la formulación RL, que presentó menor retención en ambos parámetros (Tabla 13). La capacidad de retención de lípidos y agua se atribuye a la alta cantidad de fibra insoluble en el residuo utilizado, que es capaz de atrapar partículas de aceite y agua en su estructura (169,211). Por su parte, la estructura de las fibras de celulosa microcristalina favorecen la retención de moléculas de agua y

grasa, y esto a su vez influye en la rápida desintegración (259) como se observó en esa formulación, en comparación con la formulación con lactosa.

Tabla 13 Propiedades funcionales de la fibra de las tabletas

	RC	RL
CRL (g/g)	4.5 ± 0*	3.8 ± 0
CRA (g/g)	4.6 ± 0*	3.6 ± 0

Valores ± desviación estándar (n=3). * Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) entre formulaciones. **RC:** Cáscara roja con celulosa microcristalina
RL Cáscara roja con lactosa

6.15. Color

Las formulaciones presentaron un aspecto heterogéneo y el color característico correspondiente a la variedad del residuo de tuna utilizado (Figura 15). El color es un atributo de calidad importante que influye en las elecciones y preferencias del consumidor (266).

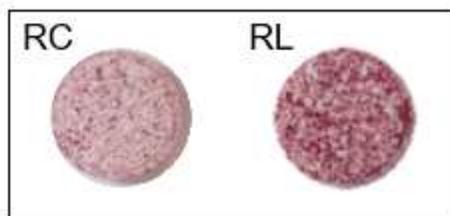


Figura 15. Imágenes de formulaciones de tabletas de cáscara de tuna (*Opuntia ficus-indica* L. Mill). VC: cáscara de tuna verde con celulosa microcristalina; VL: cáscara de tuna verde con lactosa; RC: cáscara de tuna roja con celulosa microcristalina; RL: cáscara de tuna roja con lactosa.

Las coordenadas de color se muestran en la Tabla 14, donde se aprecia que no se presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) en los valores de luminosidad (L^*). Las tabletas presentaron valores positivos para a^* y b^* , que corresponden al cuadrante rojo-amarillo. La inclusión de agentes aglutinantes entre la misma variedad de cáscaras de tuna no tuvo un efecto significativo en los valores de a^* y b^* , por lo que la tonalidad de la cáscara fue conservada después de añadir los excipientes.

Tabla 14. Parámetros de color de las formulaciones de tabletas de residuos de tuna.

	RC	RL
L^*	40.0 ± 1.1	40.9 ± 0.2
a^*	7.5 ± 0.2	9.5 ± 0.1*
b^*	4.5 ± 0.3	4.5 ± 0.0
h°	31.2 ± 1.3*	25.5 ± 0.1
C^*	8.7 ± 0.3	10.6 ± 0.1*

Valores medios ± desviaciones estándar (n=3). * Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las formulaciones de tabletas. RC: cáscara de tuna roja con celulosa microcristalina; RL: cáscara de tuna roja con lactosa.

De acuerdo a los valores de h° se determinó la tonalidad rojizo-rosado. El valor de croma (C^*) estima la intensidad del colorido de una muestra, la formulación RL presentó valores de C^* más altos, lo que significa que poseía tonalidades más intensas, ya que de acuerdo con Pathare et al. (266), valores de croma más altos determinan una mayor intensidad del color percibido por el ojo humano. Ambas tabletas conservaron el color característico de la variedad utilizada y se observaron colores atractivos (Figura 15), por lo tanto, no es necesario agregar colores artificiales que lo hagan atractivo para el consumidor, además de que los pigmentos procedentes de la tuna han sido ampliamente utilizados por la industria alimentaria como fuente económica y estable de pigmentos (267).

6.16. Propiedades antioxidantes

La medición de antioxidantes permite comprobar que una dieta rica en antioxidantes brinda mayores beneficios, ya que los antioxidantes dietéticos tienen la capacidad de inhibir la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS), que pueden afectar la normalidad de los procesos celulares y funciones fisiológicas (194). Las propiedades antioxidantes de las formulaciones se muestran en la Tabla 15; donde se aprecia que no hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) en la mayoría de los parámetros evaluados (excepto para FRAP); aunque se ha reportado que las variedades de tunas rojas tienen mayor contenido de compuestos fenólicos, sobre todo en el pericarpio y el epicarpio que en la pulpa (268). Los resultados del presente estudio fueron mayores a lo reportado en tabletas hechas con cáscara de mandarina, donde se encontraron 141 mg EAG/100 g (269).

Tabla 15. Propiedades antioxidantes de las tabletas de cáscara de tuna

	RC	RL
CFT (mg EAG/100g)	649 ± 12	651 ± 8
DPPH (% Inhibición)	24 ± 2	24 ± 1
ABTS (µmol ET/100g)	4365 ± 392	4610 ± 326
FRAP (µmol Fe ²⁺ /100g)	19 ± 0*	17 ± 0

Valores ± desviación estándar (n = 3). *Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las formulaciones de tabletas. **RC:** Cáscara roja con celulosa microcristalina **RL** Cáscara roja con lactosa. Se utilizaron como patrones de referencia: Ácido gálico para CFT, Trolox para DPPH y ABTS y FeSO₄ para FRAP.

En cuanto a la inhibición del radical DPPH, las formulaciones presentaron una inhibición del 24%, lo cual está relacionado con los antioxidantes de naturaleza lipofílica asociados a esta variedad de tuna, por ejemplo: los compuestos lipofílicos como los tocoferoles pueden incrementar la actividad antioxidante medida por DPPH (140) y en comparación con el estudio antes mencionado de tabletas de mandarina, la inhibición del radical DPPH fue menor (269). Entre ambas formulaciones, la actividad antioxidante por el método de ABTS fue similar ($p > 0.05$) y finalmente los valores de FRAP más altos ($p < 0.05$) fueron los de la formulación RC.

Es bien sabido que el estrés oxidativo excesivo puede afectar las proteínas y los lípidos celulares o el material genético, lo que lleva a disminuir la competencia inmune y aumentar la respuesta inflamatoria, todo relacionado con varias enfermedades como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la obesidad y la diabetes (62). Los resultados de las propiedades antioxidantes de la cáscara de tuna son relevantes, puesto que los residuos tienen el potencial de ser utilizados para desarrollar productos alimenticios, debido a su contenido de fibra y antioxidantes, que al añadirlos en la dieta, puede prevenir el daño ocasionado por los radicales libres (9).

** A pesar de que los nutracéuticos en tableta exhibieron buenas propiedades de calidad, se optó por utilizar cápsulas, para llevar a cabo la suplementación dietética en el ensayo clínico exploratorio; con la finalidad de aportar una mayor cantidad de cáscara de tuna, sin necesidad de ser mezclada con excipientes comerciales.*

6.17. Suplementación en pacientes con sobrepeso y obesidad

La suplementación dietética se puede definir como: “*el mejoramiento de la ingesta de nutrientes, a través de formas farmacéuticas por vía oral o parenteral*” (270); en el presente estudio se llevó a cabo la suplementación dietética en pacientes con sobrepeso.

En ninguno de los dos grupos se presentaron efectos secundarios adversos, que pudieran ser derivados de la ingesta del nutraceutico. Algunos de los participantes afirmaron haber tenido mayor frecuencia en las deposiciones (5% en el grupo control y 52% en el grupo suplementado con cáscara), lo que se le atribuye principalmente al contenido de fibra dietética, que mejora la motilidad intestinal y permite la formación de heces más firmes, aumentando la frecuencia de las deposiciones (171); lo anterior tiene gran relevancia, ya que los beneficios observados por parte de los consumidores, crean una percepción positiva con respecto al producto y a nivel comercial, se traduce en un mayor consumo y mejor apego al tratamiento (271).

6.17.1. Parámetros antropométricos.

La Tabla 16 muestra los resultados de mediciones antropométricas en la línea de base y después del período de intervención; en general, el peso promedio fue de 87.2 Kg; el IMC de 33.5 kg/m² y la circunferencia de cintura 103.8 cm; no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en los resultados iniciales en comparación con la evaluación final, en ninguno de los parámetros antropométricos entre grupos, e intragrupal.

Existe poca evidencia en estudios de suplementación con cáscaras y su influencia en los parámetros antropométricos; sin embargo Kang et al (2018) evaluaron el efecto de una suplementación dietética con cáscara de mandarina en pacientes con sobrepeso, encontrando una disminución significativa en el peso y el IMC de los sujetos (272).

En los estudios clínicos no se han logrado demostrar reducciones significativas del peso corporal, o el efecto es muy pequeño y no alcanza significancia clínica (197), las investigaciones en modelos animales han sugerido que la ingesta de la cáscara de tuna puede conducir a la reducción de peso (273). Existen varios factores en los estudios clínicos que pueden influir en la reducción de peso, como las recomendaciones de actividad física, la falta del control sobre la dieta y el tiempo de intervención; ya que al tratarse de un estudio de tipo exploratorio, da la pauta a realizar un estudio en donde se controlen las variables antes mencionadas; además, se sugiere que con un mayor tiempo de intervención sería posible apreciar cambios notorios entre los dos grupos de estudio.

Tabla 16. Parámetros antropométricos de los sujetos de estudio

	GRUPO CONTROL		GRUPO SUPLEMENTADO	
	<i>Inicial</i>	<i>final</i>	<i>Inicial</i>	<i>final</i>
Peso	86.2 ± 14.3	86.5 ± 14.6	88.0 ± 18.5	88.2 ± 18.9
IMC	33.0 ± 5.1	33.1 ± 5.23	33.6 ± 5.4	33.7 ± 6.6
Cintura	101.8 ± 10.5	101.5 ± 10.69	105.7 ± 16.3	105.0 ± 15.4

Valores ± desviación estándar.

6.17.2. Parámetros bioquímicos.

Los datos bioquímicos se presentan en la tabla 17, en donde se puede apreciar de manera general, que los niveles de colesterol total y triglicéridos disminuyeron (aunque no de manera significativa) en comparación con el grupo control (que aumentaron ligeramente). En los niveles de glucosa sérica, se observó una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.05$) al comparar los valores iniciales con los finales, en el grupo suplementado con cáscara de tuna.

De manera similar al presente estudio, Deldicque et al. (274) observaron mejoras en las glicemias, al llevar a cabo la suplementación con un producto herbolario que contenía cáscara de tuna y nopal (70:30 p/p), aplicado en pacientes sanos y prediabéticos, atribuyendo las diferencias en el perfil glicémico a un probable efecto insulínogénico del suplemento, ya que estimula la secreción de insulina y Godard et al. (130) y permite disminuir aproximadamente un 10 % los niveles de glucosa, por lo que sería de gran interés para personas con trastornos metabólicos, como la resistencia a la insulina, prediabetes o diabetes (18).

En general, el colesterol y los triglicéridos disminuyeron ligeramente en el grupo suplementado con cáscara de tuna, en contraste con el grupo control donde hubo un aumento; sin embargo no existió una diferencia estadísticamente significativa, lo que se relaciona con la cantidad de muestra administrada, pudiendo existir un efecto dosis-respuesta (275).

En cuanto al colesterol HDL, no se encontraron diferencias significativas, contrario al colesterol LDL, donde existió un incremento significativo ($p < 0.05$); esto se puede atribuir principalmente, al consumo de alimentos ricos en grasas saturadas, propios de los patrones dietéticos individuales (276).

Tabla 17. Parámetros bioquímicos de los sujetos de estudio

	GRUPO CONTROL		GRUPO SUPLEMENTADO	
	<i>Inicial</i>	<i>final</i>	<i>Inicial</i>	<i>final</i>
Glucosa	99.9 ± 19.6	101.2 ± 17.7	100.0 ± 8.2 * †	90.3 ± 9.3
Colesterol	179.8 ± 33.7	180.9 ± 34.5	194.1 ± 37.7 *	181.0 ± 28.3
Triglicéridos	142.1 ± 91.8	149.4 ± 68.7	169.9 ± 83.1	164.8 ± 83.3
Col. HDL	40.0 ± 7.37	38.6 ± 7.3	39.3 ± 7.5 *	36.8 ± 5.5
Col. LDL	178.0 ± 33.9 [§]	179.3 ± 34.8	121.3 ± 28.7 *	179.1 ± 28.1

§ Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) al inicio del estudio entre el grupo control y suplementado

Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) del grupo control entre el inicio y final de la intervención

* Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) inicial con final grupo suplementado

† Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) final y final control y suplementado

6.17.3. Estimación del consumo energético y de macronutrientes

En la tabla 18 se muestran los resultados del análisis del consumo energético y de macronutrientes de los participantes del estudio, recabados mediante el recordatorio de 24 horas. Tanto en el grupo control, como en el grupo suplementado se asumieron varianzas iguales mediante la prueba de Levene y además, no existieron diferencias estadísticamente significativas en las variables analizadas entre ambos grupos, por lo que se puede afirmar que las dietas de los sujetos fueron iguales al inicio del estudio.

En ambos grupos se puede apreciar que la ingesta energética sobrepasa las 2000 Kilocalorías, lo que rebasa las recomendaciones dietéticas de un 10 a un 25% (dependiendo de la edad y el sexo de los sujetos) (277), ya que en recientes años se ha sugerido que para la población latinoamericana con sobrepeso u obesidad, se deberían implementar dietas de 1500 a 1800 kcal, con el objetivo de lograr una disminución ponderal y paulatina del peso corporal; así como evitar el deterioro a la salud causado por el exceso del consumo calórico (278).

Tabla 18. Estimación del consumo energético y de macronutrientes de los participantes

	Grupo Control	Grupo Suplementado
Consumo energético (Kcal)	2258 ± 597	2278 ± 651
Hidratos de carbono (Kcal)	1164 ± 436	1137 ± 375
Grasas (Kcal)	669 ± 163	694 ± 239
Proteína (Kcal)	424 ± 122	442 ± 160

Promedios ± desviación estándar

Se puede apreciar que aunque el contenido de hidratos de carbono reportado se encuentra dentro de las proporciones adecuadas (55 al 60% de las Kcal totales), los pacientes refirieron un alto consumo de carbohidratos, provenientes principalmente de alimentos como: azúcar de mesa, pan y tortilla, estos alimentos tienen un alto contenido de carbohidratos simples; este fenómeno es resultado de la transición alimentaria que ha sufrido México en las últimas décadas, en las que factores como la globalización, los medios de comunicación y los cambios en los ámbitos laborales y políticos, han ocasionado la adopción de patrones dietéticos diferentes, ricos en carbohidratos simples y grasas (1,279).

Por su parte, el consumo de grasas fue mayor a lo que se sugiere en una dieta balanceada, excediendo el 30% de las kilocalorías totales (280), lo cual podría influir de manera importante en los resultados del estudio, ya que de haber continuado con una dieta rica en grasas, se estaría propiciando un incremento en las cifras de colesterol plasmático, además de incentivar el aumento en las reservas energéticas que conllevan al aumento de peso (281). La mayoría de los participantes reportaron un consumo muy bajo de alimentos ricos en ácidos grasos poliinsaturados, por lo que el porcentaje consumido de lípidos corresponde principalmente a la ingesta de grasas saturadas; de modo que además de las complicaciones antes mencionadas (colesterol plasmático elevado y sobrepeso), este tipo de grasas ocasiona un aumento en la producción de radicales libres; que aumentarán los requerimientos de antioxidantes, para mantener la homeostasis, y evitar la proliferación de especies reactivas de oxígeno (95).

En cuanto a la ingesta de proteína, los valores se encontraron dentro de las recomendaciones dietéticas de la (15 a 20% del valor calórico total), por lo que no representaría un factor de riesgo para la población de estudio; el adecuado consumo de proteína es de gran importancia, ya que ayuda al mantenimiento de la masa muscular, participa en la formación del sistema enzimático y de defensa del cuerpo (282). Para futuros estudios se sugiere llevar a cabo un

control dietético con los participantes; ya que es bien sabido que las restricciones dietéticas pueden producir una mayor pérdida de peso, un incremento de la sensibilidad a la insulina y una reducción importante de los factores de riesgo cardiovascular (281).

Con la finalidad de explorar los patrones alimentarios de los participantes del estudio, se analizó el consumo de azúcar y sodio (Figura 16), sustancias que resultan perjudiciales para la salud, tras un consumo excesivo, y que están estrechamente ligados al aumento de peso (283). En primer lugar, los azúcares añadidos se refieren a aquellos que fueron agregados durante el proceso de preparación del alimento (miel, jarabes, concentrados de frutas, melazas y azúcar común) (284). Al analizar el consumo mediante el recordatorio de 24 horas de este tipo de azúcares; se encontró que como parte de su dieta todos los pacientes manifestaron que consumían un promedio de 59 gramos por día (59.5 en el grupo control y 58.7 en el grupo suplementado), como se aprecia en la figura 16 A), la cantidad se encuentra por encima de lo establecido por la OMS, que recomienda que un adulto podría consumir hasta 50 gramos en total durante el día (285). Los datos del presente estudio, se relacionan con lo reportado en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018, donde indicaron que el 84% de los mexicanos, consumen más de los 50 g de este tipo de azúcares (104).

Los azúcares añadidos representan la mayor contribución a la ingesta de azúcares añadidos, seguido de los alimentos con alta densidad calórica, lo cual genera una situación alarmante al estar ligado con el aumento de peso corporal y a enfermedades como diabetes, síndrome metabólico, hígado graso e hipertensión (286), además de otras anomalías secundarias, que se relacionan con una dieta rica en azúcares, tales como: supresión del sistema inmune, imbalance en la distribución de vitaminas y minerales en el cuerpo, deficiencia de cromo, degeneración macular, inflamación celular, incremento en niveles de triglicéridos, ácido úrico, entre otras (287).

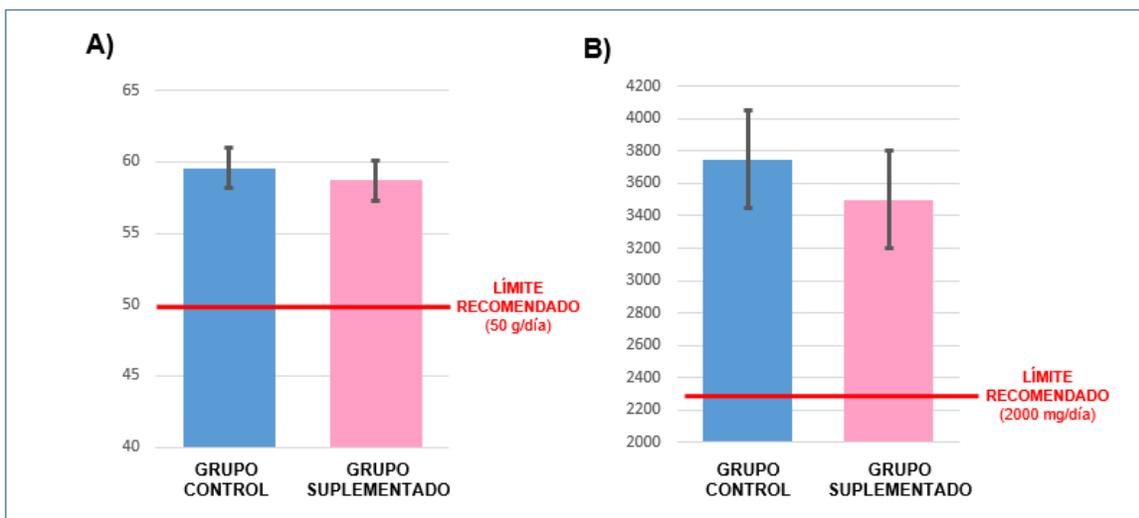


Figura 16. Consumo azúcares añadidos (A) y de sodio (B), del grupo control y grupo suplementado con cáscara de tuna.

Así como la ingesta de azúcares simples, la adición de sodio a la dieta contribuye al aumento de peso; en primer lugar, potencializa el sabor de muchos alimentos, incentivando una mayor ingesta calórica (288); en segundo lugar, los alimentos con alto contenido de sodio podrían estimular el consumo de bebidas azucaradas ricas en energía, debido a los efectos que tiene sobre la ingesta de líquidos; por lo que en años recientes se ha establecido que existe una asociación entre la ingesta de sodio y el IMC (283).

El sodio es necesario para el buen funcionamiento del organismo, ya que participa en numerosas funciones fisiológicas, desde la homeostasis de los líquidos extracelulares, la circulación de la sangre, el buen funcionamiento de las neuronas, hasta la función reproductora; sin embargo, una ingesta excesiva es dañina para el organismo (289). En la figura 16 B), se presenta la gráfica de la ingesta de sodio de los participantes del estudio; en el grupo control se encontró un consumo promedio de 3747 mg/día, mientras que en el grupo suplementado 3500 mg/día, ambos grupos excedieron los 2000 mg /día de ingesta admisible establecida por la OMS (285); Aunque los patrones alimentarios han ido evolucionando y con ellos, ha incrementado la ingesta de sodio; representa un dato alarmante, ya que constituye uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de hipertensión arterial, aparición de eventos cerebrovasculares, infarto enfermedad renal, hipertrofia ventricular, entre otras, que aunado al exceso de peso, incrementa la mortalidad poblacional (290). Con la finalidad de disminuir el riesgo cardiovascular en la población con sobrepeso u obesidad, se ha documentado que una reducción en la ingesta de sodio, se asocia a una disminución de hasta 3.82 mm de Hg en las cifras de tensión arterial (291).

7. Conclusiones

- El polvo liofilizado presentó un bajo contenido de humedad (4.6 %), bajas cantidades de proteína y lípidos (2.7 y 1.7 % respectivamente), 38.1 % de carbohidratos y alto contenido de fibra (43.0 %); además de altas cantidades de retención de lípidos y de agua (11.20 y 12.36 g / g respectivamente).
- La muestra presentó un alto contenido de fenoles totales, de los cuales un porcentaje importante; resultó bioaccesible, incluso después de la fermentación colónica.
- En la fermentación colónica del sustrato, se apreció una disminución significativa en los valores de pH; se presentó un 25% de materia seca no fermentable y un 76% de materia seca desaparecida; hubo crecimiento significativo de bacterias ácido lácticas y fue posible identificar ácidos fenólicos (caféico, cumárico, ferulico y protocatecúico), así como flavonoides (miricetina, quercetina, apigenina y kaempferol) a lo largo del proceso de simulación intestinal.

- La ingesta de cantidades de hasta 2000 mg/ kg de polvo liofilizado de cáscara de tuna es segura, de acuerdo al ensayo de toxicidad aguda *in vivo*.
- Los nutracéuticos elaborados en tabletas presentaron buenas características de calidad; un color atractivo y alto contenido de compuestos fenólicos.
- La dieta de los pacientes al inicio del estudio no presentó diferencias significativas en cuanto al contenido energético y de macronutrientes, aunque se pudo apreciar un alto consumo de azúcares simples y sodio.
- La suplementación dietética de cáscara de tuna en individuos con sobrepeso y obesidad, no tuvo impacto en los parámetros antropométricos, como peso, IMC o circunferencia abdominal; sin embargo, se presentó una disminución significativa ($p > 0.05$) en los niveles de glucosa plasmática, por lo que podría ayudar a prevenir la aparición de complicaciones como la diabetes.
- Se sugiere aumentar el tiempo de intervención, con la finalidad de apreciar cambios significativos en otros parámetros bioquímicos y los datos antropométricos.

8. Anexos

Anexo 1



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
 COORDINACIÓN ACADÉMICA
 DIRECCIÓN DE SERVICIOS ACADÉMICOS
 DIRECCIÓN DEL BIOTERIO
 COMITÉ INTERNO DE

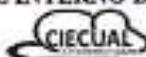


DICTAMEN DE EVALUACIÓN

INSTITUCIÓN (Subdirección, Departamento o Área de trabajo): Instituto de Ciencias de la Salud, Área Académica de Nutrición		FOLIO: CICUAL/009/2019		
PROYECTO: "Efectos anti-constipación de formulaciones de cáscara de tuna en un modelo animal".		FECHA DE APROBACIÓN: 01 de julio de 2019		
INVESTIGADORES QUE PARTICIPAN EN EL PROYECTO: Dra. Esther Ramírez Moreno (directora), Dr. José Arias Rico y Dr. Gamar Antonio Jaramillo Morales		RESPONSABLE DEL PROYECTO: Dra. Esther Moreno Ramirez		
ALUMNOS O PASANTES QUE PARTICIPAN EN EL PROYECTO: N. Eli Mireya Sandoval Gallegos, L.N. Salvador Manzur Valdésplata, P.L.N. Iris Cristal Hernández Ortega, P.L.N. Cristóbal Efraín Hernández Hernández.				
ASPECTOS A EVALUAR:	RESULTADO			SUGERENCIAS
	ACEPTABLE	NO ACEPTABLE		
JUSTIFICACIÓN DEL USO DE ANIMALES DE LABORATORIOS	X			
BIENESTAR Y ESTRÉS ANIMAL	X			
PROCEDIMIENTOS Y CUIDADOS APLICADOS EN EL ANIMAL	X			
ASPECTOS ÉTICOS DEL PROTOCOLO	X			
PUNTO FINAL Y EUTANASIA	X			
OBSERVACIONES GENERALES Es necesario que la Dra. Moreno y el Dr. Arias así como los alumnos participantes del presente proyecto tomen el curso de manejo de animales de laboratorio.				
FECHA DE REVISIÓN	RESULTADO	SI	NO	OBSERVACIONES
27 de junio del 2019	APROBADO	X		
	NEGADO			
	PROPUESTAS O CAMBIO	X		
CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES QUE SE PROPORCIONARÁN: 42 ratas Wistar-Khanover, macho de 8 a 10 semanas de edad y de 180 a 220 g.				
INVESTIGADOR PRINCIPAL Dra. Esther Ramírez Moreno	PRESIDENTE DEL CIECUAL Dr. Luis Delgado Olivares	DIRECTOR DEL BIOTERIO Ing. Daniel Ramirez Rico		



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
COORDINACIÓN ACADÉMICA
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ACADÉMICOS
DIRECCIÓN DEL BIOTERIO
COMITÉ INTERNO DE ÉTICA



DICTAMEN

01 de julio del 2019

Estimada Dra. Esther Moreno Ramírez.

Por medio de la presente, le informo que el protocolo intitulado "Efectos anti-constipación de formulaciones de cáscara de tana en un modelo animal", después de haber sido evaluado por los miembros el comité ha sido **Aprobado con modificaciones** y queda registrado con el Número de Aprobación **CIECUAL/009/2019**.

Sin más otro particular, aprovechamos la ocasión deseándole el mejor de los éxitos en su proyecto.

ATENTAMENTE

"AMOR, ORDEN y PROGRESO"

PRESIDENTE DEL CIECUAL

DIRECTOR DEL BIOTERIO

DR. LUIS DELGADO OLIVARES

ING. DANIEL RAMÍREZ RICO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de Ciencias de la Salud

School of Health Sciences

Comité de ética e investigación

Ethics and research committee

San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo a 01 de Junio del 2020

Oficio Comiteei.icsa 2020/2

Asunto: DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN.

Dra. Nelly del Socorro Cruz Cansino
Investigador Principal

Título del Proyecto: Formulación de un suplemento alimenticio con propiedades funcionales y antioxidantes elaborado a partir de cáscara de tuna, como coadyuvante en el tratamiento de diabetes tipo 2
Código asignado por el Comité: CEI-2020-004

Le informamos que su proyecto de referencia ha sido evaluado por el Comité y las opiniones acerca de los documentos presentados se encuentran a continuación:

Decisión	Número de aprobación
APROBADO	2020-2

Este protocolo tiene vigencia del 6 de junio de 2020 al 5 de junio de 2021.

En caso de requerir una ampliación, le rogamos tenga en cuenta que deberá enviar al Comité un **reporte de progreso de avance de su proyecto** al menos 60 días antes de la fecha de término de su vigencia.

Atentamente

Dr. José Sócrates López Noguera
Presidente del Comité



Para la validación de este documento, informe el siguiente código en la sección Validador de documentos del sitio web del Comité: **B_bnwVTV+fGZ!K!**

Article

Opuntia ficus-indica L. Mill Residues—Properties and Application Possibilities in Food Supplements

Salvador Manzur-Valdespino ¹, Esther Ramírez-Moreno ¹, José Arias-Rico ²,
Osmar Antonio Jaramillo-Morales ³, Zuli Guadalupe Calderón-Ramos ¹,
Luis Delgado-Olivares ¹, Manuel Córdoba-Díaz ⁴, Damián Córdoba-Díaz ⁴ and
Nelly del Socorro Cruz-Cansino ^{1,*}

- ¹ Centro de Investigación Interdisciplinario, Área Académica de Nutrición, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Circuito Ex Hacienda La Concepción S/N, Carretera Pachuca-Actopan, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo 42160, Mexico; salvador_manzur@uaeh.edu.mx (S.M.-V.); esther_ramirez@uaeh.edu.mx (E.R.-M.); zramos@uaeh.edu.mx (Z.G.C.-R.); ldelgado@uaeh.edu.mx (L.D.-O.)
 - ² Área Académica de Enfermería, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Circuito Ex Hacienda La Concepción S/N, Carretera Pachuca-Actopan, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo 42160, Mexico; jose_arias@uaeh.edu.mx
 - ³ Área Académica de Farmacia, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Circuito Ex Hacienda La Concepción S/N, Carretera Pachuca-Actopan, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo 42160, Mexico; osmar_jaramillo@uaeh.edu.mx
 - ⁴ Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza de Ramón y Cajal s/n, 8040 Madrid, Spain; mcordoba@ucm.es (M.C.-D.); damianco@farm.ucm.es (D.C.-D.)
- * Correspondence: nacruz@uaeh.edu.mx; Tel.: +52-771-717-2000 (ext. 4321)

Received: 3 April 2020; Accepted: 4 May 2020; Published: 7 May 2020



Featured Application: In this paper we developed tablets made from *Opuntia ficus-indica* residues, which can be used as a product of interest for the food supplement industry.

9. Bibliografía

1. Rivera-Dommarco, J. A., Colchero, M. A., Fuentes, M. L., Gonzáles de Cosío-Martínez, T., Aguilar-Salinas, C. A., Hernández-Licon, G., y Unar-Munguía M. Recomendaciones para una política de Estado para la prevención y control de la obesidad en México en el periodo 2018-2024. 2018. 15–30 p.
2. Méndez Gallegos, S.J. JGH. La tuna: Producción y diversidad. Publicaciones CONABIO. 2006;68:1–5.
3. Ongiorno A, Llegra M, Intaudi A, Ohen R IM. Antioxidant Activities of Sicilian Prickly Pear (*Opuntia ficus indica*) Fruit Extracts and Reducing Properties of Its Betalains: Betanin and Indicaxanthin. *Agric Food Chem.* 2002;50:6895–901.
4. Drennan, Philippa and Nobel P. Root growth dependence on soil temperature for *Opuntia ficus-indica*: influences of air temperature and a doubled CO₂ concentration. *Funct Ecol.* 2002;1(12):959–964.
5. Ochoa, C. E., Guerrero JA. Efecto del almacenamiento a diferentes temperaturas sobre la calidad de tuna roja (*Opuntia ficus indica* (L. Miller). *Rev Inf Tecnológica.* 2012;23(1):117–28.
6. Callejas-Juárez, N., Matus-Gardea, J. A., García-Salazar, J. A., Martínez-Damián, M. Á., & Salas-González JM. Present situation and market perspectives for prickly pear, nopalito and derivatives in the State of Mexico. *Agrociencia.* 2009;43(1):73–82.
7. Piga A. Cactus pear: a fruit of nutraceutical and functional importance. *J Prof Assoc Cactus Dev.* 2004;(6):9–22.
8. Barba F J, Putnik P, Kovačević D B, Poojary M M, Roohinejad S, Lorenzo J M KM. Impact of conventional and nonconventional processing on prickly pear (*Opuntia* spp.) and their derived products: From preservation of beverages to valorization of by-products. *Trends Food Sci Technol.* 2017;(67):260–70.
9. Bensadón S, Hervert-Hernández D, Sáyago-Ayerdi, S G GI. By-products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. *Plant Food Hum Nutr.* 2010;65(3):210–6.
10. Cerezal, P., & Duarte G. Use of skin in the elaboration of concentrated products of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller). *J Prof Assoc Cactus Dev.* 2005;(7):61–82.
11. Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes-López O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains--characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2000;40(3):173–289.
12. Ramadan, M. F., & Mörsel JT. Recovered lipids from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill] peel: a good source of polyunsaturated fatty acids, natural antioxidant vitamins and sterols. *Food Chem.* 2003;83(3):447–56.
13. Basile F. Economic Aspects of Italian Cactus Pear Production and Market. *J Prof Assoc Cactus Dev.* 2001;4:31–46.
14. Ramírez-Moreno, E.; Hervert-Hernández, D.; Sánchez-Mata, M. C.; Díez-Marqués, C. and Gofii I. Intestinal bioaccessibility of polyphenols and antioxidant capacity of pulp and seeds of cactus pear. *Int J Food Sci Nutr.* 2011;62:839–43.
15. Villacís- Chiriboga, J., Elst, K., Van Camp, J., Vera, E., & Ruales J. Valorization of byproducts from tropical fruits: Extraction methodologies, applications, environmental, and economic assessment: A review (Part 1: General overview of the byproducts, traditional biorefinery practices, and possible applications). *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2020;19(2):405–47.

16. Hernández-Carranza, P., Jattar-Santiago, K. Y., Avila-Sosa, R., Pérez-Xochipa, I., Guerrero-Beltrán, J. A., Ochoa-Velasco, C. E., & Ruiz-López II. Antioxidant fortification of yogurt with red cactus pear peel and its mucilage. *CyTA-Journal Food*. 2019;17(1):824–33.
17. Jimenez-Aguilar, D. M, Mújica-Paz, H., & Welti-Chanes J. Phytochemical characterization of prickly pear (*Opuntia* spp.) and of its nutritional and functional properties: a review. *Curr Nutr Food Sci*. 2014;10(1):57–69.
18. Pischel, I., Van Proeyen, K., & Hespel P. Effect of OpunDia™ (*O. ficus-indica* extract) on oral glucose tolerance and plasma insulin before and after exercise. *J Int Soc Sports Nutr*. 2011;8(1):17.
19. Rural FDGA de PE y ASDE de AS. Monografía del Nopal y la Tuna. 2011. 1–15 p.
20. Villabona Ortiz, Á., Paz Astudillo, I. C., & Martínez García J. Characterization of *Opuntia ficus-indica* for using as a natural coagulant. *Rev Colomb Biotecnol*. 2013;15(1):137–44.
21. Reyes-Agüero, J. A., Aguirre-Rivera, J. R., & Hernández HM. Systematic notes and a detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L) Mill.(Cactaceae). *Agrociencia*. 2005;39(4):395–408.
22. Repo de Carrasco, R., & Encina Zelada CR. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Rev la Soc química del Perú*. 2008;74(2):108–24.
23. Castro, J., Paredes, C., & Muñoz D. Cultivo de la tuna (*Opuntia ficus indica*). *Monogr virtual*. 2009;1.
24. Gheribi, R., Habibi, Y., & Khwaldia K. Prickly pear peels as a valuable resource of added-value polysaccharide: Study of structural, functional and film forming properties. *Int J Biol Macromol*. 2019;126:238–45.
25. Jiménez-Aguilar, D. M., López-Martínez, J. M., Hernández-Brenes, C., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Welti-Chanes J. Dietary fiber, phytochemical composition and antioxidant activity of Mexican commercial varieties of cactus pear. *J Food Compos Anal*. 2015;(41):66–73.
26. Moßhammer R, Stintzing C CR. Cactus pear fruits (*Opuntia* spp.): a review of processing technologies and current uses. *J Prof Assoc Cactus Dev*. 2006;(8):1–25.
27. Lako, J., Trenerry, V. C., Wahlqvist, M., Wattanapenpaiboon, N., Sotheeswaran, S., & Premier R. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chem*. 2007;101(4):1727–41.
28. Guevara-Figueroa, T., Jiménez-Islas, H., Reyes-Escogido, M. L., Mortensen, A. G., Laursen, B. B., Lin, L. W. & de la Rosa APB. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *J Food Compos Anal*. 2010;23(6):525–32.
29. Moussa-Ayoub, T. E., Youssef, K., El-Samahy, S. K., Kroh, L. W., & Rohn S. Flavonol profile of cactus fruits (*Opuntia ficus-indica*) enriched cereal-based extrudates: Authenticity and impact of extrusion. *Food Res Int*. 2015;78:442–7.
30. Nagar MRB& PS. Evaluation of physicochemical property and fatty acid composition of *Opuntia elatior* seed oil. *J Prof Assoc Cactus Dev*. 2013;15:13–19.
31. Koubaa, M., Barba, F. J., Grimi, N., Mhemdi, H., Koubaa, W., Boussetta, N., & Vorobiev E. Recovery of colorants from red prickly pear peels and pulps enhanced by pulsed electric field and ultrasound. *Innov food Sci Emerg Technol*. 2016;37:336–44.
32. Ramírez-Moreno E, Cariño-Cortés R, Cruz-Cansino N D S, Delgado-Olivares L, Ariza-Ortega J A, Montañez-Izquierdo V Y et al. Antioxidant and antimicrobial properties of cactus pear (*Opuntia*) seed oils. *J Food Qual*. 2017;1–8.

33. Ennouri, M., Evelyne, B., Laurence, M., & Hamadi A. Fatty acid composition and rheological behaviour of prickly pear seed oils. *Food Chem.* 2005;93(3):431–7.
34. Carrillo-López, A., Cruz-Hernández, A., Cárabez-Trejo, A., Guevara-Lara, F., & Paredes-López O. Hydrolytic activity and ultrastructural changes in fruit skins from two prickly pear (*Opuntia* sp.) varieties during storage. *J Agric Food Chem.* 2002;50(6):1681–5.
35. O. KJ. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chem.* 2004;85(4):527–33.
36. Felker, P., Stintzing, F. C., Müssig, E., Leitenberger, M., Carle, R., Vogt, T., & Bunch R. Colour inheritance in cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruits. *Ann Appl Biol.* 2008;152(3):307–18.
37. Habibi, Y., Heyraud, A., Mahrouz, M., & Vignon MR. Structural features of pectic polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydr Res.* 2004;339(6):1119–27.
38. Segrè A., L. Falasconi EM. Last Minute Market. Increasing the economic, social and environmental value of unsold products in the food chain. *RSC Publ Cambridge.* 2010;162–7.
39. Mirabella, N., Castellani, V., & Sala S. Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *J Clean Prod.* 2014;(65):28–41.
40. Aida, H. I., Mahanom, H., & Norhartini AS. Dietary fibre powder from pineapple by-product as a potential functional food ingredient. *VII Int Pineapple Symp.* 2010;565–8.
41. Lario, Y., Sendra, E., Garcia-Pérez, J., Fuentes, C., Sayas-Barberá, E., Fernández-López, J., & Perez-Alvarez JA. Preparation of high dietary fiber powder from lemon juice by-products. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2004;5(1):113–7.
42. Kurhajec, S., Franc, A., Doležel, P., & Sabadková D. Quality by design approach: antioxidant activity of the tablets containing cornelian cherry fruits in relation to their composition and physical properties. *Pharm Dev Technol.* 2017;22(7):881–8.
43. Manzur-Valdespino, S., Ramírez-Moreno, E., Arias-Rico, J., Jaramillo-Morales, O. A., Calderón-Ramos, Z. G., Delgado-Olivares, L., ... & Cruz-Cansino NDS. *Opuntia ficus-indica* L. Mill residues—properties and application possibilities in food supplements. *Appl Sci.* 2020;10(9):3260.
44. Nebbache Salim, Chibani Abdelwaheb CR and BA. Chemical composition of *Opuntia ficus-indica* (L.) fruit. *African J Biotechnol.* 2009;8(8):1623–4.
45. Habibi, Y., Mahrouz, M., & Vignon MR. Microfibrillated cellulose from the peel of prickly pear fruits. *Food Chem.* 2009;115(2):423–9.
46. Terán, Y., Navas, D., Petit, D., Garrido, E., & D'Aubeterre R. Análisis de las características físico-químicas del fruto de *Opuntia ficus--indica* (L.) Miller, cosechados en Lara, Venezuela. *Rev Iberoam Tecnol Postcosecha.* 2015;16(1):69–74.
47. Andreu-Coll, L., Cano-Lamadrid, M., Sendra, E., Carbonell-Barrachina, Á., Legua, P., & Hernández F. Fatty acid profile of fruits (pulp and peel) and cladodes (young and old) of prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] from six Spanish cultivars. *J Food Compos Anal.* 2019;84(103294):1–8.
48. El-Said, N. M., Nagib, A. I., Rahman, Z. A., & Deraz SF. Prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill] peels: chemical composition, nutritional value, and protective effects on liver and kidney functions and cholesterol in rats. *Funct Plant Sci Biotechnol.* 2011;5(1):30–5.
49. El-Kossori R L, Villaume C, El Boustani E, Sauvaire Y ML. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus-indica* sp.). *Plant Food Hum Nutr.* 1998;(52):263–70.

50. FAO W. Human vitamin and mineral requirements: report of a joint FAO. WHO expert consultation. Food Nutr Div FAO Rome. 2001;
51. McDonough, A. A., & Youn JH. Potassium homeostasis: the knowns, the unknowns, and the health benefits. *Physiology*. 2017;32(2):100–11.
52. Fairweather-Tait, S. J., & Cashman K. Minerals and trace elements. In *Nutrition for the Primary Care Provider*. Karger Publishers; 2015. 45–52 p.
53. Cano, M. P., Gómez-Maqueo, A., García-Cayuela, T., & Welte-Chanes J. Characterization of carotenoid profile of Spanish Sanguinos and Verdal prickly pear (*Opuntia ficus-indica*, spp.) tissues. *Food Chem*. 2017;237:612–22.
54. De Wit, M., du Toit, A., Osthoff, G., & Hugo A. Cactus pear antioxidants: A comparison between fruit pulp, fruit peel, fruit seeds and cladodes of eight different cactus pear cultivars (*Opuntia ficus-indica* and *Opuntia robusta*). *J Food Meas Charact*. 2019;13(3):2347–56.
55. Michels, A. J., & Frei B. Myths, artifacts, and fatal flaws: identifying limitations and opportunities in vitamin C research. *Nutrients*. 2013;5(12):5161–92.
56. El-Beltagi, H. S., Mohamed, H. I., Elmelegy, A. A., Eldesoky, S. E., & Safwat G. Phytochemical screening, antimicrobial, antioxidant, anticancer activities and nutritional values of cactus (*Opuntia Ficus Indicia*) pulp and peel. *Fresenius Environ Bull*. 2019;28(2):1545–62.
57. Rodriguez, S., Orphee, C., Macias, S., Generoso, S., & Gomes GarcmHa L. Tuna: Propiedades físico-químicas de dos variedades. *Aliment Latinoam*. 1996;210:34–7.
58. Rasouli, H., Farzaei, M. H., & Khodarahmi R. Polyphenols and their benefits: A review. *Int J Food Prop*. 2017;20(2):1700–41.
59. Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp*. 2012;27(1):76–89.
60. Chiva-Blanch, G., & Visioli F. Polyphenols and health: Moving beyond antioxidants. *J Berry Res*. 2012;2(2):63–71.
61. Rahimi, P., Abedimanesh, S., Mesbah-Namin, S. A., & Ostadrahimi A. Betalains, the nature-inspired pigments, in health and diseases. *Crit Rev food Sci Nutr*. 2019;59(18):2949–78.
62. Seifried, R. M., Harrison, E., & Seifried HE. Antioxidants in health and disease. In *Nutrition in the prevention and treatment of disease*. 2017. 321–346 p.
63. Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S. & Felker P. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *J Agric Food Chem*. 2005;53(2):442-451.
64. Chavez-Santoscoy, R. A., Gutierrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar SO. Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia* spp.) juices. *Plant Foods Hum Nutr*. 2009;64(2):146–52.
65. Delgado-Vargas F. *Natural colorants for food and nutraceutical uses*. CRC press.; 2002.
66. Richhariya, G., Kumar, A., Tekasakul, P., & Gupta B. Natural dyes for dye sensitized solar cell: A review. *Renew Sustain Energy Rev*. 2017;69:705–18.
67. Gengatharan, A., Dykes, G. A., & Choo WS. Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. *LWT-Food Sci Technol*. 2015;64(2):645–9.
68. Amaya-Cruz, D. M., Pérez-Ramírez, I. F., Delgado-García, J., Mondragón-Jacobo, C., Dector-Espinoza, A., & Reynoso-Camacho R. An integral profile of bioactive compounds and functional properties of prickly pear (*Opuntia ficus indica* L.) peel with different tonalities. *Food Chem*. 2019;278:568–78.

69. Kanner, J., Harel, S., & Granit R. Betalains a new class of dietary cationized antioxidants. *J Agric Food Chem.* 2001;49(11):5178–85.
70. Wroblewska, M., Juskiwicz, J., & Wiczowski W. Physiological properties of beetroot crisps applied in standard and dyslipidaemic diets of rats. *Lipids Health Dis.* 2011;10(1):1–8.
71. Esatbeyoglu, T., Wagner, A. E., Motafakkerazad, R., Nakajima, Y., Matsugo, S., & Rimbach G. Free radical scavenging and antioxidant activity of betanin: Electron spin resonance spectroscopy studies and studies in cultured cells. *Food Chem Toxicol.* 2014;73:119–26.
72. Zou, D., Brewer, M., Garcia F., Feugang, J.M., Wang, J., Zang, R., Liu, H., Zou C. Cactus pear, a natural product in cancer chemoprevention. *Nutr J.* 2005;4(25):1–12.
73. Sreeranth, D., Arunasree, M. K., Roy, K. R., Reddy, T. C., Reddy, G. V., & Reddanna P. Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia Cell line-K562. *Phytomedicine.* 2007;14(11):739–46.
74. Veronese, N., Solmi, M., Caruso, M. G., Giannelli, G., Osella, A. R., Evangelou, E., Tzoulaki I. Dietary fiber and health outcomes: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Am J Clin Nutr.* 2018;107(3):436-444.
75. Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar GA. The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegvala, and Gustavo A. González-Aguilar. "The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants." *Journal of food scien. J Food Sci.* 2011;76(1):R6–15.
76. Saura-Calixto F, Serrano J GI. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chem.* 2007;(101):492–501.
77. Saura-Calixto F. Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *J Agric Food Chem.* 1998;46(10):4303-4306.
78. Sáyago-Ayerdi, S. G., & Goñi I. Hibiscus sabdariffa L: source of antioxidant dietary fiber. *Arch Latinoam Nutr.* 2010;60(1):79–84.
79. Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., & Conte A. In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem.* 2010;120(2):599–606.
80. Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr.* 2005;81(1):230S-242S.
81. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(5):727–47.
82. Faulks, R. M., & Southon S. Challenges to understanding and measuring carotenoid bioavailability. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Molecular Basis Dis.* 2005;1740(2):95–100.
83. Parada, J., & Aguilera JM. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *J Food Sci.* 2007;72(2):R21–32.
84. Hedren E, Diaz V SU. Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an in vitro digestion method. *Eur J Clin Nutr.* 2002;56(5):425–430.
85. Wang, Miaomiao, Wichienchot, S., He, X., Fu, X., Huang, Q., & Zhang B. In vitro colonic fermentation of dietary fibers: Fermentation rate, short-chain fatty acid production and changes in microbiota. *Trends Food Sci Technol.* 2019;88:1–9.
86. Bach Knudsen KE. Microbial degradation of whole-grain complex carbohydrates and impact on short-chain fatty acids and health. *Adv Nutr.* 2015;6(2):206–13.

87. Goñi, I., & Serrano J. The intake of dietary fiber from grape seeds modifies the antioxidant status in rat cecum. *J Sci Food Agric*. 2005;85(11):1877–81.
88. Al Hammadi E. Effects of Dietary Fiber Intake on Body Weight and Waist Circumference. *Arab J Nutr Exerc*. 2016;77–84.
89. Howarth, N. C., Saltzman, E., & Roberts SB. Dietary fiber and weight regulation. *Nutr Rev*. 2001;59(5):129–39.
90. Ruhee, R., & Suzuki K. Dietary fiber and its effect on obesity. *Adv Med Res*. 2018;1(1):1–13.
91. Burton-Freeman B. Dietary fiber and energy regulation. *J Nutr*. 2000;130(2):272S-275S.
92. Pereira, M. A., & Ludwig DS. Dietary fiber and body-weight regulation: observations and mechanisms. *Pediatr Clin North Am*. 2001;48(4):969–80.
93. Du H, Van der DL, Boshuizen HC, Forouhi NG WN. Dietary fiber and subsequent changes in body weight and waist circumference in European men and women. *Am J Clin Nutr*. 2009;91:329–36.
94. Hruby, A., & Hu FB. The epidemiology of obesity: a big picture. *Pharmacoeconomics*. 2015;33(7):673–89.
95. Blancas-Flores, G., Almanza-Pérez, J. C., López-Roa, R. I., Alarcón-Aguilar, F. J., García-Macedo, R., & Cruz M. La obesidad como un proceso inflamatorio. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2010;67(2):88–97.
96. Kim SY. The definition of obesity. *Korean J Fam Med*. 2016;37(6):309.
97. Hu FB. Obesity and mortality: watch your waist, not just your weight. *Arch Intern Med*. 2007;167(9):875–6.
98. Rodríguez-Torres, A., Casas-Patiño D. Determinantes sociales de la obesidad en México. *Rev enfermería del Inst Mex del Seguro Soc*. 2019;26(4):281–90.
99. Speliotes, E. K., Willer, C. J., Berndt, S. I., Monda, K. L., Thorleifsson, G., Jackson, A. U., Hui J. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat Genet*. 2010;42(11):937–48.
100. Suárez-Carmona, W., Sánchez-Oliver, A. J., González-Jurado JA. Fisiopatología de la obesidad: Perspectiva actual. *Rev Chil Nutr*. 2017;44(3):226–33.
101. OMS. Obesity and overweight [Internet]. 2021 [citado el 20 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
102. FAO. Panorama de la Seguridad Alimentaria y Nutricional en América Latina y el Caribe 2017 [Internet]. 2017. Disponible en: <https://www.fao.org/americas/publicaciones-audio-video/panorama/es/>
103. Namdar-Irani M. Combate contra la obesidad y sobrepeso. Iniciativas del sector privado en América Latina y el Caribe. *Organ las Nac Unidas para la Agric y la Aliment*. 2021;
104. Shamah-Levy T, Vielma-Orozco E, Heredia-Hernández O, Romero-Martínez M, Mojica-Cuevas J C-NL, Santaella-Castell JA R-DJ. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19: Resultados Nacionales. *Inst Nac Salud Pública*. 2020;
105. Barrera-Cruz, A., Rodríguez-González, A., Molina-Ayala MA. Escenario actual de la obesidad en México. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2013;51(3):292–9.
106. IMCO. Kilos de más, pesos de menos: Los costos de la obesidad en México. *Inst Mex la Compet*. 2015;

107. Grundy SM. Overnutrition, ectopic lipid and the metabolic syndrome. *J Investig Med*. 2016;64(6):1082–6.
108. Blüher, M., & Mantzoros CS. From leptin to other adipokines in health and disease: facts and expectations at the beginning of the 21st century. *Metabolism*. 2015;64(1):131–45.
109. Frühbeck G. Overview of adipose tissue and its role in obesity and metabolic disorders. *Adipose Tissue Protoc*. 2008;1–22.
110. Muir, L. A., Neeley, C. K., Meyer, K. A., Baker, N. A., Brosius, A. M., Washabaugh, A. R., O'Rourke RW. Adipose tissue fibrosis, hypertrophy, and hyperplasia: Correlations with diabetes in human obesity. *Obesity*. 2016;24(3):597–605.
111. Rosen ED. Two paths to fat. *Nat Cell Biol*. 2015;17(4):360–1.
112. Rodrigo-Cano, S., Soriano del Castillo, J. M., Merino-Torres JF. Causas y tratamiento de la obesidad. *Nutr clínica y dietética Hosp*. 2017;37(4):87–92.
113. Seagle, H. M., Strain, G. W., Makris, A., Reeves RS. Position of the American Dietetic Association: weight management. *J Am Diet Assoc*. 2009;109(2):3330–46.
114. Vilallonga, L., Repetti, M., & Delfante A. Tratamiento de la obesidad. *Abordaje nutricional. Hipertensión*. 2008;140:90.
115. Sierra, M., García, P. M., Flores, N. R. R., Herrera MF. Manejo nutricional, endoscópico y quirúrgico de la obesidad mórbida. *Rev Gastroenterol Mex*. 2010;75(2):43–51.
116. Félix, A. P., Sánchez, G. N., Solar, A. H., Baldoquín, J. A. G., Fernández JD. Surgical treatment of pathological obesity. *Rev Cuba Cirugía*. 2011;50(2):229–39.
117. Hasani-Ranjbar, S., Jouyandeh, Z., Abdollahi M. A systematic review of anti-obesity medicinal plants-an update. *J Diabetes Metab Disord*. 2013;12(1):1–10.
118. Pulipati, S., Srinivasa, B. P., Sree, N. B., Kumar, U. E., Shaheela, S. K., Krishna, J. M., Chakradhar T. A Modern Approach to Boost Health: Nutraceuticals. *Indian Pharm*. 2016;13(10):21–30.
119. Kalra EK. Nutraceutical-definition and introduction. *AAPS PharmSci*. 2003;5(3):27–8.
120. Ghosh, N., Sen CK. The promise of dietary supplements: research rigor and marketing claims. In *Nutrition and Enhanced Sports Performance*. Academic Press.; 2019. 759–766 p.
121. Monter-Arciniega, A., Hernández-Falcón, T. A., del Socorro Cruz-Cansino, N., Ramírez-Moreno, E., Alanís-García, E., Arias-Rico, J., & Ariza-Ortega JA. Functional Properties, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Purple Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) Waste: Comparison with Commercial Fibers. *Waste and Biomass Valorization*. 2019;10(10):2897–906.
122. Daliu, P., Santini, A., Novellino E. A decade of nutraceutical patents: Where are we now in 2018? *Expert Opin Ther Pat*. 2018;28(12):875–82.
123. Patel, C., Ghanim, H., Ravishankar, S., Sia, C. L., Viswanathan, P., Mohanty, P., Dandona P. Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor- κ B activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(11):4476–9.
124. Fernández-Sánchez, A., Madrigal-Santillán, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-González, Á., Esquivel-Chirino, C., Morales-González JA. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci*. 2011;12(5):3117–32.
125. Esposito, K., Ciotola, M., Schisano, B., Misso, L., Giannetti, G., Ceriello, A., Giugliano D. Oxidative stress in the metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest*. 2006;29(9):791–5.

126. Fonseca-Alaniz, M. H., Takada, J., Alonso-Vale, M. I. C., Lima FB. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83(5):S192–203.
127. Morrow JD. Is oxidant stress a connection between obesity and atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(3):368–70.
128. Perez-Chabela, M. L., Cerda-Tapia, A., Diaz-Vela, J., Delgadillo, P. C., Diaz, M. M., & Aleman G. Physiological effects of agroindustrial co-products: Cactus (*Opuntia Ficus*) pear peel flour and stripe apple (*Malus domestica*) marc flour on wistar rats (*Rattus norvegicus*). *Pakistan J Nutr*. 2015;14(6):346–52.
129. Monro, J.A., G. Paturi, C.A. Butts, W. Young, C.E. Guzman, A. McLachlan NCR and JA. Prebiotic effects of fermentable carbohydrate polymers may be modulated by faecal bulking of non-fermentable polysaccharides in the large bowel of rats. *Int J Food Sci Technol*. 2012;47(5):968–76.
130. Godard, M. P., Ewing, B. A., Pischel, I., Ziegler, A., Benedek, B., & Feistel B. Acute blood glucose lowering effects and long-term safety of OpunDia™ supplementation in pre-diabetic males and females. *J Ethnopharmacol*. 2010;130(3):631–4.
131. K Milán-Noris, A., A Chavez-Santoscoy, R., Olmos-Nakamura, A., A Gutiérrez-Urbe, J., & O Serna-Saldívar S. An extract from prickly pear peel (*Opuntia ficus-indica*) affects cholesterol excretion and hepatic cholesterol levels in hamsters fed hyperlipidemic diets. *Curr Bioact Compd*. 2016;12(1):10–6.
132. Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A. M., Allegra, M., & Livrea MA. Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(2):391–5.
133. Theobald JLHE. The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutr Bull*. 2006;31(3):178–224.
134. AOAC. Official Methods of Analysis 19th Edition. Arlington, VA.: Association of Official Analytical Chemists; 2012.
135. Brückner J. Estimation of monosaccharides by the orcinol–sulphuric acid reaction. *Biochem J*. 1955;60(2):200–5.
136. SIGMA. Total dietary fiber assay kit [Internet]. Disponible en: https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/512/199/tdf_100a_tdfc10_es.pdf
137. Ghanem, N., Mihoubi, D., Kechaou, N., Mihoubi NB. Microwave dehydration of three citrus peel cultivars: Effect on water and oil retention capacities, color, shrinkage and total phenols content. *Ind Crops Prod*. 2012;40(167–177).
138. Goni, I., Valdivieso, L., Gudiel-Urbano M. Capacity of edible seaweeds to modify in vitro starch digestibility of wheat bread. *Food Nahrung*. 2002;46(1):18–20.
139. Lamuela-Raventós RM. Folin–Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. *Meas Antioxid Act Capacit Recent Trends Appl*. 2017;107–17.
140. Kuskoski E M, Asuero A G, Troncoso A M, Mancini-Filho J FR. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Sci Technol*. 2005;25:726–32.
141. Carmona-Jiménez, Y., García-Moreno, M. V., Igartuburu, J. M., Barroso CG. Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *Food Chem*. 2014;165:198–204.
142. Zafra-Rojas Q, Cruz-Cansino N, Delgadillo-Ramírez A, Alanís- García E, Añorve-Morga J,

- Quintero-Lira A et al. Organic Acids, Antioxidants, and Dietary Fiber of Mexican Blackberry (*Rubus fruticosus*) Residues cv. Tupy. *J Food Qual.* 2018;1–9.
143. Sandoval-Gallegos, E. M., Ramirez-Moreno, E., Lucio, J. G. D., Arias-Rico, J., Cruz-Cansino, N., Ortiz, M. I., Carino-Cortes R. In vitro bioaccessibility and effect of *Mangifera indica* (Ataulfo) leaf extract on induced dyslipidemia. *J Med Food.* 2018;21(1):47–56.
 144. Saura-Calixto, F., Pérez-Jiménez, J., Touriño, S., Serrano, J., Fuguet, E., Torres, J. L., Goñi I. Proanthocyanidin metabolites associated with dietary fibre from in vitro colonic fermentation and proanthocyanidin metabolites in human plasma. *Mol Nutr Food Res.* 2010;54(7):939–46.
 145. Goñi, I., Martín-Carrón N. In vitro fermentation and hydration properties of commercial dietary fiber-rich supplements. *Nutr Res.* 1998;18(6):1077–89.
 146. Saura Calixto, Goñi Cambrodon, I., Pulido Ferrer, R., Martín Albarran C. Fibra dietética en la cerveza : contenido, composición y evaluación nutricional. *Cent Inf Cerveza y Salud.* 2002;
 147. Strahsburger E, Retamales P, Seeger JE & M. Microdot method: used with chromogenic agar is a useful procedure for sanitary monitoring in aquaculture. *Lat Am J Aquat Res.* 2016;44(4):742–9.
 148. Juárez, I., Ludwig, I. A., Bresciani, L., Dall’Asta, M., Mena, P., Del Rio, D., de Peña MP. Bioaccessibility of (poly) phenolic compounds of raw and cooked cardoon (*Cynara cardunculus* L.) after simulated gastrointestinal digestion and fermentation by human colonic microbiota. *J Funct Foods.* 2017;32:195–207.
 149. Luis Díaz-Batalla, Juan P. Hernández-Uribe , Alma D. Román-Gutiérrez, Raquel Cariño-Cortés, Javier Castro-Rosas, Alejandro Téllez-Jurado CAG-A. Chemical and nutritional characterization of raw and thermal-treated flours of Mesquite (*Prosopis laevigata*) pods and their residual brans. *CyTA - J Food.* 2018;16(1):444–51.
 150. USP. Uniformity of Dosage Units USP (911) [Internet]. Pharmacopeia US. 2016 [citado el 13 de enero de 2019]. Disponible en: https://www.usp.org/%0Asites/default/files/usp/document/harmonization/gen-method/q0304_stage_6_monograph_25_feb_2011.pdf.
 151. Pharmacopeia US. Tablet breaking force (USP 1217). 2016.
 152. Pharmacopeia US. Tablet friability (USP 1216). 2016.
 153. Pharmacopeia US. Disintegration (USP 701). 2019.
 154. OECD/OCDE. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP) [Internet]. 2008 [citado el 13 de enero de 2019]. Disponible en: <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oced/ocedtg425.pdf>
 155. Gangurde, J. S., Erande, K. B., & Shevale ML. Freeze drying: a review. *World J Pharm Res.* 2019;8(3):592.
 156. Vu, H. T., Scarlett, C. J., Vuong Q V. Effects of drying conditions on physicochemical and antioxidant properties of banana (*Musa cavendish*) peels. *Dry Technol.* 2017;35(9):1141–51.
 157. Chen, X., Ding, Y., Forrest, B., Oh, J., Bousset, S. M., Hamann MT. Lemon yellow# 15 a new highly stable, water soluble food colorant from the peel of Citrus limon. *Food Chem.* 2019;270:251–6.
 158. Hernández-Carranza, P., Rivadeneyra-Mata, M., Ramos-Cassellis, M. E., Aparicio-Fernández, X., Navarro-Cruz, A. R., Ávila-Sosa, R., & Ochoa-Velasco CE. Characterization of red prickly pear peel (*Opuntia ficus-indica* L.) and its mucilage obtained by traditional and novel methodologies. *J Food Meas Charact.* 2019;13(2):1111–9.

159. Bourhia, M., Elmahdaoui, H., Ullah, R., Bari, A., Benbacer L. Promising physical, physicochemical, and biochemical background contained in peels of prickly pear fruit growing under hard ecological conditions in the Mediterranean countries. *Biomed Res Int.* 2019;2019.
160. Ismail BP. Ash content determination. *Food Anal Lab Man.* 2017;117–9.
161. Badr, Azza MM, A. A. Bakr and MME-S. Prediction the nutritive value of prickly pear peels as a natural unconventional feed resource for feeding ruminants from chemical composition and in vitro digestibility using daisy ii incubator. *Egypt J Nutr Feed.* 2017;20(2):47–58.
162. Mohammed Bourhia, Hamza Elmahdaoui, Riaz Ullah SI, Shahat AA. Physicochemical evaluation of the fruit pulp of *Opuntia* spp growing in the Mediterranean area under hard climate conditions. *Open Chem.* 2020;10:565–575.
163. Felker P, Bunch RA. Mineral Nutrition of Cactus for Forage and Fruits. *Acta Hortic.* 2009;811:389–94.
164. Gowe C. Review on potential use of fruit and vegetables by-products as a valuable source of natural food additives. *Food Sci Qual Manag.* 2015;45:47–61.
165. Oreopoulou, V., Tzia C. Utilization of plant by-products for the recovery of proteins, dietary fibers, antioxidants, and colorants. *Util by-products Treat waste food Ind.* 2007;209–32.
166. Ribeiro, E. M. D. O., Silva, N. H. D., Lima Filho, J. L. D., Brito, J. Z. D., Silva MDPD. Study of carbohydrates present in the cladodes of *Opuntia ficus-indica* (fodder palm), according to age and season. *Food Sci Technol.* 2010;30:933–9.
167. Todaro, M., Alabiso, M., Di Grigoli, A., Scatassa, M. L., Cardamone, C., Mancuso, I., ... & Bonanno A. Prickly Pear By-Product in the Feeding of Livestock Ruminants: Preliminary Investigation. *Animals.* 2020;10(6):949.
168. Parafati, L., Restuccia, C., Palmeri, R., Fallico, B., Arena E. Characterization of prickly pear peel flour as a bioactive and functional ingredient in bread preparation. *Foods.* 2020;9(9):1189.
169. Mayhua Ramirez, A., Matos Chamorro RA. Obtención de pectina a partir de la cáscara de tuna (*Opuntia ficus*). 2010;
170. Graça Miguel, M., Gago, C., Valente, R., Guerreiro, A., Antunes, D., Manhita, A., Barrocas-Dias C. Qualitative evaluation of fruits from different *Opuntia ficus-indica* ecotypes/cultivars harvested in South Portugal. 2018. 42(6):e12652.
171. Cho SS. *Handbook of Dietary Fiber.* CRC Pres; 2001.
172. Valencia F E RM. Physicalchemical and functional characterization of three commercial concentrates from dietary fiber. *Rev Vitae.* 2009;13:54–60.
173. Huang Y L, Chow C J FYJ. Preparation and physicochemical properties of fiber-rich fraction from pineapple peels as a potential ingredient. *J Food Drug Anal.* 2011;19:318–23.
174. Deepak, Mudgil. Sheweta B. *Dietary Fiber: Properties, Recovery, and Applications.* Academic Press; 2019. 27–58 p.
175. Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chem.* 2011;124(2):411–21.
176. Jacobs, P. J., Hemdane, S., Dornez, E., Delcour, J. A., Courtin CM. Study of hydration properties of wheat bran as a function of particle size. *Food Chem.* 2015;179:296–304.
177. Tan, Chengquan., Wei, H., Zhao, X., Xu, C., Zhou, Y., & Peng J. Soluble fiber with high water-

- binding capacity, swelling capacity, and fermentability reduces food intake by promoting satiety rather than satiation in rats. *Nutrients*. 2016;8(10):615.
178. Escudero Álvarez, E., & González Sánchez P. La fibra dietética. *Nutr Hosp*. 2006;21:61–72.
 179. Nelson AL. Properties of high-fiber ingredients. *Cereal Foods World*. 2001;46(3):93–7.
 180. Fernández-López, J., J. Fernández-Ginés, L. Aleson, E. Sendra ES and JP-Á. Application of functional citrus by-products to meat products. *Trends Food Sci Technol*. 2004;15(3):176–85.
 181. Caprita, A., Caprita, R., Simulescu, V. O., & Drehe RM. Dietary fiber: chemical and functional properties. *J Agroalimnt Process Technol*. 2010;16(4):406–10.
 182. Gómez Aldapa CA. Evaluación del Efecto Antihiperoglucémico del Bagazo de Naranja (*Citrus sinensis* var. Valencia) en Estudios in vitro. *Congr Cienc los Aliment y v foro Cienc y Tecnol Aliment*. 2008;722–9.
 183. Mishra, Ashutosh., & Jha S. In vitro Postprandial Glucose lowering effects of Dietary fibers Isolated from *amarindus indica* and *Cassia fistula* seeds. *Am J Food Technol*. 2011;6(5):435–40.
 184. Weickert, M. O., & Pfeiffer AF. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *J Nutr*. 2008;138(3):439–42.
 185. Chi-Fai, Cha. Ya-Ling, Huang. Mao-Hsiang L. In Vitro Hypoglycemic Effects of Different Insoluble Fiber-Rich Fractions Prepared from the Peel of *Citrus Sinensis* L. cv. Liucheng. *J Agric Food Chem*. 2003;51(22):6623–6626.
 186. Amy Rispin, David Farrar, Elizabeth Margosches, Kailash Gupta, Katherine Stitzel, Gregory Carr, Michael Greene, William Meyer DM. Alternative Methods for the Median Lethal Dose (LD 50) Test: The Up-and-Down Procedure for Acute Oral Toxicity. *ILAR J*. 2002;43(4):233–243.
 187. Sotler, R., Poljšak, B., Dahmane, R., Jukić, T., Jukić, D. P., Rotim, C., Starc A. Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. *Acta Clin Croat*. 2019;58(4):726.
 188. Yordi, E. G., Pérez, E. M., Matos, M. J., & Villares EU. Antioxidant and pro-oxidant effects of polyphenolic compounds and structure-activity relationship evidence. *Nutr well-being Heal*. 2012;2:23–48.
 189. Vuksan, V., Jenkins, A. L., Jenkins, D. J., Rogovik, A. L., Sievenpiper, J. L., & Jovanovski E. Using cereal to increase dietary fiber intake to the recommended level and the effect of fiber on bowel function in healthy persons consuming North American diets. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(5):1256–62.
 190. Halmi, S., Benlaksira, B., Bechtarzi, K., Berouel, K., Serakta, M., Richi, F., ... & Hamdipacha Y. Pharmacotoxicological study of *Opuntia ficus indica* L. aqueous extract in experimental animals. *Int J Med Aromat Plants*. 2013;3(3):375–81.
 191. Touiti, Noufissa., Bousta, D., Boukhira, S., Chebaibi, M., & Achour S. Phytochemical Screening, Acute and Sub-Acute Toxicity of Aqueous Extract from a Mixture of Some Recipe of *Herniaria glabra* L., *Opuntia ficus-indica*, *Zea mays* L. and *Zizyphus lotus* L. Used Traditionally against Renal Lithiases. *Pharmacognosy Res*. 2020;12(1).
 192. A Boukeloua, A Belkhiri, Z Djerrou, L Bahri, N Boulebd YHP. Acute toxicity of *Opuntia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* seed oils in mice. *African J Tradit Complement Altern Med*. 2012;99(4):607–11.
 193. Aguilera, C.A.; Tovar, J.C.; Rosales, S.A.; Pérez, L.; Guadalupaseso, M.; Arroyo, H.S.; Hernández MS. Límites máximos de residuos e intervalos de seguridad de plaguicidas en tuna, *Opuntia ficus-indica*. Master's Thesis. Mexico City, Mexico: Colegio de Postgraduados

(COLPOS) Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT); 2008.

194. Mottese, A.F.; Naccari, C.; Vadalà, R.; Bua, G.D.; Bartolomeo, G.; Rando, R.; Giacomo, D.; Nicola C. Traceability of *Opuntia ficus-indica* L. Miller by ICP-MS multi-element profile and chemometric approach. *J Sci Food Agric*. 2018;98:198–204.
195. Brownlee, I. A., Chater, P. I., Pearson, J. P., Wilcox MD. Dietary fibre and weight loss: Where are we now? . *Food Hydrocoll*. 2017;68:186–91.
196. Bakour, M., Al-Waili, N., El-Haskoury, R., El-Menyiy, N., Al-Waili, T., Ali, A. L., Lyoussi B. Comparison of hypotensive, diuretic and renal effects between cladodes of *Opuntia ficus-indica* and furosemide. *Asian Pac J Trop Med*. 2017;10(9):900–6.
197. Onakpoya, I. J., O'Sullivan, J., & Heneghan CJ. The effect of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) on body weight and cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Nutrition*. 2015;31(5):640–6.
198. Puy Torres S. Fermentación colónica in vitro de compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva [Internet]. 2013. Disponible en: <https://repositori.udl.cat/handle/10459.1/47248>
199. Tesoriere, L., Fazzari, M., Angileri, F., Gentile, C., & Livrea MA. In vitro digestion of betalainic foods. Stability and bioaccessibility of betaxanthins and betacyanins and antioxidative potential of food digesta. *J Agric Food Chem*. 2008;56(22):10487–92.
200. Gómez-Maqueo, A., Antunes-Ricardo, M., Welti-Chanes, J., & Cano MP. Digestive stability and bioaccessibility of antioxidants in prickly pear fruits from the Canary Islands: healthy foods and ingredients. *Antioxidants*. 2020;9(2):164.
201. Halliwell B. Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health? *Cardiovasc Res*. 2007;73(2):341–7.
202. Ghafoor, K., Choi YH. Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds and antioxidants from grape peel through response surface methodology. *J Korean Soc Appl Biol Chem*. 2009;52(3):295–300.
203. Vieira, F. G. K., Borges, G. D. S. C., Copetti, C., Amboni, R. D. D. M. C., Denardi, F., Fett R. Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil. *Sci Hortic (Amsterdam)*. 2009;122(3):421–5.
204. Michalak A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish J Environ Stud*. 2006;15(4).
205. De Santiago, E., Gill, C. I., Carafa, I., Tuohy, K. M., De Peña, M. P., Cid C. Digestion and colonic fermentation of raw and cooked *Opuntia ficus-indica* cladodes impacts bioaccessibility and bioactivity. *J Agric Food Chem*. 2019;67(9):2490–9.
206. Zafra-Rojas, Q. Y., González-Martínez, B. E., del Socorro Cruz-Cansino, N., López-Cabanillas, M., Suárez-Jacobo, Á., Cervantes-Elizarrarás, A., Ramírez-Moreno E. Effect of ultrasound on in vitro bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant capacity of blackberry (*Rubus fruticosus*) residues cv. Tupy. *Plant Foods Hum Nutr*. 2020;75(4):608–13.
207. Burgos-Edwards, A., Jiménez-Aspee, F., Thomas-Valdés, S., Schmeda-Hirschmann, G., & Theoduloz C. Qualitative and quantitative changes in polyphenol composition and bioactivity of *Ribes magellanicum* and *R. punctatum* after in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chem*. 2017;237:1073–82.
208. Leontowicz, M., Gorinstein, S., Leontowicz, H., Krzeminski, R., Lojek, A., Katrich, E., ... & Trakhtenberg S. Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. *J Agric Food Chem*. 2003;51(19):5780–5.

209. Baskar, R., Shrisakthi, S., Sathyapriya, B., Shyampriya, R., Nithya, R., Poongodi P. Antioxidant potential of peel extracts of banana varieties (*Musa sapientum*). *Food Nutr Sci.* 2011;
210. Tirzitis, G., & Bartosz G. Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Biochim Pol.* 2010;57(2).
211. Cardador-Martínez A, Jiménez-Martínez C SG. Revalorization of cactus pear (*Opuntia* spp.) wastes as a source of antioxidants. *Food Sci Tech.* 2011;31:782–8.
212. Benzie, I. F., Choi SW. Antioxidants in food: content, measurement, significance, action, cautions, caveats, and research needs. *Adv Food Nutr Res.* 2014;71:1–53.
213. Valero-Galván, J., González-Fernández, R., Sigala-Hernández, A., Núñez-Gastélum, J. A., Ruiz-May, E., Rodrigo-García, J., Martínez-Ruiz N del R. Sensory attributes, physicochemical and antioxidant characteristics, and protein profile of wild prickly pear fruits (*O. macrocentra* Engelm., *O. phaeacantha* Engelm., and *O. engelmannii* Salm-Dyck ex Engelmann.) and commercial prickly pear fruits (*O. ficus*-). *Food Res Int.* 2020;
214. Diaz-Vela, J., Totosaus, A., Cruz-Guerrero, A. E., de Lourdes Pérez-Chabela M. In vitro evaluation of the fermentation of added-value agroindustrial by-products: cactus pear (*O. punctata* L.) peel and pineapple (*Ananas comosus*) peel as functional ingredients. *Int J food Sci Technol.* 2013;48(7):1460–7.
215. Tejada-Ortigoza, V., Garcia-Amezquita, L. E., Kazem, A. E., Campanella, O. H., Cano, M. P., Hamaker, B. R., Welti-Chanes J. In vitro fecal fermentation of high pressure-treated fruit peels used as dietary fiber sources. *Molecules.* 2019;24(4):697.
216. Sasaki, D., Sasaki, K., Ikuta, N., Yasuda, T., Fukuda, I., Kondo, A., & Osawa R. Low amounts of dietary fibre increase in vitro production of short-chain fatty acids without changing human colonic microbiota structure. *Sci Rep.* 2018;8(1):1–9.
217. Canani, R. B., Di Costanzo, M., Leone, L., Pedata, M., Meli, R., Calignano A. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World J Gastroenterol.* 2011;17(12):1519.
218. Macfarlane, G. T., Macfarlane S. Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J AOAC Int.* 2012;95(1):50–60.
219. Goñi, I., Gudiel-Urbano, M., Bravo, L., & Saura-Calixto F. Dietary modulation of bacterial fermentative capacity by edible seaweeds in rats. *J Agric Food Chem.* 2001;49(5):2663–266.
220. Goñi, I., Martín, N., & Saura-Calixto F. In vitro digestibility and intestinal fermentation of grape seed and peel. *Food Chem.* 2005;90(1):281–6.
221. L D Bourquin, E C Titgemeyer, K A Garleb GCFJ. Short-chain fatty acid production and fiber degradation by human colonic bacteria: effects of substrate and cell wall fractionation procedures. *J Nutr.* 1992;122(7):1508–20.
222. Vahabzadeh, M., Dayani, O., Nasr J. The Chemical Composition, Digestibility and Degradability of Processed Pistachio Peel with *Neurospora sitophila*. *Iran J Appl Anim Sci.* 2016;6(3):543–50.
223. Baah, J., Tait, R. M., & Tuah AK. Selecting browse plants to supplement cassava peel-based diet for peri-urban small ruminants. *Small Rumin Res.* 2011;96(1):36–40.
224. Donadelli, R. A., Titgemeyer, E. C., Aldrich CG. Organic matter disappearance and production of short-and branched-chain fatty acids from selected fiber sources used in pet foods by a canine in vitro fermentation model. *J Anim Sci.* 2019;97(11):4352–539.
225. Titgemeyer, E. C., Bourquin, L. D., Fahey Jr, G. C., Garleb KA. Fermentability of various fiber

- sources by human fecal bacteria in vitro. *Am J Clin Nutr.* 1991;53(6):1418–24.
226. Parra-Matadamas, A., Mayorga-Reyes, L., & Pérez-Chabela ML. In vitro fermentation of agroindustrial by-products: grapefruit albedo and peel, cactus pear peel and pineapple peel by lactic acid bacteria. *Int Food Res J.* 2015;22(2).
 227. Bussolo de Souza, C., Roeselers, G., Troost, F., Jonkers, D., Koenen, M. E., & Venema K. Prebiotic effects of cassava bagasse in TNO's in vitro model of the colon in lean versus obese microbiota. *J Funct Foods.* 2014;11:210–20.
 228. Hijova, E., & Chmelarova A. Short chain fatty acids and colonic health. *Bratisl Lek Listy.* 2007;108(8):354.
 229. Robbins RJ. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *J Agric Food Chem.* 2003;51(10):2866–87.
 230. Hernández-Maldonado, L. M., Blancas-Benítez, F. J., Zamora-Gasga, V. M., Cárdenas-Castro, A. P., Tovar, J., & Sáyago-Ayerdi SG. In Vitro Gastrointestinal Digestion and Colonic Fermentation of High Dietary Fiber and Antioxidant-Rich Mango (*Mangifera indica* L.) "Ataulfo"-Based Fruit Bars. *Nutrients.* 2019;11(7):1564.
 231. Sato, Yuki., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., ... & Iseki K. In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *Int J Pharm.* 2011;403(1–2):136–8.
 232. Williamson, G., & Clifford MN. Role of the small intestine, colon and microbiota in determining the metabolic fate of polyphenols. *Biochem Pharmacol.* 2017;139:24–39.
 233. Srinivasan, M., Sudheer, A. R., & Menon VP. Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *J Clin Biochem Nutr.* 2007;40(2):92–100.
 234. Tomas, Merve, Rocchetti, G., Ghisoni, S., Giuberti, G., Capanoglu, E., & Lucini L. Effect of different soluble dietary fibres on the phenolic profile of blackberry puree subjected to in vitro gastrointestinal digestion and large intestine fermentation. *Food Res Int.* 2020;130:108954.
 235. Dong, R., Liu, S., Zheng, Y., Zhang, X., He, Z., Wang, Z., ... & Yu Q. Release and metabolism of bound polyphenols from carrot dietary fiber and their potential activity in in vitro digestion and colonic fermentation. *Food Funct.* 2020;11(7):6652–65.
 236. Boz H. p-Coumaric acid in cereals: presence, antioxidant and antimicrobial effects. *Food Sci Technol.* 2015;50(11):2323–8.
 237. Zang, L. Y., Cosma, G., Gardner, H., Shi, X., Castranova, V., & Vallyathan V. Effect of antioxidant protection by p-coumaric acid on low-density lipoprotein cholesterol oxidation. *Am J Physiol Physiol.* 2000;279(4):C954–60.
 238. Sánchez-Patán, F., Cueva, C., Monagas, M., Walton, G. E., Gibson M, G. R., Quintanilla-López, J. E., ... & Bartolomé B. In Vitro Fermentation of a Red Wine Extract by Human Gut Microbiota: Changes in Microbial Groups and Formation of Phenolic Metabolites. *J Agric Food Chem.* 2012;60(9):2136–47.
 239. Quatrin, A., Rampelotto, C., Pauletto, R., Maurer, L. H., Nichelle, S. M., Klein, B., ... & Emanuelli T. Bioaccessibility and catabolism of phenolic compounds from jaboticaba (*Myrciaria trunciflora*) fruit peel during in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation. *J Funct Foods.* 2020;65:103714.
 240. Semaming, Y., Pannengpetch, P., Chattipakorn, S. C., & Chattipakorn N. Pharmacological Properties of Protocatechuic Acid and Its Potential Roles as Complementary Medicine. *Evidence-Based Complement Altern Med.* 2015;2015.
 241. Chait, Yasmina. A., Gunenc, A., Bendali, F., & Hosseinian F. Simulated gastrointestinal

- digestion and in vitro colonic fermentation of carob polyphenols. Bioaccessibility bioactivity LWT. 2020;117(108623).
242. Li, Y., & Ding Y. Minireview: Therapeutic potential of myricetin in diabetes mellitus. Food Sci Hum Wellness. 2012;1(1):19–25.
 243. Sun, Y., Guo, F., Peng, X., Cheng, K., Xiao, L., Zhang, H., ... & Deng Z. Metabolism of Phenolics of Tetrastigma hemsleyanum Roots under In Vitro Digestion and Colonic Fermentation as Well as Their In Vivo Antioxidant Activity in Rats. Foods. 2021;10(9):2123.
 244. Chang, Q., Zuo, Z., Chow, M. S., & Ho WK. Difference in absorption of the two structurally similar flavonoid glycosides, hyperoside and isoquercitrin, in rats. Eur J Pharm Biopharm. 2005;59(3):549–55.
 245. Kumar, R., Vijayalakshmi, S., & Nadasabapathi S. Health benefits of quercetin. Def Life Sci J. 2017;2(2):142–51.
 246. Wang, M., Firman, J., Zhang, L., Arango-Argoty, G., Tomasula, P., Liu, L., ... & Yam K. Apigenin Impacts the Growth of the Gut Microbiota and Alters the Gene Expression of Enterococcus. Apigenin impacts growth gut microbiota alters gene Expr Enterococcus. 2017;22(8):1292.
 247. Chen, A. Y., & Chen YC. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. Food Chem. 2013;138(4):2099–107.
 248. Wu C Y SJP. A comparative study of compaction properties of binary and bilayer tablets. Powder Technol. 2009;189:285–94.
 249. Awofisayo S O, Awofisayo O A, Eyen N UIE. Comparative assessment of the quality control measurements of multisource ofloxacin tablets marketed in Nigeria. Dissolut Technol. 2010;17:20–5.
 250. Patel S, Kaushal A M BAK. Compression physics in the formulation development of tablets. Crit Rev Ther Drug Carr Syst. 2006;23:1–65.
 251. Pharmacopeia US. Uniformity of dosage units (USP 911). 2011.
 252. Khule N R, Mahale N B, Shelar D S, Rokade M M CSR. Extraction of pectin from citrus fruit peel and use as natural binder in paracetamol tablet. Pharm Lett. 2012;4:558–64.
 253. Bansal J, Malviya R, Malaviya T, Bhardwaj V SP. Evaluation of Banana peel Pectin as excipient in solid Oral Dosage Form. Glob J Pharmacol. 2014;8(2):275–8.
 254. US Department of Health and Human Services & F and DA. Size, shape, and other physical attributes of generic tablets and capsules guidance for industry. 2015.
 255. Patel S SCC. Macroindentation hardness measurement modernization and applications. Int J Pharm. 2016;506:262–7.
 256. Srivastava P MR. Extraction, characterization and evaluation of orange peel waste derived pectin as a pharmaceutical excipient. Open Nat Prod J. 2011;(1):65-70.
 257. Porter S, Sackett G LL. Development, optimization, and scale-up of process parameters: pan coating. In Developing solid oral dosage forms. Acad Press. 2017;953–96.
 258. Urakov, A., Urakova, N., Reshetnikov, A., Kasatkin, A., Kopylov, M., & Baimurzin D. About what is happening in the stomach after swallowing human river pebbles, gravel, chalk, clay and tablets drugs. Építőanyag (Online). 2016;4:110.
 259. Gohel M C JPD. A review of co-processed directly compressible excipients. J Pharm Sci. 2005;8:76–93.

260. Goyanes, A., Martinez, P. R., Buanz, A., Basit, A. W., & Gaisford S. Effect of geometry on drug release from 3D printed tablets. *Int J Pharm.* 2015;494(2):657–63.
261. Quodbach J KP. Performance of tablet disintegrants: impact of storage conditions and relative tablet density. *Pharm Dev Technol.* 2015;20:762–8.
262. Filson P B D-ABE. Sono-chemical preparation of cellulose nanocrystals from lignocellulose derived materials. *Bioresour Technol.* 2009;100(7):2259–64.
263. Boschini F, Delaval V, Traina K, Vandewalle N LG. Linking flowability and granulometry of lactose powders. *Int J Pharm.* 2015;494:312–20.
264. L V. The excipients and their functionality in pharmaceutical solid products. *Rev Mex C Farm.* 2011;42:18–36.
265. Kaerger J S, Edge S PR. Influence of particle size and shape on flowability and compactibility of binary mixtures of paracetamol and microcrystalline cellulose. *Eur J Pharm Sci.* 2004;22:173–9.
266. Pathare P B, Umezuruike L O FAJ. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food Bioprocess Tech.* 2013;6:36–60.
267. Sánchez, F. D., López, E. M. S., Kerstupp, S. F., Ibarra, R. V., & Scheinvar L. Colorant extraction from red prickly pear (*Opuntia lasiacantha*) for food application. *Electron J Environ Agric Food Chem.* 2006;5(2):1330–7.
268. Cejudo-Bastante M J, Chaalal M, Louaileche H, Parrado J HFJ. Betalain profile, phenolic content, and color characterization of different parts and varieties of *Opuntia ficus-indica*. *J Agric Food Chem.* 2014;(62):8491–9.
269. Ö T. Innovative mandarin peel effervescent tablet as antioxidant and anticarcinogen food supplement: bioactive flavanones and phenolic acids by HPLC-DAD and LC-esiqtoff mass spectrometry. *Food Heal Technol Innov.* 2018;1:75–80.
270. Ma. Valero Zanuy MLS. Empleo de suplementos nutricionales orales basado en la evidencia. *Endocrinol y Nutr.* 2005;52(s2):34–40.
271. Royne, M. B., Fox, A. K., Deitz, G. D., & Gibson T. The effects of health consciousness and familiarity with DTCA on perceptions of dietary supplements. *J Consum Aff.* 2014;48(3):515–34.
272. Kang, S., Song, S., Lee, J., Chang, H., & Lee S. Clinical investigations of the effect of Citrus unshiu peel pellet on obesity and lipid profile. *Evidence-Based Complement Altern Med.* 2018;2018.
273. Butterweck, V., Semlin, L., Feistel, B., Pischel, I., Bauer, K., & Verspohl EJ. Comparative evaluation of two different *Opuntia ficus-indica* extracts for blood sugar lowering effects in rats. *Phyther Res.* 2011;25(3):370–5.
274. Deldicque, L., Van Proeyen, K., Ramaekers, M., Pischel, I., Sievers, H., & Hespel P. Additive insulinogenic action of *Opuntia ficus-indica* cladode and fruit skin extract and leucine after exercise in healthy males. *J Int Soc Sports Nutr.* 2013;10(1):1–6.
275. Solah, V. A., Brand-Miller, J. C., Atkinson, F. S., Gahler, R. J., Kacinik, V., Lyon, M. R., & Wood S. Dose–response effect of a novel functional fibre, PolyGlycopleX®, PGX®, on satiety. *Appetite.* 2014;77c:72–6.
276. Arias-Rico, J., Cerón-Sandoval, M. I., Sandoval-Gallegos, E. M., Ramírez-Moreno, E., Fernández-Cortés, T. L., Jaimez-Ordaz, J., ... & Añorve-Morga J. Evaluation of consumption of poultry products enriched with omega-3 fatty acids in anthropometric, biochemical, and cardiovascular parameters. *J Food Qual.* 2018;2018.

277. WHO. Guideline: sugars intake for adults and children [Internet]. 2015 [citado el 1 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549028>
278. Pérez-Cruz, E., Calderón-Du Pont, D. E., Cardoso-Martínez, C., Dina-Arredondo, V. I., Gutiérrez-Déciga, M., Mendoza-Fuentes, C. E., ... & Volantín-Juárez FE. Estrategias nutricionales en el tratamiento del paciente con diabetes mellitus. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2020;58(1):50–60.
279. Pérez-Ferrer, C., McMunn, A., Zaninotto, P., & Brunner EJ. The nutrition transition in Mexico 1988–2016: the role of wealth in the social patterning of obesity by education. *Public Health Nutr.* 2018;21(13):2394–401.
280. WHO. Fat intake [Internet]. 2002 [citado el 21 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/data/gho/indicator-metadata-registry/imr-details/3418>
281. Daoud, E., Scheede-Bergdahl, C., & Bergdahl A. Effects of dietary macronutrients on plasma lipid levels and the consequence for cardiovascular disease. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2014;1(3):201–13.
282. Wu G. Dietary protein intake and human health. *Food Funct.* 2016;7(3).
283. Grimes, C. A., Bolton, K. A., Booth, A. B., Khokhar, D., He, F. H., & Nowson CA. The association between dietary sodium intake, adiposity and sugar-sweetened beverages in children and adults: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr.* 2020;1–53.
284. Cummings, J. H., & Stephen AM. Carbohydrate terminology and classification. *Eur J Clin Nutr.* 2007;61(1):S5–18.
285. WHO. Sodium intake for adults and children [Internet]. World Health Organization. 2012. Disponible en: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789241504836>
286. Sánchez-Pimienta, T. G., Batis, C., Lutter, C. K., & Rivera JA. Sugar-Sweetened Beverages Are the Main Sources of Added Sugar Intake in the Mexican Population. *J Nutr.* 2016;146(9):1888S – 1896.
287. Health E of sugar intake towards human. Effect of sugar intake towards human health. *Saudi J Med.* 2016;1(2):29–36.
288. Zhu, Z., Cui, X., Wei, X., Zang, J., Feng, J., Wang, Z., & Shi Z. Dietary Sodium Intake Is Positively Associated with Sugar-Sweetened Beverage Consumption in Chinese Children and Adolescents. *Nutrients.* 2021;13(11):3449.
289. Argüelles, J., Núñez, P., & Perillán C. Consumo excesivo de sal e hipertensión arterial: Implicaciones para la salud pública. *Rev Mex Trastor Aliment.* 2018;9(1):119–28.
290. Gaitán, D., Chamorro, R., Cediél, G., Lozano, G., & Gomes FDS(. Sodio y enfermedad cardiovascular: contexto en Latinoamérica. Gaitán, D, Chamorro, R, Cediél, G, Lozano, G, Gomes, F D S. 2015;65(4):206–15.
291. Mozaffarian, D., Fahmi, S., Singh, G. M., Micha, R., Khatibzadeh, S., Engell RE et al. Global sodium consumption and death from cardiovascular causes. Mozaffarian, D, Fahmi, S, Singh, G M, Micha, R, Khatibzadeh, S, Engell, R E al. 2014;371:624–34.

Este trabajo está dedicado en primer lugar a mi madre, por creer en mí y por su apoyo incondicional.

Está dedicado muy en especial a la Dra Nelly Cruz, gracias por todo el aprendizaje en esta etapa, que va mucho más allá de lo académico.

Agradezco infinitamente a esa segunda familia que se formó en el laboratorio, Quina, Alicia, Mariel, Lili, Ana, Liz, Gloria Claudia, Luis, Traspeña, Eli. sin ustedes nada hubiera sido igual.

¡Gracias por todo!