



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MAESTRÍA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

TESIS

**ESTUDIO METABOLÓMICO DE TRECE
ACCESIONES DE TUNA CULTIVADAS EN
MÉXICO**

**Para obtener el grado de
Maestra en Ciencia de los Alimentos**

PRESENTA

Ing. Mireya Ramírez Pérez

Directora

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Codirectora

Dra. Elvia Becerra Martínez

Asesores

Dr. César Uriel López Palestina
Dr. José Manuel Pinedo Espinoza

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 21 de octubre de 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
Instituto de Ciencias Agropecuarias
School of Forestry and Environmental Studies
Maestría en Ciencia de los Alimentos

COORDINACION DE INVESTIGACION Y POSGRADO DEL ICAP

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos
Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: "Estudio metabólico de trece accesiones de tuna cultivadas en México", que desarrolla el estudiante Mireya Ramírez Pérez

Asistentes:

Dra. Alma Della Hernández Fuentes
Dra. Elvia Becerra Martínez
Dr. César Uriel López Palestina
Dr. José Manuel Pinedo Espinoza

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la estudiante, Mireya Ramírez Pérez, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que la estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 21 de octubre de 2022

Dra. Alma Della Hernández Fuentes

Dra. Elvia Becerra Martínez

Dr. César Uriel López Palestina

Dr. José Manuel Pinedo Espinoza



Handwritten signatures in blue ink on four horizontal lines.



Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Aquetzalpa,
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43800
Teléfono +52 (771) 71 72000 ext. 2425
maestria_alimentos@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

AGRADECIENTOS

Quiero agradecer a Dios, a la vida, el destino por la oportunidad de realizar este proyecto y por ponerme en el camino a las personas que me conocí, que me acompañaron y me guiaron en este proceso no solo de aprendizaje, enseñanza académica, crecimiento profesional sino también de crecimiento personal

A la Dra. Alma gracias por invitarme e integrarme a su equipo de trabajo, por considerarme y darme tantas oportunidades, por todo el apoyo durante este proceso, por sus consejos; mi más sincero respeto y admiración por el trabajo que como mujer desempeña en el área de investigación agronómica y por la creatividad académica.

A la Dra. Elvia, mi mayor admiración y respeto por la excelente académica que es, y la vocación docente que tiene, por ser el pilar en esta investigación, gracias por su dirección, sus consejos, por compartir sus conocimientos y por toda la paciencia al enseñarme, corregirme y motivarme.

Al Dr. César por responder a mis dudas, por la ayuda y los consejos académicos en este proceso de investigación, mi admiración la excelente persona que es y ser parte importante del compañerismo y del buen ambiente laboral del laboratorio.

Al Dr. Arturo, por recibirme en la estancia mi mayor respeto y admiración por el trabajo académico y su vocación docente, pero sobre todo por la excelente calidad humana, por el apoyo y guía durante ese proceso, gracias por los consejos, por corregirme, para ayudarme a mejorar, motivarme y hacerme crecer.

A mis compañeros del laboratorio de postcosecha

A Iza por ser mi compañerita, confidente y amiga, por compartir todo este proceso de convertirnos en M.C. juntas, gracias por toda la ayuda en lo experimental, académico y en lo personal, por preocuparte, y motivarme, por las risas, y el montón de platicas compartidas

Anita gracias por la inducción al trabajo en el laboratorio, por tu apoyo para explicarnos las técnicas, resolver nuestras dudas y retroalimentarnos, gracias por las pláticas, por escucharme y por tus consejos eres un excelente persona y amiga.

A mis compañeros y amigos del laboratorio de postcosecha Ara, Sandy, y César gracias por motivarme, sobre todo en la parte final de este proceso, gracias por su amistad, compañerismo por las pláticas, los consejos, las risas y la convivencia.

Alberto gracias por no dejarme sola en Quebec por ser mi compañero y amigo, por las pláticas, consejos, risas y los momentos compartidos en tan bonita experiencia.

Esteban gracias por las pláticas infinitas, el apoyo, por creer y hacerme creer en mí, por las risas y momentos compartidos.

DEDICATORIA

EN MEMORIA DE MI PADRE, porque esta etapa me dio la oportunidad de estar contigo y de convivir como nunca, gracias por el apoyo que siempre me diste, por los consejos, los regaños, por consentirme y motivarme cuando el camino era complicado , dejaste enseñanzas en mí que me han hecho la persona que soy.

A mi mama por el amor, el cariño, la paciencia que siempre me has tenido. Por creer en mí, escucharme y motivarme en cada una de mis decisiones, consentirme, aconsejarme y apoyarme incondicionalmente cuando las situaciones son complicadas, Te amo profundamente.

A mis hermanos gracias por su cariño y apoyo incondicional, las pláticas, las risas, los amo.

INDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	3
ÍNDICE DE FIGURAS.....	4
RESUMEN.....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	8
2. ANTECEDENTES	10
2.1. Clasificación taxonómica.....	10
2.2. Origen del fruto de tuna	11
2.3. Producción de tuna	12
2.4. Composición química de la tuna.....	13
2.5. Compuestos bioactivos	14
2.6. Metabolómica.....	15
2.6.1. Resonancia magnética nuclear	17
2.6.2. Principios de la RMN	18
2.6.3. Componentes básicos de un espectrómetro de RMN.....	20
2.6.4. Estudios de RMN en tuna.....	20
3. JUSTIFICACIÓN	22
4. OBJETIVOS	24
4.1. Objetivo General	24
4.2. Objetivos Específicos	24
CAPITULO I	25
RESUMEN.....	25
1. INTRODUCCIÓN.....	26
2. OBJETIVO	27
3. MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1. Material biológico	28
3.2. Productos químicos	29
3.3. Preparación de la muestra	29
3.4. Análisis de RMN ¹ H.....	30
3.5. Identificación del perfil de metabolitos	30
3.6. Análisis estadístico	31
4. RESULTADOS Y DISCUSION	32
4.1. Análisis estadístico	41
4.1.1. Acciones verdes-blancas.....	43

4.1.2.	Accesiones naranjas-amarillas.....	49
4.1.3.	Accesiones rojas-moradas	55
5.	CONCLUSIONES.....	60
CAPITULO II		61
RESUMEN.....		61
1.	INTRODUCCIÓN.....	62
2.	OBJETIVO	63
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	64
3.1.	Material vegetal.....	64
3.2.	Productos químicos	65
3.3.	Parámetros fisicoquímicos	65
3.3.1.	Color.....	66
3.4.	Contenido de compuestos bioactivos	67
3.4.1.	Contenido de betalaínas	67
3.4.2.	Contenido de fenoles totales.....	68
3.4.3.	Contenido de flavonoides totales.....	69
3.4.4.	Contenido ácido ascórbico.....	69
3.5.	Evaluación de la actividad antioxidante por ABTS y DPPH.....	70
3.6.	Análisis estadístico	71
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	72
4.1.	Parámetros fisicoquímicos	72
4.1.1.	Color	78
4.2.	Contenido de compuestos bioactivos	84
4.2.1.	Contenido de betalaínas	84
4.2.2.	Contenido de fenoles totales.....	87
4.2.3.	Contenido de flavonoides totales.....	87
4.2.4.	Contenido de ácido ascórbico.....	88
4.3.	Evaluación de la actividad antioxidante por ABTS y DPPH.....	91
4.4.	Análisis de Componentes principales	93
5.	CONCLUSIONES.....	95
6.	REFERENCIAS.....	96
7.	ANEXOS	104

ÍNDICE DE CUADROS

Capítulo I		Pág.
Cuadro 1	Clasificación de las accesiones de tuna.....	28
Cuadro 2	Completa asignación de las señales en el espectro RMN de 1H de los metabolitos identificados en las trece accesiones de tuna.....	34
Cuadro 3	Metabolitos identificados en 13 accesiones de tuna. Letras diferentes entre las filas representa las diferencias significativas con ($p < 0.05$) entre las variables de estudio.....	38
Capítulo II		Pág.
Cuadro 1	Clasificación de las accesiones de tuna.....	64
Cuadro 2	Parámetros de peso, diámetro polar y diámetro ecuatorial de doce accesiones de tuna (<i>Opuntia spp.</i>).....	74
Cuadro 3	Contenido de °Brix, pH y ácido cítrico de doce accesiones de tunas.....	77
Cuadro 4	Parámetros de color de doce accesiones de tuna (<i>Opuntia sp.</i>)..	80
Cuadro 5	Contenido de betalaínas en doce variedades y especies pigmentadas de tuna (<i>Opuntia spp.</i>).....	86
Cuadro 6	Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides totales y ácido ascórbico en doce variedades y especies pigmentadas de tuna (<i>Opuntia spp.</i>)	90
Cuadro 7	Actividad antioxidante mediante la captación de radicales DPPH y ABTS en doce accesiones de tuna (<i>Opuntia spp.</i>)	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo I		Pag.
Figura 1	Espectro de RMN de 1H a 750 MHz del extracto acuoso de tuna rubí reina.....	33
Figura 2	Espectro de RMN de 1H a 750 MHz de las trece accesiones de tuna.....	37
Figura 3	A) Gráfico de puntuaciones para el modelo PCA. B) Grafica de puntuaciones del OPLS-DA para la discriminación intergrupala de las 13 accesiones de tuna.....	43
Figura 4	Gráfico de puntuaciones de Análisis de componentes principales de las 4 accesiones de pigmentación Verdes-Blancas. B) Grafico de puntuaciones OPLS-DA de 4 accesiones de pigmentación verde-blanca.....	44
Figura 5	Diagrama de dispersión de cargas del modelo OPLS-DA de las accesiones de pigmentación verde-blanco. La escala de colores representa el valor de la variable de importancia de proyección (VIP) de los metabolitos con una mayor contribución del modelo OPLS-DA.....	45
Figura 6	VIP generado del modelo de OPLS-DA de las accesiones de pigmentación verde-blanco (VIP > 1).....	46
Figura 7	Abundancia relativa de metabolitos basada en el área media del pico de las señales asociadas de espectros de RMN 1H de 750 M--Hz (n= 10) de las accesiones de pigmentación verde-blanco.....	47
Figura 8	A) Grafico de puntuaciones de PCA de 3 accesiones de pigmentación Naranjas - Amarillas B) Grafico de puntuaciones OPLS-DA de 3 accesiones de pigmentación naranja-amarillo.	50
Figura 9	Diagrama de cargas del modelo OPLS-DA de las accesiones de pigmentación naranja-amarillo.....	51
Figura 10	A) VIP generado del modelo de OPLS-DA (VIP > 1). B) Abundancia relativa de metabolitos basada en el área media del pico de las señales asociadas de espectros de RMN 1H de 750	

	M--Hz (n= 10) de las accesiones de pigmentación naranja-amarillo.....	52
Figura 11	A) Gráfico de puntuaciones del modelo PCA de 6 accesiones de pigmentación Rojo- Morado. B) Gráfico de puntuaciones del modelo OPLS- DA de 6 accesiones de pigmentación rojo-morado.....	56
Figura 12	Diagrama de cargas del modelo OPLS-DA de las accesiones de pigmentación rojo-morado. La escala de colores representa el valor de la variable de importancia de proyección (VIP) de los metabolitos con una mayor contribución del modelo OPLS-DA de las accesiones de pigmentación rojo-morado.....	57
Figura 13	VIP generado del modelo de OPLS-DA (VIP > 1) las accesiones de pigmentación rojo-morado.....	58
Figura 14	Abundancia relativa de metabolitos basada en el área media del pico de las señales asociadas de espectros de RMN 1H de 750 M--Hz (n= 10) las accesiones de pigmentación rojo-morado.....	58

Capítulo II

Pag.

Figura 1.	Atributos de color en frutos de <i>Opuntia spp.</i> A) comparación de luminosidad, B) grafico de Cromo y °Hue en la cascara de 12 accesiones de tuna.....	82
Figura 2.	Atributos de color en frutos de <i>Opuntia spp.</i> A) comparación de luminosidad, B) grafico de Cromo y °Hue en la pulpa de 12 accesiones de tuna.....	83

RESUMEN

Las tunas (*Opuntia ssp*) pertenecen a la familia de las cactáceas y crecen en zonas áridas del mundo. México, además de ser el mayor productor de tunas del mundo, presenta una gran variabilidad genética. Las tunas de acuerdo con su pigmentación se pueden clasificar en amarillas, naranjas, rojas, moradas, verdes y blancas, existe una variación del contenido de metabolitos primarios y secundarios en relación con la pigmentación, genética, de las accesiones de las tunas, por lo cual, la identificación y cuantificación de estos compuestos es de suma importancia para comprender las propiedades biológicas

Este estudio proporciona una comparación de los metabolitos de 13 accesiones de *Opuntia* con diferente pigmentación y de diferentes especies cultivadas en la misma zona de estudio. Se analizaron los metabolitos primarios mediante RMN ^1H y se identificaron los biomarcadores y las diferencias metabolómicas relacionados con la pigmentación mediante análisis estadísticos. También se caracterizaron fisicoquímicamente y se cuantificaron el contenido de compuestos bioactivos como fenoles, flavonoides ácido ascórbico y betalaínas, además de la evaluación de la actividad antioxidante determinada mediante los métodos de ABTS Y DPPH.

Mediante la técnica de RMN de ^1H se identificaron 40 compuestos entre carbohidratos, aminoácidos, ácidos orgánicos y nucleósidos. Con los análisis estadísticos de PCA y OPLSDA se lograron ver los biomarcadores y diferencias metabolómicas entre las accesiones con diferente pigmentación, los metabolitos diferenciales para las accesiones de pigmentación verde-blanco fueron fucosa,

etanol, gaba, ácido láctico y ácido succínico, para las de pigmentación naranja-amarilla fue ácido málico, metionina, citidina, fucosa, tirosina y para las de pigmentación rojo-morado tirosina, ácido aconítico, histidina, galactosa, citidina.

En cuanto al contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante la accesión 'Naranja legítima' (naranja-amarilla) fue la que presentó mayor actividad antioxidante por el método de DPPH y también mostró la mayor cantidad de compuestos fenólicos, y bentaxantinas. La accesión 'Concha de Oro' (verde-blanca) mostró la mayor actividad antioxidante por el método ABTS y el mayor contenido de ácido ascórbico. Y las accesiones 'Rojo insurgentes' y 'Rojo papas' fueron las que tuvieron mayor contenido de flavonoides totales y betacianinas.

Los resultados indican que independientemente de la pigmentación las tunas representan una fuente potencial de compuestos con actividad biológica.

1. INTRODUCCIÓN

La tuna posee una gran diversidad genética y se encuentran alrededor de 200 variedades en todo el mundo. En nuestro país, se cuenta con más de 100 variedades, que en su mayoría se consideran endémicas (Flores *et al.*, 2016). La tuna presenta una amplia adaptabilidad, tolera temperaturas muy extremas con limitaciones de agua y suelos pobres, lo cual lo hace un cultivo ideal para regiones áridas y semiáridas (Inglese *et al.*, 2018). En los últimos años se ha estudiado la presencia de compuestos bioactivos en diversas variedades de tuna, los cuales poseen propiedades nutricionales y funcionales que causan efectos positivos a la salud humana. Estos estudios han impactado positivamente el mercado, aumentando el consumo de este fruto (Oumato *et al.*, 2019). El contenido de nutrientes y compuestos funcionales muestra una aparente variación de un ecotipo a otro (Pinedo *et al.*, 2017). Por lo que la caracterización de los compuestos del fruto de accesiones de tuna es clave para comprender mejor sus propiedades nutricionales y biológicas. Por otra parte, los enfoques metabolómicos basados en la espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear ^1H (RMN ^1H) pueden ayudar a identificar y calcular el contenido de metabolitos presentes en frutos de tuna (Villa *et al.*, 2020). El uso de esta técnica, complementada con el procesamiento y análisis de datos, resulta ser útil en la evaluación del perfil metabolómico para la caracterización de alimentos, que conducen la diferenciación de variedades (Consonni & Cagliani, 2019). Por lo anterior el presente trabajo tiene como objetivo caracterizar los metabolitos de interés nutricional y funcional presentes en trece accesiones de tuna mexicana que han sido poco o nada estudiados.

2. ANTECEDENTES

2.1. Clasificación taxonómica

El género *Opuntia* se clasifica en la familia *Cactaceae*, que incluye aproximadamente 300 a 400 especies y gran cantidad de variedades, tanto silvestres como cultivadas, sin embargo, pocas especies son utilizadas, ya sea para alimentación humana, forraje o para obtención de colorante (Omar Ahmad A. and EISayed, 2021; Sáenz *et al.*, 2006).

La clasificación del género *Opuntia* es complicada debido a la diversidad de especies y ecotipos, resultado de procesos de hibridación natural, procesos de propagación sexual o asexual, que conduce a una gran cantidad de variedades, resultado de la constitución genética e interacción con el ambiente (Flores-Hernandez *et al.*, 2016; Omar Ahmad A.and EISayed, 2021).

Según Sáenz *et al.*, 2006, las principales especies de tuna cultivadas son: *Opuntia amyclaea*, *O. ficus-indica*, *O. xoconoxtle*, *O. megacantha* y *O. streptacantha*, adicionalmente *O. robusta*, *O. leucotricha*, *O.hyptiacantha*, *O. chaveña* y *O. streptacantha*. Son cosechadas de poblaciones silvestres, siendo la especie *O. ficus* la de mayor producción alrededor del mundo y con más alto consumo en el mundo.

Las diferentes variedades de tunas se pueden clasificar por el color de la cascara o pulpa, ya que varían entre: morados, rojos, anaranjados, amarillos y verdes.

México posee una amplia diversidad de especies y variedades, que permite ofrecer al mercado una extensa gama de tonalidades, con un amplio periodo de consumo

que va desde mayo hasta noviembre (Ochoa & Guerrero, 2010). En el Catálogo nacional de Variedades Vegetales, (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas, 2021) se reportan alrededor 91 variedades de frutos de *Opuntia* registrados, destacando la variedad *Opuntia robusta var. robusta*, *Opuntia megacantha Salm-Dick* y *Opuntia spp.*

2.2. Origen del fruto de tuna

Las regiones semiáridas de Mesoamérica se consideran el centro de origen del género *Opuntia*. Este género está relacionado con la historia y la cultura de México, por ejemplo, en el escudo nacional, además, existen evidencias arqueológicas que datan de hace 7000 años del conocimiento y uso de la tuna (Ochoa & Guerrero, 2010).

El nombre náhuatl para *Opuntia* fue Tenochtli o Tzapotlnochtli. Nochtli es la palabra náhuatl para el nopal. El primer nombre -Tenochtli- significa nopal divino; la segunda deriva de la similitud entre el fruto del nopal con los frutos globosos y carnosos llamados genéricamente Tzapotl (*Manilkara zapota* y *Diospyros digyna*) (Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

Como lo cita Oumato *et al.*, 2019, la producción del género *Opuntia* se distribuye ampliamente por México y el resto América, a raíz de la conquista se introdujo en España a finales del siglo XV y desde allí se extendió por el mediterráneo y el resto de los continentes, convirtiéndose en el cactus comestible más cultivado en el mundo.

2.3. Producción de tuna

Las plantas del género *Opuntia* se cultivan en varios ambientes en zonas áridas, semiáridas, templados y tropicales en varios países del mundo, desde lugares con temperaturas hasta 40 ° hasta lugares que en el invierno llegan a -40 °C. Por esta razón, estas especies son atractivas como un ser un recurso genético de interés para zonas ecológicas muy diversas (Sáenz *et al.*, 2006).

La tuna crece en regiones áridas y desérticas, generalmente el cultivo de la tuna se ha restringido a zonas marginales, con mala calidad de suelos y lluvias escasas, realizándose totalmente de temporal (Calva Pérez, 1999). Posee un metabolismo fotosintético de tipo Crasuláceo denominado metabolismo ácido crasuláceo (CAM), que permite la producción de biomasa en las condiciones áridas y de sequía (Ramírez-Ramos *et al.*, 2018; Sáenz *et al.*, 2006).

México es el principal productor de tuna en el mundo, sin embargo, su competitividad es baja comparada con otros frutos y hortalizas (Ramírez-Ramos *et al.*, 2015).

En México la producción de tuna para 2020 fue de 471,896.35 tn. Se produce en dieciséis estados, sin embargo, el 84.75% de la producción se concentra en los Estados de México, Puebla y Zacatecas con producciones de 175,635.13, 122,053.26, 102,235.65 tn respectivamente. Los datos estadísticos de producción se basan en 7 variedades las cuales son: Blanca Cristalina, Amarilla, Xoconoxtle, Criolla, Alfajayucan, Roja y Picochulo. Destaca la variedad Alfajayuca con el 35.33% de la producción (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2021)

También se produce en países como Chile, Argentina, Bolivia, Perú, Colombia, Marruecos, EUA, Sudáfrica, Italia, Grecia, sin embargo, su producción se basa en una sola variedad (Ochoa & Guerrero, 2010).

2.4. Composición química de la tuna

El fruto del nopal se caracteriza por ser una pulpa carnosa y jugosa entremezclada con un gran número de semillas pequeñas, y encerrado por una piel gruesa con pequeñas espinas. Las proporciones en peso de pulpa, piel y semillas son 28-58%, 37-67% y 2-10%, respectivamente (Jiménez-Aguilar *et al.*, 2015).

El fruto del nopal tiene característica de poseer alto contenido de carbohidratos, baja acidez, en porcentajes depende del cultivar, las prácticas culturales, el número de semillas fecundadas y abortadas, la carga de frutos, período de iluminación, clima y época de cosecha (Piga, 2004)

La pulpa es la parte comestible de la fruta oscila entre 10 ° Brix y 17 ° Brix y está compuesta de agua (84% a 90%) y azúcares reductores (10% a 15%). La glucosa es el azúcar predominante seguido de la fructosa, lo que propicia un sabor muy dulce de la pulpa. El pH se encuentra en un rango de pH de 5.3 a 7.1 y la acidez entre 0.05% a 0.18, expresada como ácido cítrico, de igual forma se han reportado otros ácidos como el málico, quínico, shikímico en menores concentraciones (Belviranlı *et al.*, 2019; Feugang *et al.*, 2006; Ochoa & Guerrero, 2010; Sáenz *et al.*, 2006).

Los frutos de cactus contienen altos niveles de aminoácidos, entre ellos taurina y serina, glutamina, prolina, arginina e histidina y la presencia de metionina, ocho de

estos son esenciales. Se considera una buena fuente de minerales, especialmente calcio, potasio, magnesio, hierro, fósforo. Entre las vitaminas predomina la vitamina C, mientras que otras, como B6, B12, E, A, carotenoides, tiamina, riboflavina y niacina se encuentran en trazas (Feugang *et al.*, 2006; Sáenz *et al.*, 2006).

2.5. Compuestos bioactivos

De acuerdo con Piga, 2004, se tiene conocimiento que el consumo del fruto proporciona importantes beneficios nutracéuticos a los consumidores, previene algunas enfermedades, debido a la presencia de ciertos metabolitos como: compuestos fenólicos, vitaminas y carotenoides.

El perfil fitoquímico ha sido evaluado ampliamente por diversos autores como Amaya-Cruz *et al.*, 2019, reportan 145 compuestos: sesenta y ocho polifenoles extraíbles, quince polifenoles hidrolizables, cuarenta y una betalainas, dieciséis carotenoides y cinco fitoesteroles en *Opuntia ficus indica L.*

Los pigmentos de la tuna son betalainas, existen dos clases, los betaxantinas amarillo-naranja y betacianinas rojo-morado (Belviranlı *et al.*, 2019; du Toit *et al.*, 2018; Felker *et al.*, 2008; Pinedo-Espinoza *et al.*, 2017). La tuna blanca o verde presenta menor cantidad de betalainas y contienen exclusivamente indicaxantina (Ochoa & Guerrero, 2010).

Las betalainas se pueden utilizar como colorante alimentario natural, pero también tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anti-microbiológico, anti-cancerígeno y anti-lipídico (Castro *et al.*, 2019).

También se han encontrado compuestos fenólicos en la pulpa de la tuna principalmente flavonoides (quercetina, kaempferol y isorhamnetina) (Feugang *et al.*, 2006), que poseen un importante papel en la prevención de algunas enfermedades, como salud gastrointestinal y prevención de factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares incluyendo hiperlipidemia e hipertensión (Mena *et al.*, 2018).

Los carotenoides son terpenoides producidos en los cromoplastos de la fruta durante el proceso de maduración y son responsable de los colores rojo, naranja y amarillo (Amaya-Cruz *et al.*, 2019). En tunas han sido identificados en la piel y probablemente también estén presente en la fracción oleosa de la semilla (de Wit *et al.*, 2019).

Estos compuestos y sus propiedades multifuncionales hacen de la tuna un candidato perfecto para la ser empleado con diferentes fines tanto: nutricionales, cosméticos y etnofarmacológicos en forma de té, mermelada, jugo y aceite extraído de las semillas y alimentos que promueven la salud (Feugang *et al.*, 2006).

2.6. Metabolómica

La metabolómica se ha definido como el campo de investigación que implica la caracterización, incluidas la identificación y la cuantificación, de la colección completa de metabolitos de moléculas pequeñas en un sistema biológico (O’Gorman & Brennan, 2015). Cataloga y cuantifica a las moléculas pequeñas (metabolitos con peso molecular <1500Da), productos del metabolismo primario o secundario, que se encuentran en los sistemas biológicos, estudia cómo cambian

los perfiles metabólicos dentro de un organismo como respuesta a alguna situación (Li *et al.*, 2021).

Cuando hablamos de metabolitos nos referimos a compuestos orgánicos como: carbohidratos, aminoácidos, ácidos orgánicos, lípidos, etc., los cuales presentan un amplio intervalo de polaridades, tamaños moleculares, carga a pH fisiológico, etc.

La metabolómica se ha utilizado para estudiar las características metabólicas de los alimentos, relacionados con el estado fisiopatológico, factores ambientales, y genéticos, lo que permite determinar, cuantificar e identificar los componentes de los alimentos que influyen en las características (Cevallos-Cevallos & Reyes-De-Corcuera, 2012; Kim *et al.*, 2016).

Hoy en día son utilizadas diferentes plataformas para identificar y cuantificar metabolitos como: Resonancia Magnética Nuclear (RMN), , Espectrometría Vibracional (VS), Espectrometría de Infrarrojo Cercano (NIR), Espectrometría Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), y la Espectrometría de Masas (MS), esta última casi siempre acoplada a técnicas cromatográficas como la Cromatografía Líquida (LC-MS), la Cromatografía de Gases (GC-MS) y Electroforesis Capilar (CE-MS) Como consecuencia de la gran diversidad de plataformas analíticas utilizadas y la compleja naturaleza química de los metabolitos, la identificación de la estructura de estos se ha convertido en uno de los principales puntos para convertir los datos cualitativos y cuantitativos de RMN y MS en conocimiento bioquímico (Balkir *et al.*, 2021; Becerra-Martínez *et al.*, 2017; Fraga-Corral *et al.*, 2022; Villa-Ruano *et al.*, 2019).

2.6.1. Resonancia magnética nuclear

Las técnicas de RMN, específicamente la ^1H RMN (resonancia magnética nuclear e hidrógeno-1), son una opción popular para la elaboración de perfiles metabolómicos porque son rápidas y sencillas ya que presenta diversas ventajas incluida la detección selectiva de isótopos en mezclas complejas, datos altamente reproducibles, precisa cuantificación sin estándares requiere una preparación de muestras simple, rápida (2-6 min/muestra) y proporciona información estructural muy específica (Johanningsmeier *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2021).

Las señales en los espectros de RMN son proporcionales a la concentración molar del compuesto, lo que permite la comparación directa de las concentraciones de cada compuesto sin requerir curvas de calibración para cada uno. Al comparar la intensidad máxima con un estándar interno, se puede calcular la concentración absoluta de todos los metabolitos en la muestra (Li *et al.*, 2021).

La alta reproducibilidad de las técnicas basadas en RMN confiere a este método muchas ventajas sobre otras técnicas analíticas en estudios metabolómicos a gran escala y a largo plazo. Es una herramienta para perfilar simultáneamente diversos compuestos en una matriz de alimentos y para explicar los efectos de las prácticas agrícolas, procesamiento, almacenamiento, factores genéticos y ambientales en los perfiles metabólicos. Cuando se combina con el análisis estadístico multivariado, la RMN ha demostrado ser una herramienta poderosa para evaluar el perfil químico de varios tipos de vegetales que crecen en diferentes regiones geográficas, como

las uvas, el café y el té verdes entre otros (Becerra-Martínez *et al.*, 2020; Valle-Parra *et al.*, 2020; Velásquez-Valle *et al.*, 2020; Villa-Ruano *et al.*, 2018).

Actualmente, los avances en hardware relacionado con RMN, desarrollo de kits, pulso diseño de secuencias y software/bases de datos han contribuido a metabolómica basada en RMN más rápida y económica. La espectroscopia de RMN representa una alternativa válida a los métodos analíticos tradicionales considerando la posibilidad de detectar varias clases de compuestos químicos simultáneamente, tanto metabolitos primarios como secundarios. Sucesivamente se podrían procesar los datos obtenidos por RMN apropiadamente mediante herramientas estadísticas multivariadas abordar el origen geográfico y revelar posibles marcadores para la autenticación y caracterización (Castejón *et al.*, 2010; Consonni & Cagliani, 2019).

2.6.2. Principios de la RMN

La RMN es una técnica espectroscópica que estudia la absorción y emisión de radiación electromagnética basada en las propiedades magnéticas de ciertos núcleos, bajo la influencia de un campo magnético. Se basa en la medida de la absorción de la radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencias aproximadamente de 4 a 900 MHz.

En las medidas de RMN de impulsos o de Transformada de Fourier, los núcleos que están en un intenso campo magnético se someten periódicamente a impulsos muy cortos de una intensa radiación de radiofrecuencia. La duración de los impulsos τ

es por lo general menor de $10 \mu\text{s}$, y la frecuencia de la radiación es del orden 102 a 103 MHz.

La aplicación en estas condiciones de una radiación de radiofrecuencias hará entrar en resonancia a un cierto número de núcleos.

Los núcleos excitados al relajarse emiten una señal de radiofrecuencia en el dominio del tiempo, que se denomina señal de caída libre de inducción (FID). La señal de caída libre de inducción puede detectarse con una bobina radorreceptora que se coloca perpendicularmente al campo magnético estático. Se trata de una señal dependiente del tiempo $f(t)$, que recoge todas las señales de resonancia individuales generadas por los núcleos presentes que posean frecuencias de resonancia diferentes y seguidamente se la somete a un proceso de digitalización y almacenamiento.

Esta situación se repite n número de veces que sea necesario hasta alcanzar una FID acumulada con la intensidad o relación señal/ruido (S/R) suficiente.

La señal obtenida (FID acumulada) dependiente del tiempo, $f(t_2)$, contiene la información del experimento de RMN, pero no es útil desde un punto de vista del análisis estructural.

Para poder establecer correlaciones estructurales es necesario convertir la FID en una señal dependiente de las frecuencias que permita extraer la información espectroscópica, $f(\nu_2)$. Con esta finalidad se aplica un algoritmo matemático

conocido como la *Transformada de Fourier* (TF), lo que da lugar finalmente a un espectro de RMN ^1H (Becerra-Martínez *et al.*, 2017).

2.6.3. Componentes básicos de un espectrómetro de RMN

El espectrómetro de RMN generalmente está compuesto por un imán superconductor, que genera un campo magnético constante con una intensidad situada habitualmente entre 300 y 800 MHz. Una sonda emisor de frecuencias de radio; que aloja la muestra y suministra una señal según los núcleos seleccionados en la muestra y según el campo magnético externo. Una consola transmisora/receptora de frecuencias de radio; que detecta la señal generada por el movimiento de precesión de la imantación de los núcleos de los átomos en la muestra y envía la señal FID a un procesador en un sistema integrado también por un secuenciador (programador de pulsos). Un ordenador que se utiliza para controlar la consola, la sonda y el imán, así como para el procesamiento y almacenamiento de los datos de RMN (Aristizábal Torres Iván D., 2007; Hatzakis, 2019).

2.6.4. Estudios de RMN en tuna

De acuerdo con lo investigado, no existen informes sobre los estudios metabólicos por RMN del fruto de *Opuntia* cultivada en México. Aunque se encontró información de análisis mediante RMN de ^{13}C y ^1H , de mucílago de las cáscaras del fruto de *O. ficus-indica* colectadas en Túnez (Gheribi *et al.*, 2019), así como del xilano de cáscaras del fruto de esta misma variedad recolectadas en Marruecos (Habibi *et al.*, 2003).

En estos estudios muestran las regiones del espectro, donde se encuentran señales indicando la presencia de compuestos como la arabinosafuranosa, galactopiranososa y señales relacionadas con compuestos fenólicos (Gheribi *et al.*, 2019)

Sin embargo, no se detalla el perfil metabolómico, y no aplican un procesamiento posterior para identificar, cuantificar y comparar los metabolitos presentes en el fruto de tuna.

3. JUSTIFICACIÓN

Este trabajo pretende obtener conocimientos sobre el perfil metabolómico de trece accesiones de tuna bajo las mismas condiciones ambientales. Las accesiones pertenecen a diferentes especies de *Opuntia* y presentan pigmentaciones distintas.

El estudio metabolómico de cualquier matriz vegetal es clave para comprender mejor sus propiedades nutricionales y funcionales, y determinar los marcadores genéticos de cada variedad (Mena *et al.*, 2018).

En México, las tunas de pulpa blanca y de piel ó cáscara verde son muy apreciadas en el mercado y su producción corresponde a casi el 95% de la total nacional (Sumaya-Martínez *et al.*, 2011).

Debido a que el color es parte de la calidad del fruto y puede ser un factor de preferencia para el consumo, se buscará determinar las propiedades nutricionales, funcionales y a diferenciar que variedades y con qué pigmentación podrían generar mayores ventajas competitivas no solo como fruta fresca, sino también como ingrediente o aditivo de alto valor para la industria de alimentos (Ramírez-Ramos *et al.*, 2018).

De las características principales de la producción de este fruto es su anatomía y morfología adaptada a condiciones de fuerte estrés ambiental, por lo que son una alternativa de cultivo para regiones donde difícilmente crecen otras especies (Sáenz *et al.*, 2006).

El interés en los compuestos bioactivos de *Opuntia* se vuelve aún más relevante cuando se considera la necesidad de hacer frente a los desafíos del cambio climático. Teniendo en cuenta la tolerancia de las especies de cactus a las condiciones climáticas y de suelo extremas, la explotación de fitoquímicos de estas especies puede contribuir a su producción sostenible (Mena *et al.*, 2018).

La producción de tuna tiene un importante impacto social y cultural, aunque su competitividad es baja comparada con otros frutos y hortalizas. Por lo que la identificación y difusión de las ventajas en la producción y consumo de tuna con diferentes pigmentaciones y de diferentes especies es una estrategia para incrementar la baja competitividad de la tuna mexicana en los mercados nacional e internacional (Ramírez-Ramos *et al.*, 2015).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Estudiar el perfil de los metabolitos primarios y cuantificar metabolitos secundarios de trece accesiones de tuna cultivadas en México

4.2. Objetivos Específicos

- Estudiar el perfil metabolómico de trece accesiones de tuna cultivadas en México empleando la técnica analítica de RMN de ^1H .
- Evaluar los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante *in vitro* en accesiones de tunas de pigmentación verde, amarilla y roja.

CAPITULO I

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS EN TRECE ACCESIONES DE FRUTOS DE *Opuntia spp.*

RESUMEN

Los frutos de *Opuntia spp.* representan una fuente importante de compuestos nutricionales con importancia biológica. El objetivo de este trabajo fue determinar los metabolitos primarios mediante RMN ^1H de 13 accesiones de tuna con diferente pigmentación cultivadas en el Repositorio Nacional de *Opuntia* en el estado de Zacatecas. Se identificaron 40 compuestos entre carbohidratos, aminoácidos, ácidos orgánicos y nucleósidos.

Mediante los análisis estadísticos de PCA y OPLSDA se lograron ver los biomarcadores y diferencias metabolómicas entre las accesiones con diferente pigmentación. Para las accesiones de pigmentación verde-blanco fueron fucosa, etanol, gaba, ácido láctico y ácido succínico, para las de pigmentación naranja-amarilla fue ácido málico, metionina, citidina, fucosa, tirosina y para las de pigmentación rojo-morado tirosina, ácido aconítico, histidina, galactosa, citidina. Los resultados confirman que la RMN ^1H es una técnica efectiva para conocer las diferencias metabolómicas de las diferentes accesiones de tuna.

1. INTRODUCCIÓN

Las cactáceas comprenden alrededor de 130 géneros y entre 1500 y 1870 especies reconocidas por sus espectaculares adaptaciones a la sequía y los ambientes desérticos (Valero-Galván *et al.*, 2021). *Opuntia* es un género de las *Cactáceas* ampliamente cultivado en todo el mundo, el cual comprende más de 300 especies que se utilizan para muchos propósitos.

Debido a su alto valor nutricional, los frutos de *Opuntia* tienen el potencial de contribuir a mejorar la seguridad alimentaria, además son una rica fuente de minerales, aminoácidos esenciales y vitaminas, y tienen un alto contenido de antioxidantes, lo que los convierte en candidatos prometedores para el tratamiento de enfermedades no transmisibles (Daniloski *et al.*, 2022). Las características genéticas de los frutos de *Opuntia* pueden influir ampliamente en la complejidad nutricional, reflejándose también en sus beneficios para la salud humana y características tecnológicas. Por lo que la caracterización es clave para comprender mejor su biología, tecnología, propiedades nutricionales y biológicas (Mena *et al.*, 2018) (da Silveira Agostini-Costa, 2022)

La metabolómica tiene una amplia gama de aplicaciones en la ciencia de los alimentos, especialmente en el estudio de material vegetal podemos monitorear el estado fisiológico, determinar el origen, discriminar entre plantas silvestres y transgénicas, clasificar y caracterizar diferentes especies (Fraga-Corral *et al.*, 2022).

En los últimos años ha aumentado el interés por la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), particularmente en la ciencia de los alimentos,

desempeña un papel dominante en las investigaciones y caracterización de mezclas complejas (Selegato Denise Medeiros and Pilon, 2019). En este estudio se utilizó describir los metabolitos primarios de 13 accesiones de tuna cultivadas en Zacatecas

2. OBJETIVO

Estudiar el perfil metabolómico de trece accesiones de tuna cultivadas en México empleando la técnica analítica de RMN de ^1H

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material biológico

Trece accesiones de frutos de tunas (*Opuntia spp*) rojas-morado, naranjas-amarillas y verdes-blancas (Cuadro 1), fueron cosechadas con un índice de madurez comercial en el Repositorio Nacional de Opuntia, en el Centro Regional Universitario del Centro Norte (CRUCEN-Zacatecas) de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Zacatecas, Zacatecas, México.

Fueron trasladadas a el Laboratorio de Postcosecha del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAP) donde se seleccionaron aquellas que estuvieran libres de plagas y daños mecánicos, posteriormente se lavaron con agua destilada para eliminar las gloquidias. Se retiro la cascara y el mucilago se separó de las semillas, y se mantuvo en congelación a -80 ° C hasta su posterior análisis.

Cuadro 1: Clasificación de las accesiones de tuna.

Accesión	Clave	Color	Clasificación taxonómica
Cardón blanco	TCB	verde-blanca	<i>O. streptacantha</i>
Concha del oro	TCO	verde-blanca	<i>Opuntia spp.</i>
Vaquera	TV	verde-blanca	<i>O. albicarpa</i>
Zarca	TZ	verde-blanca	<i>Opuntia spp.</i>
Amarilla chachiquequite	TC	naranja-amarilla	<i>Opuntia spp.</i>
Amarilla monteza	TM	naranja-amarilla	<i>Opuntia megacantha</i>
Naranja legitima	TNL	naranja-amarilla	<i>Opuntia spp.</i>

Rojo insurgente	TRI	rojo-morado	<i>O. megacantha</i> Salm-Dick
Rojo papas	TRP	rojo-morado	<i>Opuntia</i> spp.
Rubí reina	RR	rojo-morado	<i>O. megacantha</i>
Sandia	TS	rojo-morado	<i>O. streptacantha</i>
Shidrikaja	TRS	rojo-morado	<i>O. megacantha</i> Salm-Dick
Torreoja	TT	rojo-morado	<i>O. megacantha</i>

3.2. Productos químicos

Reactivos utilizados en la preparación de las muestras y análisis de RMN de ^1H , así como la función: Fosfato monopotásico (KH_2PO_4 buffer (pH 6)

- Agua deuterada D_2O (D, 99,9% en átomo) (Cambridge Isotope Laboratories, Inc, USA), disolvente para el análisis de RMN ^1H .
- Ácido 3- (trimetilsilil) -1-propanosulfónico sódico (TSP, 97%) se utilizó como estándar interno para referenciar el espectro de RMN de ^1H a 0 y cuantificar los metabolitos primarios.
- EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), agente complejante agente complejante de cationes como Ca^+ y Fe^+ .
- NaN_3 (Azida de sodio), conservador de la muestra.

3.3. Preparación de la muestra

La preparación de la muestra se realizó de acuerdo con Villa-Ruano *et al.*, (2020), se separó el mucilago de las semillas de la tuna hasta obtener 2 mL de jugo el cual fue trasferido a un tubo Eppendorf. Las muestras se centrifugaron durante 10 minutos a 10,000 rpm. Posteriormente se mezclaron 545 μL del sobrenadante con

60 μL de una solución de buffer de KH_2PO_4 (90 mM) en D_2O , que contiene TSP a una concentración de 7 mM, EDTA con una concentración de 10 mM y NaN_3 con una concentración de 2 mM en tubos de RMN de 5 mm para el análisis de RMN de ^1H y se agitaron en un vortex por 10 min.

3.4. Análisis de RMN ^1H

Los espectros de RMN se obtuvieron en un espectrómetro de RMN Bruker de 17,6 T (750 MHz) equipado con una consola AVANCE III operada por el software TOPSPIN 3.7 y equipada a una criosonda TCI (Bruker Biospin, Rheinstetten, Alemania). La adquisición de datos se realizó con la secuencia de pulsos NOESY (noesypr1d, siglas en inglés de Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy, Espectroscopía de Efecto Nuclear Overhauser) con presaturación a 298.1 ± 0.1 K. Los parámetros de adquisición fueron los siguientes: tamaño del FID (siglas en inglés de Free Induction Decay, Decaimiento Libre de la Inducción) de 65 K puntos de datos y 128 escaneos, ancho espectral de 10 ppm, tiempo de adquisición de 2,18 s, tiempo de relajación de 10 s y una ganancia del receptor de 8 s. En los espectros de RMN de ^1H se ajustó la fase y la línea de base, se calibró la señal del singulete del metilo del TSP a 0.0 ppm utilizando el programa MestReNova (versión 6.0.2; MestReC) (Villa, Perez, *et al.*, 2019).

3.5. Identificación del perfil de metabolitos

La identificación del perfil de metabolitos primarios se realizó utilizando señales características de cada metabolito y comparándolas con Bases de datos de RMN como Human Metaboloma Daba Base (<http://www.hmdb.ca>) y el Banco de datos

de resonancia magnética biológica (<http://www.bmrwisc.edu>). Se confirmaron la asignación de señales a través experimentos de RMN 1D y 2D de una muestra representativa. La cuantificación de metabolitos se realizó con qNMR.

3.6. Análisis estadístico

Las concentraciones obtenidas se sometieron a un análisis multivariado mediante el software SIMCA (v 13.0.3, Umetrics, Umea, Suecia). Los datos se normalizaron usando una función logarítmica y se ampliaron usando UV. Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para la descripción general de los datos y detección de valores atípicos. Los datos se modelaron con el método supervisado de análisis de discriminación de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) que ayuda a mejorar la distribución y la separación de los grupos de estudio y encontrar las variaciones metabólicas en las accesiones de tuna. La calidad del modelo se describió por los parámetros de R^2 y Q^2 , donde Q^2 nos indica la relevancia predictiva cuando $Q^2 > 0.5$ se considera como un buen modelo y R^2 es el coeficiente de determinación, entre más cercano a 1, el ajuste lineal es mejor según Henseler *et al.*, (2009)

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, mediante un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparaciones de medias múltiples de Tukey con un $p \leq 0.05$ mediante el programa SAS system for Windows versión 4.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

Mediante el análisis de RMN de ^1H se detectaron un total de 40 metabolitos como carbohidratos, aminoácidos, aminoácidos aromáticos, ácidos orgánicos, compuestos volátiles y nucleósidos. En la figura 1A se muestra un espectro representativo de los metabolitos encontrados en tuna. En la primera región de 0.8 a 3.0 ppm fueron identificados principalmente aminoácidos y ácidos orgánicos: de 0.8 a 1.0 ppm se identificaron 2-Oxocaproato, leucina, isoleucina y valina; de 1.1 a 1.5 ppm se encontró etanol, fucosa, treonina, ácido láctico, 2-hidroxyisobutirato y alanina, de 1.8 a 2.4 ppm encontramos GABA, ácido acético, prolina, glutamina, metionina y de 2.4 a 3.0 ppm encontramos señales características de ácido cítrico, ácido málico, ácido succínico, ácido aspártico y asparagina (Figura 1B). En la segunda región de a 3.0 a 5.5 ppm, se encuentran señales más intensas principalmente de azúcares, donde predomina la glucosa y fructosa, además se encuentran otros metabolitos como sacarosa y galactosa xilosa, colina y mio-inositol (Figura 1C). En la región de 5.5 a 9.0 ppm encontramos señales de aminoácidos aromáticos como: tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina; algunos ácidos como: ácido aconítico, ácido fumárico, ácido fórmico y nucleósidos como: citidina, guanosina, uridina, adenosina y adenina, además de histidina (Figura 1D). En el cuadro 2 se muestra la completa asignación de las señales en el espectro de RMN de ^1H de los metabolitos identificados en las trece accesiones de tuna.

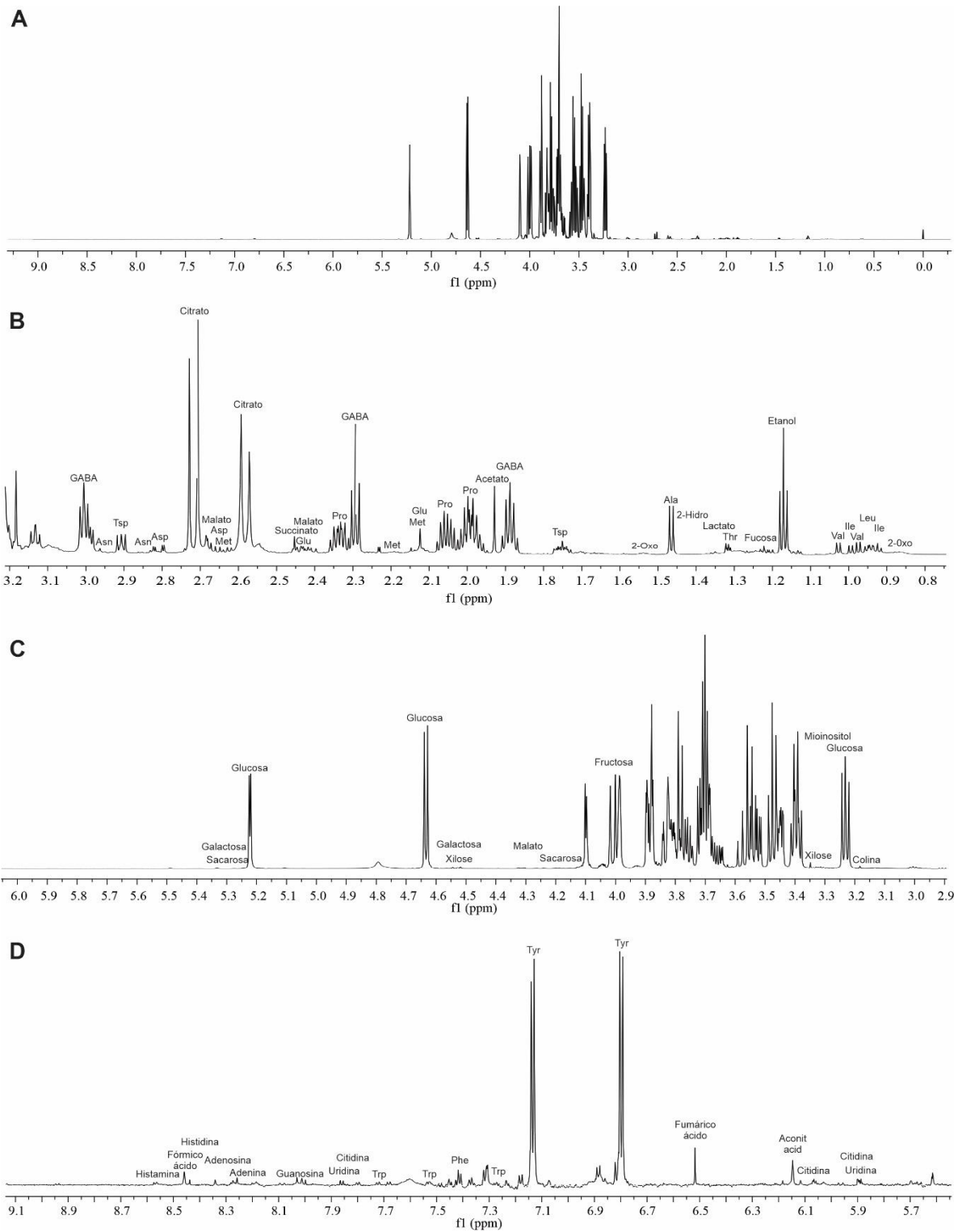


Figura 1. Espectro de RMN de ^1H a 750 MHz del extracto acuoso de tuna 'Rubí reina'.

Cuadro 2: Completa asignación de las señales en el espectro RMN de ^1H de los metabolitos identificados en las trece accesiones de tuna.

Metabolito	Desplazamiento químico (ppm), multiplicidad, J (Hz)
Carbohidratos	
1 Fructosa	4.0 (dd, J=12.7, 1.3 Hz)
2 Fucosa	1.24 (d, J=6.24 Hz)
3 Galactosa	4.57 (d, J = 1.9 Hz)
4 Glucosa	3.23 (dd, J=9.4, 8.0 Hz)
5 Mio-inositol	3.26 (t, J=9.4 Hz)
6 Sacarosa	4.19 (d, J=8.8 Hz)
7 Xilosa	3.21 (dd), 3.29 (t)
Aminoácidos	
8 Alanina	1.46 (d, J = 7.2 Hz)
9 Asparagina	2.84 (dd, J = 16.9, 7.8 Hz), 2.94 (dd, J = 16.9, 4.2 Hz)
10 Ácido aspártico	2.66 (dd, J = 17.5, 7.4 Hz), 2.80 (dd, J = 17.5, 3.7 Hz)
11 GABA	2.29 (t, J = 7.6 Hz), 3.00 (dd, J = 16.9, 4.2 Hz)
12 Glutamina	2.10(m), 2.14 (m)
13 Histamina	8.45 (s)
14 Histidina	8.47 (s)
15 Isoleucina	0.92 (t, J=7.4 Hz), 0.99 (d, J=7.0 Hz)
16 Leucina	0.94 (d, J=6.2 Hz), 0.95 (d, J=6.2 Hz)
17 Metionina	2.12 (s)
18 Fenilalanina	7.31(d, J=7.5), 7.36 (m), 7.42 (t, J=7.5 Hz)
19 Prolina	1.97 (m), 2.05 (m), 2.33 (m)
20 Treonina	1.31 (d, J=6.6 Hz)
21 Triptófano	7.53 (d, J=8.3 Hz), 7.72 (d, J=8.2 Hz)
22 Tirosina	6.79 (d, J = 7.18 Hz), 7.13 (d, J = 7.18 Hz)
23 Valina	0.97 (d, J=7.0 Hz), 1.02 (d, J=7.0 Hz)
Ácidos orgánicos	

24	Ácido acético	1.92 (s)
25	Ácido cítrico	2.58 (d, J=15.6 Hz), 2.71 (d, J=15.6 Hz)
26	Ácido fórmico	8.43 (s)
27	Ácido fumárico	6.51(s)
28	Ácido láctico	1.31 (d, J = 6.6 Hz)
29	Ácido málico	2.41 (dd, J = 15.5, 9.9 Hz), 2.69 (dd, J = 15.5, 3.2 Hz)
30	Ácido succínico	2.45 (s)
31	Ácido aconítico	6.14 (s)

Nucleósidos

32	Adenina	8.18 (s), 8.27 (s)
33	Adenosina	8.25 (s), 8.34 (s)
34	Citidina	7.84 (d, J = 7.2 Hz)
35	Colina	3.18 (s)
36	Guanosina	7.99 (s)
37	Uridina	7.86 (d, J = 8.1 Hz)

Otros

38	Etanol	1.17 (t, J = 7.1 Hz)
39	Hidroxybutirato	1.36 (t, J=7.6 Hz)
40	Oxocaproato	0.86 (t), 1.53 (m)

En la figura 2, se encuentran los espectros de RMN de ^1H del extracto acuso de las trece accesiones de tuna. Algunas diferencias metabólicas se pueden observar a simple vista de acuerdo con la intensidad de las señales, principalmente en los aminoácidos aromáticos y ácidos orgánicos, con esto podemos predecir las diferencias entre las accesiones. En el cuadro 3 se describen las diferencias estadísticas entre los metabolitos que fueron encontrados en las accesiones de tunas, casi todos muestran diferencias estadísticamente significativas a excepción del triptófano. Cabe resaltar que no se localizaron señales de algunos metabolitos como la adenina, adenosina y citidina en las accesiones 'Cardón blanco' y 'Concha de oro'.

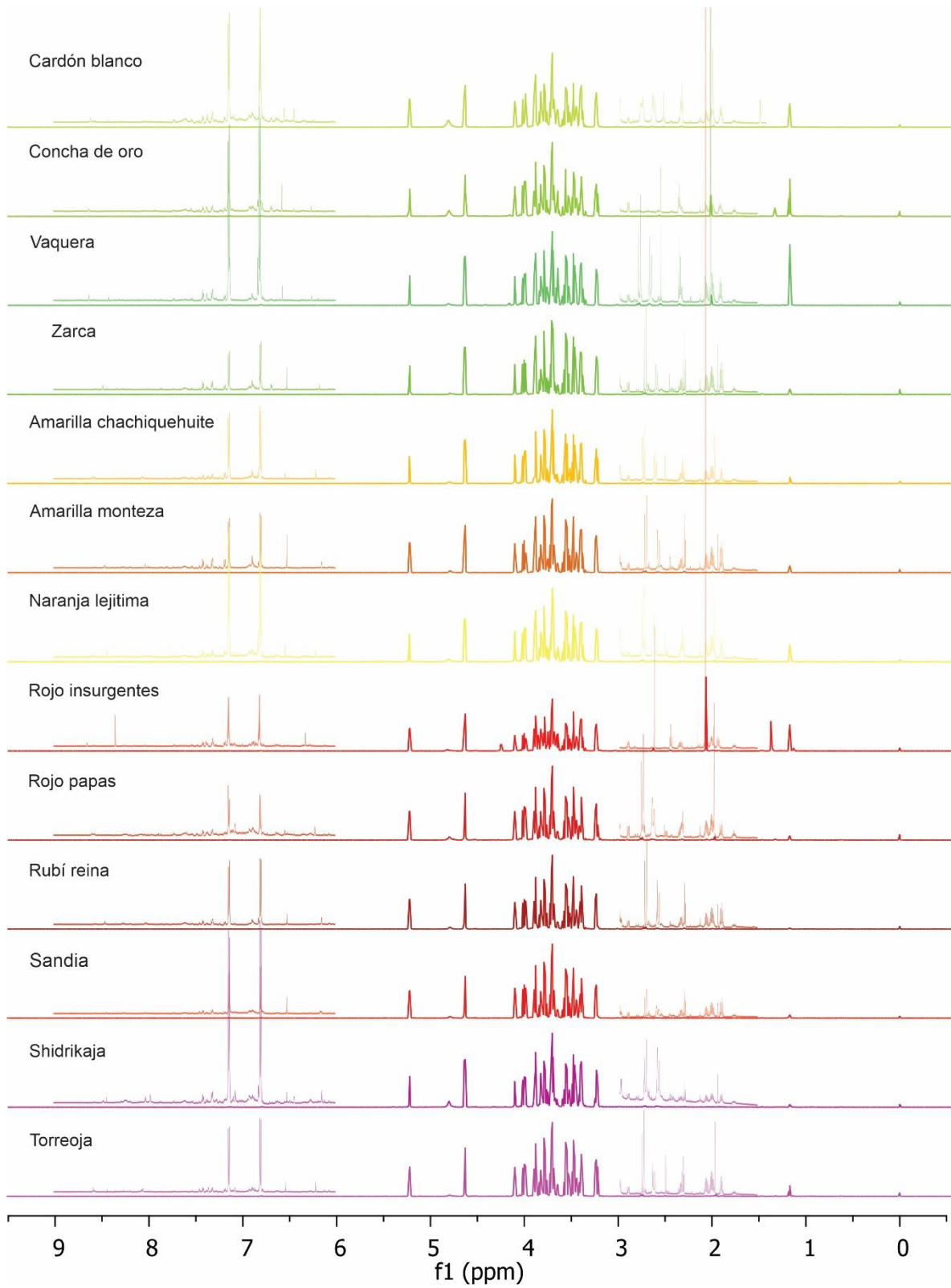


Figura 2: Espectro de RMN de ¹H a 750 MHz de las trece accesiones de tuna.

Cuadro 3: Metabolitos identificados en 13 accesiones de tuna. Letras diferentes entre las filas representa las diferencias significativas con ($p < 0.05$) entre las variables de estudio.

Metabolito	TCB	TCO	TV	TZ	TG	TM	TNL	TRI	TRP	RR	TS	TRS	TT
Carbohidratos													
1 Fructosa	abc	de	bcde	abcd	ab	bcde	ab	dce	e	dce	ab	dce	a
2 Fucosa	a	bcde	a	de	de	e	bc	b	bcd	e	dce	e	de
3 Galactosa	a	abcd	dc	d	bcd	bcd	abc	ab	bcd	dc	abcd	abc	ab
4 Glucosa	abcd	e	bcde	cde	abc	abcd	abcd	de	cde	de	a	cde	ab
5 Mio-inositol	a	dc	d	d	abcd	dc	bcd	bcd	dc	dc	abc	bcd	ab
6 Sacarosa	a	c	abc	abc	a	abc	a	a	abc	abc	a-	ab	bc
7 Xilosa	a	d	dc	dc	abcd	abcd	abc	bcd	dc	dc	ab	abcd	abc
Aminoácidos													
8 Alanina	a	d	b	bcd	b	b	b	bcd	b	cd	a	cd	b
9 Asparagina	a	bc	bc	bc	bc	bc	cd	abc	bc	c	bc	ab	bc
10 Ácido aspártico	ab	ed	cde	bcde	bcde	cde	bcde	a	e	edc	abcde	abc	abcd
11 GABA	abcd	f	a	dec	def	abc	abc	ef	ef	bcde	ab	f	dec
12 Glutamina	a	cd	bcd	bcd	bcd	bcd	b	bcd	bcd	bcd	bc	bc	d
13 Histamina	a	b	ab	ab	ab	ab	ab	ab	ab	b	ab	ab	b
14 Histidina	a	ef	abc	ab	bcde	bcde	bcde	def	abcd	ef	a	cdef	f
15 Isoleucina	ab	b	ab	b	ab	a	ab	ab	b	ab	ab	ab	ab

16	Leucina	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	
17	Metionina	b	d	bcd	cd	d	cd	a	bc	a	bcd	bcd	bcd	
18	Fenilalanina	ab	cdfe	bcdef	def	cdfe	a	abcd	ef	def	f	abcde	ab	def
19	Prolina	c	d	bc	c	c	c	ab	cd	cd	cd	a	d	c
20	Treonina	a	abcd	cde	de	de	Abcd	bcde	abc	ab	e	abcd	cde	cde
21	Triptófano	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
22	Tirosina	a	ed	b	e	bc	ed	a	ed	cd	ed	bcd	a	ed
23	Valina	a	cdef	cde	f	bcde	ab	abcd	def	cdef	cdef	abc	ef	abcde

Ácidos orgánicos

24	Ácido acético	bc	a	b	c	bc	c	bc	bc	c	c	bc	c	c
25	Ácido cítrico	bc	d	bc	ab	ab	bc	a	ab	d	bc	ab	a	cd
26	Ácido fórmico	b	b	b	b	b	b	b	b	a	b	b	b	b
27	Ácido fumárico	a	a	bcd	ed	abc	a	ab	de	e	cde	ab	bcd	a
28	Ácido láctico	c	b	c	c	c	c	c	c	a	c	c	c	c
29	Ácido málico	ab	e	c	e	e	de	a	cd	e	e	c	cd	e
30	Ácido succínico	bc	cdef	bc	def	b	cdef	bcde	def	a	f	bcd	ef	f
31	Ácido aconítico	a	edf	cde	f	bcd	cdef	abcd	edf	ab	edf	abc	a	ef

Nucleósidos

32	Adenina			b	b	b	b	ab	b	b	b	ab	a	b
33	Adenosina			b	b	ab	ab	ab	b	bc	ab	ab	a	ab
34	Citidina		fg	defg	cde	a	cdef	cdef	ab	g	bcd	cdef	bc	efg

35	Colina	a	e	de	de	bcd	cd	a	ab		de	bc	cd	de
36	Guanosina	cdef	f	def	ab	abc	a	bcde	bcde	ef	abc	abcd	cdef	bcdef
37	Uridina	a	d	abc	ab	bc	abc	c	abc		abc	abc	bc	bc
Otros														
38	Etanol	ab	bc	ab	e	cd	ed	cd	de	a	e	de	e	e
39	Hydroxybutirato	b	bc	bc	c	bc	bc	bc	bc	a	c	bc	bc	c
40	Oxocaproato	a	cd	cd	d	bcd	cd	abc	abcd	ab	d	abcd	bcd	cd

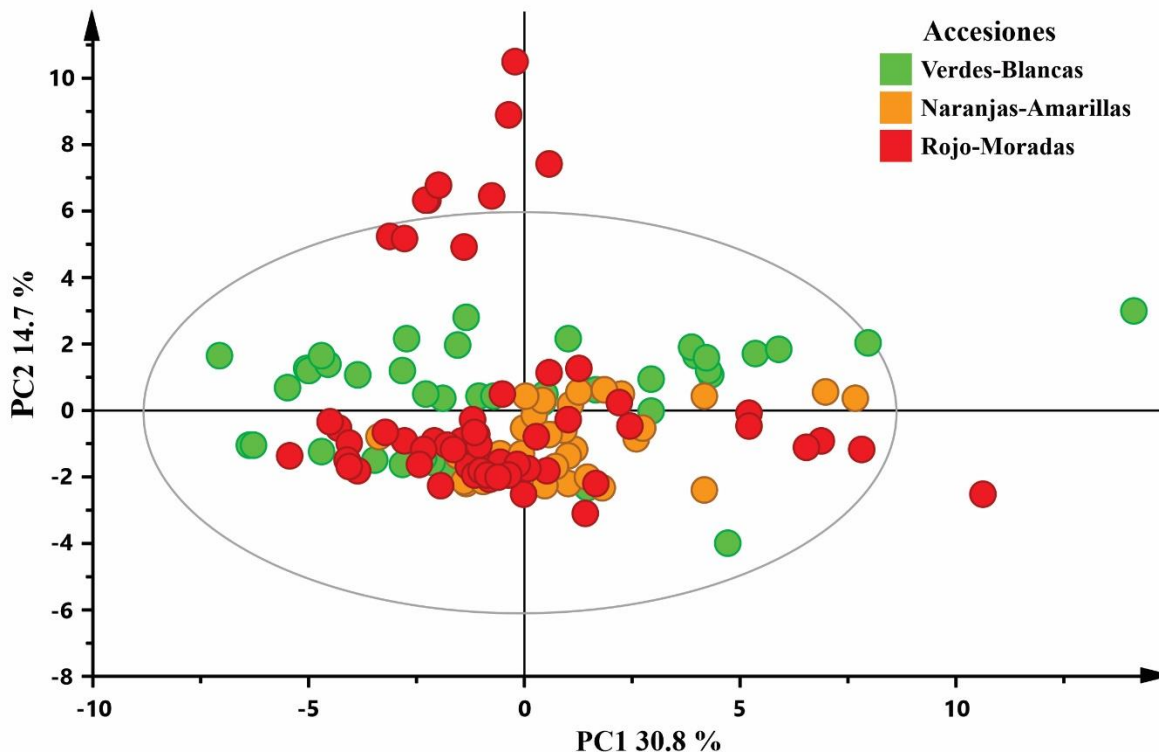
La tuna representa una fuente importante de aminoácidos ya que se pudieron cuantificar 8 de los 9 aminoácidos esenciales, en este estudio no se pudo observar la presencia de lisina, aunque hay autores como Jean Magloire Feugang *et al.* (2006) y Daniloski *et al.*, (2022) que han reportado la presencia de este aminoácido en frutos de tuna. Compuestos como la histamina, así como la presencia de ácido fórmico y ácido aconítico no habían sido anteriormente reportados en frutos de *Opuntia*.

4.1. Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico multivariado, iniciando con el método no supervisado PCA seguido del método supervisado OPLS-DA. El modelo PCA se construyó para tener una visión general del comportamiento de los datos y para identificar valores atípicos. En la figura 2A, se observa el gráfico de puntuaciones del análisis de PCA, el cual está definido por el Componente principal 1 (PC1) en un 30.8 % y por el Componente principal 2 (PC2) en un 14.7%, con este modelo no se observa una clara separación entre los grupos.

Por otro lado, el análisis de OPLS-DA (Figura 3) donde se utilizó información sobre la clasificación de las muestras, permitió obtener un mejor agrupamiento de las accesiones de tuna con respecto a la pigmentación. El ajuste del modelo fue corroborado por los valores de $R^2X = 0.597$, $R^2Y = 0.618$, y $Q^2 = 0.521$. Aunque los valores Q indican un buen ajuste del modelo, los valores de R^2 indican una precisión moderada, y a pesar de que podemos ver un agrupamiento de las accesiones por

su pigmentación, no es clara la separación entre los grupos por lo que este análisis no es el adecuado para explicar las variables diferenciales.



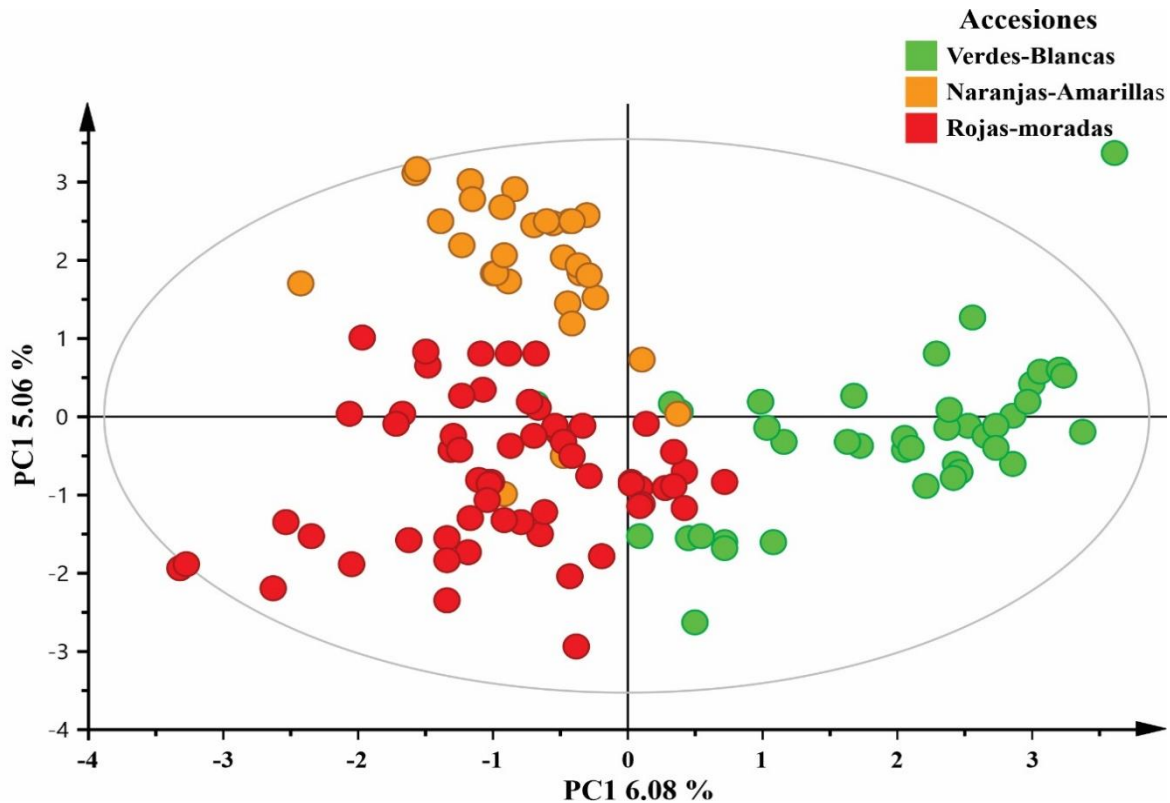


Figura 3. A) Gráfico de puntuaciones para el modelo PCA. B) Grafica de puntuaciones del OPLS-DA para la discriminación intergrupar de las 13 accesiones de tuna.

4.1.1. Accesiones verdes-blancas

En el gráfico de puntuaciones del análisis de PCA de las accesiones de tuna con pigmentación Verde - Blanca, se observa la presencia de dos outliers, no hay una clara separación de los grupos. La variabilidad del modelo se explica por el PC1 en un 47.7 % y por el PC2 21.3% (Figura 4). El análisis de OPLS-DA mostró una clara separación de las accesiones Verdes - Blancas por el componente principal 1, se observa la formación de 2 grupos, el Grupo A formado por 'Concha de Oro', 'Zarca' y 'Vaquera' y en el Grupo B se encuentra la accesión 'Cardón Blanco' (Figura 5). Los valores estadísticos indican un buen modelo (de $R^2X = 0.849$, $R^2Y = 0.947$, $Q^2 = 0.869$).

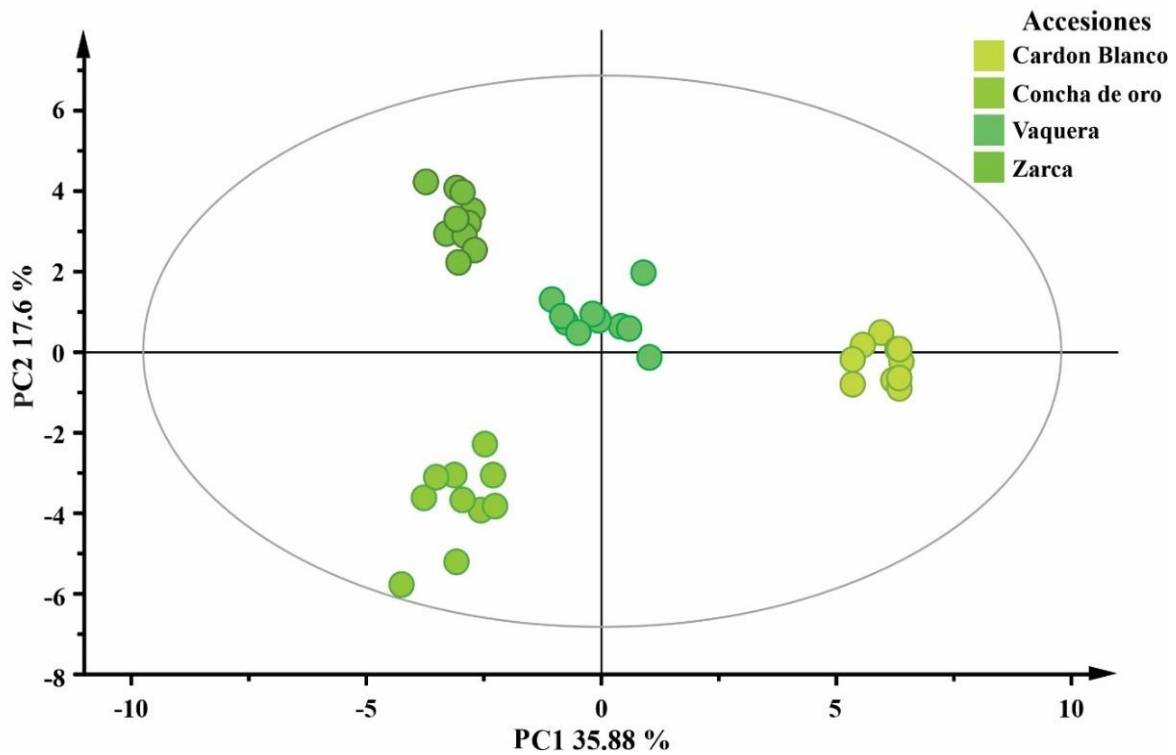
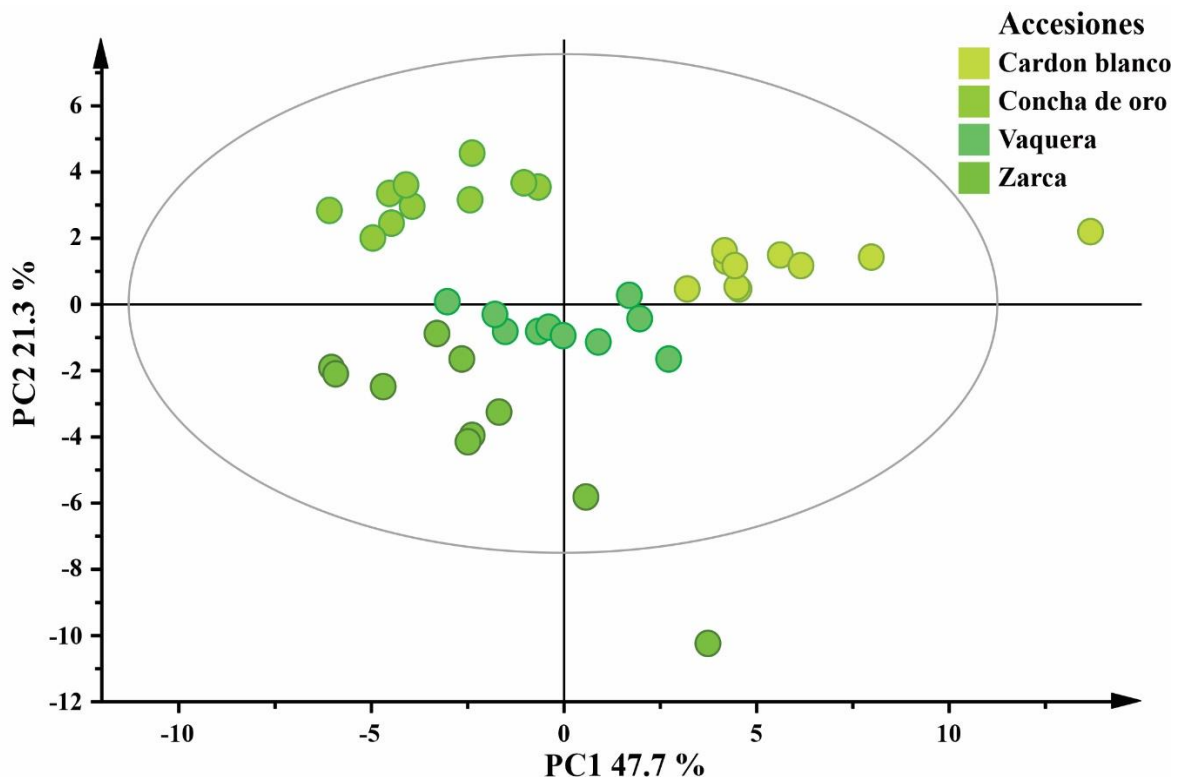


Figura 4. Gráfico de puntuaciones de Análisis de componentes principales de las 4 accesiones de pigmentación Verdes-Blancas. B) Grafico de puntuaciones OPLS-DA de 4 accesiones de pigmentación verde-blanca.

Los principales metabolitos responsables de las diferencias entre las accesiones de tuna Verdes - Blancas se muestran en el diagrama de cargas, que se obtuvo a partir del análisis de OPLS-DA, en general se puede observar que el grupo B, formado por la accesión 'Cardón Blanco' tiene una mayor concentración de los metabolitos (Figura 5).

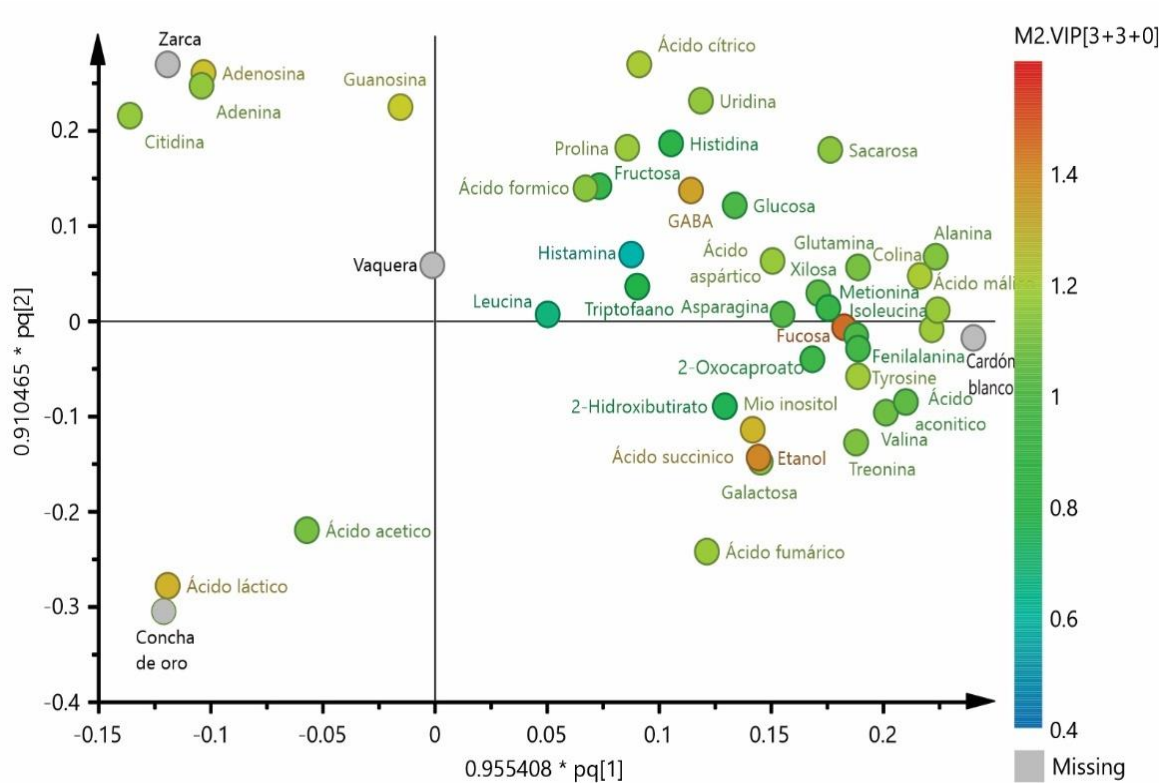


Figura 5. Diagrama de dispersión de cargas del modelo OPLS-DA de las accesiones de pigmentación verde-blanco. La escala de colores representa el valor de la variable de importancia de proyección (VIP) de los metabolitos con una mayor contribución del modelo OPLS-DA.

Los principales metabolitos responsables de las diferencias entre las accesiones de tunas Verdes - Blancas se muestran en el diagrama VIP (Variables de Importancia en la Proyección, $VIP \geq 1$), que se obtuvo a partir del modelo OPLS-DA. De acuerdo

con este modelo los metabolitos diferenciales fueron fucosa, etanol, GABA, ácido láctico, ácido succínico (Figura 6). La fucosa fue el principal metabolito diferencial entre las accesiones de tunas Verdes – Blancas, se encuentra en mayor concentración en las accesiones 'Cardón Blanco' y 'Concha de Oro', el 4-aminobutyrato también se encuentra en mayor concentración también en estas dos accesiones. El etanol y ácido succínico se encuentran en mayor concentración en las accesiones 'Cardón Blanco', 'Concha de Oro' y 'Vaquera'. Interesantemente, el ácido láctico se encuentra en muy alta concentración en la accesión 'Concha de Oro' (Figura 7).

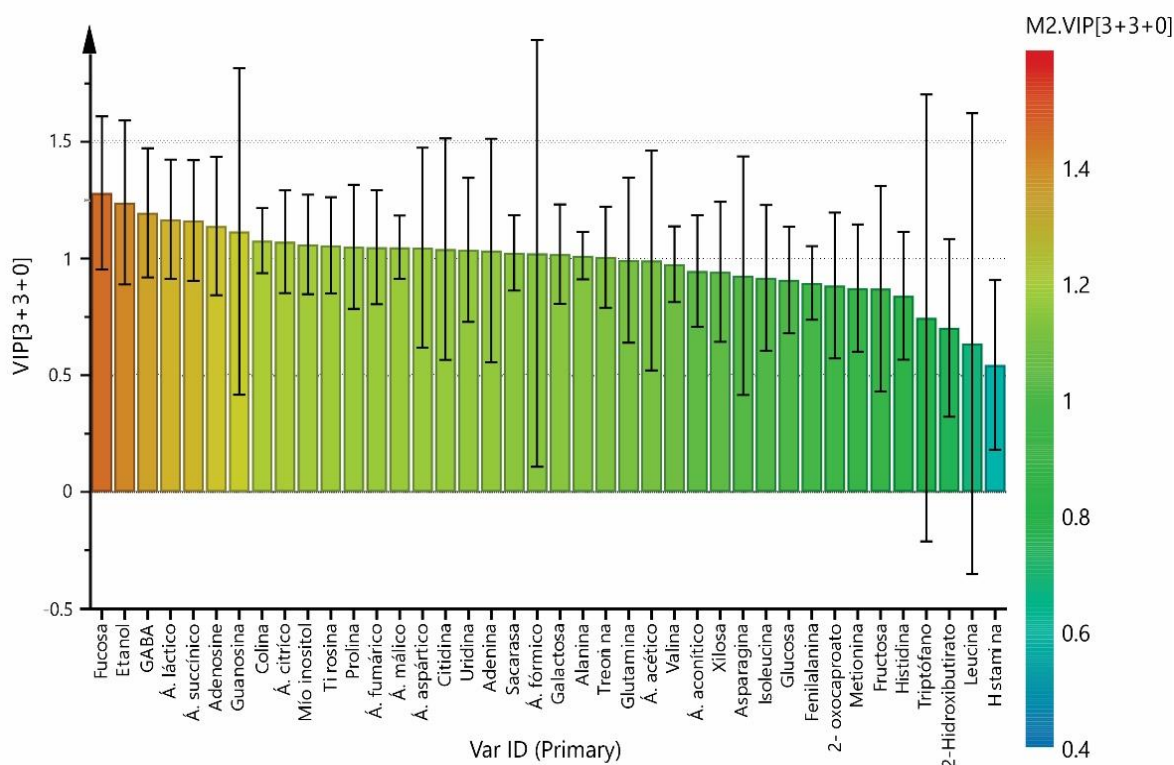


Figura 6. VIP generado del modelo de OPLS-DA de las accesiones de pigmentación verde-blanco (VIP > 1).

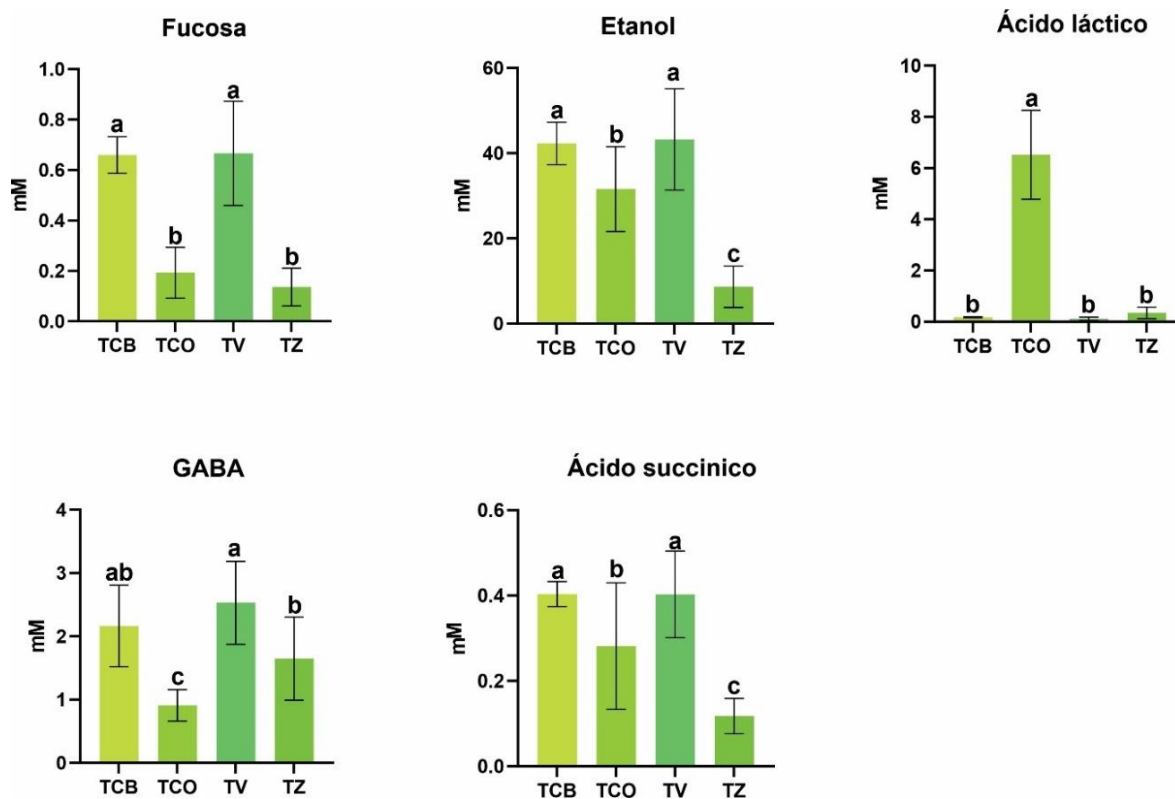


Figura 7. Abundancia relativa de metabolitos basada en el área media del pico de las señales asociadas de espectros de RMN ^1H de 750 M--Hz ($n= 10$) de las accesiones de pigmentación verde-blanco.

La presencia de monosacáridos como fucosa, galactosa y xilosa ha sido reportada por diferentes investigadores como constituyentes principales de los mucilagos en frutos, cascaras de frutos y cladodios de *Opuntia*, los mucilagos además están constituidos por otros residuos de azúcar como arabinosa, ramnosa, glucosa y ácido galacturónico (de Andrade Vieira *et al.*, 2021; di Lorenzo *et al.*, 2017; Gheribi *et al.*, 2019b). Estudios sugieren que los mucilagos de *Opuntia* tienen propiedades en la salud humana, relacionadas con la cicatrización de heridas, efectos antiulcerosos, tienen propiedades prebióticas entre otros (da Silveira Agostini-Costa, 2022).

El GABA es un aminoácido no proteínico, ha sido reconocido como un importante neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central, desempeñando un papel

clave en el mantenimiento de la salud mental (Katsuno *et al.*, 2015). Además, ejerce una serie de funciones fisiológicas que incluyen bajar la presión arterial, mejorar la memoria, inhibir la proliferación de células cancerosas, mejorar la inmunidad, reducir el insomnio y otras (Pu *et al.*, 2019).

Con la información obtenida podemos deducir las preferencias hacia las tunas de pigmentación verde-blanca debido a la presencia de ácidos orgánicos, azúcares y compuestos volátiles como variables de mayor importancia ya que tienen un efecto muy importante sobre la calidad, sabor y el aroma, debido a que son responsables de su acidez que es uno de los principales índices de maduración (Walker & Famiani, 2018), aunque cabe resaltar la presencia de los aminoácidos que proporcionan un importante beneficio nutricional.

4.1.2. Accesiones naranjas-amarillas

El análisis de componentes principales (PCA) de las accesiones de tuna con pigmentación Naranjas - Amarillas está definido por el primer componente principal (PC1) representó el 36.3 % de la variabilidad y el segundo componente principal (PC2) representó el 25.0 % de la variabilidad (Figura 8A). Este modelo nos permite ver el agrupamiento de las diferentes accesiones, pero no observamos una clara separación de los grupos. El modelo OPLS-DA dio altos valores estadísticos de R^2X (cum) = 0.803, R^2Y (cum) = 0.962 y $Q^2 = 0.933$, lo que nos indica un buen ajuste del modelo. Se observa la formación de dos grupos, el Grupo A esta formado 'Amarillo Chachiquehuite' y 'Naranja Legitima' y en el Grupo B solo encontramos la accesión 'Amarillo Monteza' (Figura 8B).

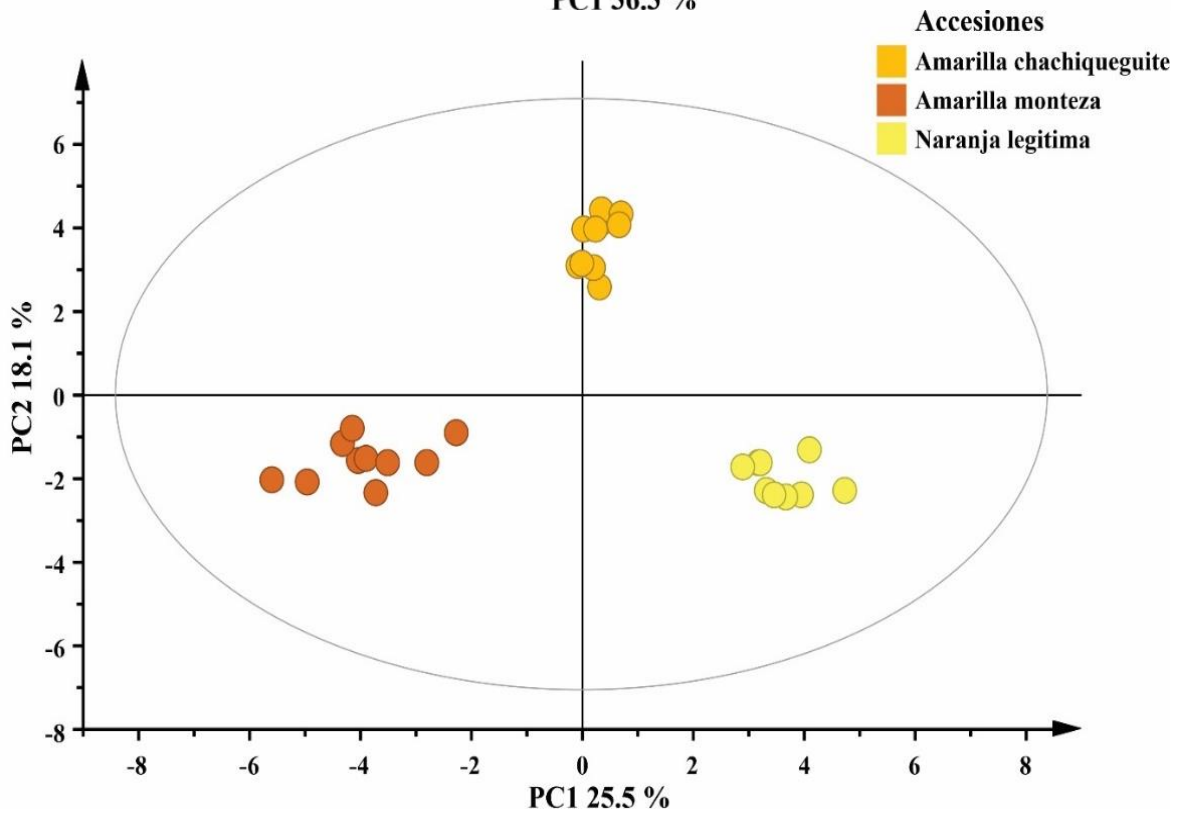
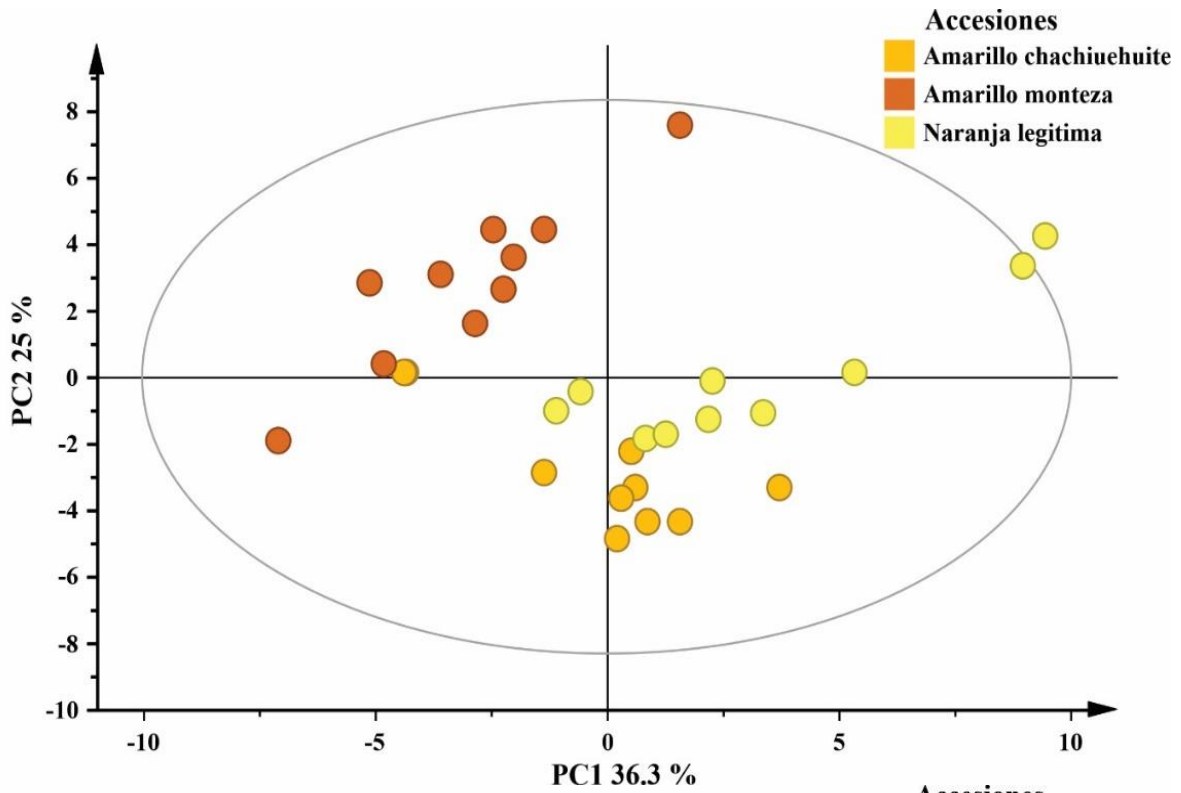


Figura 8: A) Grafico de puntuaciones de PCA de 3 accesiones de pigmentación Naranjas - Amarillas B) Grafico de puntuaciones OPLS-DA de 3 accesiones de pigmentación naranja-amarillo.

El diagrama de cargas generado del modelo OPLS-DA (Figura 9) nos indica los metabolitos discriminatorios en las especies de estudio, la mayoría de los metabolitos se concentran hacia el Grupo A, formado por las accesiones 'Amarillo Chachiquehuite' y 'Naranja Legitima', aunque cabe destacar que los metabolitos diferenciales de la accesión 'Amarillo Monteza', a excepción del ácido fumárico son aminoácidos, lo que le da un mayor aporte proteico.

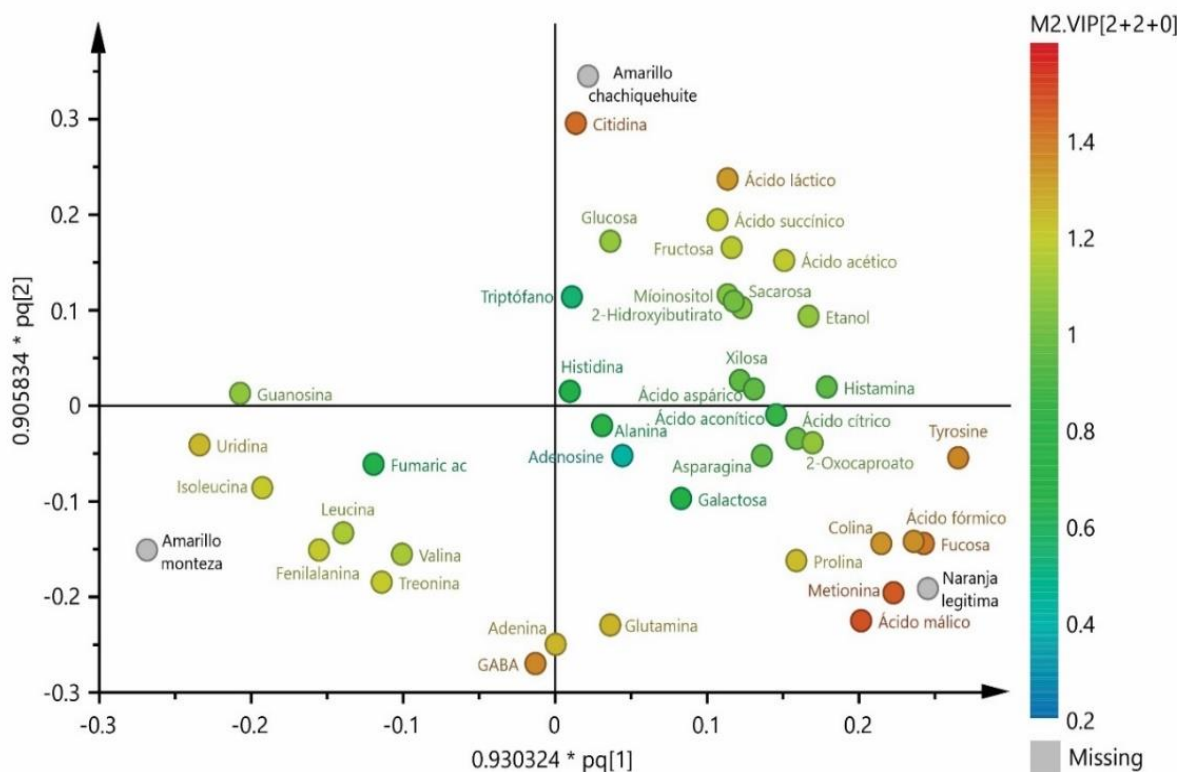


Figura 9. Diagrama de cargas del modelo OPLS-DA de las accesiones de pigmentación naranja-amarillo.

En la Figura 10A observamos el diagrama VIP (Variables de importancia en la proyección, $VIP \geq 1$) para las accesiones de pigmentación naranja-amarillo son ácido málico, metionina, citidina, fucosa, tirosina y GABA, estos compuestos se encuentran en mayor concentración en la accesión naranja legitima a excepción de la citidina que se concentra más en la tuna 'Amarilla Chachiquehuite' (Figura 10B).

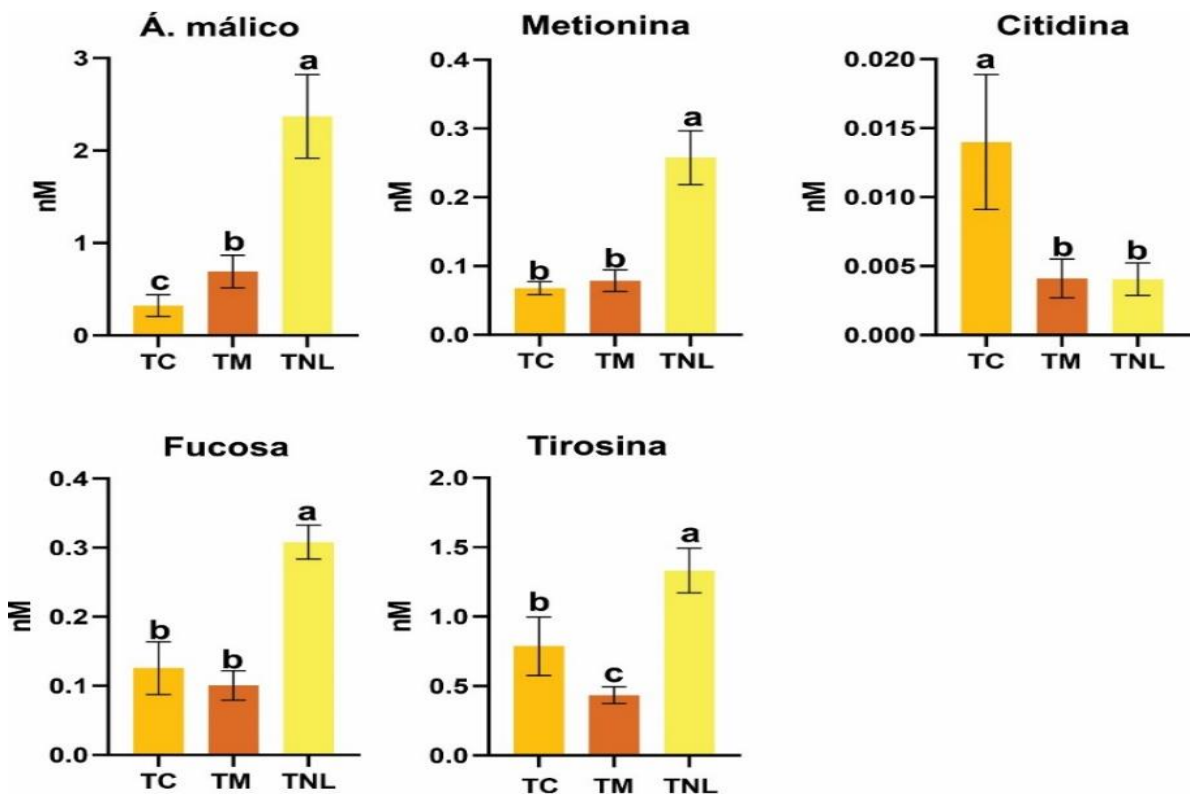
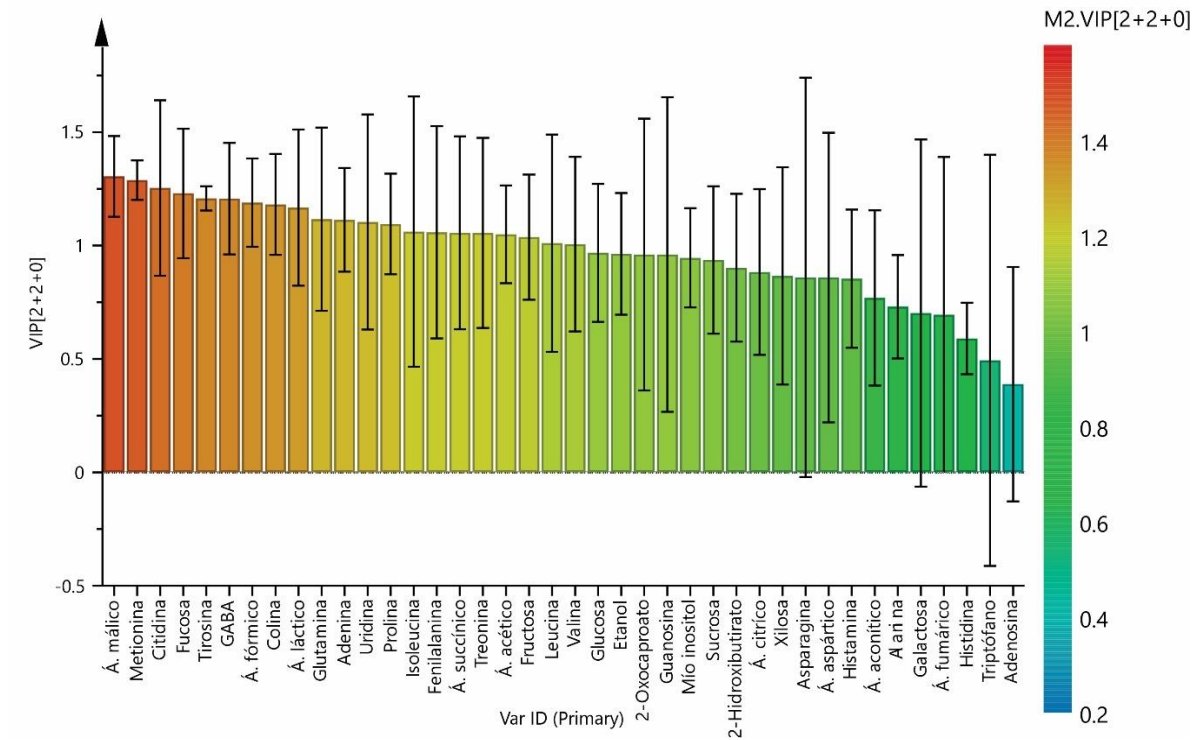


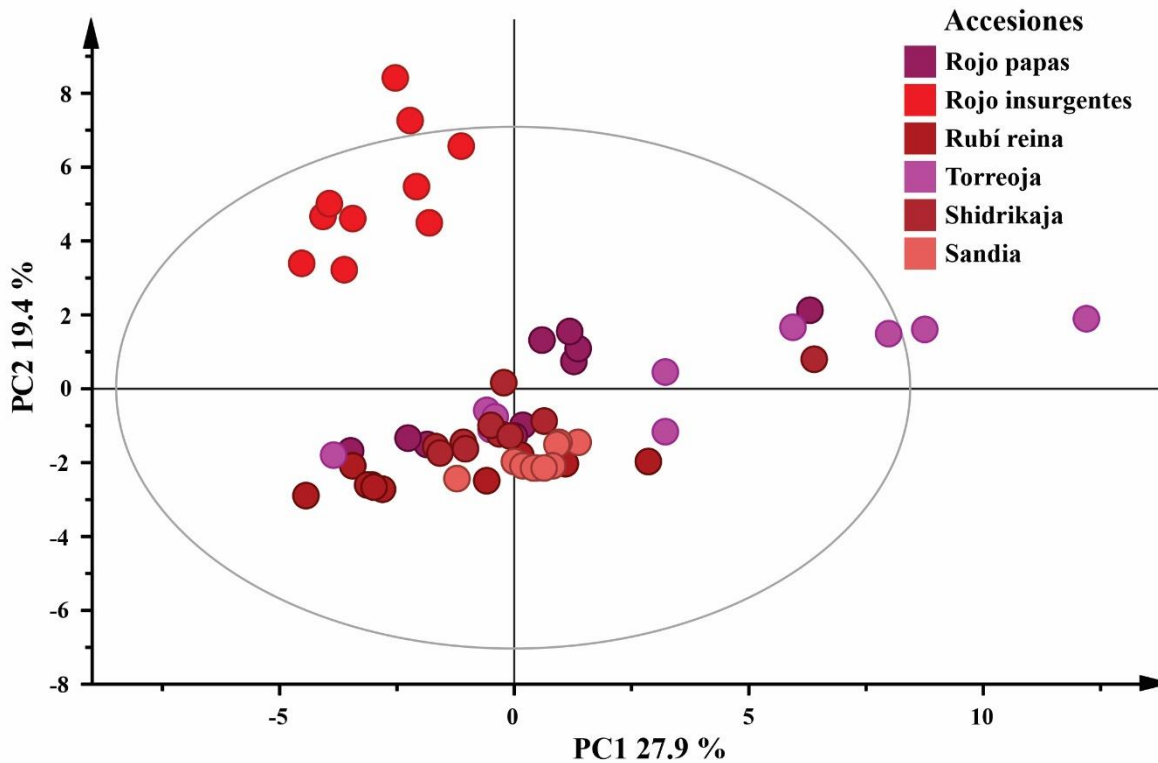
Figura 10. A) VIP generado del modelo de OPLS-DA (VIP > 1). B) Abundancia relativa de metabolitos basada en el área media del pico de las señales asociadas de espectros de RMN 1H de 750 M--Hz (n= 10) de las accesiones de pigmentación naranja-amarillo.

La importancia de ácido málico como la variable de mayor importancia de las accesiones de pigmentación naranjas-amarillas es la interacción que tiene con diversas rutas metabólicas, ya que puede estar involucrado directamente en procesos como el ciclo de Krebs (respiración). Los ácidos del ciclo de Krebs identificados en los frutos de tuna como el ácido succínico, aconítico, fumárico, y cítrico al igual que otros ácidos pueden proporcionar precursores para otras rutas como en la gluconeogénesis, fermentación a etanol, síntesis/interconversión de aminoácidos y como sustrato para la producción de metabolitos secundarios tales como pigmentos (Famiani *et al.*, 2015a). El metabolismo del malato y el citrato está íntimamente relacionado con el de los aminoácidos y las amidas, y una de las razones es que los esqueletos de carbono de muchos compuestos nitrogenados se sintetizan a partir de estos ácidos orgánicos (Walker & Famiani, 2018). También cabe señalar la importancia nutrimental de los aminoácidos como metionina, éste se clasifican dentro de los aminoácidos esenciales ya que no somos capaces de sintetizarlos y deben ser aportados por la dieta y la falta de consumo de estos aminoácidos puede dar lugar a diferentes tipos de desnutrición. Los aminoácidos, desde un punto de vista biológico, son los elementos componentes de la estructura proteínas y éstas a su vez son las estructuras que componen cualquier tejido vivo, su presencia es tan relevante, que se les conoce como los constructores de la vida (Morales *et al.*, 2017). De igual forma los aminoácidos cumplen importantes funciones, entre ellas su intervención en el funcional metabolismo energético, y su acción antiestrés minimizando los efectos nocivos que provocan ciertas enfermedades (Famiani *et al.*, 2015b). Los aminoácidos también son precursores o

están involucrados en la estructura de compuestos secundarios como las betalaínas, estas resultan de la conjugación del ácido betalámico con diferentes aminoácidos proteicos o no proteicos y aminor biogénicas, dentro de los aminoácidos que se ha reportado se encontramos en la estructura de las betalaínas está la metionina, GABA, tirosina, fenilalanina, prolina, triptófano, treonina, metionina, alanina, y el ácido aspártico (Amaya-Cruz *et al.*, 2019; Gandía-Herrero & García-Carmona, 2013).

4.1.3. Accesiones rojas-moradas

Para el análisis de las 6 accesiones de pigmentación rojo - morado, en modelo de PCA la varianza es de 27.9 % en PC1 mientras que en PC2 es de 19.4 %, mostrando un 47.3 % de varianza total, este modelo es notable la separación de la accesión 'Rojo Insurgentes' (Figura 11A). Para obtener una mejor discriminación entre las seis accesiones se realizó el análisis de OPLS-DA (Figura 13), confirmando la separación la separación de la accesión 'Rojo Insurgentes' del resto de las accesiones, los valores estadísticos fueron los siguientes: $R^2X = 0.801$, $R^2Y = 0.705$ y $Q^2 = 0$. (Figura 11B).



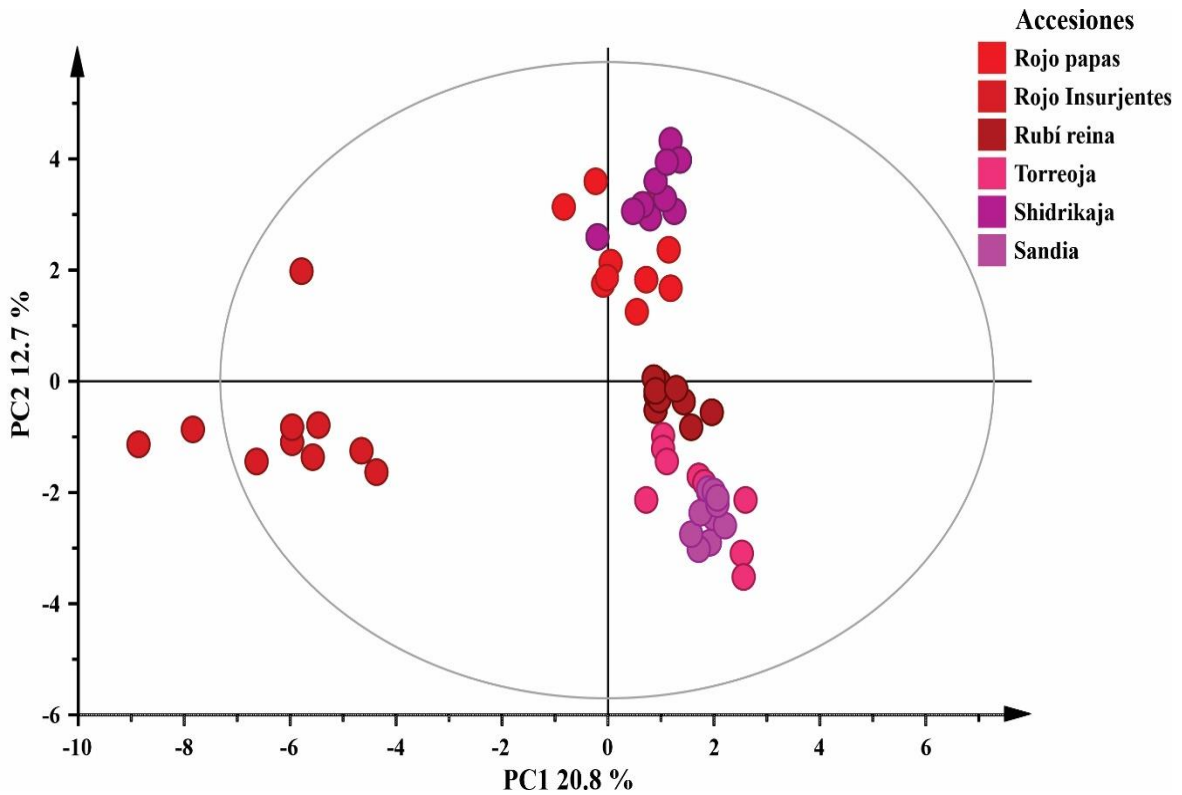


Figura 11: A) Gráfico de puntuaciones del modelo PCA de 6 accesiones de pigmentación Rojo- Morado. B) Gráfico de puntuaciones del modelo OPLS- DA de 6 accesiones de pigmentación rojo- morado.

Los metabolitos responsables de la varianza se han representado en el gráfico de cargas del OPLS-DA (Figura 12), los principales metabolitos diferenciales de la accesión Rojo insurgentes son ácido láctico, ácido acético, metionina, 2-hidroxisobutirato y etanol.

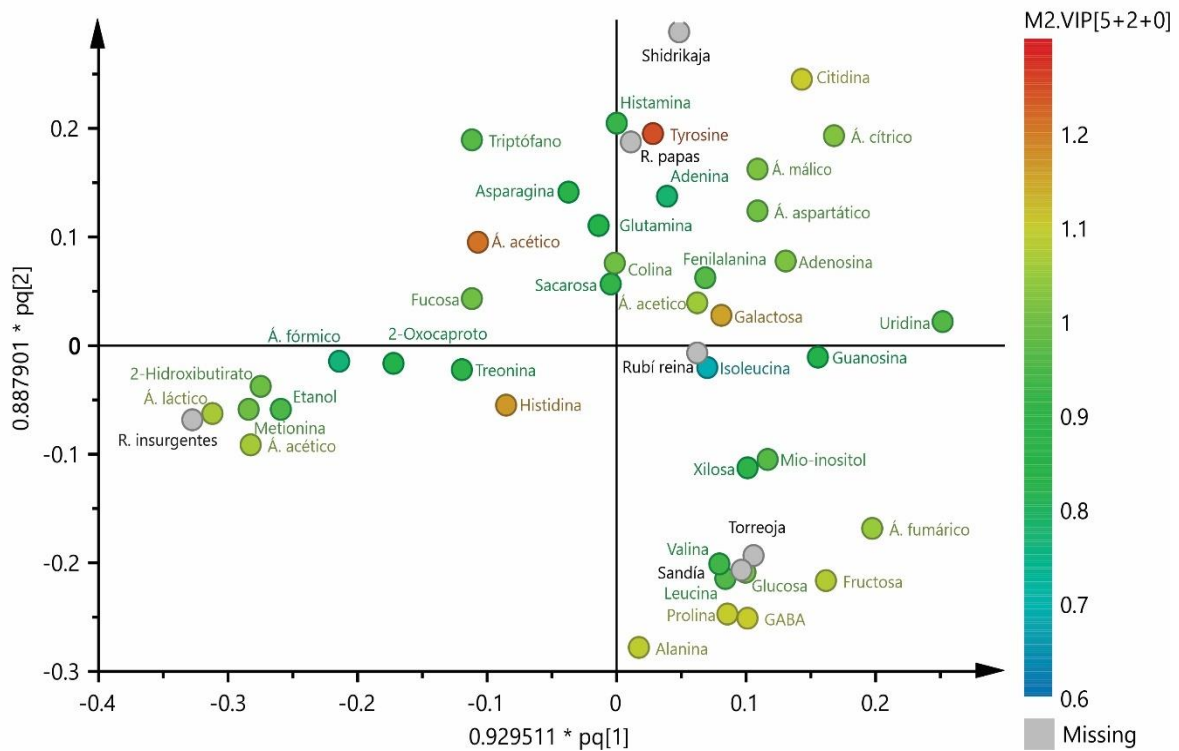


Figura 12. Diagrama de cargas del modelo OPLS-DA de las accesiones de pigmentación rojo-morado. La escala de colores representa el valor de la variable de importancia de proyección (VIP) de los metabolitos con una mayor contribución del modelo OPLS-DA de las accesiones de pigmentación rojo-morado.

En la figura 13 se muestran las variables de mayor importancia en las tunas de pigmentación rojo-morado fueron tirosina, ácido acónítico, histidina, galactosa, citidina, GABA y prolina. La diferencia principal que podemos observar en las variables de mayor importancia es la ausencia de citidina en la accesión Rojo insurgentes y mayor contenido de ácido aconítico y tirosina. La accesión Torreoja presenta mayor contenido de Histidina, GABA aunque la concentración de aconítico y galactososa no mostraron diferencias significativas. La accesión Rubi reina mostro menor contenido de tirosina, galactosa al igual que menor contenido de histidina y ácido aconítico (Figura 14)

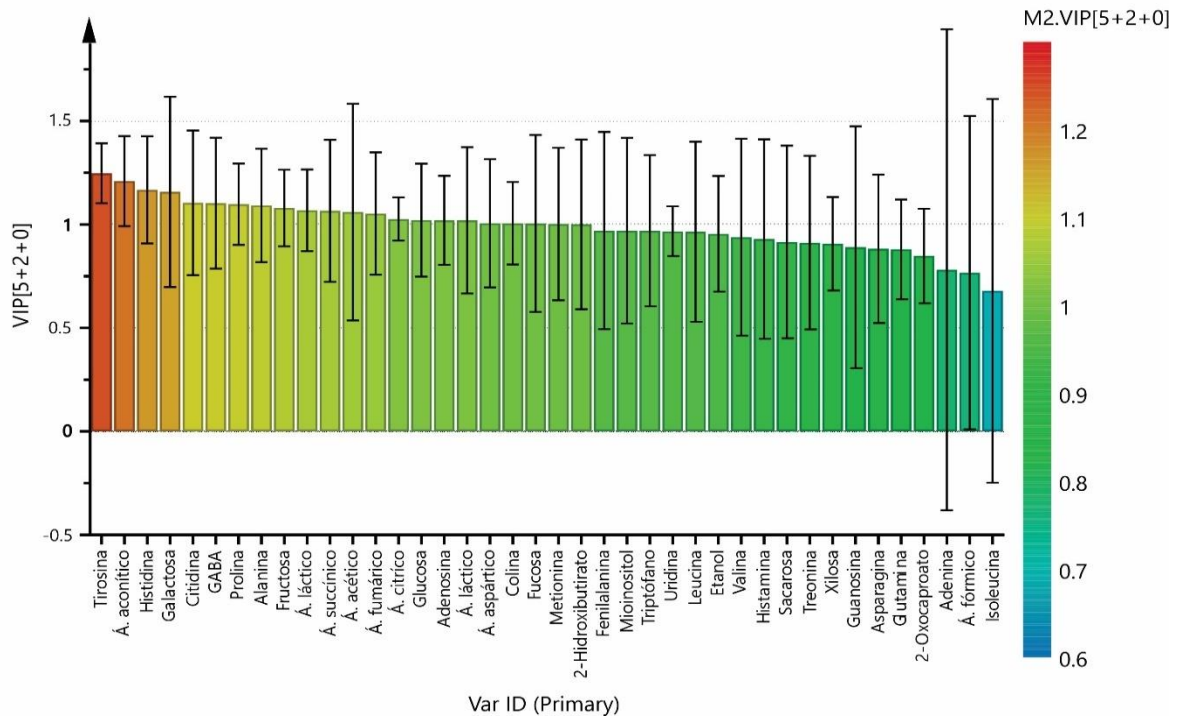


Figura 13. VIP generado del modelo de OPLS-DA (VIP > 1) las accesiones de pigmentación rojo-morado.

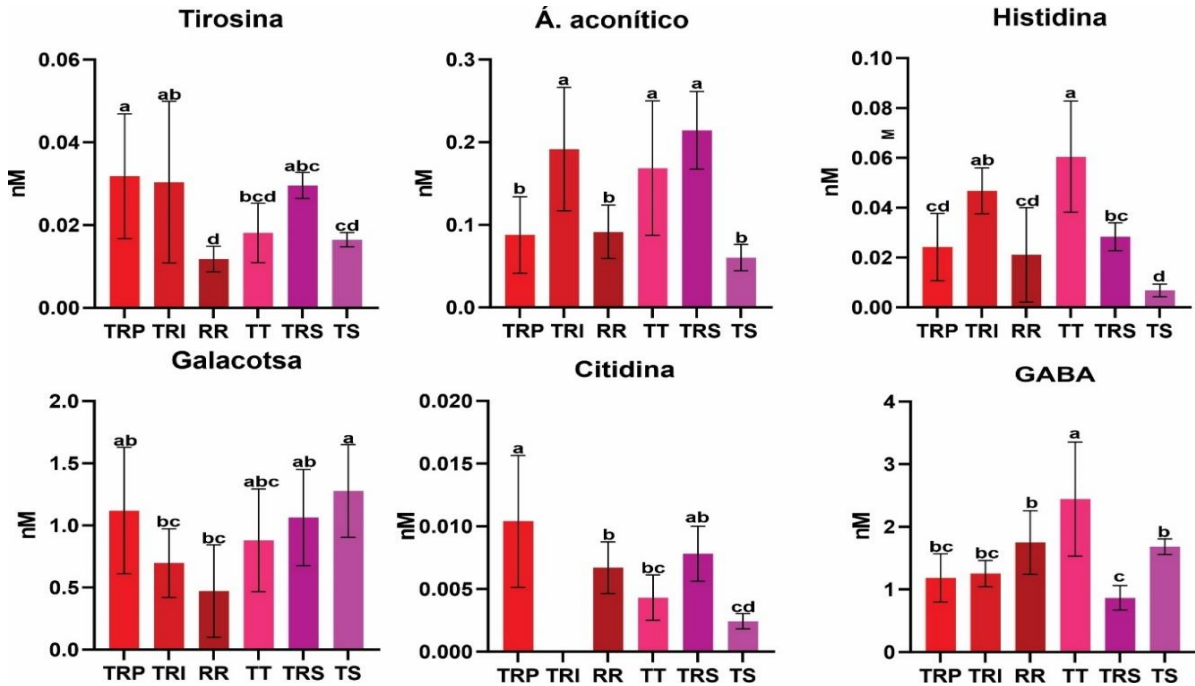


Figura 14. Abundancia relativa de metabolitos basada en el área media del pico de las señales asociadas de espectros de RMN 1H de 750 M--Hz (n= 10) las accesiones de pigmentación rojo-morado.

La importancia de la tirosina como biomarcador de las especies de pigmentación Roja-Morada radica en los beneficios que proporcionan el consumo de estos nutrientes ya que son importantes para el crecimiento humano y la salud. Si bien la tirosina como aminoácido aromático nos da indicios del potencial funcional de los frutos de pigmentación rojo-morado, ya que es un precursor de la biosíntesis de compuestos funcionales (Grützner, *et al.*, 2021), Las betalainas son metabolitos secundarios derivados del aminoácido L-tirosina que proporcionan la pigmentación a las tunas (Gandía-Herrero & García-Carmona, 2013).

En cuanto a los nucleósidos es importante recordar que son los componentes básicos del ADN y el ARN y de muchas moléculas que son fundamentales para el metabolismo, por ejemplo, ATP, NADH, Co-A y UDP-Glc, son nucleótidos o contienen restos de nucleótidos (Claus-Peter Witte & Marco Herde, 2020).

5. CONCLUSIONES

Se identificaron 40 compuestos en los frutos de *Opuntia* con el equipo de RMN entre carbohidratos, aminoácidos, ácidos orgánicos y nucleósidos

Se lograron identificar los metabolitos discriminantes para los metabolitos discriminantes para las diferentes pigmentaciones de tuna, para las accesiones de pigmentación verdes-blancas fueron fucosa, etanol, gaba, ácido láctico y ácido succínico, para las de pigmentación naranja- amarilla fue ácido málico, metionina, citidina, fucosa, tirosina y para las de pigmentación tirosina, ácido aconítico, histidina, galactosa, citidina.

Con la comparación de las diferentes accesiones analizadas en este estudio podemos decir que el fruto de la tuna independientemente de su pigmentación mostró importantes propiedades nutricionales, con interés biológico que traen beneficios a la salud además pueden ser una fuente potencial de ingredientes funcionales y nutraceuticos.

CAPITULO II

COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN FRUTOS DE ACCESIONES TUNAS DE PIGMENTACIÓN VERDE, AMARILLA Y ROJA.

RESUMEN

Los frutos de *Opuntia* representan una fuente importante de compuestos bioactivos que tienen una importante actividad biológica. El objetivo de este trabajo fue cuantificar los compuestos bioactivos y actividad antioxidante en doce accesiones de tuna con diferente pigmentación. Los frutos de tuna fueron cosechados en madurez comercial en el Repositorio Nacional de *Opuntia* en el Estado de Zacatecas, las variables evaluadas fueron; fenoles totales, flavonoides totales, betalaínas y ácido ascórbico. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar y la prueba de comparaciones múltiples de medias de Tukey con una $P \geq 0.05$.

La accesión 'Naranja legitima' (naranja-amarilla) que presento mayor actividad antioxidante por el método de DPPH y también mostro la mayor cantidad de compuestos fenólicos, y bentaxantinas. La accesión 'Concha de Oro' (verde-blanca) mostró la mayor actividad antioxidante por el método ABTS y el mayor contenido de ácido ascórbico. Y las accesiones 'Rojo insurgentes' y 'Rojo papas' fueron la que tuvieron mayor contenido de flavonoides totales y betacianinas.

1. INTRODUCCIÓN

Opuntia es una planta que crece en regiones silvestres, áridas y semiáridas, estas plantas representan una valiosa alternativa para el desarrollo agrícola en regiones secas, juegan importantes roles socioeconómicos y ecológicos ya que se utiliza para consumo humano, como forraje para el ganado, para el control de la erosión y para combatir la desertificación (Ahmed Sidra Nisarand *et al.*, 2021; Mazri, 2021; Pinedo-Espinoza *et al.*, 2017). La composición química y las propiedades de los frutos de *Opuntia* han atraído la investigación y el interés comercial ya que sus especies son ricas en fitoquímicos, nutrientes y compuestos bioactivos. Varios de estos constituyentes han revelado características antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas, anticancerígenas, antiateroscleróticas, antidiabéticas, neurológicas y protectoras del intestino que pueden ser de interés para la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica (da Silveira Agostini-Costa, 2022; Valero-Galván *et al.*, 2021). El género *Opuntia* se caracteriza por muchas especies y genotipos con alta similitud morfológica entre muchos de ellos y las características fisicoquímicas y fitoquímicas, varían enormemente dependiendo del cultivar, genotipo/accesión/ecotipo y la ubicación geográfica del cultivo (Mazri, 2018). Por lo que la caracterización más precisa nos ayuda a identificar la utilización más adecuada según las especies y cultivares, debido a que actualmente a pesar de la amplia diversidad genética, las especies se encuentran infrautilizadas. Por lo que el presente trabajo tiene como objetivo caracterizar los compuestos bioactivos y actividad antioxidante de 12 accesiones de tuna con diferente pigmentación cultivadas en la misma región, e identificar cual tiene mayor actividad biológica.

2. OBJETIVO

Evaluar los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante *in vitro* en accesiones de tunas de pigmentación verde, amarilla y roja.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal

Doce accesiones de frutos de tunas (*Opuntia spp*) rojas-morado, naranjas- amarillas y verdes-blancas (Cuadro 1), fueron cosechadas con un índice de madurez comercial en el Repositorio Nacional de *Opuntia*, en el Centro Regional Universitario del Centro Norte (CRUCEN-Zacatecas) de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Zacatecas, Zacatecas, México, a 22 ° 44 '49.6' ' latitud norte y 102 ° 46' 28.2 " longitud oeste, a una altitud de 2,296 metros sobre el nivel del mar. Su clima se clasifica como BS1kw (w), que corresponde a un clima seco, el menos seco de los BS, con una temperatura media anual que oscila entre 12 y 18 °C, y una precipitación media anual de 472 mm. La mayor parte de la precipitación (65%) se encuentra a partir de junio a agosto. Los frutos cosechados fueron trasladados al Laboratorio Postcosecha del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAP) de la UAEH, donde se seleccionaron aquellos que estuvieran libres de plagas y daños mecánicos, posteriormente se lavaron con agua destilada para eliminar las gloquidias y se mantuvieron en refrigeración a 4± 1 °C hasta su análisis.

Cuadro 1: Clasificación de las accesiones de tuna.

Accesión	Color	Clasificación taxonómica
Cardón blanco	verde-blanca	<i>O. streptacantha</i>
Concha del oro	verde-blanca	<i>Opuntia spp.</i>
Vaquera	verde-blanca	<i>O. albicarpa</i>
Zarca	verde-blanca	<i>Opuntia spp.</i>
Amarilla chachiquequite	naranja-amarilla	<i>Opuntia spp.</i>
Naranja legitima	naranja-amarilla	<i>Opuntia spp.</i>
Rojo insurgente	rojo-morado	<i>O. megacantha Salm-Dick</i>
Rojo papas	rojo-morado	<i>Opuntia spp.</i>
Rubí reina	rojo-morado	<i>O. megacantha</i>

Sandia	rojo-morado	<i>O. streptacantha</i>
Shidrikaja	rojo-morado	<i>O. megacantha Salm-Dick</i>
Torreja	rojo-morado	<i>O. megacantha</i>

3.2. Productos químicos

Adquirimos fenolftaleína adquirida de laboratorios Hycel de México, S.A. de C.V. (México, D.F., México), hidróxido de sodio (NaOH), carbonato de sodio anhidro y tricloruro de aluminio, adquiridos de J.T. Baker S.A. de C.V. (Avantor Performance Materials, Center Valley, Pennsylvania, EUA), ácido gálico, quercetina, 2,2'-difencil-1- picrilhidrazilo (DPPH), 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS), Trolox (ácido 6-hidroxi- 2,5,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) y reactivo de Folin- Ciocalteau, adquiridos de Sigma-Aldrich Química S.A. de C.V (San Luis Missouri, EUA), alcohol metílico, etanol adquiridos de Química Meyer (Química Suastes S.A. de C.V. Tlahúac, México, D.F., México), ácido tricloroacético fue adquirido en Macron (Avantor TM Performance Materials, Inc. 3477 Corporate Parkway, Surte 200, Center Valley, PA., 18034, EE.UU.) y persulfato de potasio adquirido de laboratorios Reasol S.A. de C.V. (Tecamac, Edo de México, México). Como fase estacionaria para la separación cromatografica se utilizó Sephadex LH-20, polímero de sacarosa (Dextrano hidroxipropilado y entrecruzado que produce una red polisacárida), con un límite de exclusión de 4×10^3 hasta 5×10^3 Daltons.

3.3. Parámetros fisicoquímicos

Los diámetros polar y ecuatorial se midieron mediante un vernier digital marca Mitutoyo, 500, Japón. El peso del fruto se determinó mediante una balanza digital de precisión 0.01 g (Ohaus Pro, modelo Scout Pro SP2001). Para la determinación

de sólidos solubles totales (SST), expresados en grados Brix (°Bx) utilizó un refractómetro digital (ATAGO PR-101, CO LTD, Japón) (AOAC, 2019). El pH se midió mediante un potenciómetro (marca Hanna Instrument Model HI 2211, Rumania). Para la determinación de acidez titulable se molieron 10 g muestra y se le agregó 50 mL de agua destilada. Se tomaron 10 mL de la mezcla anterior y se adicionaron 3 gotas de azul de bromotimol al 1%, posteriormente se tituló con NaOH 0.1N. El porcentaje de acidez se determinó mediante la siguiente fórmula de acuerdo al método de la (AOAC, 2019):

Ecuación 1

$$\% \text{ de ácido cítrico} = \frac{(mL \text{ NaOH})(N)(meq)(VT)(100)}{Ag}$$

Donde:

mL NaOH: mililitros de hidróxido de sodio gastados en la titulación

N: Normalidad del hidróxido de sodio

meq: Miliequivalentes del ácido cítrico (0.064)

VT: Volumen de la muestra preparada.

A: Alícuota tomada para la medición

g: Peso de la muestra.

3.3.1. Color

La determinación de color se realizó mediante un colorímetro (MINOLTA CM-508d, Japón), se midieron los parámetros L*, a* y b* de la Comisión Internacional en Iluminación (CIE). Donde L* es la luminosidad o brillo de la superficie y va de 0

(negro) a 100 (blanco). Los otros dos ejes de coordenadas son a^* y b^* , y representan variación entre rojo-verde, y amarillo-azul, respectivamente. Las mediciones se realizaron directamente sobre la superficie de los frutos. Con los valores de L^* , a^* y b^* se calculó Cromo (C^*), $C = (a^2 + b^2)^{\frac{1}{2}}$ que representa el índice de saturación, y el ángulo de tono (h°) = $\tan^{-1}(a/b)$ (Mcguire, 1992).

3.4. Contenido de compuestos bioactivos

Se pesó 1.5 g de pulpa fresca, y se le agregó metanol al 80%. Posteriormente la mezcla fue ultrasonicada a 40 Khz durante 15 minutos a 20 °C. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 10 000 × g por 10 min a 4 ° C. El sobrenadante se utilizó para determinar los ensayos de DPPH, ABTS fenoles y flavonoides totales.

3.4.1. Contenido de betalaínas

Se determinó el contenido de betacianinas y betaxantinas con el método propuesto por Stintzing F. *et al.*, (2003). Se pesó pulpa de tuna fresca, y se les agregó 10 mL de metanol al 50%. Luego se ultrasonicaron durante 15 min a 20 °C. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 10 000 × g por 10 min a 4 ° C. Para medir el contenido de betalaínas se tomaron 2 mL del sobrenadante y se midió la absorbancia a 537, 476, 600 nm. Para las tunas de color rojo-morado se hizo una dilución del sobrenadante con metanol al 50% en una relación 1:1 (v:v).

El contenido de betacianinas y betaxantinas se calculó con la fórmula:

Ecuación 2

$$\text{Betacianinas o betaxantinas} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = (A \cdot FD \cdot PM \cdot V)(\epsilon \cdot l)^{-1}$$

Donde:

A= Absorbancia

FD = Factor de dilución;

PM = Peso molecular (betacianina: 550 g mol⁻¹, betaxantina: 308 g mol⁻¹;

V = Volumen del extracto (mL);

ϵ = Coeficiente de extinción molar (betacianina: 60 000 L mol⁻¹·cm⁻¹; betaxantina: 48,000 L mol⁻¹·cm⁻¹;

P = Peso del tejido;

l = Longitud de la celda (1 cm).

3.4.2. Contenido de fenoles totales

Se determinó el contenido de fenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu (Waterman & Mole S., 1994). Se preparó una solución con el reactivo de Folin-Ciocalteu al 50 % en agua destilada y se preparó una solución de Carbonato de Sodio (Na₂CO₃) al 7.5 % en agua destilada. Posteriormente se mezclaron una alícuota del sobrenadante, 1.5 mL de Na₂CO₃, 0.5 mL de Folin-Ciocalteu y 2.5 mL de agua destilada. Esta mezcla se dejó reaccionar en oscuridad durante 1 hora y se midió la absorbancia a 725 nm usando un espectrofotómetro. Se preparó una curva

de calibración usando ácido gálico como estándar y los resultados se expresan como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) g⁻¹ peso fresco (FW).

3.4.3. Contenido de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales se determinó de acuerdo con al método descrito por Arvouet-Grand *et al.*, (1994) con ligeras modificaciones; Se prepararon las soluciones descritas a continuación: Tricloruro de Aluminio (AlCl₃) al 2% en agua destilada Nitrato de Sodio (NaNO₂) al 5% en agua destilada e Hidróxido de Sodio (1 M) en agua destilada. Se mezclaron una alicota del sobrenadante la muestra, 2 mL de H₂O destilada, 0.15 mL de NaNO₂ al 5%, después se agregó 0.15 mL de AlCl₃ y por último 1 mL de NaOH (1 M), se dejó reposar durante 20 min en la oscuridad y se midió la absorbancia a 415 nm usando un espectrofotómetro (Jenway 6715 UV/VIS, Jenway Techne Inc. EE. UU.). Se preparó una curva de calibración (0-40 mg/L) utilizando quercetina como estándar. Los resultados se expresan en mg equivalentes de quercetina (EQ) 100 g⁻¹ de peso fresco (FW).

3.4.4. Contenido ácido ascórbico

La determinación de vitamina C se realizó de acuerdo con el método descrito por Durust *et al.*, (1998). Se pesó 1.5 g de la pulpa de tuna fresca, se le agregó 10 mL de ácido oxálico 0.4 % y se ultrasonicaron durante 15 min a 20 °C. Después se centrifugaron a 10 000 × g por 10 min a 4 ° C. Posteriormente se mezcló 0.25 mL del sobrenadante con 0.25 mL de solución buffer de acetato de sodio (300 g de acetato de sodio anhidro + 700 mL de agua destilada + 1,000 mL de ácido acético glacial) y 2 mL de solución 2,6 - dicloroindofenol (12 mg de sal 2,6 dicloroindo-fenol

en 1,000 mL de agua destilada). La absorbancia de esta mezcla fue leída por espectrofotometría a una longitud de onda de 520 nm. El contenido de vitamina C se calculó utilizando una curva estándar realizada con ácido ascórbico. La concentración de vitamina C se reporta como mg de ácido ascórbico/g de peso fresco.

3.5. Evaluación de la actividad antioxidante por ABTS y DPPH

La capacidad de captación de radicales fue determinada por el Ensayo ABTS descrito por Re *et al.*, (1999). Se preparo una solución acuosa de ABTS 7 mM se mezcló con una solución acuosa de persulfato de potasio 2,45 mM a una relación 1: 1 (v:v). Esta mezcla se dejó en la oscuridad bajo constante agitación durante 16 h con el fin de producir el radical ABTS (ABTS⁺). Posteriormente la solución que contiene ABTS⁺ se mezcló con metanol al 80% hasta alcanzar un valor de absorbancia de $0,700 \pm 0,02$ a 754 nm. Luego se mezcló una alicota del sobrenadante de la pulpa del fruto con 3.9 mL de ABTS⁺ diluido. Esta mezcla se dejó reposar en oscuridad durante 6 min y se midió la absorbancia a 754 nm. Se utilizó Trolox como estándar preparando una curva estándar (Trolox 0-15 mM). Los resultados se expresan como capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) en μM Trolox equivalente (TE) 100 g^{-1} fresco peso (FW).

La capacidad de captación de radicales se realizó por el Método DPPH descrito por Brand-Williams *et al.*, (1995). Se preparó una solución del radical de DPPH a 6×10^{-5} M y se dejó reposar 2 h bajo constante agitación en oscuridad. Se mezcló una alicota del sobrenadante previamente obtenido con 2.7 mL la solución DPPH (), La mezcla

se dejó reposar en oscuridad por 1 h a 4 °C y se midió la absorbancia a 517 nm. Se utilizará Trolox como estándar, y los resultados se expresan en mmol de equivalentes de Trolox (TE) 100 g⁻¹ peso fresco (FW).

3.6. Análisis estadístico

Se realizó un diseño experimental completamente al azar, los resultados de analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparaciones de medias múltiples de Tukey con un $P \leq 0.05$ mediante el programa SAS system for Windows versión 4.

Sé realizo un Análisis de componentes principales mediante el programa JMP Pro Statistical Discovery versión 14

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros de longitud polar, diámetro ecuatorial y peso, de las tunas analizadas se presenta el cuadro 2. Respecto a la longitud polar de las accesiones de tunas varió de 57.73 a 93.86 mm, se observó que los frutos de mayor longitud fueron las tunas de pigmentación amarilla-naranja, los frutos de tuna 'Zarca' y 'Rubí' reina de pigmentación verde-blanca y roja-morada respectivamente, mientras que la tuna de menor longitud fue 'Rojo papas' (rojo-morada). La longitud de las tunas analizadas presenta valores similares a los reportados por Kharrassi *et al.*, (2016) en frutos *Opuntia ficus indica* y *Opuntia megacantha*, las cuales tienen una pigmentación amarillo-naranja

En cuanto al diámetro ecuatorial 'Naranja legitima' fue la accesión que presentó significativamente el mayor diámetro ecuatorial, seguido de las tunas verde-blanco 'Zarca' y 'Vaquera'. Por otro lado, las tunas que presentaron un menor diámetro ecuatorial fueron las de pigmentación rojo-morada ('Rojo insurgente', 'Rojo papas' y 'Rubí reina'). La longitud polar y el diámetro ecuatorial están muy relacionados con el peso de los frutos, de tal forma que las accesiones con mayor peso fueron las tunas de pigmentación amarillo-naranja y 'Zarca' de pigmentación verde-blanco, mientras que las accesiones con menor peso se encontraron en diferentes tunas rojo-morado. De acuerdo con Amani *et al.*, (2019), la longitud y el peso del fruto varía significativamente según la especie, la accesión y el origen geográfico de la planta. Jiménez-Aguilar *et al.*, (2015), reportan valores menores a los encontrados

en este trabajo en frutos de *Opuntia ficus-indica* cultivados en la zona centro de México. La longitud polar, diámetro ecuatorial de los frutos, el peso de la cáscara y el peso de la pulpa, tienen implicaciones esenciales en la comprensión del estado botánico y taxonómico, y ayuda a resaltar un nivel bastante alto de diversidad (Cota-Sánchez, 2016; Mazri, 2021; Amani *et al.*, 2019). De tal forma que en este estudio encontramos que las tunas de pigmentación amarillo-naranja son frutos de mayor tamaño, en comparación con los rojo-morado.

Cuadro 2: Parámetros de peso, diámetro polar y diámetro ecuatorial de doce accesiones de tuna (*Opuntia spp.*).

Accesiones de tuna	Longitud polar (mm)	Diámetro ecuatorial (mm)	Peso (g)
Pigmentación verde-blanca			
Cardón blanco (<i>O. streptacantha</i>)	67.85 ± 3.89e	55.49 ± 1.93bc	102.31 ± 8.02de
Concha del oro (<i>Opuntia spp</i>)	79.63 ± 4.88bc	50.54 ± 2.53e	97.92 ± 9.17de
Vaquera (<i>O. albicarpa</i>)	72.54 ± 3.05de	57.88 ± 1.45b	111.31 ± 7.34cd
Zarca (<i>Opuntia spp</i>)	89.83 ± 2.09a	58.34 ± 1.96b	137.36 ± 18.03b
Pigmentación amarilla-naranja			
Amarilla chachiquequite (<i>Opuntia spp.</i>)	93.86 ± 5.08a	54.14 ± 6.07cd	143.48 ± 19.70b
Naranja legitima (<i>Opuntia spp</i>)	91.47 ± 6.18a	65.25 ± 1.54 ^a	190.82 ± 5.762a
Pigmentación rojo-morada			
Rojo insurgente (<i>O. megacantha Salm-Dick</i>)	75.20 ± 3.48cd	46.64 ± 1.16f	88.38 ± 4.88e
Rojo papas (<i>Opuntia spp</i>)	57.73 ± 4.38f	47.24 ± 2.27f	71.86 ± 6.02f
Rubí reina (<i>O. megacantha</i>)	89.37 ± 7.74a	48.51 ± 2.17ef	105.96 ± 10.62d
Sandia (<i>O. streptacantha</i>)	77.95 ± 2.50c	50.66 ± 3.40e	118.61 ± 27.51c
Shidrikaja (<i>O. megacantha Salm-Dick</i>)	68.66 ± 4.61e	55.58 ± 4.2bc	101.80 ± 12.16de
Torroja (<i>O. megacantha</i>)	83.92 ± 3.64b	51.23 ± 1.87de	109.62 ± 12.05cd

Los valores de cada columna representan la media ± la desviación estándar. El subíndice representa las diferencias significativas con ($p < 0.05$) entre las variables de estudio.

Las variables de sólidos solubles totales, pH y acidez titulable se presentan en el cuadro 3. Se observaron diferencias significativas en el contenido de SST de las 12 accesiones de tuna, siendo la accesión 'Vaquera' (verde-blanca) la que contiene un mayor porcentaje de °Brix, aunque no se encontraron diferencias significativas con respecto a las accesiones de pigmentación naranja-amarillo ('Amarilla chachiquehuite', 'Naranja legitima') y 'Sandia'. Un menor contenido de °Bx se observó en la accesión de tuna 'Cardón blanco' y no mostro diferencias significativas con respecto a las accesiones 'Rojo papas' y 'Torreaja'. Los grados Brix variaron de 10.03 a 15.6%, estos valores son similares a lo reportado por Patil & Dagadkhair, (2019), Ramírez-Ramos *et al.*, (2018), Sáenz & Berger, (2006), Belviranlı *et al.*, (2019) Oumato *et al.*, (2019) y Andreu-Coll *et al.*, (2021).

El pH oscilo entre 5.39 de la tuna Rojo papas a 6.94 de la tuna Vaquera y no se observaron diferencias significativas en las tunas 'Amarillo chachiquehuite', 'Concha de oro', 'Sandia', 'Naranja legitima', 'Rojo insurgentes' y 'Rubí reina' (Cuadro 4). Los valores observados en pH fueron similares a los reportados por Patil & Dagadkhair, (2019).

Con respecto a acidez titulable, el mayor porcentaje se observó en las accesiones 'Naranja Legitima', y 'Rojo insurgentes' y 'Rojo Papas' y no se observaron diferencias significativas entre ellas, pero si se observaron diferencias significativas con respecto a las accesiones de tunas 'Cardón blanco', 'Vaquera', 'Zarca', 'Chachiqueguite', 'Rubí reina', 'Shidrikaja' y 'Torrejona' y fueron las que presentaron el porcentaje más bajo de acidez (Cuadro 3). La tuna se caracteriza por ser un alimento poco ácido y los valores observados en acidez titulable fueron similares a

los reportados por Patil & Dagadkhair, (2019). En este sentido se menciona que el contenido de sólidos solubles totales, pH y acidez titulable son importantes para determinar el grado de madurez del fruto, así como para identificar diferencias entre las especies o accesiones y así estimar la aceptación del consumidor (Andreu-Coll *et al.*, 2021).

Cuadro 3: Contenido de sólidos solubles totales, pH y ácido cítrico de doce accesiones de tunas.

Accesiones de tuna	Sólidos solubles totales (°Bx)	pH	Acidez titulable (% ácido cítrico)
Pigmentación verde-blanca			
Cardón blanco (<i>O. streptacantha</i>)	10.03 ± 0.06f	6.12 ± 0.01c	0.064 ± 0.02bc
Concha del oro (<i>Opuntia spp</i>)	13.77± 0.76cd	6.73 ±0.14ab	0.038 ± 0c
Vaquera (<i>O. albicarpa</i>)	15.60 ± 0.40a	6.94 ± 0.48a	0.077 ± 0ab
Zarca (<i>Opuntia spp</i>)	12.90 ± 0.85d	6.07± 0.05c	0.064 ± 0.02bc
Pigmentación amarilla-naranja			
Amarilla chachiqueguite (<i>Opuntia spp</i>).	14.43 ± 0.15abc	6.74 ± 0.12ab	0.077 ± 0ab
Naranja legitima (<i>Opuntia spp</i>)	14.63± 0.93ab	6.59 ± 0.09ab	0.102 ± 0.02a
Pigmentación rojo-morada			
Rojo insurgente (<i>O. megacantha Salm-Dick</i>)	11.77± 0.32e	6.40 ± 0.43bc	0.102 ± 0.02a
Rojo papas (<i>Opuntia spp</i>)	10.60 ± 0f	5.39 ± 0.12d	0.102 ± 0.02a
Rubí reina (<i>O. megacantha</i>)	13.37 ± 0.57d	6.51 ± 0.16b	0.064 ± 0.02bc
Sandia (<i>O. streptacantha</i>)	15.13 ± 0.32ab	6.60 ± 0.23ab	0.051 ± 0.02bc
Shidrikaja (<i>O. megacantha Salm-Dick</i>)	13.63 ± 0.74cd	5.97 ± 0.03c	0.077 ± 0ab
Torreoja (<i>O. megacantha</i>)	10.30 ± 0.92f	6.13 ± 0.07c	0.077 ± 0ab

Los valores de cada columna representan la media ± la desviación estándar. El subíndice representa las diferencias significativas con (p< 0.05) entre las variables de estudio.

4.1.1. Color

En las figuras 1 y 2, se muestra un diagrama de color representado con los valores de Cromo y °Hue de la cascara y pulpa de los frutos de tuna, donde se puede observar la agrupación de las variedades respecto a su pigmentación.

Estadísticamente se observaron diferencias significativas en los valores de L*, Cromo y ángulo de tono Hue en las accesiones de tuna (Cuadro 4). El valor de L* más alto y por lo tanto con mayor brillo se observó en las accesiones de tunas 'Vaquera', 'Zarca' y 'Cardón Blanco' de color verde-blanco y los valores más bajos fueron para las variedades 'Shidrikaja' y 'Sandia' que tienden a colores rojo-morado (oscuros), (Cuadro 3).

El valor de Cromo, fue mayor en la pulpa y piel de la accesión 'Amarilla chachiquehite' que tiene un color amarillo-naranja y los valores más bajos fueron para la pulpa de tunas verdes-blancas y para la piel de las tunas roja-morado (Cuadro 4). Al respecto Ramírez-Ramos *et al.*, (2018), indican que con valores más altos los colores son más brillantes y atractivos.

Los valores de tonalidad (h°) son similares para piel y pulpa, y fueron más altos para las accesiones de tuna de color verde-blanco, 'Cardón blanco', 'Concha de oro' y 'Zarca' y no mostraron diferencias significativas. Las accesiones de tuna 'Rojo insurgentes', 'Rojo papas' 'Sandia', 'Rubí reina', 'Shidrikaja' y 'Torrejona', de color rojo-morado exhibieron valores de tonalidad más bajos (Cuadro 4). Tampoco se observan diferencias entre las accesiones de tuna 'Amarilla chachiquehite' y 'Naranja legitima' que clasificamos como 'naranja-amarilla'. Y de las accesiones de

tuna rojo-morado solo observamos diferencias significativas entre la pulpa de la accesión 'Rojo papas' con el resto de las accesiones. En este sentido se menciona que el color es una propiedad importante de los frutos, a través del cual se puede atraer animales o insectos para ayudar a dispersar sus semillas, protegerse del estrés oxidativo y brindar información sobre el grado de madurez, entre otros, además ser un factor importante para la preferencia del consumidor (Valero-Galván *et al.*, 2021).

Cuadro 4: Parámetros de color de doce accesiones de tuna (*Opuntia sp.*).

Accesión	Piel Pulpa	(L)	Croma	Hue
Pigmentación verde-blanca				
Cardón blanco (<i>O. streptacantha</i>)	Piel	48.97 ± 1.62bc	54.82 ± 3.43ab	87.32 ± 2.07a
	Pulpa	60.40 ± 0.96ab	34.44 ± 0.67bcd	87.84 ± 2.80a
Concha de oro (<i>Opuntia spp</i>)	Piel	45.49 ± 4.10dc	20.69 ± 4.02fg	84.05 ± 4.19 ^a
	Pulpa	63.27 ± 1.39a	38.84 ± 2.91ba	88.13 ± 0.82a
Vaquera (<i>O. albicarpa</i>)	Piel	45.21 ± 1.97dc	21.69 ± 3.00efg	83.77 ± 3.71a
	Pulpa	62.51 ± 1.30a	34.83 ± 6.05bc	82.38 ± 1.58ab
Zarca (<i>Opuntia spp</i>)	Piel	65.57 ± 1.99a	21.64 ± 0.94 efg	83.01 ± 1.73a
	Pulpa	61.91 ± 0.41a	30.37 ± 2.06becd	89.33 ± 0.46 ^a
Pigmentación amarilla-naranja				
Amarilla chachiquequite (<i>Opuntia spp</i>).	Piel	56.54 ± 5.93ab	19.52 ± 2.03g	60.86 ± 1.46b
	Pulpa	44.40 ± 5.79cd	45.49 ± 2.45a	60.69 ± 0.59bc
Naranja legitima (<i>Opuntia spp</i>)	Piel	51.24 ± 1.63bc	23.16 ± 1.31e	60.69 ± 0.59cb
	Pulpa	25.96 ± 4.16fg	33.08 ± 3.29cde	71.64 ± 0.61b
Pigmentación rojo-morada				
Rojo Insurgente (<i>Opuntia. megacantha Salm-Dick</i>)	Piel	39.99 ± 4.98de	21.31 ± 4.42e	47.80 ± 6.93d
	Pulpa	25.96 ± 4.16fg	33.08 ± 3.29cde	43.63 ± 5.20c

Rojo papas (<i>Opuntia spp</i>)	Piel	32.07 ± 4.20efg	20.56 ± 1.92e	51.06 ± 6.52cbd
	Pulpa	31.26 ± 6.13efg	32.03 ± 1.22cdef	21.54 ± 2.92d
Rubí reina (<i>O. megacantha</i>)	Piel	35.83 ± 3.63def	24.32 ± 4.21ed	47.56 ± 4.52cd
	Pulpa	36.93 ± 2.56de	37.83 ± 5.45bcd	44.54 ± 5.25c
Sandia (<i>O. streptacantha</i>)	Piel	23.98 ± 2.32gf	22.72 ± 4.20e	49.18 ± 4.24bcd
	Pulpa	23.98 ± 0.89g	26.31 ± 4.54edfg	45.98 ± 8.67c
Shidrikaja (<i>O. megacantha Salm-Dick</i>)	Piel	25.24 ± 3.45g	25.82 ± 0.21ecd	42.78 ± 8.00d
	Pulpa	24.51 ± 2.25g	49.15 ± 5.45ab	50.19 ± 3.37c
Torreoja (<i>O. megacantha</i>)	Piel	34.14 ± 2.36efg	25.06 ± 5.18ecd	46.77 ± 0.95d
	Pulpa	35.34 ± 1.39ef	41.70 ± 5.78cd	47.24 ± 4.02c

Los valores de cada columna representan la media ± la desviación estándar. El subíndice representa las diferencias significativas con ($p < 0.05$) entre las variables de estudio.

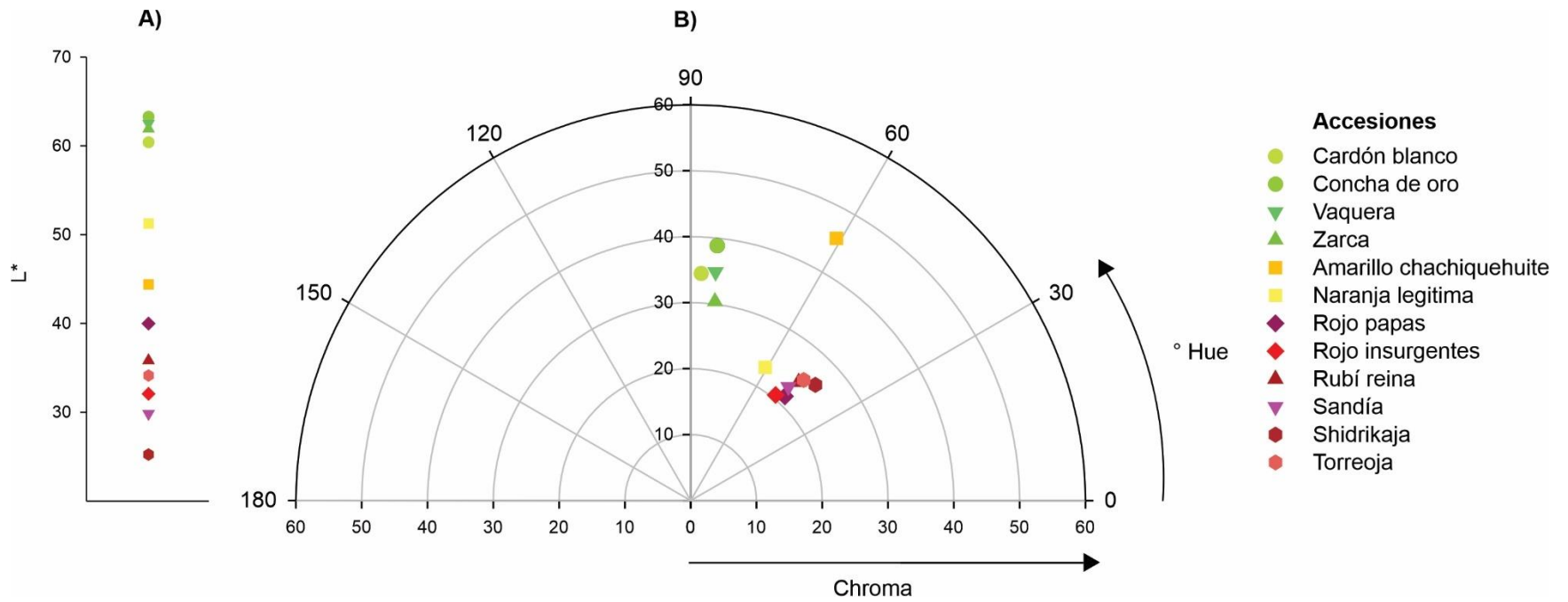


Figura 1. Atributos de color en frutos de *Opuntia spp.* A) comparación de luminosidad, B) grafico de Croma y °Hue en la cascara de 12 accesiones de tuna.

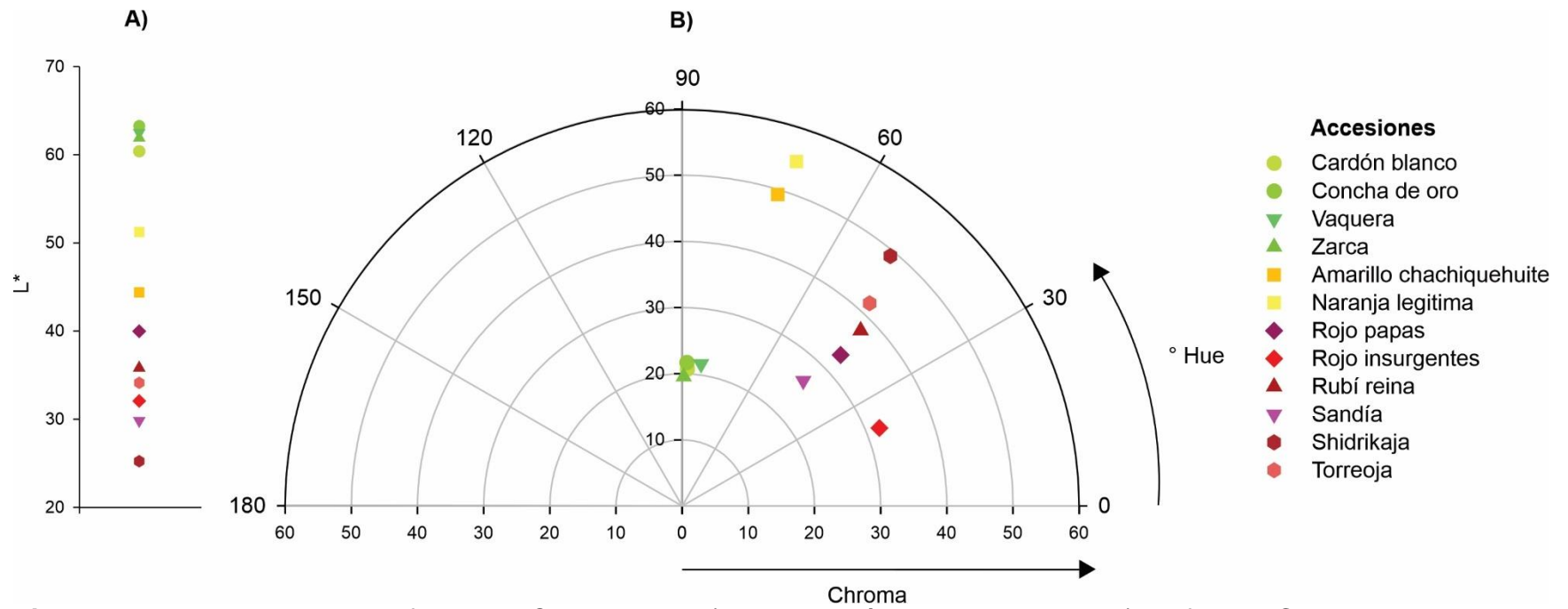


Figura 2. Atributos de color en frutos de *Opuntia spp.* A) comparación de luminosidad, B) grafico de Cromo y °Hue en la pulpa de 12 accesiones de tuna.

4.2. Contenido de compuestos bioactivos

4.2.1. Contenido de betalaínas

Las betalaínas son compuestos solubles en agua de derivados del ácido betalámico, son los compuestos responsables de la coloración algunas plantas como el betabel, la bugambilia, el amaranto y muchos de los frutos de cactus entre ellos la pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) y la a tuna (*Opuntia ficus indica*), esos compuestos se dividen en dos grupos: pigmentos de betacianina (rojo-violeta) y pigmentos de betaxantina (amarilla) (Hadipour *et al.*, 2020).

Los valores obtenidos para betacianinas variaron de 0.0842 a 7.2464 mg/100 g y de 0.09 a 2.57 mg/100 g para betaxantinas y se observaron diferencias significativas (Cuadro 5). Estos valores son similares a lo reportado por Ramírez *et al.*, (2018). El mayor contenido de betacianinas se encontró en 'Rojo papas', seguida del resto de accesiones de pigmentación rojo-morada, y la menor concentración se observó en los frutos de pigmentación verde-blanca. Una mayor concentración de betaxantinas se observó en 'Shidrikaja', y no se observaron diferencias significativas con respecto a 'Naranja legitima' y 'Rubí reina', sin embargo, la menor concentración se observó en los frutos de pigmentación verde-blanca. Koss-Mikołajczyk *et al.*, (2019) indica lqa fuente más rica de betalaínas resultó ser la variedad naranja que contenía principalmente indicaxantina., la segunda más rica fue la variedad roja con una concentración mucho mayor de betacianinas, especialmente betanina y la variedad verde contenía la cantidad más baja de compuestos de betalaína representada solo por betaxantinas amarillas. En este

sentido García-Cayuela *et al.*, (2019), encontraron el mayor contenido de betacianinas en los frutos de pigmentación rojo-morado y el mayor contenido de betaxantinas en los frutos de pigmentación amarilla-naranja. Al respecto Khatabi *et al.* (2016) mencionan que las diferencias en el contenido de betalaínas en los frutos de tuna podrían atribuirse a la variabilidad genética de especies, ecotipos, fisiologías, región geográfica y condiciones de crecimiento de la tuna. Además, la calidad del fruto se basa en parte en el color, que puede ser un factor en su preferencia, aceptación, o rechazo. Es bien sabido que las betalaínas tienen potencial como pigmentos para ser aplicados en alimentos, no solo por su acción como colorantes sino por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiproliferativas e hipolipidémicas (Amaya-Cruz *et al.*, 2019)

Cuadro 5: Contenido de betalaínas en doce variedades y especies pigmentadas de tuna (*Opuntia* spp.).

Accesiones de tuna	Betacianinas (mg/ 100 g pf)	Betaxantinas (mg/ 100 g pf)
Pigmentación verde-blanca		
Cardón blanco (<i>Opuntia streptacantha</i>)	0.1277 ± 0.0170i	0.15 ± 0.0151i
Concha del oro (<i>Opuntia</i> spp)	0.2933 ± 0.0244h	0.27 ± 0.0318h
Vaquera (<i>Opuntia albicarpa</i>)	0.3883 ± 0.0982h	0.41 ± 0.0296g
Zarca (<i>Opuntia</i> spp)	0.0842 ± 0.0124i	0.09 ± 0.0114i
Pigmentación amarilla-naranja		
Amarilla chachiqueguita (<i>Opuntia</i> spp).	0.5405 ± 0.0385g	1.96 ± 0.0628c
Naranja legitima (<i>Opuntia</i> spp)	0.6220 ± 0.0385g	2.46 ± 0.1296b
Pigmentación rojo-morada		
Rojo insurgente (<i>Opuntia. megacantha Salm-Dick</i>)	5.6277 ± 0.0205b	0.62 ± 0f
Rojo papas (<i>Opuntia</i> spp)	7.2464 ± 0.0329a	0.59 ± 0.0066f
Rubí reina (<i>Opuntia megacantha</i>)	2.9849 ± 0.0047e	2.45 ± 0.0318b
Sandia (<i>Opuntia streptacantha</i>)	3.1859 ± 0.0244d	0.95 ± 0.0057e
Shidrikaja (<i>Opuntia megacantha Salm-Dick</i>)	3.4466 ± 0.0081c	2.57 ± 0.0000a
Torreaja (<i>Opuntia megacantha</i>)	1.4422 ± 0.0081f	1.12 ± 0.0066d

Los valores de cada columna representan la media ± la desviación estándar. El subíndice representa las diferencias significativas con ($p < 0.05$) entre las variables de estudio.

4.2.2. Contenido de fenoles totales

Los compuestos fenólicos son un grupo muy diverso de fitoquímicos producidos por el metabolismo secundario de las plantas, derivados de la fenilalanina y, en menor medida en algunas plantas, también de la tirosina (Cabanillas-Bojórquez Luis A. *et al.*, 2020) En el contenido de fenoles totales se encontraron diferencias significativas en las doce accesiones de tunas evaluadas (Cuadro 6). Un mayor contenido de fenoles totales se encontró en la accesión de tunas 'Naranja Legítima' (naranja-amarillo), seguido de las accesiones 'Rojo Insurgente' y 'Shidrikaja' (rojo-morado) donde no se observaron diferencias significativas entre ellas. Por otra parte, se encontró que las accesiones con menor contenido de fenoles totales fueron las de pigmentación verde-blanca. Sin embargo, Amaya-Cruz *et al.*, (2019) y Du Toit *et al.*, (2018), encontraron una mayor concentración de compuestos fenólicos en frutos verdes y rojos.

Los valores obtenidos en las doce accesiones de tunas van de 19.80 a 35.65 mg EGA por cada 100 g de muestra, estos valores son similares a los obtenidos por Pinedo-Espinoza *et al.* (2017) y menores a los encontrados por Patil & Dagadkhair, (2019) en *O. streptacantha* y en *Opuntia ficus indica* y por Albano *et al.*, (2015) en genotipos de *Opuntia ficus-indica* (L.) cultivados en Italia.

4.2.3. Contenido de flavonoides totales

Se observaron diferencias significativas en el contenido de flavonoides totales en las doce accesiones de tunas (Cuadro 6). Un mayor contenido de flavonoides se encontró en las accesiones de tunas 'Rojo Insurgentes' y 'Rojo papas' (rojo-morado),

mientras que las tunas que presentaron un menor contenido fueron 'Cardón Blanco' y 'Zarca' (verde-blanco). Estos resultados son similares a lo reportado por Ramírez-Ramos *et al.*, (2018), pero difieren con lo observado por Amaya-Cruz *et al.*, (2019), quien reportó mayor contenido de flavonoides en accesiones de pigmentación verde y amarillo-naranja. El contenido de flavonoides vario de 0.31 ± 0.16 a 4.81 ± 0.62 mg EQ/100 g pf, estos valores son similares a los reportados por Pinedo-Espinoza *et al.* (2017) y Patil & Dagadkhair, (2019).

Al respecto se menciona que los flavonoides así como los compuestos fenólicos ejercen una alta actividad antioxidante , además de que tienen varias propiedades promotoras de la salud, como la disminución de la diferenciación y proliferación celular, y ejercen actividades antiinflamatorias, anticancerígenas y antidiabéticas (Amaya-Cruz *et al.*, 2019; Gutiérrez-Grijalva Erick P. *et al.*, 2020).

4.2.4. Contenido de ácido ascórbico

En el contenido de ácido ascórbico se observaron diferencias significativas en las doce accesiones de tunas (Cuadro 6). La accesión de tunas que presento un mayor contenido de ácido ascórbico fue 'Concha del Oro' (verde-blanca), seguida de 'Naranja Legitima' (naranja-amarilla) y la accesión de tunas con menor cantidad de ácido ascórbico fue 'Shidrikaja' (rojo-morado). El mayor contenido de ácido ascórbico se observó en frutos de pigmentación naranja, seguidos de los de pigmentación verde, siendo las variedades rosa y morada los de menor concentración, estos resultados coinciden con lo reportado por du Toit *et al.*, (2018), Patil & Dagadkhair, (2019); Ramírez *et al.*, (2015); Ramírez *et al.*, (2018) y Belviranlı *et al.*, 2019). En este sentido se menciona que el ácido ascórbico afecta

positivamente el equilibrio redox del cuerpo, ya que tiene radicales libres que disminuyen la oxidación de lípidos y mejoran el estado antioxidante de los seres humanos. Es uno de los antioxidantes naturales menos tóxicos, más potentes, y puede reducir con éxito un compuesto reactivo. El ácido ascórbico es responsable del 30% al 40% de la actividad antioxidante total del fruto (Patil & Dagadkhair, 2019; Ramírez-Ramos *et al.*, 2015 y du Toit *et al.*, 2018)).

Cuadro 6: Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides totales y ácido ascórbico en doce variedades y especies pigmentadas de tuna (*Opuntia spp.*).

Nombre común	Fenoles (mg EAG/100 g pf)	Flavonoides (mg EQ/ 100 g pf)	Ácido ascórbico (mg EAA/100 g pf)
Pigmentación verde-blanca			
Cardón blanco (<i>O. streptacantha</i>)	19.80 ± 0.41i	0.58 ± 0.24f	11.09 ± 0.12e
Concha del oro (<i>Opuntia spp.</i>)	24.48 ± 0.59g	0.83 ± 0.47ef	23.47 ± 0.18a
Vaquera (<i>Opuntia albicarpa</i>)	26.02 ± 0.06f	0.96 ± 0.16def	15.23 ± 0.20d
Zarca (<i>Opuntia spp.</i>)	27.69 ± 0.11e	0.31 ± 0.16f	17.48 ± 0.12c
Pigmentación amarilla-naranja			
Amarilla chachiquequite (<i>Opuntia spp.</i>)	22.16 ± 0.65h	2.16 ± 0.46bcd	17.20 ± 0.53c
Naranja legitima (<i>Opuntia spp.</i>)	35.65 ± 0.54a	1.29 ± 0.28cdef	21.50 ± 0.12b
Pigmentación rojo-morada			
Rojo insurgente (<i>O. megacantha Salm-Dick</i>)	33.95 ± 0.23b	4.82 ± 0.62a	6.56 ± 0.30h
Rojo papas (<i>Opuntia spp.</i>)	31.78 ± 0.17c	4.60 ± 0.59a	10.22 ± 0.18f
Rubí reina (<i>O. megacantha</i>)	32.56 ± 0.23c	1.51 ± 0.24bcde	8.33 ± 0.30g
Sandia (<i>Opuntia streptacantha</i>)	29.08 ± 0d	2.89 ± 0.95b	11.33 ± 0e
Shidrikaja (<i>Opuntia megacantha Salm-Dick</i>)	34.03 ± 0.26b	2.51 ± 0.35bcd	2.30 ± 0.14i
Torroja (<i>Opuntia megacantha</i>)	26.14 ± 0.17f	2.65 ± 0.86bc	10.93 ± 0.18e

Los valores de cada columna representan la media ± la desviación estándar. El subíndice representa las diferencias significativas con ($p < 0.05$) entre las variables de estudio

4.3. Evaluación de la actividad antioxidante por ABTS y DPPH

La actividad antioxidante de las doce accesiones de tunas evaluadas mediante los ensayos de ABTS y DPPH se muestran en el Cuadro 7. Los valores de la actividad antioxidante mediante ABTS se encontraron en un rango de 179.65 a 234.66 $\mu\text{mol ETrolox}$, mediante el ensayo de DPPH los valores encontrados fueron de 56.70 a 106.31 $\mu\text{mol ETrolox}$. Las accesiones de tunas que presentaron una mayor actividad antioxidante tanto por ABTS como por DPPH fueron 'Naranja legitima' con pigmentación amarilla-naranja y 'Concha de Oro' de pigmentación verde-blanco, mientras que las accesiones de tuna con menor actividad antioxidante fueron 'Zarca' con pigmentación verde blanco y 'Amarillo chachiquehuite' de pigmentación amarilla. Por lo cual no se pudo atribuir la mayor actividad antioxidante a accesiones con alguna pigmentación específica, ya que las accesiones de tunas con mayor actividad antioxidante corresponden a accesiones de pigmentación naranja-amarilla, verde-blanca y rojo-morado, esto coincide con lo reportado por Ramírez-Ramos *et al.*, (2018) y du Toit *et al.*, (2018) quienes compararon diferentes variedades de tuna y observaron mayor actividad antioxidante en frutos de pigmentaciones diferentes.

Se observa en el Cuadro 7, se registra una mayor actividad antioxidante por el método de ABTS en relación con el método de DPPH. Al respecto, Carabajal Torrez *et al.*, (2021) y Miguel-Chávez, (2017), mencionan que es debido a la baja selectividad del ABTS, que reacciona con cualquier compuesto aromático hidroxilado, independientemente de su potencial antioxidante real y por el contrario DPPH está impedido estéricamente y no reacciona con los flavonoides carentes de

grupos hidroxilo en el anillo B, ni con ácidos aromáticos que contengan un solo grupo hidroxilo, además de que la absorbancia se lee a 515 nm y puede causar interferencias con compuestos que absorben a la misma longitud de onda. Esto indica que el DPPH es más selectivo que el ABTS. En este sentido se menciona que la actividad antioxidante de frutas y vegetales está asociada con los metabolitos presentes en los frutos; como son los compuestos fenólicos, flavonoides, vitaminas, betalaínas, entre otros tipos de compuestos y al posible efecto sinérgico de estos fitoquímicos (Jiménez-Aguilar *et al.*, 2015; Ramírez-Ramos *et al.*, 2018; de Wit *et al.* 2019).

Cuadro 7: Actividad antioxidante mediante la captación de radicales DPPH y ABTS en doce accesiones de tuna (*Opuntia spp*).

Accesiones de tuna	ABTS ($\mu\text{mol ET/ 100 g pf}$)	DPPH ($\mu\text{mol ET/ 100 g pf}$)
Pigmentación verde-blanca		
Cardón blanco (<i>O. streptacantha</i>)	181.64 \pm 0.38j	67.61 \pm 0.16j
Concha del oro (<i>Opuntia spp</i>)	234.66 \pm 0.38a	91.08 \pm 0.16c
Vaquera (<i>O. albicarpa</i>)	206.82 \pm 0.38e	88.58 \pm 0.72d
Zarca (<i>Opuntia spp</i>)	179.65 \pm 0.38k	84.64 \pm 0.09f
Pigmentación amarilla-naranja		
Amarilla chachiquequite (<i>Opuntia spp</i>).	189.15 \pm 0h	56.70 \pm 0.09k
Naranja legitima (<i>Opuntia spp</i>)	230.24 \pm 1.33b	106.31 \pm 0.49a
Pigmentación rojo-morada		
Rojo insurgente (<i>O. megacantha Salm-Dick</i>)	206.16 \pm 0.38e	85.65 \pm 0.16e
Rojo papas (<i>Opuntia spp</i>)	194.89 \pm 1.01g	57.02 \pm 0.24k
Rubí reina (<i>O. megacantha</i>)	214.33 \pm 0.66c	72.24 \pm 0.16i
Sandia (<i>O. streptacantha</i>)	209.47 \pm 0.66d	93.90 \pm 0.09b
Shidrikaja (<i>O. megacantha Salm-Dick</i>)	197.54 \pm 1.01f	79.85 \pm 0.09g
Torreaja (<i>O. megacantha</i>)	184.95 \pm 1.01i	78.63 \pm 1.21h

Los valores de cada columna representan la media \pm la desviación estándar. El subíndice representa las diferencias significativas con ($p < 0.05$) entre las variables de estudio.

4.4. Análisis de Componentes principales

Para agrupar las accesiones de acuerdo con su actividad antioxidante, contenido de betacianinas, betaxantinas, ácido ascórbico, flavonoides y fenoles totales se utilizó el Análisis de componentes principales (PCA) (Figura 3). La variabilidad de los datos está explicada en un 41.8 % por el Componente principal 1 (PC1) y en un 30.6 % por el Componente principal 2 (PC2) explicando un 71.6 % de la variabilidad. En la figura 3, observamos como los frutos de pigmentación rojo-morado se separan de los de pigmentación verde-blanca y naranja- amarillo a través del CP1, las variables que contribuyen a este componente son mayoritariamente betacianinas y flavonoides, que se encuentran principalmente en los frutos de pigmentación rojo-morado y el ácido ascórbico es compuesto diferencial de las accesiones de pigmentación verdes-blancas y naranjas amarillas.

Respecto al CP2, las variables que contribuyen mayormente es la actividad ABTS y DPPH, y las observamos predominantemente en las accesiones 'Naranja legitima' de pigmentación naranja, y 'Concha de oro' con pigmentación verde, mientras que con un contenido importante de fenoles se observa en las accesiones 'Rojo insurgentes', 'Rubí reina' y 'Shidrikaja' de pigmentación rojo morado.

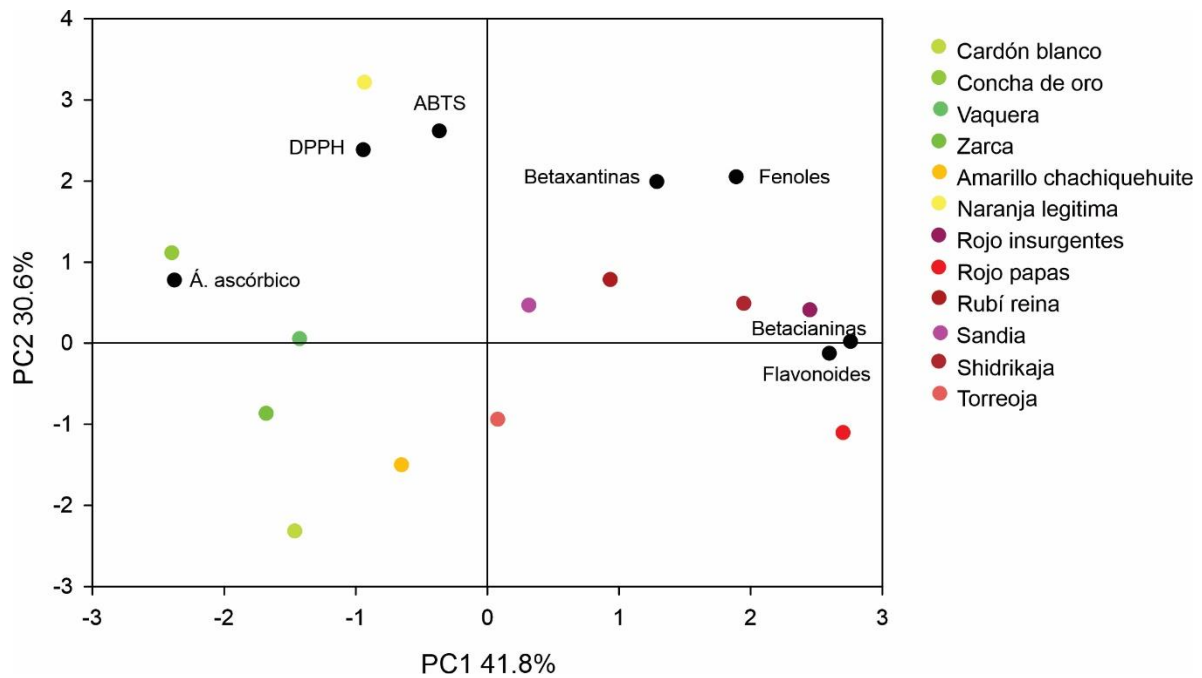


Figura 3: Gráfico de puntuaciones para el modelo PCA por metabolitos y actividad antioxidante en 12 accesiones de tuna verdes, naranjas y rojas.

5. CONCLUSIONES

Las características fisicoquímicas como longitud, diámetro, peso, sólidos solubles totales, pH y acidez titulable son importantes para determinar el grado de madurez del fruto, la caracterización morfológica y resaltar la diversidad entre las distintas accesiones.

Los frutos de tunas de las accesiones 'Naranja legitima' y 'Concha de Oro' con pigmentación verde presentaron mayor contenido de compuestos fenólicos, bentaxantinas, ácido ascórbico y mayor actividad antioxidante.

De los frutos de pigmentación roja-morada 'Sandia' fue la accesión que mostro mayor actividad antioxidante, mayor contenido de flavonoides y mayor contenido de ácido ascórbico.

Los resultados sugieren que la accesión de tuna 'Naranja Legitima' debido a sus compuestos bioactivos y actividad antioxidante podría tener un efecto beneficioso para la salud. También se encontró que el contenido de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante no está relacionada con la pigmentación de los frutos y las propiedades benéficas que los frutos de *Opuntia* podrían ofrecer es a través de un efecto sinérgico de los compuestos antioxidantes que predominan en el fruto.

6. REFERENCIAS

- Ahmad A. Omar, ElSayed I. Abdelaleim, & Azza H. Mohamed. (2021). Genetic Diversity and Ecotypes of *Opuntia* spp. In T. E. M. and R. S. Ramadan Mohamed Fawzy and Ayoub (Ed.), *Opuntia spp.: Chemistry, Bioactivity and Industrial Applications* (pp. 181–199). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-78444-7_8
- Ahmed Sidra Nisarand, Ahmad Mushtaqand, Zafar Mohammad, Rashid Sofiaand, & Sultana Shazia. (2021). Classification, Distribution and Morphological Characterization of *Opuntia* Species. In T. E. M. and R. S. Ramadan Mohamed Fawzy and Ayoub (Ed.), *Opuntia spp.: Chemistry, Bioactivity and Industrial Applications* (pp. 109–119). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-78444-7_5
- Albano, C., Negro, C., Tommasi, N., Gerardi, C., Mita, G., Miceli, A., de Bellis, L., & Blando, F. (2015). Betalains, Phenols and Antioxidant Capacity in Cactus Pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] Fruits from Apulia (South Italy) Genotypes. *Antioxidants*, 4(2), 269–280. <https://doi.org/10.3390/antiox4020269>
- Amani, E., Marwa, L., Hichem, B. S., Amel, S.-H., & Ghada, B. (2019). Morphological variability of prickly pear cultivars (*Opuntia* spp.) established in ex-situ collection in Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 248, 163–175. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.01.004>
- Amaya-Cruz, D. M., Pérez-Ramírez, I. F., Delgado-García, J., Mondragón-Jacobo, C., Dector-Espinoza, A., & Reynoso-Camacho, R. (2019). An integral profile of bioactive compounds and functional properties of prickly pear (*Opuntia ficus indica* L.) peel with different tonalities. *Food Chemistry*, 278, 568–578. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.031>
- Andreu-Coll, L., García-Pastor, M. E., Valero, D., Amorós, A., Almansa, M. S., Legua, P., & Hernández, F. (2021). Influence of Storage on Physiological Properties, Chemical Composition, and Bioactive Compounds on Cactus Pear Fruit (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.). *Agriculture*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/agriculture11010062>
- AOAC. (2019). *Official Methods of Analysis* (G. W. Latimer, Ed.; 21 ST, Vol. 1).
- Aristizábal Torres Iván D. (2007). LA RESONANCIA MAGNÉTICA Y SUS APLICACIONES EN LA AGROINDUSTRIA, UNA REVISIÓN. *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín*, 60(2), 4037–4066.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., & Legret, P. (1994). Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants [Standardization of propolis extract and identification of principal constituents]. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 49(6), 462-468.
- Balkir, P., Kemahlioglu, K., & Yucel, U. (2021). Foodomics: A new approach in food quality and safety. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 49–57. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.028>

- Becerra-Martínez, E., Florentino-Ramos, E., Pérez-Hernández, N., Gerardo Zepeda-Vallejo, L., Villa-Ruano, N., Velázquez-Ponce, M., García-Mendoza, F., & Bañuelos-Hernández, A. E. (2017). 1H NMR-based metabolomic fingerprinting to determine metabolite levels in serrano peppers (*Capsicum annum* L.) grown in two different regions. *Food Research International*, *102*(August), 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.005>
- Becerra-Martínez, E., Pacheco-Hernández, Y., Lozoya-Gloria, E., Betancourt-Jiménez, M. G., Hidalgo-Martínez, D., Zepeda-Vallejo, L. G., & Villa-Ruano, N. (2020). 1H-NMR metabolomics profiling of recombinant tobacco plants holding a promoter of a sesquiterpene cyclase. *Phytochemical Analysis*, *31*(4), 480–487. <https://doi.org/10.1002/pca.2911>
- Belviranlı, B., Al-Juhaimi, F., Özcan, M. M., Ghafoor, K., Babiker, E. E., & Alsawmahi, O. N. (2019). Effect of location on some physico-chemical properties of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) fruit and seeds. *Journal of Food Processing and Preservation*, *43*(3), e13896. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfpp.13896>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25–30. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cabanillas-Bojórquez Luis A., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Contreras-Angulo Laura A., Aviles-Gaxiola Sara, & Heredia J Basilio. (2020). Biotechnology for Extraction of Plant Phenolics. In R. and K. A. N. Lone Rafiq and Shuab (Ed.), *Plant Phenolics in Sustainable Agriculture : Volume 1* (pp. 39–67). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4890-1_2
- Calva Pérez, V. (1999). La tuna; Base del desarrollo de culturas mesoamericanas. *Claridades Agropecuarias* .
- Carabajal Torrez, J. A., Llebeili, Y., Rodríguez de Olmos, A., & Gerez, C. L. (2021). Cultivos lácticos como potenciadores de compuestos bioactivos de avena. *Revista Argentina de Microbiología*, *53*(4), 333–342. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.12.002>
- Castejón, D., Villa, P., Calvo, M. M., Santa-María, G., Herraiz, M., & Herrera, A. (2010). 1H-HRMAS NMR study of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Magnetic Resonance in Chemistry*, *48*(9), 693–703. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/mrc.2652>
- Castro, L. M. G., Alexandre, E. M. C., Pintado, M., & Saraiva, J. A. (2019). Bioactive compounds, pigments, antioxidant activity and antimicrobial activity of yellow prickly pear peels. *International Journal of Food Science & Technology*, *54*(4), 1225–1231. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.14075>
- Cevallos-Cevallos, J. M., & Reyes-De-Corcuera, J. I. (2012). *Chapter One - Metabolomics in Food Science* (J. Henry, Ed.; Vol. 67, pp. 1–24). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394598-3.00001-0>
- Claus-Peter Witte, & Marco Herde. (2020). Nucleotide Metabolism in Plants. *Plant Physiology*, *182*(1), 63–78. <https://doi.org/https://doi.org/10.1104/pp.19.00955>

- Consonni, R., & Cagliani, L. R. (2019). The potentiality of NMR-based metabolomics in food science and food authentication assessment. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 57(9), 558–578. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/mrc.4807>
- Cota-Sánchez, J. H. (2016). Chapter 28 - Nutritional Composition of the Prickly Pear (*Opuntia ficus-indica*) Fruit. In M. S. J. Simmonds & V. R. Preedy (Eds.), *Nutritional Composition of Fruit Cultivars* (pp. 691–712). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00028-3>
- da Silveira Agostini-Costa, T. (2022). Genetic and environment effects on bioactive compounds of *Opuntia cacti* – A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 109, 104514. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104514>
- Daniloski, D., D’Cunha, N. M., Speer, H., McKune, A. J., Alexopoulos, N., Panagiotakos, D. B., Petkoska, A. T., & Naumovski, N. (2022). Recent developments on *Opuntia* spp., their bioactive composition, nutritional values, and health effects. *Food Bioscience*, 47, 101665. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101665>
- de Andrade Vieira, É., Alves Alcântara, M., Albuquerque dos Santos, N., Duarte Gondim, A., Iacomini, M., Mellinger, C., & Tribuzy de Magalhães Cordeiro, A. M. (2021). Mucilages of cacti from Brazilian biodiversity: Extraction, physicochemical and technological properties. *Food Chemistry*, 346, 128892. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128892>
- de Wit, M., du Toit, A., Osthoff, G., & Hugo, A. (2019). 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*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3), 2347–2356. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00154-z>
- di Lorenzo, F., Silipo, A., Molinaro, A., Parrilli, M., Schiraldi, C., D’Agostino, A., Izzo, E., Rizza, L., Bonina, A., Bonina, F., & Lanzetta, R. (2017). The polysaccharide and low molecular weight components of *Opuntia ficus indica* cladodes: Structure and skin repairing properties. *Carbohydrate Polymers*, 157, 128–136. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.073>
- du Toit, A., de Wit, M., Osthoff, G., & Hugo, A. (2018). Relationship and correlation between antioxidant content and capacity, processing method and fruit colour of cactus pear fruit. *Food and Bioprocess Technology*, 11(8), 1527–1535. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2120-7>
- Durust, N., Sumengen, D., & Durust, Y. (1998). Ascorbic acid and element contents of foods of Trabzon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6), 2085-2087.
- el Kharrassi, Y., Mazri, M. A., Benyahia, H., Benaouda, H., Nasser, B., & el Mzouri, E. H. (2016). Fruit and juice characteristics of 30 accessions of two cactus pear species (*Opuntia ficus indica* and *Opuntia megacantha*) from different regions of Morocco. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 610–617. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.044>

- Felker, P., Stintzing, F. C., Müssig, E., Leitenberger, M., Carle, R., Vogt, T., & Bunch, R. (2008). Colour inheritance in cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruits. *Annals of Applied Biology*, 152(3), 307–318. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00222.x>
- Feugang, J. M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F. C., & Zou, C. (2006). Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience*, 11(SUPPL. 2), 2574–2589. <https://doi.org/10.2741/1992>
- Flores-Hernandez, A., Peña-Valdivia, C. B., Hernández-Montiel, L., Ramírez-Serrano, R., Trejo-Calzada, R., Alberto Meza-Herrera, C., Preciado-Rangel, P., & Murillo-Amador, B. (2016). CARACTERIZACIÓN ISOENZIMÁTICA DE CULTIVARES DE NOPAL (*Opuntia* spp.) Isoenzyme characterization of nopal cultivars (*Opuntia* spp.). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 3(7), 75–89. www.ujat.mx/era
- Fraga-Corral, M., Carpena, M., Garcia-Oliveira, P., Pereira, A. G., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2022). Analytical Metabolomics and Applications in Health, Environmental and Food Science. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 52(4), 712–734. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1823811>
- Gandía-Herrero, F., & García-Carmona, F. (2013). Biosynthesis of betalains: yellow and violet plant pigments. *Trends in Plant Science*, 18(6), 334–343. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.01.003>
- García-Cayuela, T., Gómez-Maqueo, A., Guajardo-Flores, D., Welti-Chanes, J., & Cano, M. P. (2019). Characterization and quantification of individual betalain and phenolic compounds in Mexican and Spanish prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L. Mill) tissues: A comparative study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 76, 1–13. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.11.002>
- Gheribi, R., Habibi, Y., & Khwaldia, K. (2019). Prickly pear peels as a valuable resource of added-value polysaccharide: Study of structural, functional and film forming properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 238–245. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.228>
- Gutiérrez-Grijalva Erick P., Santos-Zea, L., Ambriz-Pérez Dulce L., López-Martínez Leticia X., & Heredia J Basilio. (2020). Flavones and Flavonols: Bioactivities and Responses Under Light Stress in Herbs. In R. and K. A. N. Lone Rafiq and Shuab (Ed.), *Plant Phenolics in Sustainable Agriculture: Volume 1* (pp. 91–115). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4890-1_4
- Habibi, Y., Mahrouz, M., & Vignon, M. R. (2003). Isolation and structure characterization of a (4-O-methyl-D-glucurono)-D-xylan from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 22(5), 331–337. <https://doi.org/10.1081/CAR-120023476>
- Hadipour, E., Taleghani, A., Tayarani-Najaran, N., & Tayarani-Najaran, Z. (2020). Biological effects of red beetroot and betalains: A review. *Phytotherapy Research*, 34(8), 1847–1867. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ptr.6653>
- Hatzakis, E. (2019). Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy in Food Science: A Comprehensive Review. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food*

Safety (Vol. 18, Issue 1, pp. 189–220). Blackwell Publishing Inc.
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12408>

- Henseler, J., Ringle, C., & Sinkovics, R. (2009). The Use of Partial Least Squares Path Modeling in International Marketing. In *Advances in International Marketing* (Vol. 20, pp. 277–319). [https://doi.org/10.1108/S1474-7979\(2009\)0000020014](https://doi.org/10.1108/S1474-7979(2009)0000020014)
- Jiménez-Aguilar, D. M., López-Martínez, J. M., Hernández-Brenes, C., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Welte-Chanes, J. (2015). Dietary fiber, phytochemical composition and antioxidant activity of Mexican commercial varieties of cactus pear. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.017>
- Johanningsmeier, S. D., Harris, G. K., & Klevorn, C. M. (2016). Metabolomic Technologies for Improving the Quality of Food: Practice and Promise. *Annual Review of Food Science and Technology*, 7(1), 413–438. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022814-015721>
- Kim, S., Kim, J., Yun, E. J., & Kim, K. H. (2016). Food metabolomics: from farm to human. *Current Opinion in Biotechnology*, 37, 16–23. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.09.004>
- Koss-Mikołajczyk, I., Kusznierevicz, B., Wiczowski, W., Sawicki, T., & Bartoszek, A. (2019). The comparison of betalain composition and chosen biological activities for differently pigmented prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) and beetroot (*Beta vulgaris*) varieties. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 70(4), 442–452. <https://doi.org/10.1080/09637486.2018.1529148>
- Li, S., Tian, Y., Jiang, P., Lin, Y., Liu, X., & Yang, H. (2021). Recent advances in the application of metabolomics for food safety control and food quality analyses. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(9), 1448–1469. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1761287>
- Mazri, M. A. (2021). Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Species and Cultivars. In T. E. M. and R. S. Ramadan Mohamed Fawzy and Ayoub (Ed.), *Opuntia spp.: Chemistry, Bioactivity and Industrial Applications* (pp. 83–107). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-78444-7_4
- Mcguire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27(12), 1254-1255.
- Mena, P., Tassotti, M., Andreu, L., Nuncio-Jáuregui, N., Legua, P., del Rio, D., & Hernández, F. (2018). Phytochemical characterization of different prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) cultivars and botanical parts: UHPLC-ESI-MSn metabolomics profiles and their chemometric analysis. *Food Research International*, 108, 301–308. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.062>
- Miguel-Chávez, R. S. (2017). Phenolic Antioxidant Capacity: A Review of the State of the Art. In M. Soto-Hernandez, M. Palma-Tenango, & M. del Rosario Garcia-Mateos (Eds.), *Phenolic Compounds*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/66897>

- Ochoa, C., & Guerrero, J. (2010). La tuna: una perspectiva de su producción, propiedades y métodos de conservación. In *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* (Vol. 4, Issue 1, pp. 49–63).
- O’Gorman, A., & Brennan, L. (2015). Metabolomic applications in nutritional research: a perspective. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(13), 2567–2570. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.7070>
- Oumato, J., Zrira, S., Boujnah, M., Saidi, B., Dehhaoui, M., Tifarouine, L., Benhoussa, A., & L., K. (2019). DISCRIMINANT ANALYSIS AND CORRELATION BETWEEN MORPHOLOGICAL AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOME VARIETIES OF DISCRIMINANT ANALYSIS AND CORRELATION BETWEEN MORPHOLOGICAL AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOME VARIETIES OF MOROCCAN PRICKLY PEAR. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, November.
- Patil, K. v., & Dagadkhair, A. C. (2019). Physicochemical characteristics and antioxidant potential of Opuntia fruit: A review. *Pharma Innovation*, 8(6), 376–380.
- Piga, A. (2004). Cactus pear: A fruit of nutraceutical and functional importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 6(October 2004), 9–22.
- Pinedo-Espinoza, J. M., Aguirre-Mancilla, C. L., Jiménez-Alvarado, R., Raya-Pérez, J. C., Iturriaga, G., Ramírez-Pimentel, J. G., & Hernández-Fuentes, A. D. (2017). Bioactive compounds and antioxidant activity evolution during the ripening process of 12 opuntia spp. fruit accessions. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(2), 138–148. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-09-1324>
- Ramírez-Ramos, M., García-Mateos, M. del R., Corrales-García, J., Ybarra-Moncada, C., & Castillo-González, A. M. (2015). Compuestos antioxidantes en variedades pigmentadas de tuna (opuntia sp.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(4), 349–357.
- Ramírez-Ramos, M., Medina-Dzul, K., García-Mateos, R., Corrales-García, J., Ybarra-Moncada, C., & Castillo-González, A. M. (2018). Nutraceutical components, antioxidant activity, and color of 11 varieties of prickly pear (Opuntia sp.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 91(September), 211–218. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2018.091.028>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231–1237. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Reyes-Agüero, J. A., Aguirre-Rivera, J. R., & Hernández, H. M. (2005). *Colegio de Postgraduados*. 39, 395–408. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30239404>
- Sáenz, Carmen., Berger, H., Corrales García, J., Galletti, L., García de Cortázar, V., Higuera, I., Mondragón, C., Rodríguez-Félix, A., Sepúlveda, E., & Varnero, M. T. (2006). Utilización agroindustrial del nopal. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO).

- Selegato Denise Medeiros and Pilon, A. C. and C. N. F. (2019). Plant Metabolomics Using NMR Spectroscopy. In D. Gowda G. A. Nagana and Raftery (Ed.), *NMR-Based Metabolomics: Methods and Protocols* (pp. 345–362). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9690-2_19
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2021). *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola*. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. (2021). Catálogo Nacional de Variedades Vegetales. In *Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural*.
- Stintzing F., Schieber A., & Carle R. (2003). Evaluation of color properties and chemical quality parameters of cactus juice. *European Food Research and Technology*, 216, 303–311.
- Sumaya-Martínez, M. T., Cruz-Jaime, S., Madrigal-Santillán, E., García-Paredes, J. D., Cariño-Cortés, R., Cruz-Cansino, N., Valadez-Vega, C., Martínez-Cardenas, L., & Alanís-García, E. (2011). Betalain, Acid Ascorbic, Phenolic Contents and Antioxidant Properties of Purple, Red, Yellow and White Cactus Pears. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(10), 6452–6468. <https://doi.org/10.3390/ijms12106452>
- Valero-Galván, J., González-Fernández, R., Sigala-Hernández, A., Núñez-Gastélum, J. A., Ruiz-May, E., Rodrigo-García, J., Larqué-Saavedra, A., & del Rocío Martínez-Ruiz, N. (2021). 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 Engelm.) and commercial prickly pear fruits (*O. ficus-indica* (L.) Mill.). *Food Research International*, 140, 109909. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109909>
- Valle-Parra, M., Lalaleo, L., Pomboza-Tamaquiza, P., Ramírez-Estrada, K., Becerra-Martínez, E., & Hidalgo, D. (2020). From morphological traits to the food fingerprint of *Tropaeolum tuberosum* through metabolomics by NMR. *Lwt*, 119(November 2019), 108869. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108869>
- Velásquez-Valle, R., Villa-Ruano, N., Hidalgo-Martínez, D., Zepeda-Vallejo, L. G., Pérez-Hernández, N., Reyes-López, C. A., Reyes-Cervantes, E., Medina-Melchor, D. L., & Becerra-Martínez, E. (2020). Revealing the 1H NMR metabolome of mirasol chili peppers (*Capsicum annum*) infected by *Candidatus Phytoplasma trifolii*. *Food Research International*, 131(November 2019), 108863. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108863>
- Villa-Ruano, N., Ramírez-Meraz, M., Méndez-Aguilar, R., Zepeda-Vallejo, L. G., Álvarez-Bravo, A., Pérez-Hernández, N., & Becerra-Martínez, E. (2019). 1 H NMR-based metabolomics profiling of ten new races from *Capsicum annum* cv. serrano produced in Mexico. *Food Research International*, 119(July 2018), 785–792. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.061>
- Villa-Ruano, N., Rosas-Bautista, A., Rico-Arzate, E., Cruz-Narvaez, Y., Zepeda-Vallejo, L. G., Lalaleo, L., Hidalgo-Martínez, D., & Becerra-Martínez, E. (2020). Study of nutritional quality of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice using 1H NMR-based metabolomic approach: A comparison between conventionally and organically grown

fruits. *Food Research International*, 134, 110222.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110222>

Villa-Ruano, N., Velásquez-Valle, R., Zepeda-Vallejo, L. G., Pérez-Hernández, N., Velázquez-Ponce, M., Arcos-Adame, V. M., & Becerra-Martínez, E. (2018). ¹H NMR-based metabolomic profiling for identification of metabolites in *Capsicum annuum* cv. mirasol infected by beet mild curly top virus (BMCTV). *Food Research International*, 106(January), 870–877. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.065>

Waterman, P. G., & Mole S. (1994). Analysis of Phenolic Plant Metabolites. In *Journal of Chemical Ecology* .

7. ANEXOS

Parte de los resultados de esta investigación se presentaron en los siguientes congresos



División de Ciencias Biológicas y de la Salud
a través de su
Programa de Educación Continua
otorga la presente

CONSTANCIA

a: Mireya Ramírez Pérez, César Uriel López Palestina, Gabriel Aguirre
Álvarez, Alma Delia Hernández Fuentes, Nemesio Villa Ruano y Elvia Becerra
Martínez

Por presentar el Cartel:
**ANÁLISIS METABOLÓMICO CON RMN-1 H DE TRES ACCESIONES DE TUNA
(OPUNTIA SSP.) CON DIFERENTE PIGMENTACIÓN**

En el marco de la 7ª Reunión de Resonancia Magnética Nuclear Experimental

Realizada en modalidad virtual mediante Zoom,
los días 28 y 29 de octubre de 2021.
Con una duración total de 16 horas.

"Casa abierta al tiempo"
Ciudad de México, a 07 de noviembre de 2021.


Dra. Julia Cassani Hernández
Presidente de la SOMERMN, A.C.


Programa de
Educación Continua
OPES

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de Ciencias
Biológicas y de la Salud





**EL TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
A TRAVÉS DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ROQUE**

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

A

**MIREYA RAMÍREZ PÉREZ, CÉSAR URIEL LÓPEZ
PALESTINA, NEMESIO VILLA RUANO, JOSÉ MANUEL
PINEDO ESPINOZA, ELVIA BECERRA MARTÍNEZ Y
ALMA DELIA HERNÁNDEZ FUENTES**

POR SU VALIOSA PARTICIPACIÓN CON EL CARTEL COMPUESTOS ANTIOXIDANTES DE TRES ACCESIONES DE TUNA (OPUNTIA SSP.) CON DIFERENTE PIGMENTACIÓN EN EL "IV CONGRESO NACIONAL Y 2º INTERNACIONAL DE CIENCIAS AGROPECUARIAS DEL TECN M", REALIZADO DEL 29 DE NOVIEMBRE AL 03 DE DICIEMBRE DE 2021.

CELAYA, OTO., A 03 DE DICIEMBRE DE 2021.

MTRO. MANUEL DE JESÚS QUIROZ SICAIBOS

DIRECTOR





La Sociedad Mexicana de Resonancia Magnética Nuclear A. C.

OTORGA LA PRESENTE

Constancia

a:

Mireya Ramírez Pérez, Alma Delia Hernández Fuentes, Nemesio Villa Ruano, Elvia Becerra Martínez

por su valiosa participación en la **PRESENTACIÓN DE CARTEL** en la "**8a Reunión de Resonancia Magnética Nuclear Experimental**" con el tema:

ESTUDIO METABOLÓMICO BASADO EN RMN DE ^1H PARA EVALUAR LA CALIDAD DE TRES ACCESIONES DE OPUNTIA SSP. DE PIGMENTACIÓN VERDE

celebrada en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla los días 8 y 9 de septiembre del presente año.

Ciudad de México a 14 de septiembre de 2022.

Dr. Armando Ariza Castolo
Presidente de la SOMERMN, A.C.

Dr. Ernesto Sánchez Mendoza
Secretario de la SOMERMN



Congreso Internacional de Investigación de
Academia Journals Hidalgo 2022

CERTIFICADO

otorgado a

Ing. Mireya Ramírez Pérez
Dr. Cesar Uriel López Palestina
Dr. José Manuel Pinedo Espinoza
Dra. Elvia Becerra Martínez
Dra. Alma Delia Hernández-Fuentes

por su artículo titulado

Compuestos Bioactivos en Frutos de Tuna (Opuntia spp.) de Pigmentación Amarilla, Verde y Roja

(Artículo No. HHH284)

La ponencia correspondiente fue presentada en el congreso desarrollado los días 19, 20, y 21 de octubre de 2022, teniendo como sede las magníficas instalaciones de la Universidad Politécnica Metropolitana de Hidalgo. El artículo está incluido en las siguientes publicaciones: (1) en el portal de Internet AcademiaJournals.com, con ISSN 1946-5351 online, Vol. 14, No. 08, 2022 e indexación en la base de datos [Fuente Académica Plus de EBSCOHOST](#), Massachusetts, Estados Unidos y (2) en el libro digital ebook titulado *Investigación para el Fortalecimiento de la Sociedad – Hidalgo 2022* con ISBN 978-1-939982-78-0 online.

Los organizadores del congreso reconocen la participación de los autores en el congreso, agradeciendo sus contribuciones.



DR. RAFAEL MORAS, P.E.
Editor, Academia Journals

HHH284



Congreso Academia Journals Hidalgo 2022
<https://www.academiajournals.com/Hidalgo>

