



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADEMICA DE NUTRICIÓN.

BIODISPONIBILIDAD DE CALCIO PRESENTE EN HARINA DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica*) EN FUNCIÓN A SU ESTADIO DE MADURACIÓN.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

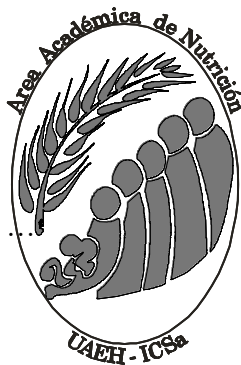
LICENCIADA EN NUTRICIÓN

P R E S E N T A:

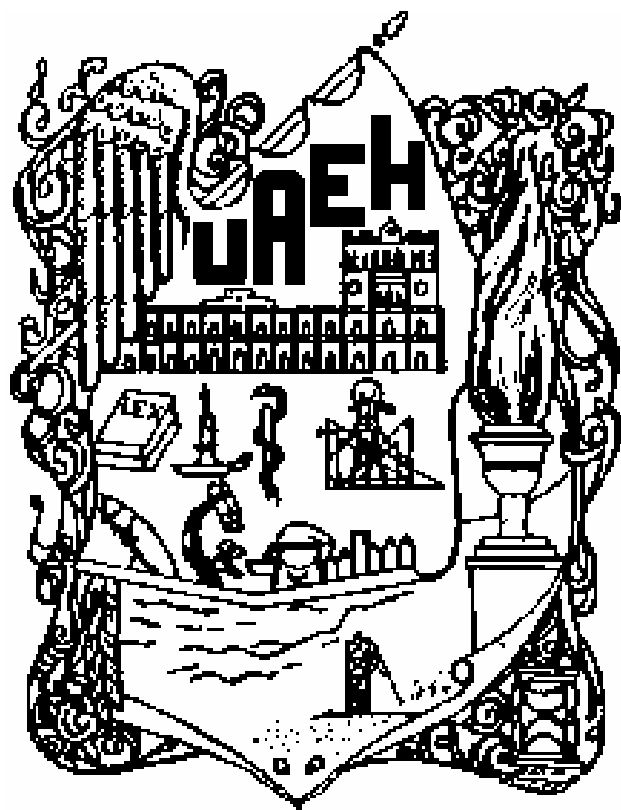
ALMA LETICIA LOUBET GONZÁLEZ

DIRECTOR:

DR. CARLOS ALBERTO GÓMEZ ALDAPA



Mineral de la Reforma, Hidalgo, 2008



El presente trabajo de investigación fue realizado en las instalaciones del Laboratorio de Fisicoquímica de Alimentos en el Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, bajo la dirección del Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa.



Y en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Querétaro, en el Laboratorio de Radiometría. Con el apoyo financiero del Proyecto CONACYT No. 14059 titulado “Harinas de nopal como Tratamiento preventivo de osteoporosis”.



Los resultados obtenidos del presente trabajo fueron presentados en el 3er FORO DE QUÍMICA EN ALIMENTOS, Noviembre 2007. Realizado en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. En la modalidad de exposición oral.

Un objetivo solo existe en la medida en que un hombre es capaz de soñar con alcanzarlo, persiguiéndolo con voluntad, dedicación y dignidad.

Para ello he dado lo mejor de mí, sé lo que esto ha significado a lo largo de todo este tiempo, sé cuanto esfuerzo, entrega, entrenamiento e intuición me ha exigido, en ello reside la belleza de éste camino. Igual que el labrador, cultivaré y sé que pronto gozaré de sus frutos.

Servir es sembrar... sembrar buenas semillas.

DEDICATORIAS

A DIOS:

Quien es la VIDA, PERFECTO E INFINITAMENTE SABIO. Porque sino creyera en ti, nada sería posible, pues si poseo sabiduría y talento sé que viene de ti y sin ti todo esfuerzo sería inútil, ya que en este proyecto tú haz sido el principal protagonista y juntos hemos escrito esta historia, aún falta mucho por vivir.

A MI MAMI:

Porque tú naciste para dar AMOR, por eso no te pregunto lo que piensas sino lo que amas y sé que tu amor se traduce en esfuerzo: silencioso, efectivo, constante, devoto y masivo. Un esfuerzo que abre un surco, un surco que no deja de producir y que al final producirá frutos dulces y abundantes, pues con tu ejemplo he llegado a ser con gran orgullo uno de esos frutos.

Benditas sean tus manos que se tendieron para ayudarme a llegar hasta donde estoy. Benditos sean tus labios que se abrieron elevando una oración a AQUÉL que siempre escucha. Benditas sean tus lágrimas que se convirtieron en rocío de bendiciones mientras la nostalgia y la distancia nos invadían. ¡Bendito sea DIOS por darme una madre como tú!

A MI PAPI:

Porque eres un gran ser humano y valoro tu esfuerzo y dedicación para sacarme adelante y darme el impulso que necesito para renovar mis fuerzas. Recuerdo constantemente cuando me dices que debo enfrentar con entereza los obstáculos se me presentan en la vida, pues para alcanzar la cima hay que transitar por terrenos escabrosos. Siempre llevaré en mi mente y en mi corazón tu apoyo incondicional y tus consejos, que sin lugar a dudas fueron piezas importantes en este camino.

A MI HERMANO MIGUEL ANGEL:

Té admiro por que eres mi ejemplo a seguir. Sé que haz obtenido grandes metas con muchos sacrificios, incluyendo el estar lejos de casa y eso ha sido mi mayor aprendizaje, admiro tu fortaleza y jamás olvido cuando me dices que siga escalando, por que YO soy capaz de lograr aún más y que esto solo es el principio.

A MI HERMANA LIZ:

Por que tú también formas parte de ese ejemplo. Sé que eres un ser humano muy valioso e inteligente y que tu esfuerzo y lucha para lograr lo que quieres pronto culminará en grandes satisfacciones, pues te lo mereces. Tus consejos y aportaciones para obtener esta meta fueron de vital importancia para mí, de los cuales aprendí y fueron mi gran apoyo. Gracias por ser mi amiga y mi hermana al mismo tiempo.

A MI HERMANA KARLA:

Porque sé que puedo confiarte cosas que tal vez me es difícil decir a los demás, por compartir conmigo momentos inolvidables, por creer en mí y recordarme siempre que yo puedo, por enseñarme tu a ser fuerte en los momentos en los que es necesario y por ver en ti a una amiga además de una hermana.

A MI NOVIO EDUARDO:

Porque siempre estuviste ahí cuando te necesité. Quiero que sepas que agradezco el haberte conocido, eres un ser humano con múltiples virtudes, lo cual te hace ser muy valioso y especial, por ello deseo y espero compartir contigo mi vida y mis sueños, pues a tu lado mi vida es maravillosa. TE AMO!!!

AGRADECIMIENTOS

A DIOS por que siempre estuviste presente siendo mi fuerza, mi inspiración, mi principio y mi fin... GRACIAS MI SEÑOR!!!.

A mis padres y hermanos MIL GRACIAS! Por que la familia es un sistema que se rige por el AMOR y sé que sin él no hubiera podido cumplir con este objetivo.

A Lalo por creer en mi, por ser mi apoyo incondicional, por enseñarme el valor de la "confianza", por brindarme tu hombro en aquellos momentos tormentosos cuando creía que mi esfuerzo era inválido, por recordarme a cada instante que ME AMAS y por todos los minutos de espera... GRACIAS por tu tiempo amor.

A mi tía consentida Maribel González Olguín por ser una persona muy especial para mí, por que sé que en ti puedo confiar y a la que puedo ver como una AMIGA. Gracias tía por estar al pendiente de mí y por tus oraciones para que todo me saliera de la mejor forma. De igual forma a mi primo José Raúl González Vásquez por el apoyo brindado estando lejos de casa. Los Quiero Muchísimo!!!.

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por formarme a lo largo de mi carrera. Agradezco el haber formado parte de esta casa de estudios.

Al CFATA-UNAM Campus Querétaro por permitirme realizar los experimentos necesarios para la realización de éste proyecto.

Al Proyecto CONACYT NO. 14059 "Harinas de nopal como Tratamiento preventivo de osteoporosis". Por el apoyo financiero para poder llevar a cabo la experimentación de este estudio.

Al CINVESTAV Querétaro. Por permitirme realizar los estudios de análisis de textura de los huesos.

Con gran admiración y respeto a mi director de tesis el Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa. A quien considero una persona con grandes aptitudes y conocimientos, estoy completamente convencida que no pude haber hecho mejor elección al escogerlo como mi guía para la realización de este trabajo, del cual me siento satisfecha por las grandes enseñanzas que obtuve. Gracias Dr. por enseñarme a tener FÉ (la Fe que destierra el temor). Este logro también es suyo!!!.

Al responsable del proyecto el Dr. Mario Enrique Rodríguez García, por el apoyo brindado para llevar a cabo la parte experimental de este proyecto, por brindarme un espacio temporal en su grupo de investigación en el CFATA. Gracias!.

A todos y cada uno de mis sinodales por sus valiosos comentarios y observaciones. En especial a la Dra. Angélica Gutiérrez Nava por sus acertadas sugerencias que sin lugar a dudas me ayudaron para mejorar el presente trabajo.

A la M.C. Margarita Isabel Hernández Urbiola por el gran apoyo brindado durante la parte experimental de este trabajo. Margarita: solo tú y yo sabemos las experiencias vividas a lo largo de este trabajo, las

cuales me enseñaron a crecer y a formar carácter para poder enfrentarme con los obstáculos de la vida. Te quiero mucho Amigocha.

A la Mtra. Carmen Vázquez Ramos por los conocimientos transmitidos de las técnicas para la determinación de minerales, los cuales fueron determinantes para los resultados de este trabajo, pero sobretudo por todo el apoyo que me brindaste día a día durante el tiempo que estuve lejos de casa, por abrirme las puertas de tu casa y permitir ganarme tu confianza... creo que finalmente lo logré. Los momentos de alegría y tristeza que pasamos juntas se quedarán conmigo para siempre. Gracias Amiga.

A la Dra. María Luisa López Mendoza por enseñarme a crecer, por recordarme siempre que en la investigación existen obstáculos, pero siempre existe una solución para ellos y que no hay que desesperarse. Y al Dr. José de Jesús Pérez Bueno, por que siempre me transmitió mucha paz. Gracias a los dos por su apoyo incondicional (el cual nunca olvidaré), por permitirme entrar en su familia, realmente son un matrimonio a seguir y les tengo una gran admiración y respeto a los dos.

A la M.C. María Carolina Muñoz Torres y a la Mtra Ofelia del Laboratorio de Geoquímica Ambiental del Centro de Geociencias de la UNAM-Querétaro, por su valiosa participación en la determinación de minerales con el equipo de Absorción Atómica. Gracias Caro por permitirme laborar en ese laboratorio, realmente fueron muy agradables los momentos compartidos. Así mismo, al Quím. Jorge Marín por su ayuda incondicional para la determinación de minerales en hueso, heces y orina en el ICP, los cuales formaron parte fundamental para los resultados del presente trabajo.

Al MVZ José Martín García Servin, Jefe del Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM-Querétaro, por sus valiosas aportaciones en el cuidado de los animales de experimentación.

Al Dr. Mauricio Díaz Muñoz del Dpto de Neurobiología Celular y Molecular del Instituto de Neurobiología de la UNAM-Querétaro, por las aportaciones que directa e indirectamente formaron parte del presente trabajo. Además por que siempre me abrió las puertas de su laboratorio y creyó en mí.

A la M.C. Araceli responsable del Laboratorio de Nutrición Animal de la UAQ, por permitirme realizar el Análisis Químico proximal de las harinas de nopal.

A mi mejor amiga: Deysee. Gracias por tu amistad, las dos sabemos que a pesar de la distancia que a veces existe entre nosotras siempre estaremos ahí para apoyarnos, finalmente las dos teníamos que terminar esta meta propuesta, de la cual hablamos tantas veces. Recuerda que Te quiero mucho.

A mis compañeros del laboratorio de Fisicoquímica de la UAEH: Joyce y Clau, gracias por hacer más ameno este camino, por las pláticas, por todo su apoyo y ayuda. Las estimo y aprecio mucho. Así mismo, a Mario y Víctor, gracias chicos por su ayuda.

A todos mis compañeros del laboratorio de Radiometría del CFATA de la UNAM: Lina, Edgar, Merit, Paola, Alonso, Alin, Cinthya y Pablito por su gran compañerismo y en especial a un gran amigo que sin duda me transmitió grandes enseñanzas y me agradó mucho conocer... a ti Rubén Gracias.

ÌNDICE GENERAL.

Índice General	i
Índice de Tablas	iv
Índice de Figuras	vi
I. RESUMEN	1
1.1 Abstract	2
II. MARCO TEÓRICO.	3
2.1 Hueso.	3
2.2.1 Composición y organización.	3
2.2.2 Propiedades biomecánicas.	7
2.2 Calcio	7
2.2.1 Función.	7
2.2.2 Requerimientos.	8
2.2.3 Fuentes.	9
2.2.4 Biodisponibilidad.	10
2.2.4.1 Absorción.	12
2.2.4.2 Distribución.	13
2.2.4.3 Excreción.	15
2.2.4.4 Balance general de calcio.	16
2.3 Fisiología del Calcio.	17
2.3.1 Relación Ca/P	18
2.4 Implicación del calcio en la Osteoporosis.	20
2.5 El Nopal.	21
2.5.1 Descripción botánica.	26
2.5.2 Usos.	27
2.5.3 Composición química y valor nutricional.	28
2.5.4 Propiedades medicinales.	29
2.5.5 Contenido de oxalatos.	29
III PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.	32

IV JUSTIFICACIÓN.	33
V OBJETIVOS.	34
5.1 Objetivo General.	34
5.2 Objetivos específicos.	34
VI MATERIALES Y MÉTODOS.	35
6.1 Elaboración de harina de nopal.	35
6.2 Análisis Químico Proximal de las harinas de nopal.	35
6.2.1 Humedad.	37
6.2.2 Cenizas.	37
6.2.3 Proteína Cruda o Bruta.	38
6.2.4 Fibra Cruda.	39
6.2.5 Extracto Etéreo.	40
6.2.6 Carbohidratos.	41
6.3 Ensayo Biológico.	41
6.3.1 Dietas Experimentales.	41
6.3.1.1 Formulación y elaboración.	41
6.3.2 Animales de experimentación.	43
6.3.3 Selección de la muestra.	45
6.3.4 Alimentación.	45
6.3.5 Recolecta de orina y heces durante el tratamiento.	45
6.4 Dimensiones físicas del fémur.	46
6.5 Resistencia a la fractura del fémur.	46
6.6 Espectroscopia de Rayos X.	47
6.7 Determinación de Minerales.	47
6.7.1 Espectrofotometría de Absorción Atómica	47
6.7.2 Espectrofotometría de UV-VIS.	49
6.7.3 Espectrofotometría de plasma acoplado a masas.	50
6.8 Análisis estadístico.	50
VII RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	51
7.1 Análisis Químico Proximal.	51

7.2 Determinación de minerales en harina de nopal.	55
7.3 Determinación de minerales y relación Ca/P en las dietas experimentales.	57
7.4 Propiedades mecánicas de los huesos.	64
7.4.1 Densidad ósea.	64
7.4.2 Resistencia a la fractura del fémur.	67
7.5 Minerales en hueso.	68
7.6 Balance de Calcio.	72
7.6.1 Absorción neta aparente.	72
VIII CONCLUSIONES	78
IX BIBLIOGRAFIA.	79
X ANEXOS.	89

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1.	Ejemplos de fuentes dietéticas de calcio y su relación Ca/P (Nutrient Content of Food Portions. Royal Society of Chemistry, Cambridge).	19
Tabla 2.	Taxonomía del nopal verdura.	23
Tabla 3.	Principales variedades cultivadas de nopal verdura.	24
Tabla 4.	Composición química del nopal deshidratado/100g (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	30
Tabla 5.	Composición de la dieta AIN-93G para embarazo, crecimiento y periodo de crecimiento de roedores	42
Tabla 6.	Composición de cada una de las dietas elaboradas con harina de nopal de 200, 400 y 500g (g/kg).	44
Tabla 7.	Programa de digestión utilizado en la preparación de las muestras de harina de nopal, dietas experimentales, huesos, orina y heces para la determinación de calcio.	48
Tabla 8.	Preparación de muestras de harina de nopal, dietas experimentales, huesos, orina y heces para digestión en microondas.	48
Tabla 9.	Análisis Químico Proximal para las harinas de nopal de 200, 400 y 500 g.	52
Tabla 10.	Composición de minerales presentes en la harina de nopal de 200, 400 y 500 (mg/g)	56
Tabla 11.	Composición de minerales y la relación Ca/P presentes en las dietas experimentales de nopal 200, 400, 500 g y control (mg/g).	59
Tabla 12.	Densidad y fuerza requerida en los huesos.	65
Tabla 13.	Minerales contenidos en los huesos (mg/hueso total).	70
Tabla 14.	Valores promedios de Ca excretado y aparentemente absorbido por las ratas.	75

Tabla 15.	Preparación de la curva estándar de calibración para la determinación de fósforo.	89
Tabla 16.	Resultado del análisis de varianza realizado al Análisis Químico proximal, para las tres etapas de maduración de las harinas de nopal (200, 400 y 500 g).	90
Tabla 17.	Resultado del análisis de varianza de la composición de minerales Ca, P, Mg, K y Na para las dietas experimentales de nopal de 200, 400, 500 g y control.	91
Tabla 18.	Resultado del análisis de varianza de la composición de minerales Ca, P, Mg, K y Na para las dietas experimentales de nopal de 200, 400, 500 g y control.	92
Tabla 19.	Resultado del análisis de varianza de las dimensiones físicas de los fémures.	93
Tabla 20.	Dimensiones físicas de los fémures.	93
Tabla 21.	Resultado del análisis de varianza de área y distancia.	94
Tabla 22.	Área y distancia recorridas para los resultados de la fuerza de rompimiento	94
Tabla 23.	Resultado del análisis de varianza realizado a los valores para la densidad y la fuerza de resistencia a la fractura del fémur.	97
Tabla 24.	Resultado del análisis de varianza realizado al contenido de minerales en los fémures de las ratas.	99
Tabla 25.	Resultado del análisis de varianza de los valores promedios del consumo de alimento, consumo de Ca, excreción de Ca y absorción aparente de las ratas.	100

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1	Estructura del fémur.	4
Figura 2	Ruta de absorción y excreción del calcio, fósforo y magnesio en el cuerpo humano.	14
Figura 3	Diagrama de flujo del proceso de elaboración de las harinas de nopal.	36
Figura 4	Contenido de cenizas presente en las harinas de nopal de 200,400 y 500 g.	54
Figura 5	Contenido de Ca en las dietas experimentales.	60
Figura 6	Contenido de P en las dietas experimentales.	60
Figura 7	Contenido de Mg en las dietas experimentales.	62
Figura 8	Contenido de K en las dietas experimentales.	62
Figura 9	Contenido de Na en las dietas experimentales.	63
Figura 10	Relación Ca/P en las dietas experimentales.	63
Figura 11	Densidad aparente en los fémures de las ratas.	66
Figura 12	Fuerza de rompimiento de los fémures de las ratas.	66
Figura 13	Balance de Calcio.	77
Figura 14	Área recorrida para romper los fémures.	95
Figura 15	Distancia recorrida para romper los fémures.	96
Figura 16	Espectros de rayos X realizados a los huesos de los grupos experimentales.	98

I. RESUMEN.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la biodisponibilidad del calcio presente en el nopal en estudios *in vivo* con ratas Wistar, las cuales fueron sometidas a un régimen dietético basado en harina de nopal *Opuntia ficus Indica*, las dietas fueron formuladas de acuerdo a la metodología descrita por Reeves y colaboradores (1993), se emplearon nopales con 3 diferentes etapas de desarrollo, tomando en cuenta como factor determinante la relación existente entre la etapa de madurez y el peso de la penca (nopal de 200, 400 y 500 g), comparándolos con un grupo control, el cual fue alimentado con la dieta AIN 93-G para crecimiento de roedores. Durante el experimento se recolectaron la orina y las heces de los animales para calcular la absorción neta de Ca al final del mismo, así mismo se llevo a cabo un control del alimento consumido y la ganancia en peso de los animales. Concluido el experimento, los animales se sacrificaron y se realizaron análisis de la masa ósea femoral midiendo cada uno de los huesos y calculando la densidad de estos, se determinó la fuerza de rompimiento de los mismos utilizando un texturómetro. Por otro lado, se cuantifico el contenido de minerales presentes en huesos, heces y orina por el método de Espectrofotometría de plasma acoplado a masas. Los minerales presentes en la harina de nopal y las dietas experimentales, fueron determinados usando un equipo de absorción atómica a excepción del P que se determinó usando un espectrofotómetro UV-VIS. Los resultados obtenidos indican que el grupo nopal 500 presentó mejores resultados de fuerza y contenido de minerales, en comparación con los demás grupos alimentados con harina de nopal, sin embargo, los resultados de la absorción neta aparente de Ca presente en las tres dietas, se concluye que el Ca en el nopal no es biodisponible, este hecho puede deberse a dos razones principalmente: la deficiencia de Na presente en las dietas, lo cual influye de manera directa en la absorción de Ca debido a la estrecha relación que tiene con el metabolismo del mismo, así como la deficiencia de P y a la presencia de oxalatos de Ca presentes en el nopal, quienes provocan que este mineral no se encuentre en la forma adecuada para ser aprovechado por el organismo.

Palabras clave: calcio, biodisponibilidad, dieta, nopal, hueso, minerales, osteoporosis

1.1 ABSTRACT.

The objective of this work was to study the bioavailability of calcium present in the nopal with *in vivo* studies using Wistar rats, which were subjected to a diet based on nopal (*Opuntia ficus*), the diet were formulated in agreement to a Reeves and co-workers. (1993). Nopales with 3 different stages of maturing, taking into account in determining the relationship between the stage of maturity and the weight of pad (nopal 200, 400 and 500), compared with a control group, which was fed diet AIN 93-G for growth in rodents. During the experiment were collected urine and faeces of animals to calculate the net uptake of Ca at the end of it, and it took place control of the food consumed, and the gain in weight of the animals. Once the experiment animals were slaughtered and conducted analysis of the femoral bone mass by measuring each of the bones and calculating the density of these, we determined the breaking strength of bones with a texture analyzer. On the other hand, quantitative measurements were made of minerals present in the bones, faeces and urine by the method of plasma spectroscopy coupled to mass. The minerals present in nopal flour and experimental diets were determined using atomic absorption, with the exception of P was determined using a UV-VIS spectrophotometer. Our results indicate that the group nopal 500 has a better breaking strength and mineral content in comparison with the other groups feed with nopal diets. however according to the results and the calculation of the net apparent uptake of Ca in all experimental diets, it is concluded that the Ca present in the nopal might not be bioavailable for two reasons: the limitation of Na present in diets, which will directly influenced the absorption of Ca due to the close relationship it has with the metabolism of the same, after the deficiency of P presence oxalates of Ca present in the nopal, who lead this mineral that is not in an appropriate form to be used by the body.

Keywords: calcium, bioavailability, diet, nopal, bone, minerals, osteoporosis.

II. MARCO TEÓRICO.

2.1 Hueso

2.1.1 Composición y organización.

El hueso es un tejido conectivo, profusamente vascularizado e innervado y sometido a un proceso de remodelado continuo a lo largo de toda la vida. El esqueleto, por un lado, proporciona soporte estructural para el movimiento; y por otro, además de proteger el encéfalo, médula espinal y el contenido del tórax y pelvis, la médula ósea constituye el soporte y matriz de la hematopoyesis. Para desempeñar tales funciones, el hueso posee una organización anatómica funcional que lo hace ser un tejido muy activo, contrariamente a su apariencia. Junto con todo lo anterior, el hueso contiene el 99% del calcio, 85% de fosfato, 60% del magnesio y 35% del sodio (Tres Guerras y col. 2005).

Existen dos fases principales en la composición ósea: la primera es la llamada orgánica, constituida en más del 90% por fibras de colágeno tipo I, que se agrupan en forma especializada para originar la "matriz ósea" u osteoide. El resto, lo constituyen proteínas no colágenas tales como osteocalcina, osteonectina, sialoproteínas, etc. La segunda es la inorgánica, representada por cristales de calcio y fósforo, conocidos como hidroxipatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)]$. Estos cristales se depositan sobre la matriz orgánica, la cual adquiere así la dureza típica del hueso.

El 65% del peso seco del hueso está dado por esta fase mineral (González 1999). Desde un punto de vista estructural, el hueso es un tejido conectivo mineralizado (Figura 1) que adopta dos variedades morfológicas: la cortical y la trabecular. Cada hueso está conformado por uno o ambos tipos de estructura. El hueso cortical es un hueso denso o compacto (presente en la diáfisis de los huesos largos, lámina externa e interna de los planos y periferia de los cortos) compuesto por conductos de Havers, vasos sanguíneos y linfáticos y fibras nerviosas. En contraste, el hueso trabecular o esponjoso (localizado en la parte central de los huesos cortos, epífisis y metáfisis de los largos, y díplome de los planos) posee cavidades irregulares ocupadas por la médula ósea y sus laminillas se disponen alrededor de esas cavidades y carece de conductos de Havers (Tres Guerras y col. 2005). Aunque el 80% del

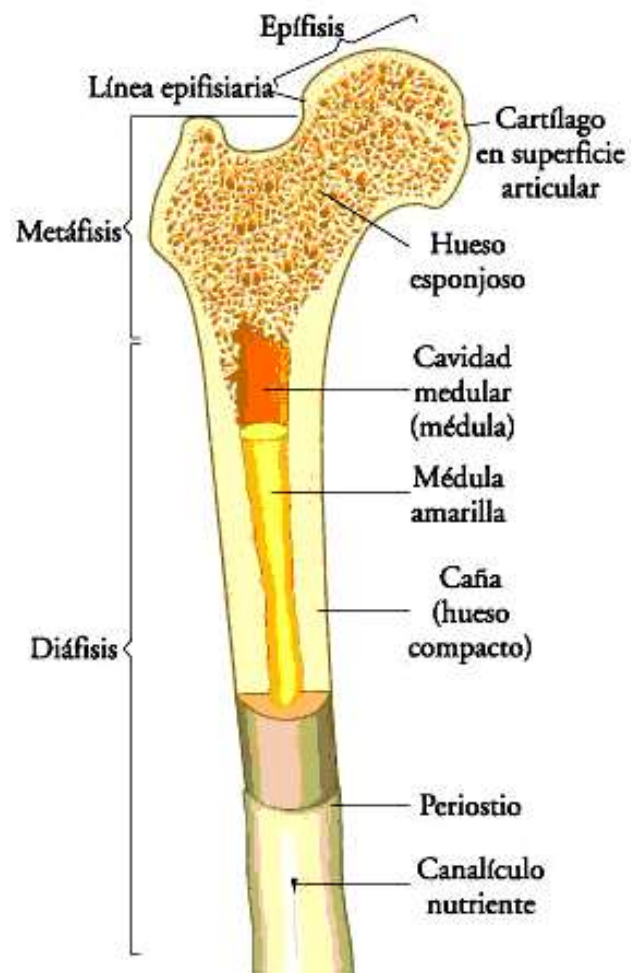


Fig. 1. Estructura del fémur (Anónimo 2007).

esqueleto está constituido por hueso cortical, es el hueso trabecular el que determina más de la mitad de la actividad metabólica del esqueleto. Esto último se debe a que el recambio o actividad metabólica del hueso es un evento de superficie (interfaz entre la matriz y el espacio extracelular) y la razón superficie/volumen del hueso trabecular es mucho más alta que la del cortical (González 1999).

Es importante resaltar que el hueso no es una masa mineralizada adinámica; en el desarrollo y mantenimiento del tejido óseo están involucrados varios procesos complejos que incluyen crecimiento endocondral, modelación y remodelación (Chiappe 2004). Se trata de un tejido vivo con crecimiento o modificaciones permanentes; renovándose a través de un proceso de remoción del material viejo mediante una continua actividad osteoclástica y su reemplazo por hueso nuevo por acción osteoblástica (Brem y col. 2005). En la osteoporosis, la masa ósea por unidad de volumen disminuye, pero la relación entre ambas fases, orgánica y mineral, se mantiene. Esta relación puede alterarse en otras enfermedades óseas metabólicas; por ejemplo, en la osteomalacia el osteoide está aumentado, pero con una mineralización insuficiente. El último componente propio del hueso son sus células, de las cuales existen tres tipos principales: osteoblastos (de origen mesenquimático) encargados de formar hueso a través de la síntesis del osteoide y de controlar su mineralización, los osteoclastos, derivados de la línea granulocítica-macrofágica de la hematopoyesis, encargados de destruir hueso en sitios específicos y los osteocitos, que son osteoblastos inactivos, incorporados en el osteoide mineralizado (González 1999). Los componentes de los alimentos de mayor importancia para la salud del hueso son el Ca y el P, los cuales componen del 80-90% del mineral contenido en el hueso. La proteína se incorpora en la matriz orgánica de éste, para formar la estructura del colágeno sobre la cual la mineralización ocurre. De esta manera se ha observado que una deficiencia en la dieta de proteína afecta negativamente el metabolismo del hueso (Hannan y col. 2000; Kerstetter y col. 2000). Otros minerales y vitaminas son cruciales para que el organismo lleve a cabo reacciones y procesos metabólicos en el hueso (Jasminka y Kerstetter 2000). Por ello el desarrollo del hueso en condiciones óptimas depende de la ingestión dietética

de calcio, fósforo y proteína para la síntesis del material extracelular, el cual compone más del 95% de la masa del hueso y que es el responsable de su estructura y características mecánicas del hueso, dicho material esta conformado por proteína y cristales de fosfato de calcio en un 50% (Miller y col. 2001).

Por otra parte, la necesidad de una dieta rica en minerales persiste aun cuando el crecimiento ha cesado, esto es porque el calcio se pierde diariamente en cantidades considerables y si ésta pérdida no es compensada con la aportación de Ca de los alimentos provenientes de la dieta, el cuerpo agotaría el contenido de Ca depositado en la estructura ósea. Este hecho revela que entre las funciones del hueso se encuentra la reserva del Ca y P (Miller y col. 2001).

Se considera al Ca como el catión principal del hueso, el cual es un tejido vivo, cuyas células poseen necesidades nutrimentales igual que las del resto del cuerpo de proteína y micronutrientes (Heaney y Robert 2000). La nutrición juega un papel muy importante en la protección contra la osteoporosis, por su implicación en el desarrollo y mantenimiento de la masa del hueso (Heaney y Robert 2000). La etiología de la pérdida del hueso en adultos es multifactorial incluyendo a la herencia y el estilo de vida (fumar, consumo del alcohol, actividad física, función hormonal y factores alimenticios) (Elmstahl y col. 1998). Los adultos pierden aproximadamente 0.3% de su masa ósea por año; esto significa que su equilibrio de Ca es negativo y pierden cerca de 10 mg cada día, dicha pérdida, puede ser diez veces mayor en mujeres posmenopáusicas (Guéguen y Pointillart 2000). En adultos, la masa ósea es relativamente constante durante los años reproductivos. La pérdida de hueso a los 40 años en ambos géneros es cerca de 0.5-1% por año, aunque en mujeres aumenta en los primeros 3-5 años después de la menopausia. Además de la edad; la excreción urinaria contribuye a estas pérdidas (Miller y col. 2001).

El crecimiento del hueso se limita generalmente en la mal nutrición y en anomalías específicas con deficiencia de proteínas, ácido ascórbico, vitamina D, magnesio, zinc, cobre y manganeso (Heaney y Robert 2000), que al mismo tiempo dan por resultado una gran cantidad de fracturas de fémur por éste hecho (Pun y col. 1990; Cooper y col. 1989).

2.1.2 Propiedades biomecánicas.

Los huesos responden a las fuerzas aplicadas sobre su superficie siguiendo un patrón característico. La primera fase es elástica y depende de la rigidez del hueso. En esta la deformación es temporal y se mantiene solo durante un determinado tiempo, tras lo cual, recupera su forma original. Si la fuerza aumenta, se entra en una fase plástica y el hueso, aunque se recupera parcialmente, queda deformado. Por último cuando la fuerza aplicada es superior a la resistencia del tejido se produce la fractura. La respuesta de tejido óseo frente a las fuerzas que se aplican sobre su superficie dependerá del tipo de fuerza, del tipo de hueso, así como de la densidad, arquitectura y composición del tejido óseo.

Las fuerzas que pueden actuar sobre el tejido óseo son de tres tipos tensión, compresión y torsión. Además pueden ser aplicadas de forma perpendicular a la superficie ósea (fuerza normal) o de forma oblicua (fuerza de corte). Los huesos largos, son elásticos y poco plásticos, donde la resistencia será mayor cuando la fuerza se aplica de forma vertical al sentido de la carga. Cuando la fuerza se aplica de forma oblicua, la fase plástica se acorta y el hueso se fractura con más rapidez. En los huesos integrados por tejido óseo esponjoso, la resistencia es mayor cuando la fuerza se aplica a lo largo del eje vertical de las trabéculas vertebrales y también cuando es paralela a los sistemas trabeculares del cuello femoral. Estos huesos, al ser menos densos, son menos elásticos y mas plásticos, por lo que pueden presentar deformaciones mayores. Así, mientras que en los huesos integrados por tejido esponjoso, las fracturas se producen cuando existen variaciones del 7% de su longitud, en los integrados por tejido compacto, las fracturas se producen con variaciones del 2% (Serrano 1998).

2.2 Calcio.

2.2.1 Función.

El calcio, considerado el átomo detonante de la vida, por ser un nutriente indispensable que desempeña diversos papeles biológicos, es esencial para procesos tales como: transmisión de impulsos nerviosos, vasodilatación, reacciones

enzimáticas y de diversas hormonas, contracción muscular, adherencia de la célula y permeabilidad de las membranas, mitosis, coagulación de sangre, secreción glandular y estructura del esqueleto (Miller y Anderson 1999, Cashman 2002). Actúa también como segundo mensajero en procesos transmembrana citoplasmática. (Guéguen y Pointillart, 2000). Como resultado del papel que desempeña, se ha demostrado que un consumo adecuado de calcio reduce el riesgo de padecer diversas enfermedades entre las cuales se encuentran: la osteoporosis, la hipertensión, el cáncer de colon (Guéguen y Pointillart 2000), cálculos en el riñón e intoxicación por plomo (Bryant y col. 1999), lo que trae como consecuencia una reducción en las tasas de morbilidad y mortalidad.

2.2.2 Requerimientos.

Muchas preguntas aún siguen sin respuesta en nuestra comprensión acerca de los requerimientos necesarios de calcio en individuos de diversas razas y de ambientes culturales. El promedio recomendado (RDA) para un consumo adecuado de calcio va de 800 a 1200 mg por día, éste valor depende del tipo de población, ya que existe discrepancia de consumo entre cada una, para proteger al organismo contra un balance negativo de calcio que provocaría daño o pérdida de masa ósea (Guéguen y Pointillart 2000). Los requerimientos del calcio a través de la vida no son uniformes debido a los cambios en el crecimiento esquelético, absorción y excreción (Bryant y col. 1999). En todas las edades, los varones consumen más calcio que las mujeres, probablemente porque su consumo de energía es más elevado.

La retención de calcio aumenta durante el crecimiento e idealmente está en equilibrio en la edad adulta; pero llega a ser negativa cuando el consumo de calcio es inadecuado, puesto que el esqueleto sirve como depósito mineral primario para el mantenimiento del calcio a nivel del plasma, por ello la necesidad de éste mineral, a través de la niñez y la adolescencia aumenta para maximizar su retención en el hueso (Miller y col. 2001), ya que en este periodo es donde existe un crecimiento esquelético rápido y es importante obtener una masa máxima de hueso para

protegerla contra el riesgo futuro de osteoporosis (Teegarden y col. 1995, Albertson y col. 1997; Kennedy y Powell 1997; Cavadini y col. 2000).

Las recomendaciones actuales (RDA) de ingesta óptima del calcio son de 400 mg para los lactantes, 600 mg de 6 meses al 1 año, 800 mg para niños de 1-5 años, 800 a 1200 mg para los niños de 6-10 años, 1200-1500 mg para adolescentes de 11-24 años, 1000 mg para los adultos de 25-65 años, 1500 mg para los adultos de 65 años en adelante y para mujeres embarazadas o aquellas que se encuentren lactando (Institute of Medicina 1997).

2.2.3 Fuentes.

Cerca del 70% del calcio que consumen los adultos, proviene de la leche y sus derivados. Solamente algunas verduras y las frutas secas son buenas fuentes del calcio, proporcionando el 16%, los cereales casi el 11 %, el agua potable incluyendo el agua mineral, proporcionan del 6-7% (Guéguen y Pointillart 2000), por tal motivo, no hay duda que la leche proporciona grandes cantidades de calcio, ya que un vaso de leche entera (240 mL) aporta aproximadamente 300 mg de calcio, mientras que un vaso de yogurt entero natural (240 mL) proporciona 280 mg (Pérez y Marván 2001; Franco 1999).

Expertos nutriólogos y médicos coinciden en recomendar a los alimentos como la fuente preferida para lograr el consumo óptimo de calcio y no a los suplementos de éste (Looker y col. 1994; Devine 1996; Heaney 1996, Murray 1996). Así mismo, se identifica específicamente a la leche y sus derivados como la fuente ideal de calcio en la dieta, proporcionando el 72% del calcio de la ingesta diaria recomendada, además de que contienen cantidades sustanciales de muchos otros nutrimentos; incluyendo la vitamina D si están fortificados (Gerrior y Bente 2001). Por tal motivo es bueno recordar que tales alimentos son las principales fuentes del Ca en la dieta (Guéguen 1992), sin embargo, estos productos no han sido parte fundamental de las dietas a lo largo de la evolución humana y está en discusión, si son mejores que otras fuentes tales como las sales del calcio, ciertos vehículos o el agua mineral (Guéguen y Pointillart 2000).

Se reconocen también como fuentes importantes: pescados (sardinas), verduras de hojas verde oscuro (col rizada, espinaca, nabo), queso de soya, tortillas hechas de maíz nixtamalizado y bebidas adicionadas con calcio (Department of Health and Human Services 2000). Estos últimos son una opción para los individuos que no pueden satisfacer sus necesidades con el consumo de alimentos. Sin embargo, su uso tiene un éxito limitado en el mercado ya que no corrige los patrones dietéticos deficientes, además de que pueden aumentar el riesgo de toxicidad (Miller y col. 2001).

2.2.4 Biodisponibilidad.

La biodisponibilidad del calcio de los alimentos, abarca no sólo la absorción intestinal, sino también su utilización. El calcio debe ser soluble en el medio ácido del estómago antes de que pueda ser absorbido. La buena solubilidad en agua es una ventaja, pero no es absolutamente necesaria. El potencial de absorción de calcio (la absorción bajo las condiciones fisiológicas favorables) depende de varios factores: el alimento consumido, la capacidad de los intestinos (la cuál es afectada por: las reservas de calcio, la regulación hormonal o las fuentes dietéticas del mismo), la excreción urinaria y la pérdida fecal de calcio endógeno. En la absorción intestinal los factores fisiológicos, particularmente hormonales, desempeñan un papel importante en la incorporación del calcio en el hueso (Guéguen y Pointillart 2000).

La biodisponibilidad del calcio, por lo tanto, puede ser definida como la fracción de calcio dietético que es potencialmente absorbible por el intestino y que puede ser utilizado para las funciones fisiológicas, particularmente mineralización del hueso o para limitar su pérdida. La absorción y biodisponibilidad pueden ser absolutos o relativos. A menos que se definan las necesidades dietéticas por el método factorial, los valores relativos son suficientes para determinar la fracción absorbida en comparación con diversas fuentes del calcio. Los valores son expresiones relativas para una fuente de referencia y pueden ser valores medios o valores discretos. Los primeros se reconocen para una dieta total o una sola fuente del calcio estudiada durante semanas o meses después de la adaptación. Los valores discretos son para

una sola comida o para una sola carga oral de calcio. Estos corresponden menos a las condiciones dietéticas normales que los valores medios y no consideran las grandes variaciones que ocurren en un cierto tiempo (Guéguen y Pointillart 2000).

2.2.4.1 Absorción.

La absorción es el resultado de dos procesos: transporte activo a través de las células intestinales y difusión pasiva a través de las células. El primero ocurre principalmente en el duodeno y yeyuno, el cual precisa de la intervención de proteínas (calbindinas 9 kD y 28 kD que fijan el calcio y cuya síntesis está regulada por la vitamina D), fosfatasas alcalinas y ATP así como Ca-Mg; todo ello modulado por las necesidades de Ca y de P mediante la síntesis de 1,25 hidroxivitamina D. Si los aportes de Ca y P son escasos se estimula la síntesis de calcitriol (1,25 hidroxivitamina D) y aumenta la absorción intestinal activa hasta un 70%, con una reducción en la eliminación por las heces. Este mecanismo sí es saturable, sobre todo cuando el aporte de calcio es mayor se pierde entonces por las heces (Camacho 2003). El transporte pasivo, ocurre en el íleon y muy poco en el intestino grueso (Pansu y Bronner 1999). El calcio, debe estar en forma soluble generalmente ionizado (Ca^{2+}) antes de que pueda cruzar la pared del intestino (Guéguen y Pointillart 2000).

Entre los factores fisiológicos que intervienen en la absorción de calcio se encuentran: las dietas pobres en calcio, la falta de vitamina D, así como de la respuesta intestinal a la misma (exceso de glucocorticoides o de la hormona tiroidea y el síndrome de malabsorción), el tránsito intestinal rápido, la menopausia (Gómez y col. 2004) y la edad, que también influye en dicha absorción, ya que la utilización digestiva del calcio (absorción neta o coeficiente de utilización digestiva) se eleva al 50% en el periodo del recién nacido hasta los tres meses de vida, baja a un 35% de los tres meses al año y posteriormente a menos de un 30% entre uno y los nueve años. Posteriormente en el periodo prepuberal vuelve a ascender hasta un 45% donde se mantiene hasta la edad adulta y por último disminuye la eficiencia de absorción de los 50 años en adelante (Camacho 2003). Cabe mencionar que durante

el embarazo, la lactancia y la menopausia; aumenta el coeficiente de absorción hasta un 45 %, aunque en el último caso es en menor proporción (Heaney 1996a). Otro factor fisiológico importante es el aumento del pH, que favorece la absorción al aumentar la solubilidad del calcio (Camacho 2003).

Dentro de los factores dietéticos, se encuentra la influencia negativa de la fibra, la cual se ha examinado en varias revisiones (Murray 1996; Pansu y Bronner 1999) y es principalmente debido a los fitatos, presentes en los cereales y las semillas (soya), los oxalatos encontrados en las espinacas, ruibarbo, nueces, camotes, alazán y a los taninos presentes en el té, que pueden formar complejos insolubles con el calcio, provocando una reducción en la absorción (Guéguen y Pointillart 2000; Weaver y col. 1999). Esto parece afectar el balance de calcio, únicamente si la dieta no esta equilibrada, es decir tiene altos contenidos de fibra o no tiene fuentes ricas en calcio, como sucede en el caso de los vegetarianos (Guéguen y Pointillart 2000).

Las fibras como la celulosa, la hemicelulosa, la lignina y los polisacáridos no celulósicos (xilanos, glucanos, galactanos, mananos y fructanos), parecen no tener ningún efecto directo en la absorción del calcio. Se ha demostrado que los oligosacáridos favorecen la absorción del calcio en el intestino distal aumentando la fermentación bacteriana, de tal modo que bajan el pH (Coudray y col. 1997). Otros compuestos de la planta, ligeramente metoxilados como por ejemplo las pectinas, inhiben fuertemente la absorción del calcio y también la de otros minerales (Bagheri y Guéguen 1995).

Los lípidos, especialmente las grasas de la leche, pueden formar jabones insolubles con el calcio, reduciendo de esta manera su biodisponibilidad, ya que tales componentes se disocian en un pH bajo del estómago y no pueden modificarse hasta que alcanzan el íleon, el cuál está más allá del área principal donde se lleva a cabo la absorción del calcio. Los ácidos grasos saturados en la leche y el queso pueden transportar calcio de los fosfatos presentes en el ileon, formando jabones menos solubles que son excretados (Guéguen 1992).

Otros componentes de los alimentos como la lactosa, las proteínas y los fosfopéptidos, principales componentes de la leche, favorecen la absorción intestinal

del calcio, al alargar el tiempo de contacto de éste con la superficie intestinal y ayudan a mantenerlo en una forma soluble hasta que alcanza el intestino distal, donde puede ser absorbido por las rutas que son independientes de la vitamina D (Guéguen y Pointillart 2000).

2.2.4.2 Distribución.

El 99% del calcio corporal total (1000-1200 g en el adulto) se almacena en el esqueleto formando la fase mineral en forma de cristales de hidroxapatita y otros fosfatos de calcio. De tal cantidad unos 500 mg salen diariamente hacia los líquidos extracelulares y una cantidad similar se incorpora al hueso desde ellos.

La ingesta de calcio en la dieta de la mayoría de los individuos de México es menor a la recomendada (Abrams y Stuff 1994). De los 1000 mg de calcio que se consumen aprox. cada día, se absorben por el intestino delgado menos de la mitad; y unos 200 mg son vertidos a la luz intestinal con las secreciones digestivas, por la orina se pierden diariamente de 150 a 250 mg diarios de calcio (Tres Guerras y col. 2005). En estos tres órganos: hueso, intestino y riñón (Figura 2) se efectúan los mecanismos reguladores del calcio. Del calcio total que poseemos en nuestro organismo, 10 g se encuentran fuera del tejido óseo y se reparten entre el espacio intracelular (9.1 g) y los líquidos extracelulares (0.9 g), de estos 900 mg unos 500 mg se hallan en el suero sanguíneo, a una concentración de 8 a 10.5 mg/dL. De esta cantidad alrededor de un 50% (4-5 mg/dL=1.09-1.32 mmol/L) se encuentra en forma iónica Ca^{2+} , el cual se difunde a través de las membranas para actuar como mensajero intracelular. Del 50% restante, el 40% circula combinado con proteínas (35% con albúmina, 4% con globulinas y 1% con otras proteínas plasmáticas) y el 10% lo hace ligado al lactato, citrato, bicarbonato, fosfato y otros aniones no proteicos.

El mantenimiento de las concentraciones plasmáticas de calcio total y en especial de su forma iónica, están reguladas por varias hormonas: parathormona (HPT), calcitriol (1,25-dihidroxivitamina D) calcitonina y estrógenos; siendo la más importante la HPT (hormona paratiroidea o parathormona) que es producida por la glándula paratiroides y regula los niveles sanguíneos de calcio-fósforo y estimula la reabsorción del calcio

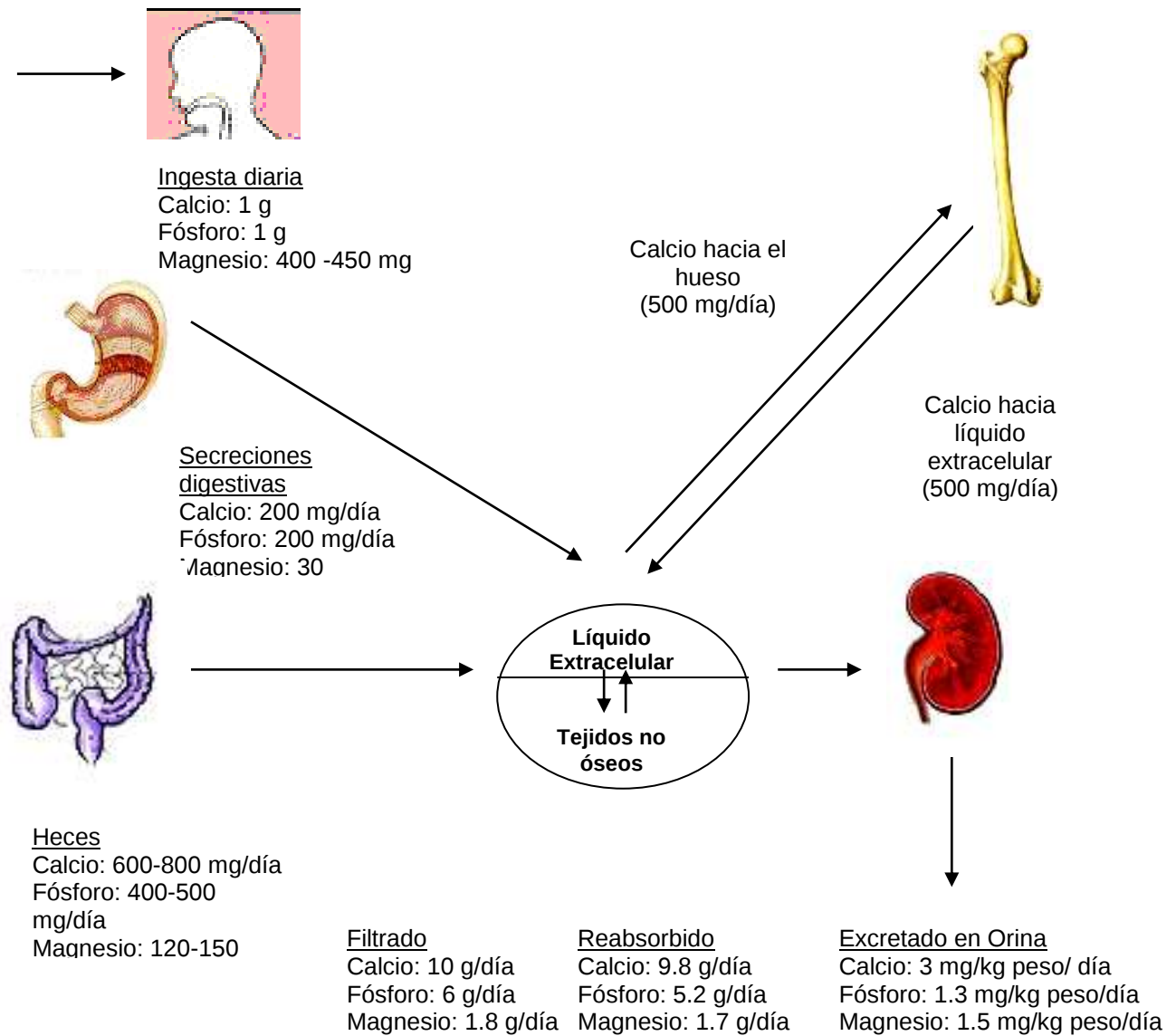


Figura 2. Ruta de absorción y excreción del calcio, fósforo y magnesio en el cuerpo humano.

en hueso. La secreción de esta hormona depende únicamente de la concentración de calcio en el suero; aumenta con el déficit de calcio y disminuye con cantidades altas de dicho mineral (Guéguen y Pointillart 2000). La concentración de calcio intracelular es del orden de 10^{-7} M, frente a 10^{-3} M en el líquido extracelular (Gómez y col. 2004; Tres Guerras y col. 2005). Es importante recordar que la combinación del calcio iónico (Ca^{2+}) con las proteínas en general (albúmina en particular) está determinada por fuerzas electrostáticas y por lo tanto es influenciada por el pH sanguíneo, por ello en situaciones de acidosis disminuye su unión a proteínas y en alcalosis aumenta (Tres Guerras y col. 2005).

2.2.4.3 Excreción.

El exceso de calcio absorbido que no puede ser almacenado en hueso se excreta en orina, heces y sudor (Guéguen y Pointillart 2000). Sólo el calcio plasmático no ligado a proteínas (60%) es filtrado a nivel glomerular. El 70% del calcio ultrafiltrado se reabsorbe en el túbulo proximal a nivel intercelular condicionado por diferencias de concentración y de potencial, y mediante el transporte celular activo (ATPasa Mg dependiente e intercambio Na/Ca). El 20% del calcio filtrado es reabsorbido en el asa de Henle por diferencias de potencial subsecuentes a la acción de la bomba Na/K e intercambio Ca/Na. En el túbulo contorneado distal se reabsorbe aproximadamente un 8-10 % del calcio filtrado de forma activa, siendo éste el segmento donde se produce la mayor regulación de la excreción de calcio (Gómez y col. 2004), ya que cada día se reabsorben ahí unos 1000 mg de calcio por acción de la HPT (Tres Guerras y col. 2005). Así la pérdida urinaria resulta de la filtración glomerular (arriba de 10 g Ca/día) y la reabsorción tubular, la cuál recupera más del 98% de la carga filtrada de forma que, por la orina se pierden de 150 a 200 mg/día (Brodaus 1993; Tres Guerras y col. 2005). La calciuria depende de la carga cálcica filtrada, que a su vez depende de la absorción intestinal de calcio, de su liberación por el hueso, de la filtración glomerular y de la capacidad del túbulo para reabsorber esa carga filtrada. La reabsorción del calcio está ligada a la del sodio y la calciuria puede oscilar paralelamente a los aportes sódicos (en ciertas hipercalciurias es conveniente

disminuir la ingesta de Na). Un 3% de la carga cálcica filtrada se pierde por la orina y constituye la pérdida obligatoria renal de calcio (Camacho 2003).

El fósforo puede tener un efecto directo, aumentando la reabsorción del calcio en la parte distal del riñón (túbulo contorneado distal) y un efecto indirecto, estimulando la secreción de PTH o bien realzando el calcio absorbido en el hueso (Breslau 1993).

Ciertos componentes como las sales muy solubles (bicarbonato y citrato de potasio que favorecen la alcalosis) aumentan la probabilidad de que el calcio absorbido, pueda ser incorporado en el hueso, mientras que otros dan lugar a que sea excretado principalmente en la orina como sucede con ciertos aniones como los sulfatos y los cloruros, cuya descomposición libera el sulfuro oxidado como sulfato, causando acidosis moderada y un aumento en la excreción del calcio en la orina (Lemann y col. 1986; Whiting y col. 1997) evitando su reabsorción tubular (Lemann 1993) e incluso su incorporación en el hueso (Guéguen y Besancon 1972). Otros componentes que causan este hecho son los ligantes orgánicos (quelatos), el exceso de proteína (cistina y metionina) y de sodio (por cada 2 g adicionales de sodio dietético se aumenta la excreción urinaria del calcio en un promedio de 30-40 mg).

Debido a lo anterior, se provoca una pérdida inevitable de calcio en orina, lo cual es mayor en la población que consume dietas de tipo occidental, que son altas en factores desfavorables tales como cantidad de proteína animal, de sulfatos, de sodio, de café, té y alcohol (Guéguen y Pointillart 2000).

2.2.4.4 Balance general del calcio.

Normalmente existe un equilibrio entre la absorción intestinal neta y las pérdidas urinarias de calcio, permaneciendo constante la concentración de calcio extracelular. Intercambiándose, con balance cero, el calcio extracelular y el calcio óseo. Así, con una dieta de unos 1000 mg de calcio, se absorberían unos 300 mg, se segregarían con jugos intestinales unos 125 mg, se eliminarían por heces unos 825 mg, resultando una absorción neta de 175 mg (Gómez y col. 2004).

El hueso, en su proceso de remodelación constante, vierte al torrente circulatorio unos 500 mg de Ca pero requiere del mismo otros 500 mg. El riñón filtraría unos

10000 mg, reabsorbería 9825 mg y eliminaría 175 mg. En caso de que disminuya el calcio ingerido con la dieta, descendería la absorción de calcio y bajaría la concentración de calcio sérico. Ello estimularía la secreción de HPT, que aumentaría la resorción ósea, la reabsorción renal de calcio y la producción renal de calcitriol. Éste aumentaría la absorción intestinal y reabsorción renal de calcio y, en el hueso, favorecería la acción resorptiva de la HPT. El balance entre entradas y salidas del organismo tendería a ser neutro, con estabilidad en los valores plasmáticos, pero a expensas de un balance negativo del hueso (Gómez y col. 2004).

Fisiológicamente, hay circunstancias que tienden a un balance general positivo, como ocurre con la formación de tejido óseo, de ahí la necesidad de un incremento en el aporte dietético del calcio. En otras circunstancias, el balance general del calcio podrá llegar a ser negativo si la cantidad de calcio alimentario no alcanza los 500 mg/día, si existe déficit de vitamina D o en enfermedades intestinales con alteraciones en la absorción (Tres Guerras y col. 2005). Esto mismo sucede durante el embarazo (por los requerimientos fetales) o en la senectud, ya que en esta etapa de la vida disminuye la capacidad de absorción intestinal, disminuye la capacidad de formar vitamina D, etc., y se mantiene la estabilidad a expensas de perder masa ósea. (Gómez y col. 2004).

2.3 Fisiología del calcio.

La homeostasis fosfocálcica tiene por objeto el mantenimiento de la concentración extracelular de calcio ionizado en unos límites estrechos y estables. Este proceso tiene lugar gracias a un complejo control iónico y hormonal que regula estrechamente a la vez la entrada intestinal y la salida renal del calcio y fósforo. Además existen reservas importantes de Ca y P en el esqueleto mineralizado, que pueden ser rápidamente liberadas según las necesidades. El esqueleto tiene por su parte como función esencial permitir la sedestación y la locomoción. Por ello la homeostasis fosfocálcica debe tener como objetivo primordial el garantizar la mineralización óptima del esqueleto. Estos mecanismos deben funcionar de forma precisa sobre

todo en la infancia, de modo que esté garantizado el crecimiento y el aumento de masa ósea (Garabédian y col. 1993).

2.3.1 Relación Calcio/Fósforo.

Para que se lleve a cabo el proceso de fijación óptimo del Ca en el tejido óseo debe de existir una relación 1:1 en la concentración del Ca y el P presentes en la sangre, ya que el P, como se explico anteriormente, tiene un efecto directo en las funciones fisiológicas del Ca. Esto es lo que conocemos como la relación Ca/P que es un factor importante para la formación del hueso. La relación Ca/P es importante en el control y prevención de enfermedades asociadas con anomalías en la estructura ósea (Guéguen y col. 2000). Son escasos los alimentos que poseen tal relación (tabla 1). Todas las comidas occidentales tienen una relación Ca/P menor de 1, lo cual favorece la precipitación del calcio, pero esto no asegura la absorción normal del mismo. Además, dicho mineral en forma de fosfato de calcio es también absorbido como tal junto con otras sales inorgánicas en alimentos con o sin lactosa (Greger y col. 1989).

Shah y col. (1967), reportaron un estudio realizado con huesos de fémur de ratas alimentadas con una dieta cuya relación Ca/P fue de 2:1, los cuales fueron comparados con los huesos provenientes de ratas alimentadas con dietas cuya relación de Ca/P fue de 1:1, el efecto de ambas dietas fue el mismo. Sin embargo, existen reportes en donde se recomienda que la ingesta de Ca/P sea mayor de 1:1 en la dieta, con el objetivo de que el calcio pueda ser asimilado y de esta manera evitar la pérdida de masa ósea (Anderson y col. 1972). Así mismo Nnakwe y Kies (1985), señalaron que las dietas altas en fósforo incrementaron el riesgo de fractura en los huesos. Spencer y Kramer (1988) en un estudio similar, demostraron que las dietas ricas en fósforo tienen un efecto negativo en la deposición de calcio en el hueso. Algunos trabajos realizados con animales de experimentación, los cuales fueron alimentados con dietas a base de tortillas, indicaron que cerca del 90% del calcio en la tortilla es biodisponible (Braham y Brezan 1966; Poneros y Erdman 1988; Reguera y col. 1995). Una ingesta baja en calcio y alta en fósforo, es un elemento

Tabla 1. Ejemplos de fuentes dietéticas de calcio y su relación Ca/P. (Nutrient Content of Food Portions. Royal Society of Chemistry, Cambridge).

Alimento	Ca (mg)	Ca/P (g)
Leche entera	120	1.27
Mantequilla	124	1.03
Crema agria	117	1.37
Yogurt	121	1.27
Helado	134	1.36
Queso Cottage	60	0.45
Queso americano	49	0.82
Queso parmesano	137	1.70
Huevo	29	0.32
Atún en agua	17	0.8
Sardinas	371	0.88
Camarones	98	0.44
Carne magra	6	0.02
Tocino	11	0.03
Pechuga de pollo	20	0.10
Brócoli	48	0.42
Zanahoria	26	0.59
Tortilla de maíz	140	0.76
Fríjol	73	0.41

(Davies y Dickerson 1991).

potencial para el desarrollo deficiente de una masa ósea (Anderson 1996). Otros investigadores señalan que el fósforo podría alterar de manera significativa el metabolismo del calcio (Calvo y Park 1996). Whiting y col. (2002), en investigaciones recientes demostraron que la relación Ca/P ideal en la dieta de los humanos es de 1:1.5, para mantener la densidad mineral ósea en los varones adultos. Con base en lo anterior, se destaca que ésta relación tiene influencia en la absorción del calcio por parte del organismo y por lo tanto, en la formación de los huesos. Wyatt y col. (2000), estudiaron el crecimiento y composición de los huesos de fémur en ratas alimentadas con dietas elaboradas con diferentes contenidos de Ca y P, tal como se encuentran presentes en la dieta tradicional mexicana, detectándose que el contenido de calcio en las dietas tiene un efecto significativo en la formación de la masa ósea.

2.4 Implicación del calcio en la Osteoporosis

Actualmente se ha observado una deficiencia importante de calcio en gran parte de la población, trayendo como consecuencia una serie de patologías significativas, hipocalcemia, raquitismo, osteomalacia, hiperparatiroidismo, enfermedades del corazón, alzheimer, entre ellas se encuentra la osteoporosis que afecta a la mayoría de la población. La osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica caracterizada por una disminución de la masa ósea, así como el deterioro microarquitectural del hueso, con un aumento de fragilidad y susceptibilidad a las fracturas. Epidemiológicamente se le considera como el trastorno metabólico óseo de mayor frecuencia en los países desarrollados, con un aumento de su incidencia en forma exponencial después de los 50 años de edad.

La Osteoporosis progresa de una manera silenciosa e indolora hasta la ruptura del hueso, lo que ocurre con mayor frecuencia en cadera, columna vertebral y muñecas. Existe una alta tasa de mortalidad por este tipo de fracturas, ya que afecta de 25 a 30 millones de norteamericanos, sin embargo la consecuencia más importante es la movilidad limitada del individuo, perdiendo independencia personal y disminuyendo la calidad de vida (Barret-Connor 1995). Aunque las mujeres desarrollan la enfermedad con una frecuencia cuatro veces mayor que los hombres, también se presenta en

ellos (Eastell y col. 1988). Alrededor del 25% de las mujeres a los 50 años tienen osteoporosis (Bryant y col. 1999) y suceden más de 1.5 millones de fracturas de hueso anualmente (Consensus Development Conference 1993). La Osteoporosis es un problema creciente en el mundo desarrollado o en vías de desarrollo, ya que la población presenta una mayor expectativa de vida. Son varios los factores que pueden afectar la acumulación de tejido óseo hasta la obtención del pico de masa ósea o su integridad durante la vida adulta (Heaney y col. 2000).

Existen sólidas evidencias que sostienen la noción de que el calcio es un nutriente importante para la preservación de la masa ósea durante la etapa adulta, y está también claro que un aporte apropiado de vitamina D, sea de fuente cutánea o exógena durante el desarrollo del tejido óseo afectan la biodisponibilidad de Ca y su metabolismo, conduciendo a una pérdida acelerada de hueso durante después de los 40 años (Ferrari y col. 2000).

Varios estudios aleatorizados (Cadogan y col. 1997; Matkovich y col. 1990) han obtenido un incremento en la masa ósea y en la densidad mineral en niños y adolescentes, con el aporte suplementario de Ca, sea éste llevado a cabo con comidas fortificadas, suplementos, medicamentos o productos lácteos. Todos estos trabajos fueron de corta duración (1-3 años). Los beneficios observados en los pacientes se mantuvieron por escaso tiempo, es decir estos fueron evidentes durante la duración de los experimentos y podría inferirse que el consumo elevado debe mantenerse hasta alcanzar el pico de masa ósea (Sánchez y col. 2002). La densidad esquelética del hueso es un marcador para el riesgo de fractura en cualquier edad, cuanto más baja es la densidad esquelética del hueso, mayor es el riesgo de fractura (Bryan y col. 1999), esto es debido a que está bien establecido que la densidad y la fuerza del hueso están altamente correlacionadas (Pocock y col. 1987).

2.5 EL NOPAL.

El género *Opuntia* perteneciente a la familia de las cactáceas, ha tenido uso en México desde épocas prehispánicas, donde jugó un papel importante en la economía agrícola del imperio Azteca, por lo tanto es considerada una de las plantas cultivadas

más antiguas de México (Pérez y Mondragón 2003), la cual ha ganado importancia en ésta región, ya que crece prácticamente a lo largo de todo el país pero especialmente en las zonas áridas y semiáridas donde pocos cultivos económicos pueden reproducirse adecuadamente (Vigueras y Portillo 1995).

El nopal, perteneciente a este género, puede soportar una escasa y errática precipitación pluvial y desarrollarse en estas condiciones, por lo que no existe a nivel mundial mejor planta para controlar la erosión eólica e hídrica y por lo tanto, evitar y hacer retroceder la desertificación. En la tabla 2 se presenta la taxonomía del nopal verdura más comúnmente aceptada (Flores y col. 1995).

Los género *Opuntia* y *Nopalea* fueron conocidos por los españoles como *nopal*, y su fruta, como *tuna*; sin embargo, en el siglo XVI esta planta se conocía también como *higuera de Indias*, *higuera de pala*, *tunal de Castilla*, *nopal de Castilla*, *chumbos*, *tuna chumbera*, *tuna mansa* y *tunal* (Pérez y Mondragón 2003). Existen casi 300 especies del género *Opuntia* que se conocen mundialmente. Solamente en México se han registrado 104 especies silvestres y sus variedades, de las cuales 60 son especies mexicanas (Pérez y Mondragón 2003).

Las nopaleras cultivadas ocupan poco más de 210 mil ha, de las cuales 150,000 ha son para forraje, 50,000 ha para tuna; 10,400 ha para producir nopalitos y aproximadamente 100 ha para producir grana cochinilla; con valores de comercialización de 570 mil ton por año.

Este volumen de alimento es cuantioso y comparable con los mercados de frutas y verduras más importantes del país (Flores y col. 1995). En México existe un área de más de 3 millones de ha, mayoritariamente silvestres. Debido a sus extensas y adecuadas condiciones agroclimáticas, dichos territorios poseen un gran potencial para el desarrollo de plantaciones de nopal.

En la tabla 3 se presenta una relación de las principales variedades de nopal utilizadas en México para la producción de verdura, de donde se desprende que la mayoría se encuentra identificada únicamente con los nombres regionales (Flores y col. 1995).

Tabla 2. Taxonomía del nopal.

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnolipsida
Subclase	Caryophyllidae
Orden	Caryophyllales
Familia	Cactaceae
Géneros	Opuntia
Especie	<i>Opuntia ficus indica</i>

(Anónimo 2008).

Tabla 3. Principales variedades cultivadas de nopal verdura.

Variedad	Entidad de producción	Especie
Milpa Alta	Distrito Federal, Morelos	
Atlixco	Puebla, Edo de México	
Copena VI	Edo de México, Baja California, S. L. P., Hidalgo, Sonora.	
Copena FI	Edo de México, Baja California, Sonora.	
Moradilla	Edo de México.	Opuntia ficus indica
Blanco	Michoacán.	
Negro	Michoacán, Guanajuato.	
Blanco con espinas	Guanajuato.	
Polotitlan	Edo de México.	
Tamazunchale	S.L.P., Hidalgo.	Nopalea cochenillifera.
Tapon	S.L.P., Zacatecas, Hidalgo, Guanajuato, Durango, Aguas Calientes, Jalisco, Querétaro.	Opuntia Robusta.

(Flores y col. 1995).

El mercado de este alimento circunda en 18 estados de la república, en donde el 77.5% de la superficie sembrada se localiza en el Distrito Federal. A lo largo del país en la zona centro-sur incluye los estados de: México, Puebla, Querétaro y Oaxaca, en la que es característico el nopal de “porte alto”; la zona del altiplano abarca Zacatecas, San Luis Potosí, Aguas Calientes, Durango, Guanajuato y Jalisco, con especies fruteras arbóreas y arbustivas. Otras zonas con alta población de nopal son las formadas por los estados del norte: Baja California, Sonora, Chihuahua y Coahuila, en donde predomina el nopal rastrero, la de Hidalgo en el Valle del Mezquital y Meztitlan; la zona árida de Teotihuacan; vastas regiones de los estados de Michoacán y Guerrero, así como la parte norte de la península de Yucatán. Sin embargo no sólo en zonas áridas se produce, como sucede con el nopalillo que puede encontrarse hasta en bosques de coníferas y encinos (Velásquez 1998).

La demanda de nopal en el mercado doméstico mexicano sigue patrones bien establecidos. Se prefiere consumir el nopal fresco en vez de procesado. En cuanto a la demanda por sectores de ingresos, puede decirse que la elasticidad demanda-ingreso del nopal es muy baja o negativa, lo que quiere decir que a medida que se incrementa el ingreso disponible de las familias, estas tienden a consumir menos nopal, remplazándolo por otras hortalizas. De aquí se desprende que los principales consumidores de nopal en el país, son los estratos de clases medias y bajas en términos de ingresos (Flores y col. 1995). En México se estima un consumo *per capita* de 6.36 kg al año, siendo la hortaliza que ocupa el 8^{vo} lugar dentro del consumo de productos hortícolas, después del tomate rojo, papa, chile verde, cebolla, sandia, melón y tomate verde (Flores y col. 1995). A nivel internacional, México es el único país que consume y exporta nopal verdura, principalmente a los nichos de mercado conformados por residentes de origen mexicano en los E.U.A. Las ventajas comparativas de México, basadas en la riqueza de su material genético, en la gran diversidad de variedades, lo extenso de sus recursos agroclimáticos y la tradición del cultivo y uso de esta planta por los campesinos mexicanos, deben ser el punto de partida para lograr ventajas competitivas para que México domine en los mercados internacionales (Flores y col. 1995).

2.5.1 Descripción Botánica.

Es posible distinguir fácilmente a *O. ficus-indica* de las demás especies, ya que el receptáculo floral y los frutos presentan numerosas areolas (38 o más), dispuestas sobre tubérculos notables (Pérez y Mondragón 2003). Las especies nativas de Sudamérica, en cambio, presentan pocas areolas en las flores y frutos, y estas no están dispuestas sobre tubérculos (Kiesling 2005). El género *Opuntia* ha desarrollado un mecanismo de resistencia a la sequía con base en el mantenimiento de un alto potencial hídrico, durante los períodos de déficit de precipitación, por tales motivos esta planta y las cactáceas han creado una defensa y capacidad extraordinarias (Velásquez 1998).

La planta es arborescente con tallo no definido, constituido de pencas o cladodios; alcanza una altura de 1 a 1.5 m. La forma de reproducción es vegetativa o sexual mediante pencas o fracciones de pencas. El contenido de agua en el nopal alcanza valores de 90%. La cantidad de minerales que se localizan formando parte de los órganos y tejidos del nopal son el calcio, potasio, así como magnesio, sílice, sodio y pequeñas cantidades de hierro, aluminio y manganeso, predominando en forma de carbonatos y en ocasiones como cloruros, sulfatos y pequeñas cantidades de fosfatos. Las pencas y tallos tienen espinas. La parte comestible del nopal son los rebrotes tiernos, los cuales pueden ser aprovechados a los 8 ó 10 días de haber brotado. El sistema radicular es profundo; no obstante, dependiendo de la humedad ambiental, pueden desarrollar raíces laterales superficiales. La longevidad promedio de las plantaciones de nopal es de 5 a 7 años, alcanzando algunas veces hasta 10 años con buenos rendimientos (Granados y Castañeda 1991).

Los brotes tiernos del nopal (comúnmente llamados como nopalitos) no son hojas verdaderas sino más bien son tallos aplanados o *cladodios* de alta actividad metabólica y de rápido crecimiento. Al cosecharlos, se vuelven productos altamente perecederos y presentan un proceso de deterioro acelerado e irreversible que merma su calidad y culmina con la muerte de los mismos.

En este deterioro intervienen tanto factores biológicos (respiración, etileno, cambios en la acidez y formación de lignina, lesiones y enfermedades patológicas y

fisiológicas) como ambientales (temperatura, humedad relativa, composición atmosférica circundante al producto, etileno exógeno, otros compuestos químicos y la luz); factores que interactúan entre sí provocando efectos que algunas veces resultan desastrosos porque acaban con la calidad del producto en un lapso de tiempo muy corto. El nopal a temperatura ambiente mantiene una calidad aceptable por no más de cuatro días (Velásquez 1998).

2.5.2 Usos.

A lo largo de la historia el extenso uso de esta noble planta en todas las regiones del país ha derivado en una extraordinaria variedad de empleos de la planta que no se limitan a los antiguos usos esenciales. La tuna y el nopal son los principales productos alimenticios del nopal, el primero como fruta y el segundo como verdura, consumido en la rica cultura culinaria mexicana (Flores y col. 1995). Ser un componente principal de la dieta mexicana es, por su puesto, el uso de mayor importancia.

Se han desarrollado un gran número de usos y aplicaciones de esta planta, de los cuales se extraen un conjunto numeroso de productos con una amplia gama de aplicaciones:

a) Como fruta: La tuna es una fruta muy aceptada en el mercado nacional, además de que se está exportando, principalmente a los E.U.A.; en cantidades menores se exporta a Canadá y a algunos países europeos y a Japón (Flores y col. 1995).

b) Como verdura: El nopalito está ligado a la comida mexicana del centro del país y su oferta es abundante durante casi todo el año. Su demanda es menor en los estados del norte y casi nulo en las costas del país, donde lo consumen en épocas específicas y restringidas (Flores y col. 1995).

c) Como forraje: Es otra actividad conocida, de amplia distribución en el país como una práctica regional que ha sido poco estudiada y evaluada, se considera el más importante en cuanto a volumen (Flores y col. 1995).

d) Como cerco: La utilización de variedades espinosas para formar cercos en los huertos familiares y en los predios ganaderos es común y muy antigua en México.

e) Como sustrato para la producción de grana de cochinilla: La obtención de colorante carmín, producto de la cochinilla que parasita el nopal, está volviendo a tener importancia en los estados de Oaxaca y Chiapas. Además se reabrió el mercado para la grana, siendo demandado por la industria de embutidos cárnicos, cosméticos y sobre todo en el ramo de jarabes (Flores y col. 1995).

f) Como planta medicinal: El consumo de nopalitos y de tuna ácida (el xoconostle) ha probado que abate en la sangre los niveles de azúcar y colesterol, por lo que la gente los consume cocinados, así como en cápsulas y comprimidos, muy utilizados en la medicina naturista y casera (Flores y col. 1995).

g) Como materia prima en la producción de cosméticos: En México se fabrican jabones, cremas, papel, jabón y enjuagues, que contienen extractos de nopal (Flores y col. 1995).

h) Como materia prima industrial: En México se procesa el nopalito como alimento (en salmuera y escabeche), principalmente para el mercado de exportación; de la tuna se ha propuesto la obtención de mermelada, jugos, néctares, colorantes, pectinas y fructosa (Flores y col. 1995).

2.5.3 Composición química del nopal o valor nutricional.

Contenido de agua. *Opuntia* es una de las principales fuentes de agua para los animales en el norte semiárido. Sin embargo, la cantidad total de agua almacenada depende de la especie y la variedad. El contenido de agua es fuertemente influenciado por las condiciones ambientales (Pérez 2003).

Contenido de materia seca (MS). Varios factores afectan significativamente el contenido de MS, endógenos (especie, genotipo y variedad) y ambientales, tales como el suelo, el clima y la estación del año (Pérez 2003).

Análisis bromatológico. Se ha establecido que la edad de la penca o cladodio es un factor importante para el valor nutricional del nopal (tabla 4) y que la estación tiene un profundo impacto en la composición química del nopal (Pérez 2003). Hay diferencias significativas entre los datos reportados de los análisis de tejidos,

asociados con la variación entre especies, factores fisiológicos, fertilidad del suelo, clima, etc. (Pérez 2003).

Minerales. Existen pocos informes de estudios sobre el contenido mineral del género *Opuntia* en México. Los principales componentes minerales de las cenizas de *Opuntia* son calcio, potasio, magnesio y sodio, usualmente encontrados como sales y silicio. Hierro y aluminio son encontrados en trazas (Pérez 2003).

2.5.4 Propiedades medicinales.

Se han demostrado en varios estudios, principalmente realizados en México, las propiedades medicinales que tiene el nopal: reducir niveles del colesterol en la sangre, regulación de la presión arterial, control de la acidez gástrica, y tratamiento de varias patologías tales como úlcera, fatiga, dipnea, glaucoma, fragilidad capilar, dolor reumático, y heridas. Algunos nuevos usos tienen mayor base científica: gastritis, hiperglucemia, arteriosclerosis y diabetes (Muñoz de Chávez y col. 1995).

2.5.5 Contenido de Oxalatos

El oxalato de calcio es el biomineral presente en las plantas más común (Arnott 1982; Franceschi y Horner 1980). Las células de los tejidos de las plantas que producen los cristales de oxalato de Ca son generalmente conocidos como cristales idioblastos (Arnott 1982). El oxalato de Ca se encuentra en dos estados de hidratación en las plantas: monohidratado (whewellite) o dihidratado (weddelite) (Arnott 1982). Un gran número de cristales pueden encontrarse en ambos estados de hidratación y poseen formas distintas como arena, prismas, estiloideas y agujas (Arnott 1982; Franceschi y Horner 1980). Algunas plantas pueden acumular enormes cantidades de material inorgánico, y esto se da especialmente para algunos miembros de la familia de Cactácea (Franceschi y Horner 1980). En un estudio realizado en base al peso seco, se predijo que la cantidad total de calcio consumido en los nopales era 12 veces mayor que la cantidad presente en la espinaca, pero 1.4

Tabla 4. Composición química de nopal deshidratado/100g (*Opuntia ficus-indica*).

	Nopal 60	Nopal 100	Nopal 150	Nopal 200
Humedad (%)	4.06 ± 0.02	5.02 ± 0.14	6.21 ± 0.16	7.31 ± 0.03
Proteína	14.22 ± 1.23	13.10 ± 1.11	12.87 ± 1.10	11.39 ± 1.24
Grasa	3.00 ± 0.03	2.87 ± 0.03	2.53 ± 0.02	1.96 ± 0.02
Fibra soluble	25.22 ± 1.26	18.21 ± 1.11	15.87 ± 1.12	14.91 ± 1.09
Fibra insoluble	29.87 ± 1.35	33.21 ± 1.24	37.15 ± 1.23	41.65 ± 1.32
Cenizas (%)	18.41 ± 1.64	19.61 ± 1.34	22.40 ± 1.23	23.24 ± 1.17
Calcio (%)	1.35 ± 0.04	1.76 ± 0.05	2.71 ± 0.06	3.30 ± 0.08
Fósforo (%)	0.038 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.33 ± 0.01	0.29 ± 0.01
Sodio (%)	0.21 ± 0.004	0.17 ± 0.004	0.12 ± 0.003	0.12 ± 0.003
Oxalato de Calcio (mg/g)	7.95 ± 0.92	3.47 ± 0.37	5.73 ± 0.64	3.94 ± 0.26
Potasio (%)	5.52 ± 0.14	6.84±	6.46 ± 0.14	6.02 ± 0.13
Relación Ca/P	3.60	6.39	8.24	11.33
pH (nopal fresco)	4.41 ± 0.30	4.14 ± 0.15	4.35 ± 0.26	4.28 ± 0.50
PH (polvo)	4.26 ± 0.14	4.07 ± 0.30	4.31 ± 0.35	4.35 ± 0.20

Rodríguez y col. 2007

veces menor que la col, por lo tanto aunque los nopales tiene el doble de calcio que la col, éstos proporcionan calcio menos disponible por la presencia de cristales de oxalato de calcio (McCoon y Nakata 2004).

En un estudio *in vitro* realizado por McConn y Nakata (2004), reportaron que el Ca presente en el nopal estaba en un estado indisponible debido a la presencia de cristales de oxalato de calcio. Sin embargo, recientemente Rojas-Molina y colaboradores (2006), en un estudio *in vivo* realizado con ratas Wistar empleando nopales cultivados en el estado de Querétaro, determinaron que la biodisponibilidad del calcio depende fuertemente de la edad del cladodio, ya que la relación Ca/P varía con la edad del mismo, resultando a medida que avanza un menor contenido de oxalatos. Así mismo dicho compuesto no interviene con los macronutrientes presentes en la dieta, sin embargo con ciertos minerales divalentes, puede formar compuestos insolubles con calcio.

III. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.

La osteoporosis es una enfermedad de alta incidencia, por lo que numerosos estudios epidemiológicos la consideran como el quinto problema de salud pública en el ámbito mundial. Para abordar la epidemiología de la osteoporosis y entender la verdadera magnitud del problema, es necesario tener conocimiento de los cambios demográficos en la población mundial.

En México existen pocas referencias oficiales o bibliográficas acerca de los aspectos epidemiológicos de la osteoporosis y si únicamente es posible obtener datos en forma aislada.

La prevalencia de osteoporosis, registrada en columna y cadera en mujeres mexicanas sanas mayores de 50 años, coincidió con la de otros grupos mexicanos siendo de 16-20% en mujeres con diversos factores de riesgo.

Cabe puntualizar, que antes de los 45 años la incidencia de fracturas es inversa, es decir, mayor en los varones, lo cual es generalmente un resultado secundario a factores traumáticos; sin embargo, a la edad de 75-80 años tiende a igualarse en ambos sexos. Aunque los estudios realizados varían considerablemente en su metodología y criterios de diagnóstico, se observa que el incremento de las fracturas por osteoporosis es a partir de la quinta década de vida.

Los cambios en el estilo de vida harán que la osteoporosis tenga una repercusión económica sustancial en los próximos años, tanto para los pacientes como para los sistemas de salud, además de que los costos del tratamiento de la osteoporosis son enormes y la tendencia futura, es que estos se incrementen. Motivo por el cual deben de caracterizarse fuentes alternas de calcio para proveer los requerimientos diarios de este mineral. Fuentes que aporten cantidades adecuadas de calcio y que cubran los requerimientos necesarios para obtener una masa ósea apropiada para evitar fracturas en la edad adulta.

IV. JUSTIFICACIÓN

El nopal ha formado parte de la dieta en nuestro país desde tiempos prehispánicos por su fácil adquisición y bajo costo y a lo largo del tiempo se han ido descubriendo los beneficios y las características importantes del nopal, resultando una extraordinaria variedad de empleos y usos que han sido aprovechados por el hombre, principalmente los relacionados con la salud, ya que posee diversas propiedades nutrimentales que ayudan a prevenir o a tratar diversas patologías, tales como: diabetes, gastritis, arteriosclerosis, hipertensión arterial e hiperglucemia.

Se sabe también que el nopal posee un alto contenido de minerales, entre ellos se encuentra el calcio, sin embargo, Rodríguez y col. (2007), en un estudio reciente de caracterización fisicoquímica del nopal, demostraron que el contenido de calcio presente en el mismo, varía con la edad de la penca, obteniendo un mayor contenido en las pencas maduras. A partir de lo anterior y basándose en otros estudios los cuales aún no han culminado, ha trascendido el hecho de que el nopal podría ser una buena fuente de calcio. Dichos estudios han propiciado que exista el interés por indagar más a fondo si el calcio presente en el nopal y específicamente en el estadio de maduración con mayor contenido de este mineral, el cual juega un papel muy importante para el organismo, se encuentra de manera biodisponible, de ser así, éste podría ser introducido en la dieta como una fuente alterna de calcio, lo cual traería consigo grandes beneficios a la población, ya que en los últimos años se ha observado una deficiencia evidente de calcio debido al limitado consumo de fuentes con alto contenido de éste y al problema de intolerancia a la lactosa que se encuentra presente en el 70% de la población.

Por otro lado, cabe mencionar que es en las últimas tres o cuatro décadas que el nopal cobra importancia económica como resultado de la comprobación de los efectos benéficos que este presenta en la salud humana para ayudar a controlar las enfermedades antes mencionadas, lo cual a ocasionado un crecimiento en la producción y comercialización de esta verdura en los mercados nacionales e internacionales, lo cual nos da un parámetro de que la producción de éste puede desarrollarse a gran escala y con grandes expectativas de comercialización.

V. OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

- Determinar la biodisponibilidad de calcio presente en el nopal verdura (*Opuntia ficus- indica*) de acuerdo a su estadio de maduración.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Efectuar ensayos biológicos en ratas machos de la cepa Wistar para evaluar la biodisponibilidad de calcio presente en el nopal.
- Determinar presencia de minerales mediante análisis cuantitativos y cualitativos.
- Efectuar análisis de resistencia a la fractura del fémur de ratas mediante análisis de textura.
- Realizar dimensiones físicas a los huesos para obtener la densidad aparente de los mismos.
- Efectuar análisis de resistencia a la fractura del fémur de ratas mediante análisis de textura.
- Determinar presencia de minerales mediante análisis cuantitativos en huesos, orina y heces de las ratas.
- Realizar estudios complementarios de cristalinidad del hueso mediante métodos de rayos X.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1 Elaboración de harina de nopal.

El nopal fue proporcionado por el Grupo Nopaleño El Bajío del Racho Los Lorens ubicado en Silao, Guanajuato, donde se cultivan Nopales Orgánicos. Se seleccionaron pencas de nopal variedad *Opuntia ficus Indica* en 3 diferentes etapas de desarrollo, tomando en cuenta como factor determinante la relación existente entre la etapa de madurez y el peso de la penca (Rodríguez y col. 2007) recolectándose pencas con pesos de 200, 400 y 500 g.

Una vez seleccionadas las pencas se siguió la metodología descrita en la figura 3 para la preparación de las harinas de nopal, la cual se describe a continuación. El nopal se lavó con agua destilada y posteriormente se desinfectó con hipoclorito de sodio (4.5 mg/L) durante 30 min.

Las espinas fueron previamente removidas y cada una de las pencas fue rebanada procurando que el espesor fuera de 5 mm aproximadamente. Una vez rebanado, se extendieron 2 Kg de nopal de manera uniforme en charolas de acero inoxidable. Finalmente se secó el nopal a una temperatura de 45 °C y 10^{-2} torr para evitar la degradación térmica de los componentes del mismo. Una vez seco, éste se molió usando un molino casero para café marca Brahun y se almacenó en bolsas de plástico perfectamente selladas a temperatura ambiente, hasta su posterior uso.

Obteniéndose 3 harinas de nopal de diferentes edades, la primera elaborada con nopal de 200 g, la segunda con nopal de 400 g y la última con nopal de 500 g de peso, a las cuales se les realizaron estudios de composición química proximal y estos datos se utilizaron en la elaboración de 3 dietas, cuyo método de preparación y composición química se detallan posteriormente.

6.2 Análisis Químico Proximal de harinas de nopal.

Los métodos para el análisis se describen a continuación; éstos se determinaron siguiendo las metodologías descritas en la AOAC (2000).

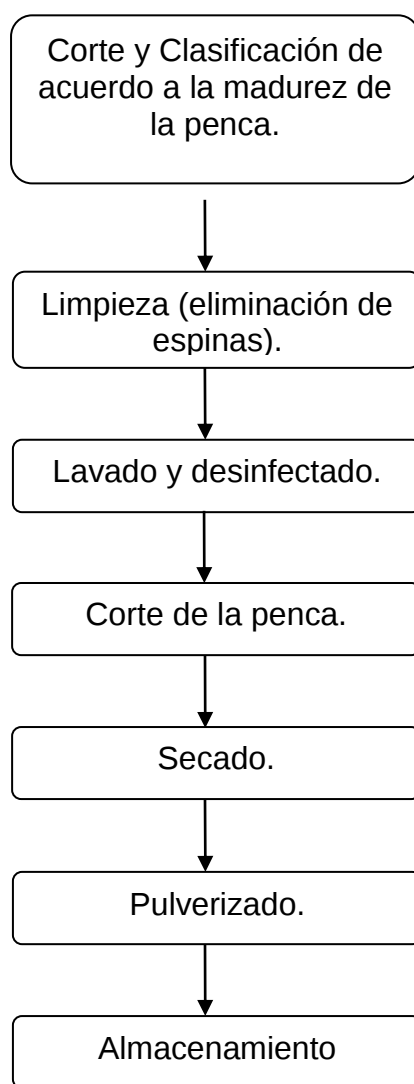


Figura 3. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de las harinas de nopal.

6.2.1 Humedad (930.04).

El contenido de humedad es un indicador de la estabilidad y calidad del alimento y una medida indirecta del contenido de sólidos totales del mismo, por lo que es importante su cuantificación, sobre todo cuando se va a almacenar un alimento por tiempos prolongados, ya que el contenido de humedad óptimo para poder lograrlo es aproximadamente del 10%, debido a que un porcentaje mayor puede desestabilizar el alimento y propiciar el crecimiento de microorganismos tales como bacterias y hongos que producen toxinas.

Procedimiento.

El método se basa en una determinación gravimétrica en la que se determina la diferencia de pesos obtenidos en una muestra antes y después de secarla a una temperatura constante.

Se pesaron 5 ± 0.5 g de cada harina en una cápsula de porcelana, puesta previamente a peso constante; las muestras se colocaron en un horno a 110°C (Estufa Quincy Lab. Inc.) durante 4 h, posteriormente las muestras se enfriaron, registrándose los pesos (Balanza analítica OHAUS 700 SERIES).

Cálculos.

$$\% \text{ de humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

P_i= Peso de la muestra húmeda.

P_f= Peso de la muestra seca.

6.2.2 Cenizas (930.05).

Con esta determinación se obtiene el contenido de cenizas o de minerales, el método se basa en la destrucción de la materia orgánica presente por calcinación.

Procedimiento.

Se pesaron 2 ± 0.5 g de cada muestra en los crisoles de porcelana, se calcinaron a 550°C (Mufla Marca FELISA. Mod. FE-360), hasta obtener cenizas blancas o grises. Los crisoles se enfriaron y pesaron (Balanza OHAUS 700 SERIES).

Cálculos.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso Cenizas} \times 100}{\text{Peso inicial}}$$

Donde:

Peso Cenizas = peso de la muestra calcinada.

Peso inicial = peso inicial de la muestra.

6.2.3 Proteína Cruda (Nitrógeno Total 955.04).

Se realizó por el método Kjeldahl, el cual consiste en convertir el nitrógeno presente en la muestra en nitrógeno amoniacal y por titulación calcular el porcentaje de nitrógeno liberado. Con esta determinación se obtiene el contenido total de nitrógeno, incluyendo nitrógeno proteínico y no proteínico (aminoácidos libres, nitrógeno inorgánico, urea, aminas, amidas, ácidos nucleicos, etc).

Procedimiento.

1. *Digestión:* Se llevo a acabo en un aparato de Microkjeldahl BUCHI. Se pesó 1 g de muestra y se colocó en matraces kjeldahl de 800 mL. Se añadieron 5 g de catalizador (2 tabletas kjeldahl libres de selenio y mercurio; Merck cat. No. 15348). Se agregaron 25 mL de H_2SO_4 al 98 %. Se calentaron a una temperatura de 30 a 35°C y en el momento en que adquirieron un color verde claro transparente (1 h aprox.), se enfriaron y se procedió a la destilación.

2. *Destilación:* La muestra digerida se colocó en el tubo digestor, se agregaron 60 mL de H_3BO_3 al 2%, 50 mL de H_2O y 60 mL de NaOH al 32 % (Destilador Marca BUCHI B-810, tensión 220-240 v) obteniendo aprox. 150 mL de destilado.

3. *Titulación:* Se tituló utilizando un potenciómetro con H₂SO₄ 0.1 N. El punto final de la titulación se obtuvo cuando al adicionar una gota más de ácido, el color amarillo viró a rosa tenue. Se corrió un blanco con todos los reactivos.

Cálculos.

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(A - B) \times C \times N \times 100}{M}$$

Donde:

A = mL H₂SO₄ gastados en la muestra.

B = mL H₂SO₄ gastados en el blanco.

C = miliequivalentes de nitrógeno (0.014)

N = normalidad del H₂SO₄.

M = Peso de la muestra (g).

% de Proteína cruda o bruta = % Nitrógeno por factor de conversión*

El factor de conversión más empleado en los alimentos es de 6.25

6.2.4 Fibra Cruda (962.09).

Se cuantifican los compuestos estructurales y de soporte de las plantas (celulosa, hemicelulosa y lignina), principalmente carbohidratos no amiláceos. La determinación consiste en una digestión ácida y una básica con soluciones de H₂SO₄ y NaOH en condiciones específicas, sin embargo, algunos compuestos (lignina) se solubilizan y una parte de ellos se pierde. La muestra debe de ser desengrasada si contiene más del 5 % de grasa. Esta determinación se realizó empleando bolsas filtrantes y el aparato digestor de fibra ANKOM.

Procedimiento: Se pesó 0.75 ± 0.25 g de muestra (Balanza OHAUS 700 SERIES) en una bolsa filtrante (F57-ANKOM), se empleó una bolsa vacía como blanco. Se sellaron las bolsas dejando 0.5 cm de apertura utilizando un sellador de calor ANKOM y se pusieron en la canastilla, colocando tres bolsas por repisa. Se agregó 2 L de H₂SO₄ (0.255N) y se inició la digestión a 100 °C, durante 45 min. Al término de la digestión se enjuagaron las muestras con 2 L de agua destilada hirviendo durante

5 min en agitación, repitiendo el enjuague 2 veces. Posteriormente se agregaron 2 L de NaOH (0.313 N) y se inicio la digestión alcalina bajo las mismas condiciones que la digestión ácida, lavándose con agua 3 veces en las condiciones descritas anteriormente. Se detuvo la digestión y se eliminó el exceso de agua. Las bolsas se colocaron en un vaso de precipitados con acetona suficiente para cubrirlas, permitiendo que estas se remojaran durante 3 a 5 min. Concluido este tiempo se sacaron de la acetona y se secaron a temperatura ambiente, concluyendo el secado en una estufa a 100 °C durante 3 h (Estufa Quincy Lab. Inc.), registrándose finalmente el peso de las bolsas.

Calculo.

$$\% \text{ FC} = \frac{(W_3 - (W_1 \times C_1)) \times 100}{W_2 \times \text{MS}}$$

Donde:

W_1 = Peso de la bolsa.

W_2 = Peso de la muestra.

W_3 = Peso después del proceso de digestión.

C_1 = Corrección del blanco (peso final secado en la estufa/peso original de la bolsa vacía).

6.2.5 Extracto Etéreo (930.39)

Con esta determinación se obtiene el contenido total de lípidos, los cuales incluyen ácidos grasos libres, lípidos simples y compuestos, prostaglandinas, esteroides, pigmentos y vitaminas liposolubles.

Procedimiento.

Se pesaron 2.75 ± 0.25 g de cada muestra dentro del cartucho poroso. Se colocaron los cartuchos en los vasos de extracción del equipo BUCHI (Marca LS Lauda 50/60 Hz). Se agregaron de 60 a 80 mL de éter etílico en cada vaso y se inició la extracción durante 6 h. Concluido el proceso se evaporó el éter de los vasos en una campana

de extracción y en una estufa a 60 °C (Estufa Quincy Lab. Inc.), registrando el peso de los mismos.

Cálculo.

$$\% EE = \frac{(A-B) \times 100}{M}$$

Donde:

A = peso del vaso con residuo lipídico (g).

B= peso del vaso (g).

M= peso de la muestra (g).

6.2.6 Carbohidratos.

Los carbohidratos fueron calculados por diferencia.

6.3 Ensayo Biológico.

6.3.1 Dietas Experimentales.

6.3.1.1 Formulación y elaboración.

La formulación de las dietas se realizó utilizando los resultados del análisis químico proximal de las harinas de nopal *Opuntia ficus indica* (200, 400 y 500 g), el contenido de harina de nopal agregada a cada dieta experimental, se calculó en función del contenido de minerales presente en cada nopal (200, 400 y 500 g), de acuerdo al contenido de minerales propuesto por Reeves y colaboradores (1993), para el periodo de crecimiento de roedores, el cual es del 3.5 %. Cabe señalar que en las dietas experimentales el contenido de minerales fue aportado exclusivamente por el nopal deshidratado, pero para ajustar el resto de los macro-nutrientes, de acuerdo a la formulación de la dieta AIN-93G, fueron adicionados los siguientes reactivos (con excepción de la L-cistina, bitartrato de colina y terbutilhidroxiquinona) (tabla 5) hasta alcanzar los porcentajes propuestos en la dieta AIN-93G: sacarosa (carbohidratos simples, MP Biomedicals-190271), caseína (proteínas, MP Biomedicals-904798),

Tabla 5. Composición de la dieta AIN-93G para embarazo, lactancia y periodo de crecimiento de roedores.

Ingrediente	g/kg de dieta
Caseína	200.00
Dextrinas de almidón de maíz	132.000
Sucrosa	100.000
Almidón de maíz	397.486
Alphacel, Fibra No-Nutritiva	50.000
Aceite de soya	70.000
Mezcla de Minerales (AIN-93G9	35.000
L-Cistina	3.000
Mezcla de Vitaminas (AIN-93-VX)	10.000
Bitartrato de Colina	2.500
Terbutilhidroquinona (TBAQ)	0.014

(Reeves y col. 1993).

alphacel (fibra cruda, MP Biomedicals-900453), premezcla de vitaminas (MP Biomedicals-960402), almidón (carbohidratos complejos) y aceite de maíz comercial (grasas). Todas las dietas contenían: 3.5% de minerales, 20% de proteínas, 7% de grasa, 5% de fibra y 1% de vitaminas. La formulación de la dieta AIN-93G (MP Biomedicals-960398) propuesta por este mismo investigador fue utilizada para alimentar al grupo control en este experimento.

Durante la formulación de las dietas experimentales se añadió inicialmente la harina de nopal correspondiente y el aceite de maíz con el objetivo de formar agregados con los polvos finos del nopal y el aceite de maíz, posteriormente se añadieron los demás componentes, quedando el ajuste de estas como se presenta en la tabla 6.

Para asegurar que los animales no sufrieran daño pulmonar por inhalación de los polvos finos del nopal presente en las dietas, estas se prepararon en forma de pellets de la siguiente manera: Se agregó agua suficiente a cada una de las dietas de nopal obteniéndose una masa homogénea e hidratada con una relación agua/dieta de 3:2. Posteriormente se formaron pequeñas esferas con la masa, confiriéndoles la forma de pellets de aproximadamente 3 cm de largo por 1 cm de espesor. Se colocaron en charolas de acero inoxidable y se secaron en un horno de vacío a una temperatura de 35-38 °C y 10^{-2} torr durante 8 h, al terminó del secado, se determinó el contenido de humedad en una termobalanza (AND Infrared Moisture Determination Balance Mod. AD.4713) obteniendo una humedad de 13.9, 14.6 y 13.7 para los pellets elaborados con harina de nopal de 200, 400 y 500 g, respectivamente. Finalmente el alimento se guardó en bolsas perfectamente selladas hasta su posterior uso.

El cuidado y uso de estos animales fue realizado conforme a las políticas y regulaciones del Instituto de Cuidado Animal de la Universidad Autónoma de Querétaro.

6.3.2 Animales de experimentación.

Se usaron 40 ratas machos de la cepa Wistar de tres semanas de edad, recién destetados, proporcionados por el Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM Campus Querétaro, México. Ocho de estos animales fueron sacrificados al inicio del

Tabla 6. Composición de cada una de las dietas elaboradas con harina de nopal de 200, 400 y 500g (g/kg)*.

Ingrediente	*Dieta Nopal	Dieta Nopal	Dieta Nopal
	200	400	500
^a Harina de nopal (minerales)	167.804	155.5860	153.968
^b Caseína (proteínas)	186.011	190.172	192.829
Alphacel (fibra Cruda)	25.070	19.599	27.015
Aceite de maíz (grasas)	67.415	67.759	67.848
Almidón (carbohidratos complejos)	413.698	426.885	418.337
Sacarosa (carbohidratos simples)	130.00	130.00	130.00
^c Premezcla de vitaminas (vitaminas)	10.00	10.00	10.00

* Todas las dietas contenían: 3.5% de minerales, 20% de proteínas, 7% de grasa, 5% de fibra y 1% de vitaminas.

^aMinerales aportados exclusivamente por la harina de nopal de diferentes estados de maduración.

^bCaseína libre de vitaminas (libre de pantotenato de calcio).

^cPremezcla de vitaminas libre de Calcio.

experimento (blanco) y se les hicieron los mismos análisis que a los otros 32 animales que se distribuyeron en los cuatro grupos experimentales (nopal 200, 400 y 500 g y un grupo control). Dichos animales fueron colocados individualmente en jaulas metabólicas de acero inoxidable bajo las siguientes condiciones ambientales: Temperatura 23 ± 1 °C, Humedad Relativa 45 a 55% y Ciclo de Luz / Oscuridad de 12 h, evitando factores de alteración como ruidos, manejo excesivo y lesiones en los animales.

6.3.3 Selección de la Muestra.

Se seleccionaron al azar conjuntos de 8 ratas para cada grupo experimental.

6.3.4 Alimentación.

Todos los animales distribuidos en grupos fueron alimentados *ad libitum* con los tratamientos descritos en el apartado 7.3.1 y agua durante 4 semanas. Se registro la cantidad de alimento consumido diariamente, el peso ganado y la toma de muestras de heces y orina se registró con una periodicidad de 4 días.

6.3.5 Recolecta de orina y heces durante el tratamiento.

La recolecta de orina se basó principalmente en obtener la mayor cantidad de orina excretada cada cuatro días, recogiendo la muestra con una jeringa perfectamente limpia, la cual posteriormente fue transferida a un vial y almacenada a una temperatura de -20 °C hasta el momento de los análisis pertinentes.

Por otra parte, se recolectaron las heces con la misma periodicidad, se secaron a 40 °C durante 12 h y se almacenaron en bolsas de plástico para su posterior análisis.

Al final del periodo de alimentación, los animales fueron sacrificados y diseccionados, retirándose los femorales, ambas tibias y peronés. Los huesos se limpiaron eliminando la materia orgánica y se secaron a una temperatura de 40 °C durante 8 h (Estufa Quincy Lab. Inc.).

6.4 Dimensiones físicas de los huesos.

Utilizando un Vernier, se midió la longitud y el diámetro de cada uno de los huesos secos, el peso se obtuvo con una balanza analítica OHAUS 700 SERIES. La densidad aparente de los huesos se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$d = \frac{\text{masa (g)}}{\text{volumen (cm}^3\text{)}}$$

6.5 Resistencia a la fractura del fémur.

La fuerza requerida para romper los huesos está relacionada con la cantidad de Calcio retenido en el tejido óseo de las ratas (Serna-Saldivar y col. 1992), lo cual se puede relacionar directamente con la biodisponibilidad del calcio presente en los alimentos. La fuerza al corte fue medida usando un equipo Texture Analyzer (TA), modelo TA-XT2 (Texture Technologies Corp.), equipo diseñado para determinar la fuerza a la tensión y a la compresión. El cual tiene una celda de carga (sensor de fuerza) de 245 N de capacidad con una sensibilidad de 0.00098 N, operado con la ayuda de un software. Como resultado se obtuvieron gráficos de fuerza-distancia-tiempo en unidades de Kgf o N.

La prueba se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Gómez-Aldapa y colaboradores (1999), usando una cuchilla TA-90 de 3 mm de grueso y 6.93 mm de ancho, la cual se conecta al brazo sensor del texturómetro. Consecutivamente fueron colocados cada uno de los huesos sobre un plato de 7 cm de longitud con un orificio localizado en el centro del mismo, ocasionando que el hueso colocado en esta ranura se fracture bajo la presión de la cuchilla.

La compresión fue aplicada transversalmente a una velocidad constante de 2 mm/s y a una distancia de 10mm. La fuerza máxima requerida para el rompimiento del hueso fue reportada en g-f.

6.6 Espectroscopia de Rayos X.

La difracción de rayos X permite estudiar las estructuras repetitivas de tipo cristalino. La periodicidad de los átomos en el cristal es del mismo orden de tamaño que la longitud de onda de los rayos X, por lo que existe un fenómeno de interferencia entre las ondas secundarias difundidas por los átomos de cristal (Godet 1994).

La calidad cristalina (que representa la fase inorgánica compuesta por cristales de hidroxiapatita) de los huesos secos fue medida usando el método descrito por Rodríguez y colaboradores (1995) usando difracción de rayos X para identificar la fase cristalina y la contribución amorfa sobre el total del espectro. Los huesos se secaron a 40 °C durante 8 h, posteriormente fueron triturados utilizando un mortero de porcelana hasta obtener un polvo fino, logrado lo anterior, se almacenaron las muestras en bolsas de plástico perfectamente selladas.

La difracción de rayos X se realizó usando un difractómetro Siemens D5000 a 35 Kv y 15 mA, con una radiación de Cu K α y una longitud de onda $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$. Se colocó el polvo de hueso en el portamuestra procurando que quedara una capa uniforme y compacta al ras del mismo. Posteriormente se corrió la medición con un ángulo 2θ , por un tiempo de 70 minutos, guardando el espectro de difracción. Los datos fueron colectados de 4 a 30° sobre una escala de 2θ con un aumento de 0.05°.

6.7 Determinación de Minerales.

6.7.1 Espectrofotometría de Absorción Atómica.

Técnica espectroscópica con fines analíticos de forma destructiva que determina cuantitativamente la presencia de cierto número de minerales en una muestra. Para el análisis cuantitativo del calcio presente en las harinas de nopal, las dietas experimentales, los huesos, la orina y las heces, se siguió la metodología descrita por la AOAC, 2000 (944.24). Primeramente las muestras fueron digeridas en un digestor de microondas de alta productividad en vasos de teflón (Mars Xpress Marca CEM) siguiendo el programa de tiempo y potencia que se describe en la tabla 7. La preparación de las muestras consistió en pesar 0.2 g de muestra (OHAUS 700

Tabla 7. Programa de digestión utilizado en la preparación de las muestras de harina de nopal, dietas experimentales, huesos, orina y heces para la determinación de calcio.

Rampa	%	Tiempo (min)	Temp (°C)	Tiempo (min)
1	100	10	60	10
2	100	10	100	10
3	100	10	100	10
3	100	10	200	15

Tabla 8. Preparación de muestras de harina de nopal, dietas experimentales, huesos, orina y heces para digestión en microondas.

Tipo de muestra	Muestra (g)	HNO ₃ (mL)
Harina de nopal	2	10
Dietas experimentales	2	10
Huesos	.1	6
Orina	.5	5
Heces	.5	10

SERIES) en cada uno de los vasos y posteriormente añadir HNO_3 , grado INSTRA (JTBACKER), la cantidad de muestra y de reactivo para cada una de las variables se describe en la tabla 8. Una vez digeridas las muestras, estas se aforaron a 100 mL con excepción de las muestras de orina, las cuales se aforaron a 50 mL.

Al término de la digestión, se determinó Calcio endógeno exclusivamente en las harinas de nopal y dietas experimentales utilizando un espectrofotómetro de doble onda (Analyst 300 Perkin-Elmer, USA) equipado con una lámpara de deuterio, fondo corrector y una lámpara con cátodo cóncavo, bajo las siguientes condiciones: aire (12psi), acetileno (70psi), flama 422.7nm, lámpara en boga 10mA y 0.7 nm ancho de corte. Se eligió la longitud de onda de 422.7 nm para el Calcio, 202.6 nm para el Mg, 769.9 nm para el K, 330.2 nm para el Na, 248.3 nm para el Fe y 213.9 nm para el Zn. El porcentaje de absorción registrado por el detector es una medida de la concentración del elemento de la muestra. Para estas muestras la determinación de fósforo se describe posteriormente.

6.7.2 Espectrofotometría de UV-VIS.

En la región visible y ultravioleta se estudian también principalmente con fines analíticos, los espectros moleculares de fluorescencia y de fosforescencia.

Finalmente se determino Fósforo en harinas de nopal y dietas experimentales en un espectrofotómetro UV-VIS (Thermo Scientific Evolution 300), empleando celdas de 15 mm a una longitud de onda de 400 nm. Siguiendo la metodología descrita por la AOAC, 2000 (965.17) donde inicialmente se determinaron cenizas a las muestras siguiendo la metodología descrita anteriormente *Cenizas (930.05)*.

Una vez obtenidas las cenizas, se colocaron en vasos de precipitados, se les agregó 40 mL de ácido clorhídrico (HCl 1+3) y 10 mL de ácido nítrico HNO_3 , se taparon con vidrios de reloj y se calentaron las muestras en una parrilla hasta punto de ebullición, manteniéndose de 10 a 15 minutos. Transcurrido este tiempo se dejaron enfriar, se transfirieron a un matraz de 100 mL y se aforaron con agua destilada (filtrándose con papel Whatman No. 541-110 mm). Posteriormente se tomaron 10 mL del filtrado

obtenido añadiendo 10 mL de reactivo de Molibdovanadato (anexo 1) y se aforaron a 100 mL. Se preparó la curva de calibración (anexo 2) y por último se analizaron las muestras.

6.7.3 Espectrofotometría de plasma acoplado a masas.

En la espectroscopia de masas, se obtienen espectros de iones atómicos o de fragmentos moleculares, de acuerdo con la relación de carga o masa de cada elemento (Morzillo and Orza 1972). Dicha técnica posee como ventaja el análisis de un mayor número de elementos, así como de muestras, además de que su resolución es mayor obteniendo resultados de alta precisión y exactitud. En las muestras de hueso, orina y heces se determinaron algunos minerales importantes que intervienen en el metabolismo del calcio, por medio de un espectrómetro de emisión de plasma acoplado inductivamente en un equipo Termo Jarrel Ash, Modelo IRIS/AP (Termo Jarrel Ash Corp., Franklin, MA., E.U.A) utilizando un valor de $\lambda = 317.933$, orden = 83 para huesos, orina y heces. Y para harina de nopal y dietas experimentales la lectura se realizó en un equipo de espectroscopia de absorción atómica de doble onda (Anayst 300 Perkin Elmer, USA) cuyas características se mencionaron anteriormente.

6.8 Análisis estadístico.

Los datos se analizaron mediante un ajuste lineal comparando los resultados empleando un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 5% y las diferencias entre las medias se determinaron mediante la prueba de los rangos múltiples con el método de Duncan ($\alpha \leq 0.05$) utilizando el programa estadístico Statistica Versión 6.0 (StatSoft, 2000).

VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

7.1 Análisis Químico Proximal.

De acuerdo a estudios previamente reportados sobre la composición química del nopal, en los cuales, los resultados muestran una variación significativa, debido principalmente a los cambios climáticos y a las características del suelo, se ha observado que dicha composición varía en función de la época del año en que se produce, así mismo, los resultados reportan que la variedad del nopal también influirá en tal composición (Granados y Castañeda 1991). Sin embargo en los últimos años se ha descubierto que la edad del cladodio tiene un efecto sobre el contenido de nutrientes, el cual es bastante interesante.

Como resultado inicial, se obtuvo el análisis químico proximal (AQP) de las harinas de nopal de 200, 400 y 500 g. Los resultados del análisis de varianza se muestran en el anexo 3 y las medias resultantes en la tabla 9, donde se observa que el peso del cladodio tiene un efecto significativo sobre la humedad, el contenido de proteína y de cenizas. Como es bien sabido en las cactáceas, el contenido de lignina va aumentando en función de la edad de la penca, la cual posee gran cantidad de ácidos y alcoholes fenilpropílicos que forman la fibra insoluble, con gran capacidad de unirse a otros componentes, ocasionando una disminución de los nutrientes más valiosos de estas plantas. Lo anterior explica directamente los resultados obtenidos en el presente estudio.

Es importante resaltar que no existen reportes previos sobre la composición química del nopal determinados en función de la maduración, es decir, no existen reportes para nopales adultos, ya que la mayoría de las investigaciones se han enfocado principalmente al estudio de pencas jóvenes, debido a que la mayoría del nopal es consumido en este estado de maduración por gran parte de la población.

Recientemente Rodríguez y colaboradores (2007), reportaron valores de la composición química del nopal determinados en función de la edad de maduración, sin embargo, el peso de los nopales de mayor edad que estos investigadores analizaron, se relaciona únicamente con los obtenidos en el presente estudio para el nopal de 200 g.

Tabla 9. Análisis Químico Proximal para las harinas de nopal de 200, 400 y 500 g.

Muestra^x	Humedad %	Proteínas %	Fibra Cruda %	Grasas %	Cenizas %
Nopal 200	5.49 ± 0.13 ^a	8.82 ± 0.03 ^a	15.73 ± 0.27 ^a	1.63 ± 0.17 ^a	22.11 ± 0.06 ^a
Nopal 400	5.24 ± 0.06 ^b	6.66 ± 0.01 ^b	20.63 ± 3.85 ^a	1.53 ± 0.17 ^a	23.67 ± 0.11 ^b
Nopal 500	4.41 ± 0.06 ^c	4.65 ± 0.10 ^c	15.69 ± 0.82 ^a	1.47 ± 0.17 ^a	23.72 ± 0.10 ^b

* Se muestran medias de análisis por triplicado ± desviación estándar en base seca.

^xValores en la misma columna con letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de significancia de $P < 0.05$.

Dichos resultados presentan una diferencia importante, ya que los valores reportados por ellos para el porcentaje de humedad (7.31 %), de proteína (11.39%) y de cenizas (23.24%), no son iguales a los obtenidos. Las diferencias observadas pueden deberse a la variedad analizada o en su defecto a las condiciones climáticas en las cuales se realizó el estudio expuesto por Rodríguez y colaboradores (2007), comparado con el presente estudio, ya que lo anterior mencionado es lo que realmente afecta el valor nutritivo.

Así mismo, las diferencias observadas pueden deberse a la variedad analizada o en su defecto a las condiciones climáticas en las cuales se desarrollaron ambos cultivos de nopal, ya que lo antes mencionado es lo que realmente afecta el valor nutritivo, es decir la variedad, las condiciones del suelo, el tipo de fertilizantes usados y el nivel de precipitación pluvial durante el desarrollo de los nopales. Mientras que el contenido de grasa en los nopales analizados por estos investigadores (Rodríguez y col. 2007) varía muy poco, el dato reportado por ellos para el nopal de 200 g y el obtenido en el presente trabajo no presentan una diferencia grande, el nopal de 60 g analizado por estos autores tiene un contenido de grasa del 3%, las diferencias encontradas para el contenido de grasa desde los 60 g hasta los 200 g es apenas del 1.04 %, lo cual indicaría de manera indirecta que el contenido de grasa en el nopal no se ve posteriormente influenciado por el aumento de la edad del cladodio, es decir después de los 200 g y hasta los 500 g no se produce acumulación significativa de grasa, para el contenido de fibra cruda podría estar sucediendo lo mismo, y que el contenido de lignina en los cladodios podría incrementarse a partir de los seis meses de maduración, el tiempo que tarda el nopal en alcanzar los 500 g. Las cactáceas presentan un alto contenido de agua (90 %), en los resultados obtenidos, se observó que la humedad disminuye conforme aumenta la edad de la penca. Tal comportamiento fue semejante al contenido de proteína cruda con valores de 8.82, 6.65, 4.65 % para nopales de 200, 400 y 500 g, respectivamente. El contenido de cenizas de los cladodios del nopal es alto en función de su maduración y varía de 10 a 25%, debido principalmente al alto contenido de calcio. En los resultados obtenidos (Figura 4), se observa una gran tendencia de aumento en cuanto al contenido de

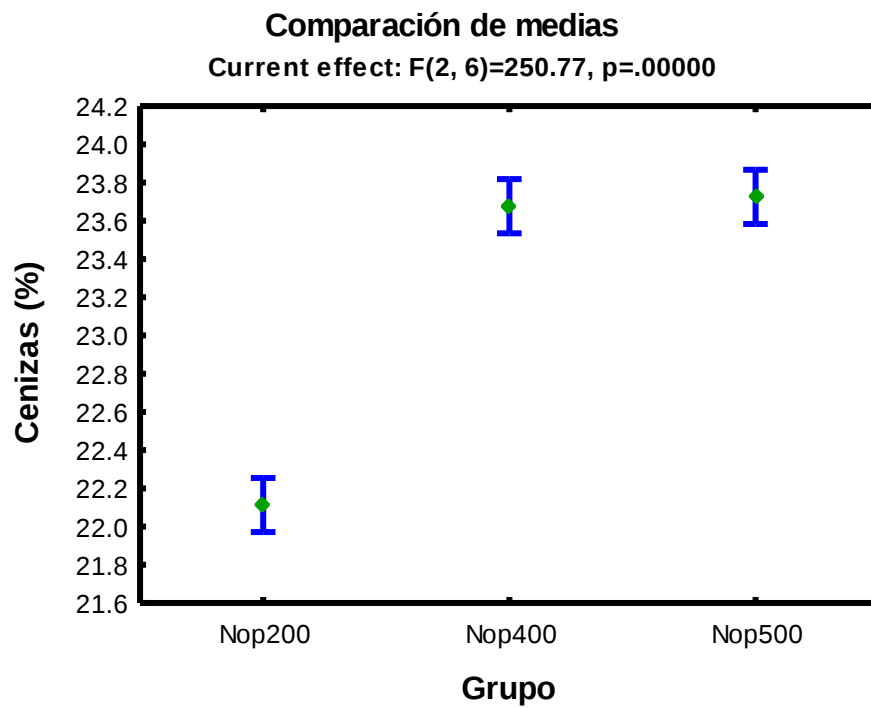


Figura 4. Contenido de cenizas presente en las harinas de nopal de 200, 400 y 500 g.

cenizas a medida que el cladodio madura (nopal 400 y 500 g), con diferencias significativas importantes (0.000002), lo anterior se relaciona directamente a que en las cactáceas la mayoría de los minerales se almacenan en los tallos viejos. Por otro lado, tal comportamiento se debe también a la variabilidad de la composición química del suelo y de los complicados fenómenos mediante los cuales estas plantas disponen de sus nutrientes (grado de acidez, grado de disociación o ionización, humedad y textura del suelo) (Pérez 2003).

Cabe resaltar que las cactáceas presentan un complicado proceso metabólico, que da origen a la formación de diversos compuestos orgánicos, por lo anterior muchos investigadores coinciden en que es necesario profundizar su estudio debido a la gran capacidad de adaptación que presentan este tipo de plantas a los diversos ecosistemas.

7.2 Determinación de minerales en la harina de nopal.

Para conocer la cantidad de minerales presentes en los nopales con diferentes etapas de desarrollo, se realizaron análisis cuantitativos de calcio, fósforo, magnesio, potasio y sodio. Se sabe que los componentes principales de las cenizas en las cactáceas son los dos primeros, pero también se encuentran, aunque en menor cantidad; el magnesio, el sodio y el fósforo, los cuales predominan principalmente en forma de carbonatos, cloruros y en pequeñas cantidades en forma de fosfatos, respectivamente (Pérez 2003).

Como se mencionó anteriormente, el contenido de minerales en las cactáceas tiende a aumentar en función de su maduración. Esto se debe principalmente a los niveles elevados de Ca, tal hecho concuerda con nuestros resultados estadísticos, los cuales se muestran en las tablas 10 (medias estadísticas) y anexo 4 (análisis de varianza) donde se observa que el grupo nopal 500 presentó altos valores de Ca con diferencias estadísticamente significativas ($p=.00184$) en comparación con los demás grupos.

Tabla 10. Composición de minerales presentes en la harina de nopal de 200, 400 y 500g (mg/g).

Muestra^x	Ca	P	Mg	K	Na
Nopal 200	25.59 ± 1.52 ^a	17.35 ± 0.12 ^a	10.13 ± 0.66 ^a	51.17 ± 3.33 ^a	0.08 ± 0.01 ^a
Nopal 400	29.40 ± 4.67 ^a	19.10 ± 0.94 ^a	11.06 ± 0.41 ^a	48.81 ± 0.37 ^a	0.06 ± 0.01 ^a
Nopal 500	36.93 ± 2.20 ^b	16.58 ± 0.24 ^a	10.32 ± 0.52 ^a	47.91 ± 1.72 ^a	0.06 ± 0.01 ^a

Se muestran medias de análisis por triplicado ± desviación estándar.

^xValores en la misma columna con letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de significancia del 0.05.

El calcio, se presenta como mineral mayoritario en las pencas maduras debido a que dentro del complicado metabolismo de las cactáceas, los materiales que se encuentran en exceso se acumulan en los tallos de mayor edad, limitándose a proporcionar a las pencas jóvenes la mayoría de los nutrientes, logrando con ello evitar tal proceso de acumulación, por tal motivo, el calcio se encuentra en pequeñas cantidades en los nopales tiernos. Por otro lado, a pesar de que no se presentan diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$) en lo que respecta al contenido de los otros minerales analizados, se puede observar que el K también se encuentra en mayor proporción, lo que corrobora lo descrito por la literatura (Nefzaoui A, Ben Salem H. 1996).

Realizando una comparación con los resultados descritos por Rodríguez y col. (2007), donde también reportaron valores de la composición de minerales del nopal, en función de la edad de la penca. Los resultados coinciden para el análisis de Ca, P, K y Na, para pencas de nopal con 200 g de peso, realizados en este estudio, donde se observan diferencias en los resultados que ellos reportan en cuanto al porcentaje de Ca (3.30%), P (0.29%), K (6.02%) y Na (0.12%), de igual forma, lo anterior tiene que ver con los factores ambientales y fisiológicos que determinan el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Los resultados (tabla 10) señalan que gracias al alto contenido de minerales que aporta el nopal, esta verdura podría cubrir los requerimientos de Ca, K y Mg del organismo. En lo que respecta al Na y P, los requerimientos que posee el nopal son menores a los recomendados, aún así, el nopal puede ser considerado como una fuente importante de minerales, sin embargo, es necesario realizar estudios complementarios de gran importancia para confirmar la biodisponibilidad de tales minerales en el organismo.

7.3 Determinación de minerales y relación Ca/P en las dietas experimentales.

Una vez obtenidas las dietas experimentales (ver sección 7.3.1), se realizó la determinación de minerales presentes en ellas y los resultados obtenidos se describen a continuación.

En las tablas 11 (medias estadísticas) y anexo 5 (análisis de varianza) se muestran los resultados estadísticos del contenido de minerales presentes en las tres dietas elaboradas (200, 400 y 500 g), así como los resultados de la dieta control, donde los efectos significativos se presentaron para el contenido de Ca, P, Mg, K y Na. En lo que respecta al contenido de Ca en las dietas, se observó una disminución estadísticamente significativa ($p=0.000044$) para el grupo nopal 200 g y el grupo control (figura 5). Evidentemente los resultados para el primer grupo se relacionan directamente con el peso de la penca, sin embargo, en lo que respecta al grupo control, se puede observar que éste presentó aún menor cantidad de Ca en su formulación, ya que, es importante recordar que dicha formulación contiene la cantidad recomendada para el crecimiento y mantenimiento de los animales de experimentación. Es decir, a pesar de que el Ca contenido en la dieta control fue menor, no se encuentra formando otros compuestos que obstaculicen su entrada y de esta forma es potencialmente absorbible por el intestino, logrando una absorción eficiente. El P, presentó diferencias estadísticas ($p>0.05$) a un nivel de significancia del 95 % en la dieta del grupo control, y se puede observar en la figura 6, una disminución progresiva entre grupos.

En lo que respecta al contenido de K, este presentó una disminución significativa (0.006561) en el grupo control, lo que corrobora que éste se encuentra como mineral mayoritario en las dietas elaboradas con nopal, así mismo el Mg presentó una disminución estadísticamente significativa (0.000119) en el mismo grupo (figuras 7 y 8). Con respecto al contenido de Na, se observó que el grupo control tenía 1.38 mg/g de este mineral, dicho contenido fue estadísticamente diferente del encontrado en las dietas elaboradas con los tres nopales evaluados ($p=0.000020$; figura 9), es importante mencionar que el aumento de Na en la dieta provoca un aumento de la excreción de Ca en la orina, de lo anterior se hablará a fondo más adelante.

Sin embargo hay que recordar que el contenido de Na en la dieta control es el óptimo para que los animales experimentales se desarrollen adecuadamente.

Por otro lado, la relación Ca/P en la dieta es importante para la absorción de ambos elementos, es decir, si existe un aumento de cualquiera de los dos, provocará una

Tabla 11. Composición de minerales y relación Ca/P presentes en las dietas experimentales nopal de 200g, 400g, 500g y Control (mg/g).

Muestra ^x	Ca	P	Mg	K	Na	Ca/P
Nopal 200	6.31 ± 0.07 ^a	3.27 ± 0.005 ^a	1.91 ± 0.11 ^a	9.63 ± 0.64 ^a	0.11 ± 0.02 ^a	1.48 ± 0.09 ^a
Nopal 400	9.14 ± 0.01 ^b	3.06 ± 0.73 ^a	1.94 ± 0.00 ^a	8.35 ± 0.05 ^a	0.11 ± 0.01 ^a	3.06 ± 0.73 ^{ab}
Nopal 500	9.828 ± 0.39 ^b	2.51 ± 0.12 ^a	1.88 ± 0.06 ^a	8.18 ± 0.20 ^a	0.11 ± 0.00 ^a	3.69 ± 0.02 ^b
Control	4.19 ± 0.09 ^c	1.48 ± 0.54 ^b	0.67 ± 0.02 ^b	4.12 ± 1.28 ^b	1.38 ± 0.08 ^b	2.15 ± 0.78 ^a

Se muestran medias de análisis por triplicado ± desviación estándar en base seca.

^x. Valores en la misma columna con letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de significancia del 0.05.

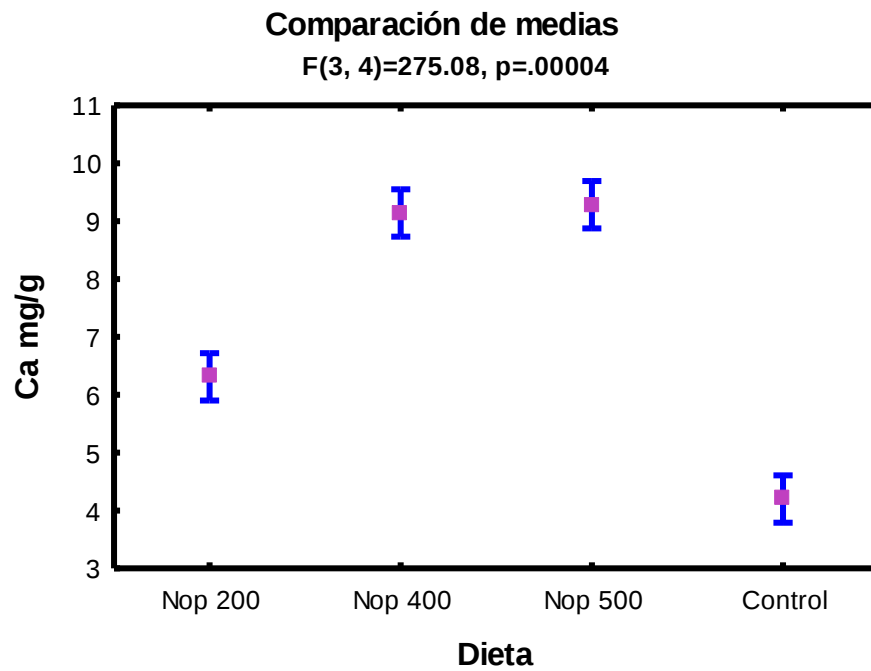


Figura 5. Contenido de Ca en las dietas experimentales.

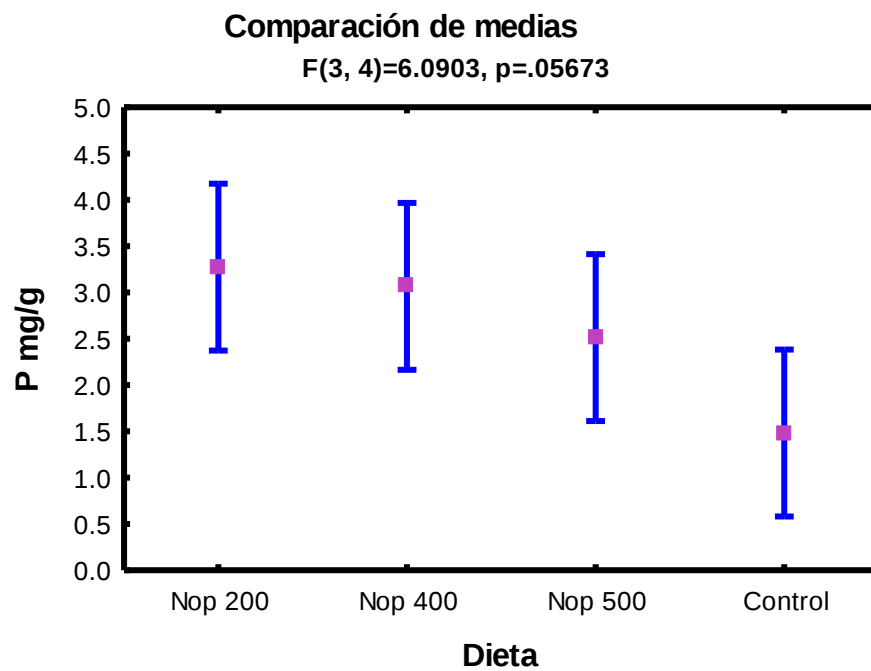


Figura 6. Contenido de P en las dietas experimentales.

absorción deficiente de ambos y una excreción aumentada de uno u otro. Whiting y col. (2002), en investigaciones recientes han demostrado que la relación Ca/P ideal en la dieta de los humanos es de 1:1.5, para mantener la densidad mineral ósea en los varones adultos. Con base en lo anterior, se destaca que ésta tiene influencia en la absorción del calcio por parte del organismo y por lo tanto, en la formación de los huesos. No obstante ser un parámetro de mucha importancia en el proceso de absorción del Ca, no es el único factor que interviene en dicho proceso, ya que también los otros minerales presentes en la dieta juegan un papel preponderante en este proceso.

En el anexo 5 se muestra el análisis de varianza de los resultados de la relación Ca/P presente en las cuatro dietas probadas, en la tabla 11 se muestran los valores promedio de dicha relación, donde se observa que aunque se presentaron diferencias entre los grupos de nopal y el grupo control, estas no fueron estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%. No obstante se puede observar como la relación Ca/P presente en los nopales (figura 10) fue en aumento de acuerdo a la edad de la penca, lo cual está de acuerdo a los datos reportados por Rodríguez y col. (2007), aunque cabe destacar que ellos evaluaron como se mencionó anteriormente nopales con pesos menores a los aquí estudiados, es decir estudiaron pencas de nopal con una edad menor.

Martínez-Flores y col. (2002), en un estudio acerca de las propiedades físicas y composición de fémures de ratas alimentadas con dietas basadas en tortillas de maíz a diferentes procesos, presentaron resultados similares para la dieta elaborada con harina de maíz crudo (sin ningún proceso) que ellos estudiaron, cuya relación Ca/P fue de 1.80, la cual es comparable con la dieta del grupo nopal 200 con una relación de 1.45. En base a lo anterior podría decirse que la relación Ca/P presente en el nopal puede ser comparable con la del maíz.

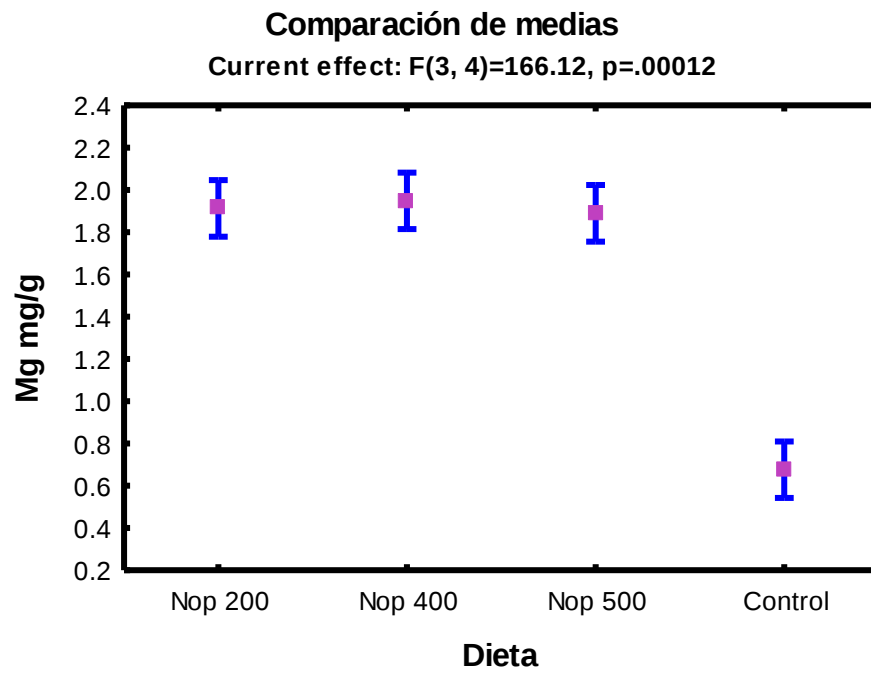


Figura 7. Contenido de Mg en las dietas experimentales.

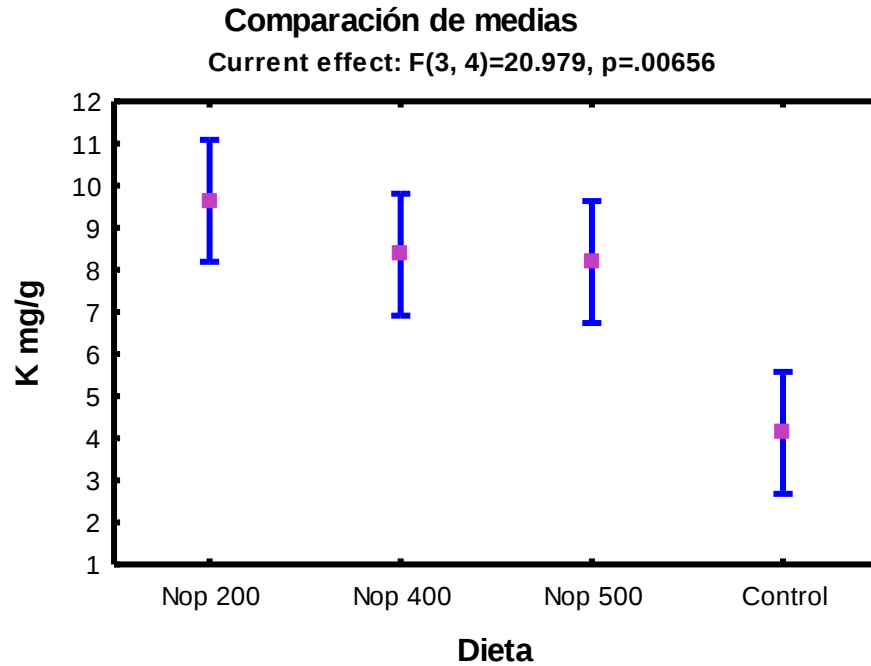


Figura 8. Contenido de K en las dietas experimentales.

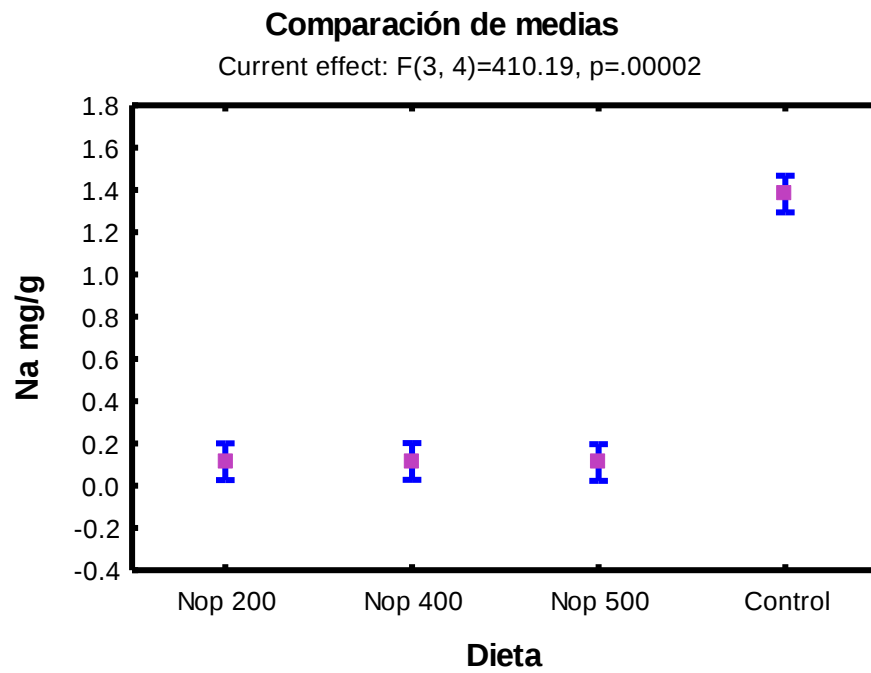


Figura 9. Contenido de Na en las dietas experimentales.

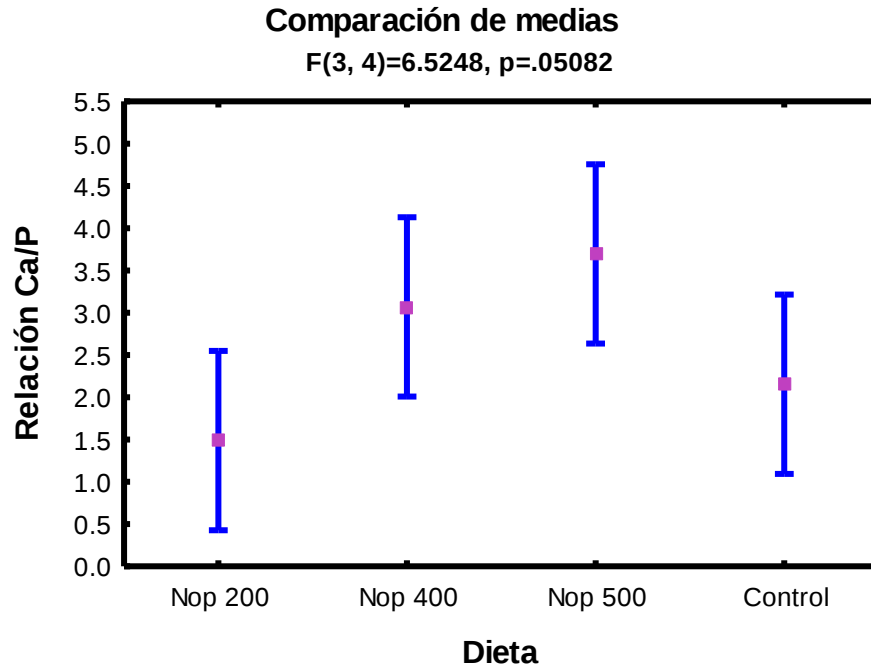


Figura 10. Relación Ca/P en las dietas experimentales.

7.4 Propiedades Mecánicas de los huesos.

7.4.1 Densidad ósea.

Dentro de las propiedades mecánicas de los huesos se encuentra la densidad mineral ósea (DMO) conocida también como masa ósea, la cual es la medida de la cantidad de calcio que contiene cierto volumen de hueso. El calcio provee de fuerza a los huesos y ayuda a evitar que se fracturen. En este apartado fue necesario conocer algunas de las dimensiones físicas de los huesos (fémures) realizando medidas de longitud, peso y diámetro para conocer la densidad de los mismos, así mismo se realizaron análisis estadísticos (anexo 6). Cabe mencionar que la densidad calculada fue de manera aparente. Los resultados del análisis de varianza se presentan en el anexo 7 donde se observan diferencias estadísticamente significativas ($p=0.00$). Así mismo, en la tabla 12 se muestran las medias para los cuatro grupos, donde se observa que el grupo blanco (el cual no fue sometido a ningún tratamiento) presentó mayor densidad en comparación con los demás grupos. Lo anterior, se relaciona directamente a que en las primeras etapas de la vida la DMO es alta, debido a que durante la lactancia el calcio presente en la leche materna pasa directamente al recién nacido, lo cual ocasiona que este tenga un aporte de calcio elevado y por consiguiente una DMO óptima. Es importante mencionar que los animales que conformaban los 5 grupos (blanco, nop 200 g, nop 400 g, nop 500 g y control) consumieron leche materna y que únicamente el grupo blanco fue sacrificado al inicio del experimento, el cual, por consiguiente no fue sometido a ningún tratamiento. Los huesos presentes en este grupo eran pequeños pero poseían una masa elevada comparada con los encontrados en los grupos restantes, los cuales fueron perdiendo masa ósea que podría deberse a la fuente exógena de calcio y al factor fisiológico de la edad. En este caso, la fuente principal de calcio fue el presente en los nopales y se observó una disminución de DMO en todos los grupos (figura 11). Lo anterior comprueba que la leche materna es una fuente óptima de calcio. Las mediciones de la densidad ósea se pueden usar para diagnosticar la osteoporosis, determinar si los tratamientos para la osteoporosis son eficaces y calcular si existe la posibilidad de que los huesos se quiebren.

Tabla 12. Densidad y fuerza requerida en los huesos.

Grupo^x	Densidad (g/cm³)	Fuerza (g)
Blanco	0.4576 ± 0.07 ^a	2950.77 ± 641.09 ^a
Nopal 200	0.2986 ± 0.04 ^b	3798.45 ± 1141.82 ^a
Nopal 400	0.2551 ± 0.02 ^c	4359.73 ± 515.85 ^b
Nopal 500	0.3171 ± 0.06 ^{bd}	5891.57 ± 763.37 ^b
Control	0.3345 ± 0.02 ^d	9940.25 ± 1737.21 ^b

^xValores en la misma columna con letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de significancia del 0.05.

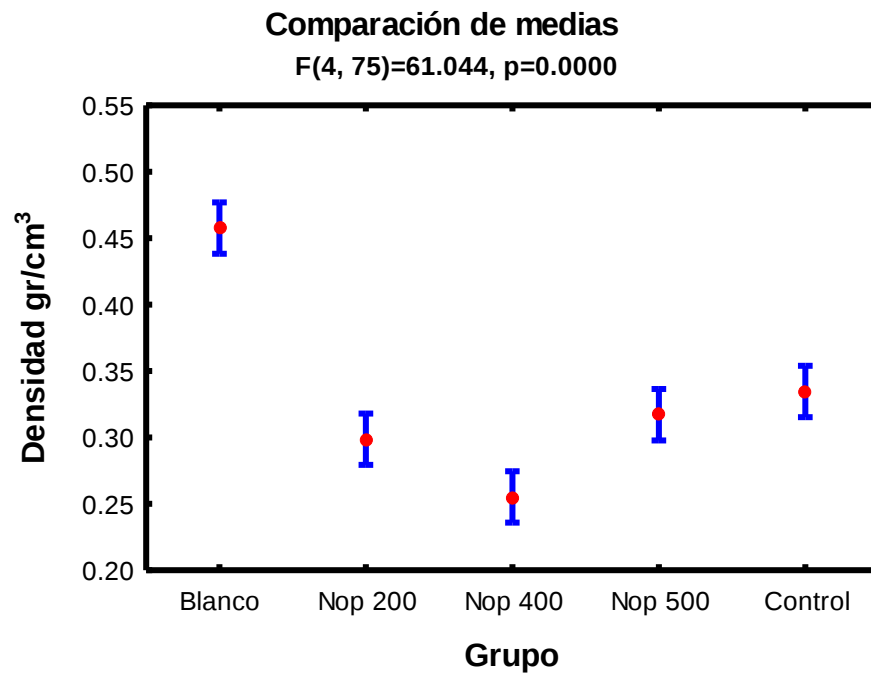


Figura 11. Densidad aparente en los fémures de las ratas.

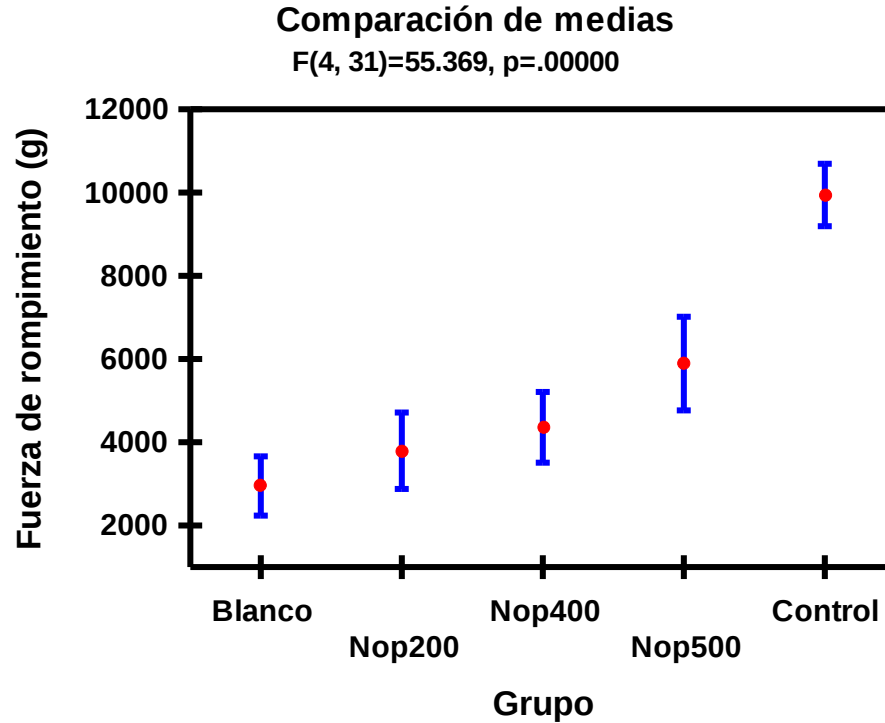


Figura 12. Fuerza de rompimiento de los fémures de las ratas.

7.4.2 Resistencia a la fractura del fémur

En otros apartados se ha mencionado que las fuerzas que pueden actuar sobre el tejido óseo son de tres tipos: tensión, compresión y torsión. Además pueden ser aplicadas de forma perpendicular a la superficie ósea (fuerza normal) o de forma oblicua (fuerza de corte).

Los huesos responden a las fuerzas aplicadas sobre su superficie siguiendo un patrón característico. La primera fase es elástica y depende de la rigidez del hueso. En esta, la deformación es temporal y se mantiene solo durante un determinado tiempo, tras lo cual, recupera su forma original. Si la fuerza aumenta, se entra en una fase plástica y el hueso aunque se recupera parcialmente, queda deformado. Por último cuando la fuerza aplicada es superior a la resistencia del tejido, ocurrirá una fractura. En este estudio se evaluó esta última fase para determinar la fuerza requerida para el rompimiento de los huesos. En la tabla 12 se muestran las medias de los resultados obtenidos para los grupos blanco, nopal 200, 400, 500 y control, requiriendo una mayor fuerza los dos últimos grupos, observándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Los grupos nopal 200 y 400 presentan resultados muy similares, sin embargo se observa que el segundo grupo mencionado obtuvo mejores resultados.

Cabe recordar que el contenido de minerales como el Ca y el P, esta directamente relacionado con la fuerza y la densidad ósea, es decir, si el tejido óseo contiene la cantidad de minerales idóneos para su formación, la densidad de éste será mayor y por consecuencia la fuerza requerida para lograr una fractura tendrá que ser superior. Por lo anterior, los resultados en este apartado coinciden con los presentados en el apartado de composición de minerales en la dieta y con los resultados del contenido de Ca y P de los cuales se hablará más adelante.

La respuesta de tejido óseo frente a las fuerzas que se aplican sobre su superficie dependerá del tipo de fuerza, del tipo de hueso, así como de la densidad, arquitectura y composición del tejido óseo. De acuerdo a los datos obtenidos en este experimento, que se muestran en la figura 12, se observa la tendencia de aumento de la fuerza requerida para el rompimiento de los fémures a medida que la edad de

los nopales aumentaba, observándose que el grupo control superó en más del 45 % a los demás tratamientos, el cual fue diferente estadísticamente ($p < 0.05$) de los otros grupos analizados. La diferencia observada en este parámetro entre el grupo control y los grupos experimentales alimentados con las dietas de nopal (200, 400 y 500 g) puede ser debido a dos factores principalmente, en primer lugar al hecho de que el calcio presente en los nopales no pudiera ser absorbido debido a la deficiencia de otros minerales tales como el Na o que el Ca presente en el nopal este en una forma no biodisponible que impide su utilización en la formación del tejido óseo, lo que ocasiona que se obtengan huesos en las ratas que son mas frágiles que los que se desarrollaron en las ratas alimentadas con la dieta control.

7.5 Minerales en hueso.

Los minerales representan aproximadamente las dos terceras partes del volumen del hueso (González 1999), siendo la hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ (anexo 8) el principal elemento del mismo, la cual se caracteriza por su tamaño pequeño y su gran asimetría física y electrostática, tales características aportan por un lado, una gran superficie por unidad de peso, y por otro, la disposición para favorecer el depósito de agua e iones en su superficie (Tres guerras y col 2005). De tal manera que además del Ca, HPO_4 , Mg, F, Na y K, en el cristal de hidroxiapatita se absorben iones hidroxilo, carbonato y citrato junto con cationes menos abundantes, como Pb, Zn y Cd. Igualmente, durante la formación de éste cristal mineral, algunos iones pueden ser sustituidos por otros de radio iónico parecido, produciéndose cambios en su morfología que apenas influyen sobre la estructura global del mineral óseo. En el presente estudio se analizaron los siguientes minerales en el hueso: Ca, P, Mg, K, Na, Fe y Mn, mostrándose en el anexo 9 el análisis de varianza de una sola vía de los resultados obtenidos, donde se observan diferencias estadísticamente significativas para todos los minerales. La cantidad de minerales presentes en los fémures de las ratas se muestran en la tabla 13.

La cantidad de hueso acumulado en el esqueleto durante el crecimiento es dependiente en cierta medida del calcio en la dieta, el cual juega un papel importante

en la salud del mismo (Cashman 2002), de modo que deficiencias de aporte de este mineral durante la formación esquelética disminuyen la masa ósea. Esto no trae a menudo consecuencias inmediatas pero puede asociarse con un aumento en el número de fracturas aún en jóvenes.

Los animales que presentaron el mayor contenido de Ca en el fémur fueron las alimentadas con la dieta control (94.22 mg/g), las cuales fueron estadísticamente diferentes a un nivel de significancia del 5% con todas las otras dietas, seguidas de las ratas alimentadas con las dietas elaboradas a base de nopal, las cuales no presentaron diferencias estadísticamente significativas. En lo que respecta a las dietas elaboradas con nopal de diferentes pesos, el contenido de Ca más elevado fue obtenido en los fémures de las ratas alimentadas con nopal 500 (53.90 mg/g). Realizando un comparativo con los resultados reportados por Martínez-Flores y col. (2002), donde solo es posible comparar los datos de Ca y P, ya que fueron los minerales que ellos estudiaron en los fémures de las ratas alimentadas con dietas de maíz obtenidas con diferentes procesos de nixtamalización, se puede observar que los datos de Ca obtenidos en nuestro estudio, son superiores considerablemente a los que estos investigadores reportan, ya que la cantidad de Ca presente en los fémures de las ratas alimentadas con dietas elaboradas con maíz, fueron menores. Así, se destaca que el menor contenido corresponde a los fémures de la dieta elaborada con harina de maíz crudo (19.8 mg/g), el cual coincide con los resultados del grupo blanco analizado en el presente estudio (19.51 mg/g), siendo este el grupo que representa a las ratas recién destetadas y sin ningún tratamiento, las cuales fueron sacrificadas al inicio del experimento.

Por otro lado, el dato más sobresaliente reportado por tales investigadores (Martínez-Flores y col. 2002) es el de la dieta elaborada con tortilla de nixtamal, con valores de 23.7 mg/g de fémur seco, el cual no es comparable con los valores obtenidos con los nopales, ya que estos son superados casi en un 50% por los fémures de las ratas alimentadas con las dietas elaboradas con nopal de 200, 400 y 500 g, obteniendo datos de 42.87, 42.26 y 53.90 mg/g de fémur, respectivamente.

Tabla 13. Minerales contenidos en los huesos (mg/hueso total).

Grupo^x	Ca	P	Mg	K	Na	Fe	Mn
Blanco	19.51 ± 2.80 ^a	8.83 ± 1.16 ^a	0.45 ± 0.08 ^a	0.42 ± 0.08 ^a	0.96 ± 0.12 ^a	0.01± 0.00 ^a	-0.001± 0.00 ^a
Nopal 200	42.87 ± 5.92 ^b	16.37 ± 2.30 ^b	1.07 ± 0.15 ^b	0.59 ± 0.09 ^a	1.47 ± 0.08 ^b	0.04 ± 0.01 ^b	-0.002 ± 0.00 ^b
Nopal 400	42.26 ± 8.31 ^b	15.78 ± 3.22 ^b	1.06 ± 0.13 ^b	0.49 ± 0.10 ^a	0.56 ± 0.11 ^a	0.03 ± 0.00 ^b	-0.002 ± 0.00 ^b
Nopal 500	53.90 ± 10.97 ^b	22.99 ± 4.60 ^c	1.13 ± 0.24 ^b	0.61 ± 0.11 ^a	2.10 ± 0.36 ^c	0.03 ± 0.00 ^b	-0.002 ± 0.00 ^b
Control	94.22 ± 8.70 ^c	39.68 ± 2.80 ^d	2.09 ± 0.33 ^c	0.79 ± 0.25 ^b	2.70 ± 0.55 ^d	0.04 ± 0.00 ^b	-0.004 ± 0.00 ^c

^xValores en la misma columna con letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de significancia del 0.05.

Lo anterior podría deberse al contenido de proteínas que intervienen en la fijación del calcio en el hueso, ya que en el presente estudio fue del 20% y en el de las dietas elaboradas a base de maíz fue de un 8%. Así mismo se puede apreciar que el Ca presente en los fémures de las ratas alimentadas con la dieta del grupo control, supero en gran medida al contenido de Ca de las ratas alimentadas con las dietas elaboradas con nopal.

El fósforo, otro nutriente importante en la composición del hueso, tiene efectos adversos sobre el Ca. En este estudio el fósforo aportado por el nopal fue menor al recomendado, lo cual pudo influir directamente en la fijación de Ca en el hueso, ya que como se sabe, en el tejido óseo debe existir permanentemente una relación Ca/P de 2:1 y si el aporte de P se encuentra por debajo del requerido entonces, el metabolismo del Ca se adaptará a los aportes de la dieta y el Ca que este en exceso será eliminado en orina y en heces para compensar tal deficiencia, de modo que se establezca en el hueso dicha relación. Por otro lado, si hay un exceso de tal mineral podrá existir indeseable calcificación ectópica y así mismo provocar pérdida de masa ósea. Esto ha sido demostrado en animales con una elevada ingesta de fosfatos (con una relación 6:1 con respecto al Ca) en los que se observa una disminución de la masa ósea. Así mismo, también existen relatos de niños con excesiva incidencia de fracturas debido a la presencia de una masa ósea disminuida, los cuales presentaron en su historia clínica, un elevado consumo de bebidas de cola, las cuales son ricas en ácido fosfórico (Heaney y col 2000).

En el estudio expuesto por Martínez-Flores y col. (2002), se presentan resultados similares del contenido de P, únicamente para las dieta del grupo blanco (8.83 mg/g) comparable con la dieta elaborada con tortillas extruidas sin cal (9.9 mg/g) y la dieta del grupo nopal 200 (16.37 mg/g) comparable con la dieta elaborada con tortilla de nixtamal (17.5 mg/g) que ellos estudiaron.

Wastney y col. (2000), en un estudio realizado recientemente, demostraron que en niñas de 14 años, la ingesta de calcio inferior a 800 mg/d en la dieta se acompañó de deficiencia de otros nutrientes en el hueso: P (95.2%), Mg (84.8%), Fe (90,5%) y Zn (100%). así mismo se encontró una correlación negativa entere la edad de la

menarca y el coeficiente pondo-estatural (Rozen y col. 2001), lo cual indica que el consumo balanceado de los minerales implicados en el metabolismo del Ca es sumamente importante ya que la resorción ósea y la absorción intestinal permanecen constantes, de tal manera que lo que no provenga de la dieta, vendrá del hueso, para compensar las deficiencias. Los resultados de los minerales: K, Fe y Mg contenidos en el fémur de las ratas, se muestran en la tabla 13, donde se observa que estos minerales se encuentran en mínimas cantidades y estos resultados no proporcionaron información relevante acerca de la fijación del Ca presente en el nopal, durante el proceso de crecimiento de los animales experimentales.

7.6 Balance de Calcio.

7.6.1 Absorción neta aparente.

La absorción neta de Ca se define como la diferencia entre el calcio ingerido y el excretado y está relacionada con la ingesta, es decir, si el consumo es menor entonces habrá una absorción negativa en razón del flujo del calcio al interior del intestino, al cual se le llama Ca fecal endógeno (Ca de los jugos digestivos, resultado del equilibrio de la secreción y reabsorción de fluidos) (Sánchez y col. 2002).

El mayor determinante en el balance de Ca es la absorción intestinal, ya que los procesos que participan en esta etapa representan el primer paso para el ingreso del Ca de la dieta en los procesos fisiológicos que contribuyen tanto al crecimiento del esqueleto como a la homeostasis cálcica (intra y extracelular) (Sánchez y col 2002).

En este estudio fue elemental realizar cálculos de balance de Ca para conocer la absorción neta aparente y comprobar la existencia de un balance cálcico negativo, para ello fue necesario tomar en cuenta la cantidad de alimento consumido, la ingesta de calcio total, así como conocer la cantidad de minerales excretados en heces y orina. La conversión alimenticia relaciona la ganancia de peso con la cantidad de alimento consumido y es un indicador de la calidad de la dieta que el animal recibe, así como de la eficiencia metabólica del mismo.

En el anexo 10 se muestra el análisis de varianza de la cantidad de alimento total consumido, donde se observaron diferencias estadísticamente significativas

(0.000299) entre los tratamientos, con mejores resultados de consumo de alimento en los animales de la dieta del grupo control, cabe mencionar que la dieta control tenía un mejor sabor comparada con las dietas elaboradas con harina de nopal, hecho también atribuible al menor consumo por parte de los animales. Por consiguiente, se observaron diferencias significativas en el Ca consumido por los animales, observándose un menor consumo de Ca en los animales pertenecientes al grupo nopal 200 y al grupo control (tabla 14), esto, se encuentra relacionado con la cantidad de Ca aportado por las pencas de nopal de dicha edad, el cual es muy semejante al aportado por el grupo control, sin embargo, se observa que la cantidad de Ca presente en ambas dietas no es el factor principal para tener una buena absorción del mismo por los animales experimentales, ya que no se obtuvo el mismo efecto en ambos experimentos debido a que los animales alimentados con la dieta control superaron en todos los aspectos a los alimentados con la dieta de nopal 200, es decir, los animales alimentados con la dieta control presentaron mayores contenidos de Ca en hueso, mayor fuerza de rompimiento, etc. Con lo anterior se establece que a pesar de que ambas dietas aportaron la misma cantidad de Ca, el aportado por el nopal mostró no ser biodisponible. Existen diversos factores que influyen en la obtención de un balance negativo de Ca. Es bien sabido que varios nutrientes pueden influir en la absorción y excreción obligatoria de Ca (Sánchez y col. 2002), lo cual es importante para el balance general del Ca. Motivo por lo que resultó primordial estudiar los balances de los minerales: Ca, Mg, P, K y Na, ya que existen correlaciones importantes entre los metabolismos de dichos minerales.

El Ca en exceso o su deficiencia pueden afectar la absorción de otros nutrientes y tener efectos negativos en otros sistemas corporales. De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis de varianza (anexo 10), se observan diferencias estadísticamente significativas (0.000023) en la excreción de Ca en heces, debido a que el nopal aportó grandes cantidades de Ca en forma de ácido oxálico, el cual se tradujo como un exceso de dicho mineral y que fue eliminado en heces. Tal hecho

concuerta con los resultados estadísticos (tabla 14), donde se observa que los animales alimentados con la dieta control, excretaron una mínima cantidad de calcio debido a que los requerimientos de Ca fueron los adecuados en este grupo. Con respecto al P, se sabe que el metabolismo de dicho mineral se encuentra ligado al del Ca y Mg. En nuestros resultados se puede observar que la cantidad de P aportado por los nopales fue menor al requerido, lo anterior fue también un factor determinante para que no se lograra una masa ósea adecuada en los animales, ya que este mineral tiene una estrecha relación con el Ca para que puedan ser incorporados ambos minerales en el hueso, a pesar de ello, de acuerdo a los resultados obtenidos del contenido de minerales presentes en el hueso al final del experimento, se puede observar que para algunos animales alimentados con ciertas dietas elaboradas con nopal fueron incorporados de manera favorable.

El Mg por el contrario, se encontraba en exceso, sin embargo esto no fue predisponente para que existiera una deficiencia en la absorción de Ca. Se sabe que el consumo de Na muestra correlaciones positivas con el consumo y balance de Ca y Mg (Nishimuta 2006). De acuerdo a los resultados obtenidos (Tabla 11 y Figura 10) donde se estudio el contenido de minerales en las dietas proporcionadas a los diferentes grupos experimentales, se observó que el Na se encontraba en cantidades menores a las establecidas como las idóneas de acuerdo a las reportadas por Reeves y col. (1993), los cuales reportaron los requerimientos óptimos para la elaboración de dietas para el crecimiento de roedores.

De acuerdo a la literatura, si existe un déficit de Na, este hecho traerá consigo inevitablemente la liberación de Ca y Mg en el hueso junto con una disminución en la absorción de ambos minerales debido a que el hueso es un almacén de Na y en casos de deficiencia a nivel sérico, ocurre dicho proceso para compensar el déficit de Na. Esta deficiencia implica también un incremento en la excreción de Ca y Mg en orina, sin embargo en los resultados obtenidos en este estudio no fue observado dicho efecto, ya que los niveles de excreción de Ca en orina de los animales alimentados con las dietas elaboradas con nopal no se incrementaron por encima de los niveles observados en el grupo control, a excepción del grupo alimentado con el

Tabla 14. Valores promedios de Ca excretado y aparentemente absorbido por las ratas.

	^{x,v} Dieta/día	^w Ca/día.	^y Excretado en Orina.	^z Excretado en heces.	^w Absorción aparente.
Nopal 200	307.30 ± 22.90 ^a	65.85 ± 4.90 ^a	0.28 ± 0.07 ^a	81.95 ± 5.20 ^a	- 16.38 ± 5.57 ^a
Nopal 400	317.10 ± 34.68 ^a	103.51 ± 11.32 ^b	0.44 ± 0.20 ^a	99.75 ± 20.56 ^b	3.31 ± 15.59 ^b
Nopal 500	297.85 ± 31.21 ^a	98.71 ± 10.34 ^b	1.56 ± 0.27 ^b	90.77 ± 8.43 ^b	6.37 ± 14.41 ^{bcd}
Control	421.12 ± 31.83 ^b	60.16 ± 4.54 ^a	0.96 ± 0.33 ^c	36.45 ± 1.83 ^c	22.7 ± 5.21 ^d

^x Valores en la misma columna con letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de significancia del 0.05, según la prueba de los rangos múltiples de Duncan (p<0.05).

^v Alimento consumido diariamente por las ratas (valores expresados en g).

^w Calcio Valores expresados en mg/día.

^y Valores expresados en mg/mL.

^z Valores expresados en mg/g.

nopal 500. La deficiencia de este mineral pudo tener un efecto negativo en la absorción del Ca presente en los nopales, de manera tal que propició la eliminación de este mineral.

La baja ingesta de Ca y la relativamente alta pérdida de Ca urinario potenciado por la baja ingesta de Na durante el crecimiento, puede reducir la retención de Ca esquelético con una concomitante reducción del pico de masa ósea (Sánchez y col. 2002). Matkovich y col. (1995) demostraron en su estudio que en adolescentes, igual que en adultos, el sodio es el mayor determinante en la excreción urinaria de Ca. En humanos, la excreción urinaria de Ca implica la ultrafiltración de 100 mL de plasma por min. La concentración de Ca en el ultrafiltrado es de aproximadamente 5 mg/dL. Diariamente se ultrafiltran 7.200 mg de los cuales se reabsorben 7.050 mg (98% de lo ultrafiltrado) produciendo una calciuria de 150 mg/día.

Hoppe y col. (2000) encontraron elevación de la parathormona en adolescentes norteamericanas con dietas ricas en fósforo y consideran la posibilidad de resorción ósea elevada en estos casos. La alta ingesta de fósforo reduce la excreción renal de Ca, pero aumenta la pérdida por materia fecal

Con relación a todos los factores anteriormente mencionados que influyen el balance de Ca, se puede concluir que los animales no presentaron un balance positivo de Ca, en la tabla 14 se muestran los resultados de las medias obtenidas, observándose una tendencia de aumento de los balances, así que, el grupo nopal 200 presento un balance general negativo con valores de -16.38. Superando en gran medida el grupo control a los grupos restantes con un balance de 22.7 (figura 13). En general, buen balance de calcio no depende sólo de la cantidad presente en los alimentos. Hay otros factores también importantes, como el equilibrio en las proporciones de macronutrientes: hidratos de carbono, proteínas, grasas; (en este aspecto las dietas aportadas no presentaron inconvenientes, ya que se adaptaron a los requerimientos precisos), así como su calidad y procedencia, el equilibrio ácido/alcalino; o el aporte suficiente de alimentos de calidad, ricos en micronutrientes Quizá la clave no sea la cantidad de calcio que se ingiere, sino la calidad y el equilibrio de la dieta global.

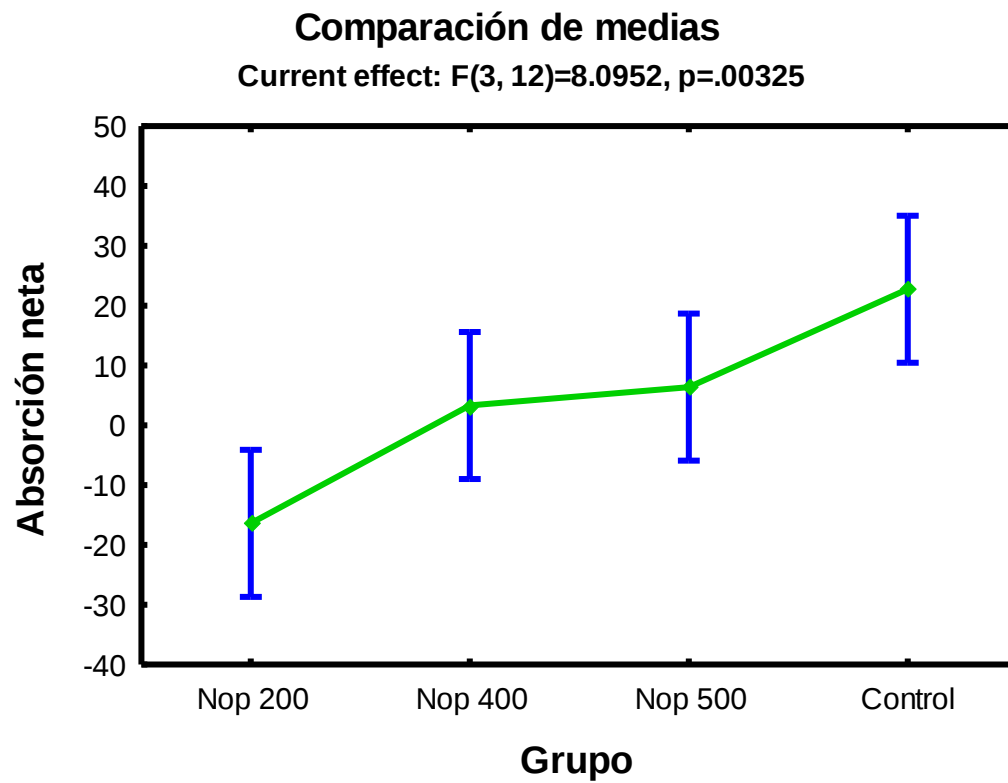


Figura 13. Balance de Calcio de las ratas pertenecientes tomando en cuenta la absorción neta aparente

VIII. CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis químico proximal se observó que la composición química del nopal varió de acuerdo a la edad de las pencas analizadas.
- El nopal *Opuntia ficus-indica* variedad redonda posee un alto contenido de minerales entre los que destacan: el Ca, P, Mg y K, los cuales aumentan su cantidad a medida que avanza la edad del mismo, es decir encontramos mayor cantidad de dichos minerales en las pencas viejas, por lo tanto las pencas de esta edad son una buena fuente de minerales.
- Es importante realizar estudios posteriores que confirmen la biodisponibilidad de Ca presente en el nopal, ya que en la complicada fisiología del Ca existen otros minerales (P, Mg, Na) que se encuentran implicados en su metabolismo y que de alguna manera intervienen para lograr la adecuada absorción de cada uno de ellos. Por lo tanto su equilibrio evitará rutas indeseables así como la absorción y excreción inadecuada de uno u otro. En nuestro estudio la deficiencia de Na y de P presente en el nopal influyó de manera importante en la absorción del Ca.

IX. BIBLIOGRAFIA.

- **Abrams SA, Stuff JE. 1994.** Calcium metabolism in girls: Current dietary intakes lead to low rates of calcium absorption and retention during puberty. *Am J Clin Nutr* 60:739.
- **Albertson AM, Tobelmann RC, Marquart L. 1997.** Estimated dietary calcium intake and food sources for adolescent females:1980–92. *J Adol Health*. 20:20-26.
- **Anderson GH, Draper HH. 1972.** Effect of dietary phosphorus on calcium metabolism in intact and parathyroidectomized adult rats. *J. Nutr.* 102:1123-1132.
- **Anderson JJ. 1996.** Calcium, phosphorous and human bone development. *Am J. Clin Nutr.* 126: 1153S-11158S.
- **Anónimo 2007.**
<http://www.educa.aragob.es/iescarin/depart/biogeo/varios/BiologiaCurtis/Indice%20de%20secciones.htm>
- **Anónimo 2008.**
<http://sit.conabio.gob.mx/pls/itistica/next>
- **AOAC 2000.** Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th Ed. Gaithersburg. MD. USA.
- **Arnott HJ. 1982.** Three systems of biomineralization in plantas with comments on the associated organic matrix. *Biological Mineralization and Desmineralization*. GH Nancollas. Berlin: Ed. Springer Verlag.199-218p.
- **Bagheri S, Guéguen L. 1995.** Effect of wheat bran and pectin on the utilization of phosphorus, calcium, magnesium and zinc in the growing pig. *Reprod Nutr Develop.* 25:705–716.
- **Barret-Connor E. 1995.** The economics and human cost of osteoporotic fracture. *Am. J. Med.* 98:3-8.
- **Braham JE, Brezan R. 1966.** Utilization of calcium from home treated maize. *Nutr: Bromatol. Toxic al.* 5:14- 19.

- **Brem JJ, Trulls HE, Ortíz De Rus ML, Picot JA, Brem JC. 2005.** Concentración de minerales en ratas ovariectomizadas tratadas con estrógeno y progesterona. Cátedra de Biofísica y Laboratorio de Análisis Físico-Químicos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Nordeste Comunicaciones Científicas y tecnológicas. Resumen V-019.
- **Breslau NA. 1993.** Calcium, magnesium, and phosphorus: Renal handling and urinary excretion. Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. Favus M.J. 3th Ed. New York: Lippincott-Raven. 49–57p.
- **Broadus AE. 1993.** Physiological functions of calcium, magnesium and phosphorus and mineral ion balance. Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. 2nd Ed. New York: Raven Press. 41–46p.
- **Bryant RJ, Cadogan J, Weaver CM. 1999.** The new dietary reference intakes for calcium: implications for osteoporosis. J Am Coll Nutr 8 (5):406S–412S.
- **Cadogan J, Eastell R, Jones N, Barker MR. 1997.** Milk intake and bone mineral acquisition in adolescent girls: randomized, controlled intervention trial. Brit Med J. 315: 1255-1260.
- **Calvo MS, Park YK. 1996.** Changing phosphorus content of the U.S. diet: Potential for effects on bone. J. Nutr. 126 (4):1168S-1180S.
- **Camacho DJA. 2003.** Hipocalciuria por inmovilización en el niño. Tesis de Licenciatura. Universitat de Barcelona Facultat de medicina, Departament d'obstetricia i ginecologia, pediatria, Radiologia i medicina física.
- **Cashman KD. 2002.** Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. Brit. J Nutr 87(Suppl 2):169-177.
- **Cavadini C, Siega-Riz AM, Popkin BM. 2000.** US adolescent food intake trends from 1965 to 1996. Arch Dis Chile 83:18–24.

- **Chiappe Barbará, MA. 2004.** Mecanismos reguladores de la biología ósea, su importancia en la patogénesis de las osteopatías fragilizantes. (Primera Parte). Rev. Med. Vet. 85:8-15.
- **Consensus Development Conference. 1993.** Diagnosis prophylaxis and treatment of osteoporosis. Am J Med. 94:646.
- **Cooper C, McLaren M, Wood PJ, Coulton L, Kanis JA. 1989.** Indices of calcium metabolism in women with hip fractures. Bone Miner. 5:193–200.
- **Coudray C, Bellanger J, Castiglia-Delavaud C, Résy C, Ver-morel M, Rayssiguier Y. 1997.** Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. Eur J Clin Nutr. 51:375–380.
- **Davies, Dickerson 1991.** Nutrient Content of Food Portions. Royal society of Chemistry, Cambridge.
- **Department of Health y Human Services. 2000.** Healthy People 2010 (Conference Edition, in Two 0Volumes). Washington DC. 19–32p.
- **Devine A, Prince RL, Bell R. 1996.** Nutritional effect of calcium supplementation by skim milk powder or calcium tablets on total nutrient intake in postmenopausal women. Am J Clin Nutr 64:731-737.
- **Eastell R, Delmas PD, Hodgson SF, Eriksen EF, Mann KG, Riggs BL. 1988.** Bone formation rate in older normal women: concurrent assessment with bone histomorphometry, calcium kinetics and biochemical markers. J Clin. Endocrinol. Metab 67:741-748.
- **Elmstahl S, Gullberg B, Janzon L, Johnell O, Elmstahl B. 1998.** Increased incidence of fractures in middle-aged and elderly men with low intakes of phosphorus and zinc. Osteoporos Int 8:333–340.
- **Ferrari S, Rizooli R, bonjour JP. 2000.** Vitamin D receptor gene polymorphism and bone mineral homeostasis. En MJ Econs (Ed). The genetics of Osteoporosis and metabolic bone disease. Totowa, NJ: Humana Press. Pp. 45-60.

- **Flores VC, De Luna EJM, Ramírez MP. 1995.** Mercado mundial del nopalito. Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria ASERCA Universidad Autónoma Chapingo (UACH) Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y de la Agricultura Mundial (CIESTAAM) México 20-24.
- **Franceschi VR, Horner HT. 1980.** Calcium oxalate crystals in plants. Bot Rev 46:361-4279.
- **Franco G. 1999.** Tabela de Composicao Química dos Alimentos. Sao Paulo atheneu. 9 Ed. pp. 131,132,145.
- **Garabédian M, David L, Dumas R, Mallet E. 1993.** Métabolisme phosphocalcique normal et pathologique chez L'enfant. Flammarion Médecine – Sciences. Paris P 14-21.
- **Gerrior S, Bente L. 2001.** Nutrient Content of the US Food Supply 1909–1997. Home Economics Research Report No.53. Washington DC: US Department of Agriculture. Center for Nutrition Policy and Promotion in press.
- **Godet M. C. 1994.** Mecanismos de formation des complexes amylase-acide gras. Tesis Doctoral. Universidad de Nantes . Francia.
- **Gómez CA, Rodríguez GM, Cannata JB. 2004.** Metabolismo del Calcio, Fósforo y magnesio. Manual Práctico de Osteoporosis y enfermedades del Metabolismo Mineral. Sección I:Estructura y Regulación del hueso 7-12p.
- **Gómez-Aldapa CA, Martínez-Bustos F, Figueroa CJD, Ondorica FCA. 1999.** A comparison of the quality of whole corn tortillas made from instant corn flours by tradicional or extrusion processing. Inter. J. Food Sci. Tech 34;391-399.
- **González VG. 1999.** Fisiopatología de la osteoporosis. Boletín de la escuela de medicina. Departamento de Endocrinología Pontificia Universidad Católica de Chile 28 (1-2).
- **Granados SD, Castañeda PDA 1991.** El nopal, historia, fisiología, genética e importancia frutícola. Universidad Autónoma de Chapingo: Editorial Trillas.

- **Greger JL, Gutkowski CM, Khazen RR. 1989.** Interaction of lactose with calcium, magnesium and zinc in rats. *Am J Clin Nutr* 119:1691–1697.
- **Guéguen L, Besancon P: 1972.** Influence des sulfates sur le métabolisme phosphocalcique. I. Utilisation du sulfate de calcium par le mouton. *Ann Biol anim Bioch Biophys* 12:589–59.
- **Guéguen L. 1992.** Interactions lipides-calcium et biodisponibilité du calcium fromage. *Can Nutr Diét* 27:311-315.
- **Guéguen L, Pointillart A. 2000.** The bioavailability of dietary calcium. *Journal of the American College of Nutr* 19(2):119S-136S.
- **Hannan MT, Tucker KL, Dawson-Hughes B, Cupples LA, Felson DT, Kiel DP. 2000.** Effect of dietary protein on bone loss in elderly men and women. The Framingham Study. *Journal Bone Minerals Research* 15:2504-2512.
- **Heaney RB. 1996 a.** Food: What a surprise!. *Am J Clin Nutr* 64:791-792.
- **Heaney RP, Robert MD. 2000.** FACP: Calcium, dairy products and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 19:855-995.
- **Heaney RP, Abrams S, Dawson HB. 2000.** Peak bone mass. *Osteoporosis Int.* 11:985-1009.
- **Hoope C, Molgaard C, Fleisher MK. 2000.** Bone size and bone mass in 10 years old Danish children: Effect of current diet. *Osteoporosis Int.* 11: 1024-1030.
- **Institute of Medicine. 1997.** Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Washington, DC: National Academy Press.
- **Jasminka ZL, Kerstetter E. 2000.** Nutrition in Bone Health Revisited: A Story Beyond Calcium Review. *Journal of the American College of Nutrition* 19(6): 715-737.
- **Kennedy E, Powell R. 1997.** Changing eating patterns of American children: a review from 1996. *J Am Coll Nutr* 16:524-529.

- **Kerstetter JE, Svastisalee CM, Caseria DM, Mitnick ME, Insogna KL. 2000.** A threshold for low-protein-diet-induced elevations in parathyroid hormone. *Am J Clin Nutr* 72:168-173.
- **Kiesling R. 2005** Origen, domesticación y distribución de *Opuntia ficus – indica*. Instituto de Botánica Darwinion. 1-9p.
- **Lemann JJr. 1993.** Urinary excretion of calcium, magnesium and phosphorus. *Primer on the metabolic bone dis-eases and disorders of mineral metabolism.* Favus M.J. 2nd Ed. New York:Raven Press. 50–54p.
- **Lemann JJr, Gray RW, Maierhofer WJ, Cheung HS. 1986.** The importance of renal net acid excretion as a determinant of fasting urinary calcium excretion. *Kidney Int.* 29:743-746.
- **Looker AC, Briefel RR, McDowell MA. 1994.** Optimal Calcium Intake. NIH (Institute National of Health) Consensus Development conference, Bethesda, MD. *JAMA.* 272:1942–1948.
- **Martínez-Flores HE, Figueroa JDC, Martínez Bustos F, González Hernández HJ, Rodríguez GME, Baños López AML, Garnica Romo MG. 2002.** Physical properties and composition of femurs of rats fed with diets based on corn totillas made from different processes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.* 53, 155-162.
- **Matkovich V, Ilich JZ, Andon M. 2000.** Urinary calcium, sodium and bone mass of young females. *Am J Clin Nutr.* 62: 417-125.
- **Massey LK. 1998.** Does excess dietary protein adversely affect bone? Symposium overview. *Am J Clin Nutr.* 128:1048-1050.
- **McConn, Nakata PA. 2004.** Oxalate reduces calcium availability in the pads of the prickly pear cactus through formation of calcium oxalate reduces. *J. Agricultural and food Chemistry.* 52:1371-1374.
- **Miller GD, Anderson JJB. 1999.** The role of calcium in prevention of chronic diseases. *J Am Coll Nutr* 18(Suppl):371S-372S.

- **Miller GD, FACN, Jarvis JK, MS, RD, LD, McBean LD, MS, RD. 2001.** Review: The importance of meeting calcium needs with foods. *Journal of the American College of Nutrition* 20(2):1085-1855.
- **Miller GD, Jarvis JK, McBean LD. 1999.** *Handbook of Dairy Foods and Nutrition.* 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press.
- **Morzillo RJ, Orza SJM. 1972.** Espectroscopía, estructura y espectros atómicos. Madrid Barcelona: Editorial Alambra. 13-13p.
- **Muñoz de Chavez M, Chavez A, Valles V, Roldin JA. 1995.** The nopal: A plant of manifold qualities. *Plants in Human Nutrition (World ReView of Nutrition and Dietetics)*. Simopoulos A.P. Basel Switzerland: Ed Karger Publishing. 109-134p.
- **Murray TM. 1996.** Prevention and management of osteoporosis: Consensus statements from the Scientific Advisory Board of the Osteoporosis Society of Canada. *Can Med Assoc J.* 155(Suppl): 935S–939S.
- **Nefzaoui A, Ben Salem H. 1996.** Nutritive value of diets based on spineless cactus (*Opuntia ficus indica* var. *inermis*) and atriplex (*Atriplex nummularia*). In: *Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-Arid Zones. Regional Training Workshop.* Tunisia.
- **Nishimuta M, Kodama N, Morikuni E, Yoshioka HY, Matzusaki N, Takeyama H, Yadam H, Kitajima H. 2006.** Equilibrium intakes of calcium and magnesium within an adequate and limited range of sodium intake in human. *J Nutr Sci Vitaminol.* 52: 402-406.
- **Nnakwe N, Kies C. 1985.** Mouse Bone Composition and Breaking strength. *Nutritional Bioavailability of Calcium.* Kies C. American Chemical Society. 89-104p.
- **Pansu D, Bronner F. 1999.** Nutritional aspects of calcium absorption. *J Nutr.* 129:9-12.
- **Pérez LAB, Marván LL. 2001.** Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes. Departamento de Salud de la Universidad Iberoamericana. 30p.

- **Pérez GS, Mondragón CG. 2003.** El nopal *Opuntia spp*: como forraje. Depósitos de documentos de la FAO. Departamento de agricultura. Estudio FAO producción y protección vegetal. 2-35p.
- **Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Eberl S. 1987.** Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *J Clin Invest.* 80:706-710.
- **Pointillart A, Guéguen L. 1993.** Meal-feeding and phosphorus ingestion influence calcium bioavailability evaluated by calcium balance and bone breaking strength in pigs. *Bone and Mineral.* 21:75–81.
- **Poneros AG, Erdman JW. 1988.** Bioavailability of Calcium from tofu, tortillas, nonfat dry milk and mozzarella cheese in rats: Effect of supplemental ascorbic acid. *J. Food Sci.* 53(1):208-210.
- **Pun KK, Wong FHW, Wang C, Lau P, Ho PWM, Pun WK, Chow SP, Cheng CL, Leong JC, Young RTT. 1990.** Vitamin D status among patients with fractured neck of femur in Hong Kong. *Bone.* 11:365–368.
- **Reeves PC, Nielsen VH, Fahey GCJr. 1993.** AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *Journal of Nutr*123:1939-1951.
- **Rodríguez-García ME, De Lira C, Hernández E, Cornejo-Villegas MA, Palacios-Fonseca JA, Rojas-Molina I, Reynoso R, Quintero LC, Del-Real A, Zepeda TA, C. Muñoz C. 2007.** Physicochemical Characterization of Nopal Pads (*Opuntia ficus indica*) and Dry Vacuum Nopal Powders as a Function of the Maturation. *Plants Food for Hum Nutrition.*
- **Rodríguez ME, Yañez JM, Alvarado JJ, Sanchez F, Figueroa CJD, Martínez-Bustos F, Martínez JL, González J, Miranda LCM, Vargas H. 1995.** The influence of slaked lime content on the processing conditions of corn maize tortilla: cahnges of termal, structural and rheological properties. *Lebensm. Unters Forsh.* 201:233-240.

- **Rojas-Molina I, Quintero LC, Hernández E, Reynoso R, Leal M, Gomez-Aldapa CA, Baños L, Rodriguez ME. 2006.** Study of calcium bioavailability in diets based on nopal. Am Clin J Nutr. Artículo en revision*.
- **Rozen GS, Rennert G, Rennert HS. 2001.** Calcium intake and bone mass development among Israeli adolescent girls. J Am Coll Nutr. 20: 219-224.
- **Sanchez A, Puche R, Zeni S, Oliveri B, Galich AN, Maffei L, Plantalech L, Poudes G, Carlos B. 2002.** Papel del Calcio y la vitamina D en la salud ósea. Revista Española de enfermedades metabólicas óseas. 11 (6):201-217.
- **Serna-Saldivar SO, Rooney L, Greene LW. 1992.** Effect of lime Treatment on bioavailability of Calcium in Diets of Tortillas and Beans: Bone and plasma composition in rats. Cereal Chem. 69:78-81.
- **Serrano S. 1998.** II Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica. Estructura y función del hueso Normal. <http://www.conganat.org/IIcongreso/conf/018/biomec.htm>.
- **Shah BG, Krishnarao GV y Draper HH. 1967.** The relationship of Ca and P nutrition during adult life and osteoporosis in aged mice. J. Nutr. 92:30-42.
- **Spencer H., Kramer DL. 1988.** Do protein and phosphorus cause calcium loss?. J. Nutr. 118:657-660.
- **StatSoft Inc. 1997.** Statistica for Windows. Computer program manual. Tulsa, Ok.: Statsoft, WEB: <http://www.statsoft.com>.
- **Teegarden D, Proulx WR, Martin BR, Zhao J, McCabe GP, Lyle RM, Peacock M, Slemenda C, Johnston CC, Weaver CM. 1995.** Peak bone mass in young women. J Bone Miner Res 10:711-715.
- **Tres Guerras JAF, Ariznavarreta C, Cachafeiro V, Cardinali D, Escrich E, Gil Loyzaga P, Laera J.V, Mora Tervel F, Romano Pardo M. Tamago Menensez J. 2005.** 3ra Edición. España: Mc Graw Hill.964-969p.
- **Velásquez E. 1998.** El Nopal y su historia.1ra Ed. México: Editorial Clío. 9-27p.

- **Vigueras G, Portillo L. 1995.** Uses of *opuntia* species and the potential impact of *cactoblastis cactorum* (lepidoptera: pyralidae) en México. Departamento de botánica y zoología. Universidad de Guadalajara. 493- 498.
- **Wastney ME, Marin BR, Peacock M. 2000.** Changes in calcium kinetics in adolescent girls induced by high calcium intake. J Clin Endocrinology Metabolic. 85: 4470-4475.
- **Weaver CM, Plawecki KL. 1994.** Dietary calcium adequacy of a vegetarian diet. Am J Clin Nutr 59:1238S-1241S.
- **Whiting SJ, Boyle JLA, Thompson RL, Mirwald, Faulkner RA. 2002.** Dietary Protein, Phosphorus and Potassium Are Beneficial to Bone Mineral Density in Adult Men Consuming Adequate Dietary Calcium. J Am Coll Nutr. 21(5):402-409.
- **Whiting SJ, Anderson DJ, Weeks SJ. 1997.** Calciuric effects of protein and potassium bicarbonate but not of sodium chloride or phos-phate can be detected acutely in adult women and men. Am. J. Clin. Nutr. 65:1465-1472.
- **Wyatt CJ, Hernández LM, Méndez RO, Valencia ME. 2000.** Effect of different calcium and phosphorus content in Mexican diets on rat femur bone growth and composition. Nutrition Research. 20(3): 427-437.

X. ANEXOS.

ANEXO 1

Preparación de los reactivos:

Molibdovanadato: disolver 20 gr de molibdato de amonio en 200 ml de agua caliente (destilada) y enfriar; disolver 1gr de de metavanadato de amonio en 125 ml de agua caliente y enfriar, posteriormente añadir a este 125 ml de ácido perclórico.

Soluciones estándar: (1) *solución de stock*: 2mg F/ml. Disolver 8.788g de fosfato diácido de potasio KH_2PO_4 en agua y diluir a un litro (2) *Solución de trabajo*: 0.1 mg F/ml y diluir 50ml de solución de stock a 1L.

ANEXO 2

Tabla 15. Preparación de la curva estándar de calibración para la determinación de fósforo.

0 % Blanco	10 mL de agua	10 Ml de Molibdovanadato	Aforar a 100 mL
0.1% (1 mL de sol. de trabajo de P)	10 mL de agua	10 Ml de Molibdovanadato	Aforar a 100 mL
0.2 % (2 mL de sol. de trabajo de P)	10 mL de agua	10 Ml de Molibdovanadato	Aforar a 100 mL
0.3 % (3 mL de sol. de trabajo de P)	10 mL de agua	10 Ml de Molibdovanadato	Aforar a 100 mL
0.4 % (4 mL de sol. de trabajo de P)	10 mL de agua	10 Ml de Molibdovanadato	Aforar a 100 mL
0.5 % (5 mL de sol. de trabajo de P)	10 mL de agua	10 Ml de Molibdovanadato	Aforar a 100 mL
0.6 % (6 mL de sol. de trabajo de P)	10 mL de agua	10 Ml de Molibdovanadato	Aforar a 100 mL
0.7 % (7mL de sol. de trabajo de P)	10 mL de agua	10 Ml de Molibdovanadato	Aforar a 100 mL
0.8 % (8 mL de sol. de trabajo de P)	10 mL de agua	10 Ml de Molibdovanadato	Aforar a 100 mL
0.9 % (9 mL de sol. de trabajo de P)	10 mL de agua	10 Ml de Molibdovanadato	Aforar a 100 mL
1.0 % (10 mL de sol. de trabajo de P)	10 mL de agua	10 Ml de Molibdovanadato	Aforar a 100 mL

ANEXO 3

Tabla 16. Resultados del análisis de varianza realizado al Análisis Químico Proximal para las tres etapas de maduración de las harinas de nopal (200, 400 y 500 g).

Muestra	Efecto	Suma de cuadrados	GL	Media de Cuadrados	F	P
Humedad	Intercepto	226.6569	1	226.6569	24861.90	0.000000
	Peso del Nopal	2.3422	2	1.1711	128.46	0.000012
	Error	0.0547	6	0.0091		
Grasas	Intercepto	21.54662	1	21.54662	335.9079	0.000002
	Peso del Nopal	0.03981	2	0.01990	0.3103	0.744314
	Error	0.38487	6	0.06414		
Cenizas	Intercepto	4832.321	1	4832.321	479966.5	0.000000
	Peso del Nopal	5.050	2	2.525	250.8	0.000002
	Error	0.060	6	0.010		
FC	Intercepto	2710.577	1	2710.577	496.8306	0.000001
	Peso del Nopal	48.383	2	24.192	4.4341	0.065716
	Error	32.734	6	5.456		
Proteína	Intercepto	270.5071	1	270.5071	30181.19	0.000000
	Peso del Nopal	17.3430	2	8.6715	967.50	0.000061
	Error	0.0269	3	0.0090		

ANEXO 4

Tabla 17. Resultado de análisis de varianza de la composición de minerales Ca, P, Mg, K y Na para las harinas de nopal de 200, 400 y 500g.

	Efecto	Suma de Cuadrados	GL	Media de Cuadrados	F	p
Ca	Intercepto	11267.80	1	11267.80	1162.768	0.000000
	Peso del nopal	266.14	2	133.07	13.732	0.001844
	Error	87.21	9	9.69		
P	Intercepto	1736.925	1	1736.925	5370.555	0.000006
	Peso del nopal	0.623	2	0.312	0.963	0.475149
	Error	0.970	3	0.323		
Mg	Intercepto	1333.686	1	1333.686	4507.399	0.000000
	Peso del nopal	2.369	2	1.184	4.002	0.057083
	Error	2.663	9	0.296		
K	Intercepto	29167.14	1	29167.14	6136.452	0.000000
	Peso del nopal	22.78	2	11.39	2.396	0.146461
	Error	42.78	9	4.75		
Na	Intercepto	0.065168	1	0.065168	261.7326	0.000000
	Peso del nopal	0.000773	2	0.000386	1.5517	0.263635
	Error	0.002241	9	0.000249		

ANEXO 5

Tabla 18. Resultado del análisis de varianza de la composición de minerales Ca, P, Mg, K y Na para las dietas experimentales de nopal de 200, 400, 500 g y control.

	Efecto	Suma de Cuadrados	GL	Media de Cuadrados	F	p
Ca	Intercepto	418.6410	1	418.6410	9648.659	0.000000
	Dieta	35.8055	3	11.9352	275.077	0.000044
	Error	0.1736	4	0.0434		
P	Intercepto	53.42164	1	53.42164	253.4603	0.000091
	Dieta	3.85097	3	1.28366	6.0903	0.056731
	Error	0.84308	4	0.21077		
Mg	Intercepto	20.64470	1	20.64470	4446.530	0.000000
	Dieta	2.31385	3	0.77128	166.122	0.000119
	Error	0.01857	4	0.00464		
K	Intercepto	459.3852	1	459.3852	843.8969	0.000008
	Dieta	34.2607	3	11.4202	20.9791	0.006561
	Error	2.1774	4	0.5444		
Na	Intercepto	1.478357	1	1.478357	755.2748	0.000010
	Dieta	2.408675	3	0.802892	410.1875	0.000020
	Error	0.007830	4	0.001957		
Ca/P	Intercepto	54.13888	1	54.13888	185.4380	0.000168
	Dieta	5.71477	3	1.90492	6.5248	0.050823
	Error	1.16781	4	0.29195		

ANEXO 6

Tabla 19. Resultado del análisis de varianza realizado a las dimensiones físicas de los fémures.

	Efecto	Suma de cuadrados	GL	Media de Cuadrados	F	p
Peso	Intercepto	5.275545	1	5.275545	5099.450	0.00
	Grupo	0.748806	4	0.187202	180.953	0.00
	Error	0.077590	75	0.001035		
Longitud	Intercepto	616.6051	1	616.6051	44017.02	0.00
	Grupo	12.7693	4	3.1923	227.89	0.00
	Error	1.0506	75	0.0140		
Diámetro	Intercepto	28.08450	1	28.08450	27178.55	0.00
	Grupo	0.85800	4	0.21450	207.58	0.00
	Error	0.07750	75	0.00103		

Tabla 20. Dimensiones físicas de los fémures.

Grupo ^x	Peso (g)	Longitud (cm)	Diámetro (cm)
Blanco	0.11± 0.01 ^a	2.04 ± 0.07 ^a	0.40 ± 0.00 ^a
Nopal 200	0.23±0.02 ^b	2.81 ± 0.13 ^b	0.60 ± 0.00 ^b
Nopal 400	0.25±0.03 ^b	2.87 ± 0.16 ^b	0.66 ± 0.05 ^c
Nopal 500	0.25±0.04 ^b	2.87 ± 0.12 ^b	0.60 ± 0.00 ^b
Control	0.42±0.03 ^c	3.27 ± 0.06 ^c	0.70 ± 0.00 ^d

^x. Valores en la misma columna con letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de significancia del 0.05.

Tabla 21. Resultados del análisis de varianza de área y distancia.

	Efecto	Suma de Cuadrados	GL	Media de Cuadrados	F	p
Area	Intercepto	17610529	1	17610529	183.8629	0.000000
	Grupo	7823155	4	1955789	20.4194	0.000000
	Error	2969204	31	95781		
Distancia	Intercepto	12.98814	1	12.98814	299.2809	0.000000
	Grupo	0.96734	4	0.24184	5.5725	0.001687
	Error	1.34533	31	0.04340		

Tabla 22. Área y distancia requeridas para la fuerza de quebrantamiento de los fémures.

Grupo ^x	Area (g)	Distancia (cm)
Blanco	357.81 ± 92.27 ^a	0.59 ± 0.10 ^a
Nopal 200	405.02 ± 180.40 ^b	0.48 ± 0.0 ^a
Nopal 400	634.74 ± 221.39 ^b	0.53 ± 0.19 ^a
Nopal 500	756.06 ± 193.51 ^c	0.63 ± 0.20 ^a
Control	1530.28 ± 538.9 ^d	0.92 ± 0.32 ^b

^x Valores en la misma columna con letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de significancia del 0.05.

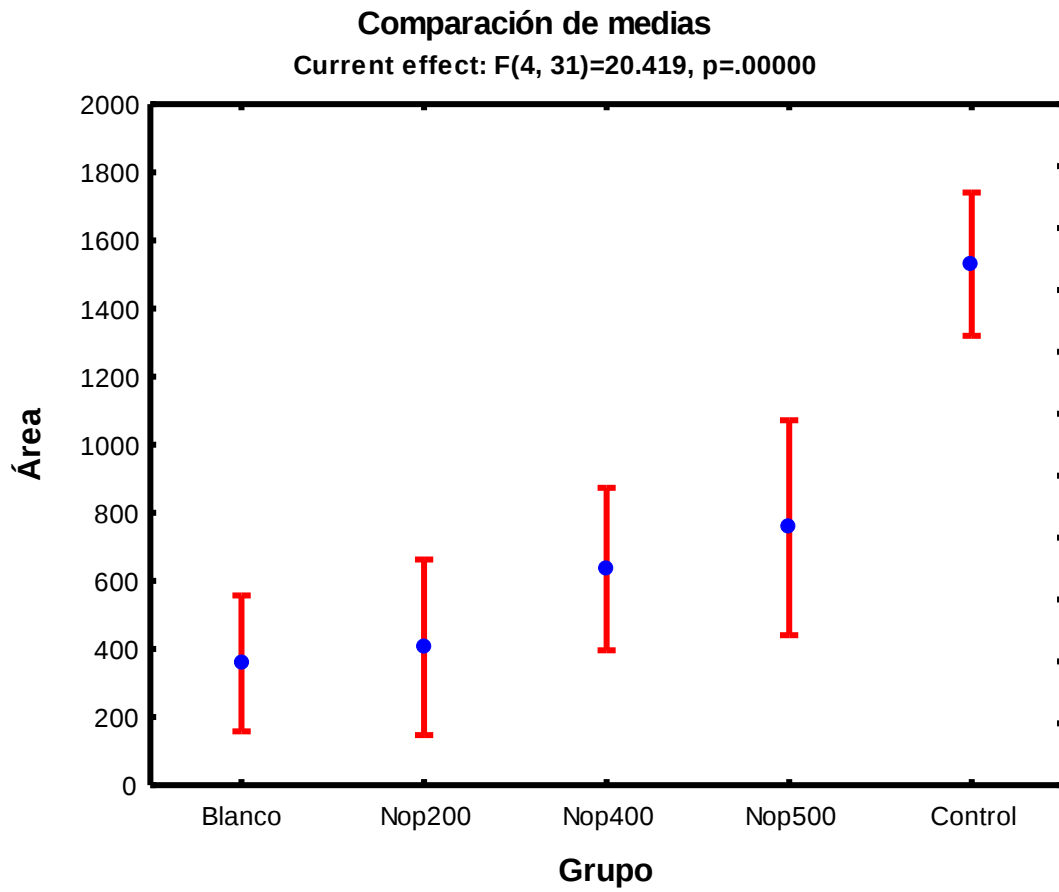


Figura 14. Área recorrida para romper los fémures.

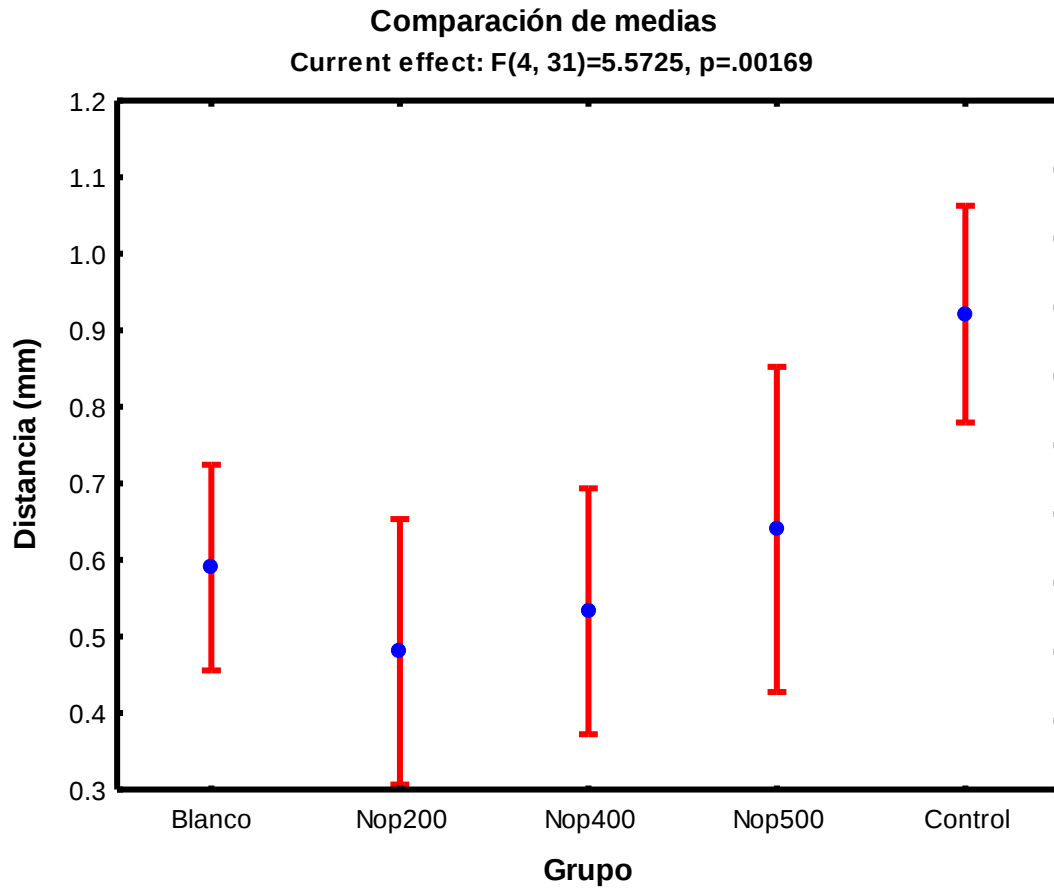


Figura 15. Distancia recorrida para romper los fémures.

ANEXO 7

Tabla 23. Resultados del análisis de varianza realizado a los valores para la densidad y la fuerza de resistencia a la fractura del fémur.

	Efecto	Suma de cuadrados	GL	Media de Cuadrados	F	P
Densidad	Intercepto	8.851847	1	8.851847	5866.504	0.00
	Grupo	0.368434	4	0.092108	61.044	0.00
	Error	0.113166	75	0.001509		
Fuerza	Intercepto	941828956	1	941828956	774.3265	0.00
	Grupo	269385070	4	67346268	55.3689	0.00
	Error	37705925	31	1216320		

ANEXO 8

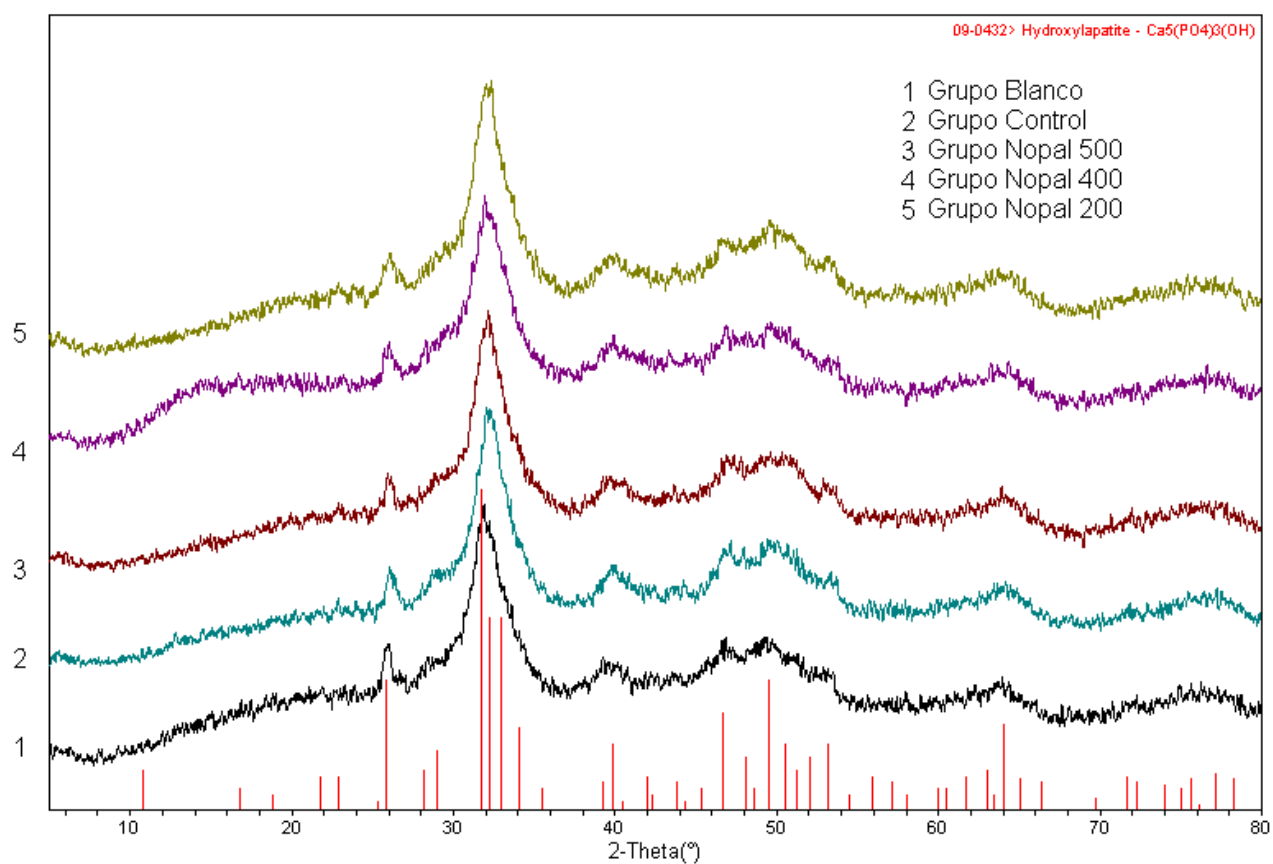


Figura 16. Espectros de rayos X realizados a los huesos de los grupos experimentales

ANEXO 9

Tabla 24. Resultados del análisis de varianza realizado al contenido de minerales en los fémures de las ratas.

	Efecto	Suma de Cuadrados	GL	Media de Cuadrados	F	p
Ca	Intercepto	51117.29	1	51117.29	829.4060	0.000000
	Dieta	12037.51	4	3009.38	48.8288	0.000000
	Error	924.47	15	61.63		
P	Intercepto	6.851502	1	6.851502	336.1115	0.000000
	Dieta	0.317279	4	0.079320	3.8912	0.023148
	Error	0.305769	15	0.020385		
Mg	Intercepto	27.09836	1	27.09836	620.2815	0.000000
	Dieta	5.54182	4	1.38546	31.7131	0.000000
	Error	0.65531	15	0.04369		
K	Intercepto	8597.921	1	8597.921	931.3037	0.000000
	Dieta	2198.197	4	549.549	59.5257	0.000000
	Error	138.482	15	9.232		
Na	Intercepto	0.000161	1	0.000161	1327.223	0.000000
	Dieta	0.000026	4	0.000006	52.548	0.000000
	Error	0.000002	15	0.000000		
Fe	Intercepto	0.023691	1	0.023691	472.4111	0.000000
	Dieta	0.002321	4	0.000580	11.5725	0.000173
	Error	0.000752	15	0.000050		
Mn	Intercepto	0.000161	1	0.000161	1327.223	0.000000
	Dieta	0.000026	4	0.000006	52.548	0.000000
	Error	0.000002	15	0.000000		

ANEXO 10

Tabla 25. Resultado del análisis de varianza de los valores promedios del consumo de alimento, consumo de Ca, excreción de Ca y absorción aparente de las ratas.

	Efecto	Suma de Cuadrados	GL	Media de Cuadrados	F	p
Dieta/total	Intercepto	1804643	1	1804643	1942.963	0.000000
	Dieta total	39527	3	13176	14.185	0.000299
	Error	11146	12	929		
Ca g/día	Intercepto	107739.2	1	107739.2	1539.218	0.000000
	Ca g/día	5919.7	3	1973.2	28.191	0.000010
	Error	840.0	12	70.0		
Excreción en orina	Intercepto	10.58422	1	10.58422	175.8876	0.000000
	Excreción en orina	4.01885	3	1.33962	22.2616	0.000034
	Error	0.72211	12	0.06018		
Excreción en heces	Intercepto	95443.75	1	95443.75	727.6828	0.000000
	Excreción en heces	9503.49	3	3167.83	24.1522	0.000023
	Error	1573.93	12	131.16		
Absorción aparente	Intercepto	257.392	1	257.392	2.021472	0.180555
	Absorción neta	3092.246	3	1030.749	8.095162	0.003246
	Error	1527.948	12	127.329		