

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

Escuela de Ingeniería

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental

DOCTORADO EN CIENCIA DE ALIMENTOS



Evaluación de las propiedades bioactivas y la fibra dietética de cladodios de nopal en polvo (*Opuntia ficus indica* variedad Atlixco), su utilización en alimentos funcionales y su efecto en la dieta de una población infantil con sobrepeso u obesidad

Tesis que, en cumplimiento parcial de los requisitos para obtener el grado de Doctora en Ciencia de Alimentos, es presentada por

Mtra. Rocío Aparicio Ortuño

Comité tutorial

Dra. Ana Eugenia Ortega Regules

Dra. María Teresa Jiménez Munguía

Dra. Taisa Sabrina Silva Pereira

Dra. Karen Villaseñor López

Dr. Héctor Ruiz Espinosa

Santa Catarina Mártir, San Andrés Cholula, Puebla

## Carta de validación por el Comité Tutorial

**UDLAP**

### ACTA DE REVISIÓN Y AUTORIZACIÓN DE TESIS

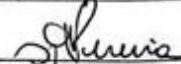
ESCUELA DE INGENIERÍA  
Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental  
Doctorado en Ciencia de Alimentos

Nombre del estudiante: Rocío Aparicio Ortuño

ID: 168734

Nombre del director de tesis: Dra. Ana Eugenia Ortega Regules

Título de la tesis: Evaluación de las propiedades bioactivas y la fibra dietética de cladodios de nopal en polvo (*Opuntia ficus indica* variedad Atlixco), su utilización en alimentos funcionales y su efecto en la dieta de una población infantil con sobrepeso u obesidad.

Integrantes del Comité Doctoral	Firma
Dra. María Teresa Jiménez Munguía	
Dra. Taisa Sabrina Silva Pereira	
Dra. Ana Eugenia Ortega Regules	
Dra. Karen Villaseñor López	
Dr. Héctor Ruiz Espinosa	

Los integrantes del Comité Doctoral expresamos que hemos leído y revisado el manuscrito de la tesis de Doctorado en Ciencia de Alimentos anteriormente descrita, por lo que estamos de acuerdo en que se proceda a generar la versión definitiva de la tesis y programar el examen de grado en la fecha, horario y lugar que se indican a continuación.

Fecha y hora de examen: Viernes 14 de junio a las 12:00 h

Lugar: Auditorio de Ciencias de la Salud AUSL-204.

## Índice

<i>Carta de validación firmada por el Comité Tutorial</i> .....	1
<i>Agradecimientos</i> .....	6
<i>Abstract</i> .....	8
2. <i>Justificación</i> .....	11
3. <i>Objetivos</i> .....	12
3.1 <i>Objetivo general</i> .....	12
3.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	12
4. <i>Marco teórico</i> .....	13
4.1. <i>Sobrepeso y obesidad</i> .....	13
4.1.1. <i>Obesidad y trastornos asociados</i> .....	13
4.1.2. <i>Prevalencia en México del sobrepeso y la obesidad infantil, hábitos de alimentación</i> .....	14
4.2. <i>Alimentos funcionales</i> .....	15
4.2.1. <i>Fibra dietética y compuestos bioactivos</i> .....	16
4.3. <i>Cladodios <i>Opuntia ficus indica</i></i> .....	18
4.3.1. <i>Composición química proximal y compuestos bioactivos</i> .....	19
4.4. <i>Método de procesamiento, secado de cladodios frescos</i> .....	21
4.5. <i>Capacidad antioxidante</i> .....	23
4.6. <i>Capacidad antiadipogénica</i> .....	24
4.6.1. <i><i>Caenorhabditis elegans</i> como modelo para evaluar resistencia al estrés oxidativo y capacidad antiadipogénica <i>in vivo</i></i> .....	25
4.7. <i>Aceptación sensorial de productos alimenticios formulados con cladodios en polvo</i> .....	26
5. <i>Metodología</i> .....	28
5.1. <i>Materia vegetal y preparación de las muestras</i> .....	28
5.2. <i>Análisis químico proximal</i> .....	28
5.3. <i>Tamaño de partícula</i> .....	28
5.4. <i>Determinación de la composición mineral por ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy)</i> .....	29
5.5. <i>Obtención de extractos para cuantificación y perfil de polifenoles, y capacidad antioxidante</i> .....	29
5.5.1. <i>Determinación de polifenoles totales</i> .....	30

5.5.2. Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> por DPPH Y ABTS .....	30
5.5.3. Perfil de polifenoles por LC-ESI-MS/MS (Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry) .....	31
5.6. Modelo biológico <i>Caenorhabditis elegans</i> .....	32
5.6.1. Resistencia al estrés oxidativo.....	32
5.6.2. Capacidad antiadipogénica <i>in vivo</i> .....	33
5.7. Formulación y preparación de las galletas funcionales .....	34
5.8. Características físicas .....	35
5.8.1. Actividad de agua .....	35
5.8.2. Color .....	35
5.8.3. Dureza.....	35
5.9. Determinación de polifenoles totales y capacidad antioxidante por DPPH .....	36
5.9.2. Determinación de polifenoles totales.....	36
5.9.3. Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> por DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl) .....	36
5.10. Evaluación sensorial.....	37
5.11. Isotermas de sorción de humedad .....	37
5.12. Efecto nutrimental y en la salud de un alimento funcional en una población infantil con sobrepeso u obesidad .....	38
5.12.1. Formulación y preparación de galletas .....	38
5.12.3. Ensayo de intervención .....	39
5.13. Análisis estadístico .....	40
6. Resultados y discusión .....	41
6.1. Análisis químico proximal.....	41
6.2. Tamaño de partícula .....	42
6.3. Polifenoles totales y capacidad antioxidante <i>in vitro</i> .....	43
6.4. Contenido mineral .....	44
6.5. Perfil de compuestos fenólicos por LC-ESI-MS/MS .....	44
6.6. Resistencia al estrés oxidativo .....	46
.....	47
6.7. Capacidad antiadipogénica <i>in vivo</i> .....	50
6.8. Características de las galletas.....	51
6.8.1. Propiedades físicas .....	51
6.8.2. Compuestos bioactivos en las galletas.....	53
6.8.3. Análisis sensorial.....	55
6.9. Isotermas de sorción de humedad .....	60
6.10. Efecto nutrimental y en la salud de un alimento funcional en una población de adolescentes con sobrepeso u obesidad.....	61
6.10.1. Análisis químico proximal de las galletas.....	61

6.10.2. Características físicas de las galletas .....	62
6.10.3. Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de las galletas.....	63
6.10.4. Análisis microbiológico de las galletas comparado con la norma oficial mexicana.....	64
6.10.5. Isotermas de sorción .....	64
6.10.6. Ensayo de intervención .....	66
<i>7. Conclusiones y recomendaciones .....</i>	<i>70</i>
<i>Anexos .....</i>	<i>78</i>
Anexo A: Consentimiento informado por parte de padres o tutores .....	78
Anexo B: Carta aceptación proyecto de intervención.....	79
<i>Evidencias de participación en congresos y publicaciones .....</i>	<i>80</i>

## **Agradecimientos**

A Dios por darme el don de la vida, cubrirme de bendiciones e iluminar mi camino, gracias, gracias, gracias.

A mi mamá por su amor, apoyo y fortaleza, por creer en mí y quererme tanto.

A mi hija Natalia y mis hijos Rodrigo y Rafael, gracias por darle sentido a mi vida, cubrirla de amor, felicidad y momentos memorables, los amo infinitamente.

A mi hermana Rosalba, le doy gracias hasta el cielo por todas sus enseñanzas, por ser un ejemplo de lucha y esfuerzo constante, te llevo siempre en mi corazón.

A mi hermana Azucena por su amor y bondad, gracias por estar conmigo y todo tu apoyo.

Para mi hermano Alfredo, gracias Fredy por tu amor, apoyo y generosidad de siempre, eres una pieza fundamental en mi vida de motivación y gran ayuda.

Para toda mi familia y amigos que me han acompañado, motivado y apoyado, gracias por ser parte de mi vida, por su amor y tantas enseñanzas.

A la Fundación Universidad de las Américas Puebla por la beca académica otorgada.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías de México (CONAHCYT) por la beca académica.

Al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla (CONCYTEP) por el recurso económico proporcionado.

A la Universidad de Murcia por la estancia realizada.

A la Dra. Ana Eugenia, gracias por su paciencia, disposición y apoyo en todo momento.

Para todos los profesores que a lo largo de mi vida han sido un factor de cambio por sus enseñanzas, entusiasmo y dedicación.

## Resumen

Los cladodios de *Opuntia ficus indica* var. Atlixco son una fuente de fibra dietética y de compuestos bioactivos. En esta tesis doctoral se analizó la composición química, el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de muestras de polvo procedentes de cladodios en tres diferentes etapas de maduración (30, 45 y 60 días). Los cladodios de 60 días tuvieron el mayor contenido de fibra dietética, mientras que el extracto de 45 días tuvo el mayor contenido de polifenoles totales, y de capacidad antioxidante según ABTS. Los principales minerales determinados por ICP-OES fueron calcio, potasio, magnesio, fósforo y sodio, encontrando mayores cantidades de potasio y calcio. Se utilizó Cromatografía Líquida-ionización por Electrospray-Espectrometría de Masas en tándem (LC-ESI-MS/MS) para la identificación y cuantificación de polifenoles en cladodios con 60 días de maduración (60 d), los cuales, debido a su tamaño (> 30 cm) ya no son aceptables para su comercialización. Se identificaron en mayor proporción los ácidos piscídico y eucómico y los derivados de isorhamnetina. Además, se investigó la resistencia al estrés oxidativo y la capacidad antiadipogénica en el modelo animal *Caenorhabditis elegans*. El extracto de cladodios 60-d aumentó la tasa de supervivencia de *C. elegans* cuando se expuso a condiciones de estrés oxidativo. De acuerdo con los hallazgos de este estudio, el extracto y los cladodios en polvo disminuyeron la deposición de grasa en el intestino de *C. elegans*. En una etapa posterior, se evaluó el efecto de la sustitución de la harina de trigo por cladodios en polvo *Opuntia ficus indica* var. Atlixco en la preparación de galletas y cómo esta sustitución influye en sus propiedades físicas, contenido de polifenoles, capacidad antioxidante y propiedades sensoriales. Asimismo, para la galleta mejor evaluada sensorialmente, se realizó la isoterma de sorción como instrumento para predecir la vida útil y la aceptabilidad del producto. Como última parte del proyecto, se llevó a cabo un ensayo de intervención en adolescentes con sobrepeso u obesidad, se evaluó el efecto de los cladodios en polvo en la formulación de una galleta funcional alta en fibra con respecto a una galleta control. Se analizaron los parámetros bioquímicos de glucosa, colesterol y triglicéridos, y los parámetros antropométricos de peso, circunferencia de cintura y circunferencia de cadera. Para los valores antropométricos, no se observó diferencia significativa entre los dos grupos durante el tiempo de estudio. Los resultados obtenidos de los parámetros bioquímicos mostraron una diferencia significativa para los valores de,

glucosa, colesterol y triglicéridos con una reducción de los niveles en el grupo de estudio que consumió la galleta formulada con cladodios en polvo, mientras que el grupo control, no presentó reducción en los parámetros estudiados. Además de los beneficios para la salud y la nutrición, los resultados obtenidos son un incentivo para la continuación de estudios relacionados y el desarrollo de nuevos productos funcionales.

## **Abstract**

Cladodes of *Opuntia ficus indica* var. Atlixco are a source of dietary fiber and bioactive compounds. In this doctoral thesis, the chemical composition, total polyphenolic content, and antioxidant capacity of powder samples, from three different ripening stages were analyzed (30, 45 and 60 days). The 60 d cladodes had the highest content of dietary fiber, while the extract of 45 days had the highest content of total polyphenols, and antioxidant capacity according to ABTS. Major minerals determined by ICP-OES were calcium, potassium, magnesium, phosphorus, and sodium, finding higher amounts of potassium and calcium. Liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) was used for the identification and quantification of polyphenols on cladodes with 60 days of ripening (60 d), due to their size (> 30 cm) they are no longer acceptable for commercialization; piscidic and eucomic acids and isorhamnetin derivatives were identified in greater proportions. Additionally, resistance to oxidative stress and antiadipogenic capacity were investigated on the animal model *Caenorhabditis elegans*. The extract of 60-d cladodes increased the survival rate of *C. elegans* when exposed to oxidative stress conditions. According to our findings, the extract and powdered cladodes decreased fat deposition in the intestine of *C. elegans*. At a later stage, it was evaluated the effect of replacing wheat flour with powdered cladodes *Opuntia ficus indica* var. Atlixco in the preparation of cookies and how this substitution influences its physical properties, polyphenols content, antioxidants capacity, and sensory properties. Likewise, for the best evaluated sensorial cookie, the sorption isotherm was used as an instrument to predict the shelf life and acceptability of the products. As the last part of the project, an intervention trial was carried out in overweight or obese adolescents, evaluating the effect of powdered cladodes in the formulation of a high-fiber functional cookie compared to a control cookie. The biochemical parameters of glucose, cholesterol and triglycerides were evaluated, as well



as the anthropometric parameters of weight, waist circumference and hip circumference. For anthropometric values, no significant difference was observed between the two groups during the study time. The results obtained from the biochemical parameters showed a significant difference for glucose, cholesterol, and triglyceride values with a reduction in levels in the study group that consumed the cookie formulated with powdered cladodes, while the control group did not present a reduction in the parameters studied. In addition to the health and nutritional benefits, the results obtained are an incentive for continuation of related studies and development of new functional products.

## **1. Introducción**

Los cladodios de las especies *Opuntia spp*, también llamados nopales, pertenecen a la familia de las cactáceas. Son cactus adaptables al clima extremo, por lo que requieren de poca agua para su cultivo y pueden crecer en regiones áridas o semiáridas en todo el mundo. México es uno de los principales productores y también posee la mayor diversidad. Los cladodios contienen compuestos bioactivos como polifenoles, flavonoides, carotenoides, ácido ascórbico, fitoesteroles y clorofila (Santos et al., 2017). Estos compuestos bioactivos pueden proporcionar beneficios importantes para la salud como eliminar las sustancias químicas tóxicas del organismo; en otros casos mejoran la absorción y estabilidad de los nutrientes esenciales, algunos otros actúan ejerciendo efectos benéficos sobre el microbioma (factores de crecimiento, sustratos de fermentación, o inhibidores de bacterias intestinales dañinas) (Angulo et al., 2014). Así mismo, su contenido de fibra dietética presenta beneficios a la salud, en enfermedades asociadas con la baja ingesta de fibra dietética, en trastornos gastrointestinales, en la reducción de los valores de glucosa en la sangre, efectos anti-hiperlipídemicos y anti-hipercolesterolémicos, entre otros (Hernández et al., 2011). La fibra dietética puede transportar una cantidad significativa de compuestos bioactivos, vinculados a la matriz de fibra a través del intestino humano (Bensadón et al., 2010). Los nopales, se han utilizado desde la época prehispánica como un componente importante de la dieta en diferentes preparaciones o métodos de cocción, en la economía agrícola, como forraje y, como control de la erosión del suelo. (Hernández et al., 2011). La composición química y nutrimental de los cladodios puede variar según el tipo de especie, las condiciones

ambientales, la etapa de madurez, temporada de cosecha y el tratamiento postcosecha. (Astello-García et al., 2015; Aruwa et al., 2018).

Con relación a enfermedades como sobrepeso y obesidad, se ha observado que, en México, la prevalencia de estas se ha triplicado en las últimas décadas (Barrera et al., 2013). Tanto a nivel mundial como en el país, las enfermedades cardiovasculares son la causa más común de mortalidad, debido en gran parte a una ingesta elevada de grasas saturadas (Padilla et al.; 2015). El panorama del sobrepeso, la obesidad y la diabetes ha aumentado por la transición nutricional del país, la gran disponibilidad de alimentos procesados, adicionados con grasa, azúcares y sal, y un aumento en el consumo de comida rápida y preparada fuera de casa (Pérez et al., 2019). La acumulación de grasa a nivel abdominal se asocia con resistencia a la acción de la insulina, intolerancia a los azúcares (glucosa) y una alteración en el perfil de las grasas (colesterol y triglicéridos), lo que aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular. La obesidad aumenta los trastornos metabólicos y determina un aumento significativo en la morbilidad y la mortalidad (OMS, 2006). Con relación, al sobrepeso y obesidad en la población infantil, según la última Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2021 y al comparar con los resultados del año 2012, en el grupo de infantes de 5 a 11 años, la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad pasó de 34.4% a 37.4% y en la población de 12 a 19 años, pasó de 33.2% a 42.9%. La epidemia de obesidad infantil ha provocado un incremento paralelo en la prevalencia de formas pediátricas de enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2 y la presión arterial elevada, la cual hace pocos años eran enfermedades típicas de adultos (Pérez et al., 2019).

En tal sentido, se llevan a cabo ensayos *in vivo* para el estudio de enfermedades presentes en los seres humanos, como cáncer, diabetes, obesidad, enfermedades musculares y neurodegenerativas. Entre los modelos biológicos utilizados, se ha probado el nemátodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) (Corsi et al., 2015), por ser un modelo biológico de fácil manejo en el laboratorio, es de tamaño milimétrico, anatomía simple, ciclo de vida corto, estructura transparente, de fácil reproducción y un genoma completamente secuenciado (contiene homólogos para casi 60-80% de los genes humanos) (Brenner, 1974; Chen et al., 2013). *C. elegans* se puede utilizar para estudiar una variedad de compuestos derivados de alimentos como péptidos bioactivos, compuestos fenólicos, hidratos de carbono y lípidos. Es un recurso valioso para estudiar enfermedades asociadas con el envejecimiento o el estrés

oxidativo y determinar la actividad biológica que ciertos compuestos bioactivos pueden ofrecer al cuerpo humano (Mudd et al., 2022).

En los últimos años, ha aumentado el interés en formular alimentos con nopal deshidratado debido a los altos niveles de compuestos bioactivos y de fibra dietética (Medina et al., 2011). Por lo que, las dietas enriquecidas con nopal en polvo aparte del beneficio nutricional que aportan podrían ayudar a abatir el sobrepeso y/u obesidad y a contrarrestar enfermedades crónicas, en las que la inflamación y el estrés oxidativo tienen una participación importante (Díaz et al., 2017). En general los estudios realizados *in vivo* para evaluar el efecto de los compuestos bioactivos y de la fibra dietética del nopal, se han enfocado a poblaciones de adultos y jóvenes a partir de los 18 años, por lo que, el objetivo de esta investigación es formular alimentos funcionales con nopal en polvo y estudiar el efecto nutrimental y/o en salud, al incluirlos en la dieta de una población infantil que presenta sobrepeso u obesidad.

## **2. Justificación**

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomiendan una ingesta diaria de fibra dietética para niños de 2 a 5 años de 0.015 kg, de 6 a 9 años de 0.021 kg y de 10 años en adelante de 0.025 kg. En México, de acuerdo con la Secretaría de Salud (2016), la población adulta mexicana consume menos fibra (0.014 a 0.018 kg) que la recomendada por la OMS y para la población infantil, este consumo también está por debajo de lo recomendado. La ingesta de fibra dietética va de la mano con el consumo diario de frutas y verduras, con relación a este aspecto. Los datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del año 2021 mostraron que solo el 43.5% de los niños de 5 a 11 años consumieron fruta y el 22% verduras y entre las edades de 12 a 19 años, solo el 28.2% consumió fruta y el 26.9% verduras. Cabe destacar que este consumo insuficiente de fibra dietética, frutas y verduras aunado a una elevada ingesta de harinas refinadas por parte de la población se ha asociado con el aumento progresivo de padecimientos y/o enfermedades como; desordenes gastrointestinales, estreñimiento, diverticulosis, algunos tipos de cáncer, sobrepeso, obesidad, diabetes, aumento en la presión arterial, problemas cardiovasculares asociados a dislipidemias y colesterol elevado (OMS, 2006).

En tal sentido, los cladodios *Opuntia ficus indica* son una fuente de fibra dietética y de compuestos bioactivos como ácidos fenólicos, flavonoides, betalaínas, y vitaminas. Las dietas enriquecidas con nopal aportan un beneficio nutricional y podrían coadyuvar a abatir el sobrepeso y/u obesidad y a contrarrestar enfermedades crónicas, en las que, la inflamación y el estrés oxidativo tienen una participación importante (Díaz et al., 2017). Los cladodios frescos, tienen un porcentaje de humedad por arriba del 90%, lo que los hace un producto muy perecedero y con una vida de almacenamiento muy corta, por lo que la deshidratación y molienda ofrecen una alternativa conveniente para alargar su vida de anaquel, manipulación y uso en la formulación y desarrollo de alimentos funcionales (López et al., 2009). De igual forma, el sabor y/o la consistencia de los cladodios, no son del agrado en general de la población infantil.

Por ello, se procesaron cladodios frescos de *Opuntia ficus indica* var. Atlixco para obtenerlos en polvo, evaluar su composición química proximal y compuestos bioactivos *in vitro*. De igual forma se evaluó la resistencia al estrés oxidativo y la capacidad antiadipogénica de los cladodios en polvo en un modelo animal (*Caenorhabditis elegans*), que es de fácil manejo, bajo costo y un ciclo de vida corto.

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo general**

Evaluar la composición y las propiedades bioactivas de los cladodios en polvo *Opuntia ficus indica*, su utilización para formular alimentos funcionales, así como su efecto en la dieta de una población infantil con sobrepeso u obesidad.

#### **3.2. Objetivos específicos**

1. Caracterizar los cladodios en polvo de *Opuntia ficus indica* con diferentes grados de madurez.
2. Determinar el contenido total de polifenoles y la capacidad antioxidante *in vitro*.
3. Evaluar el uso de los cladodios en polvo en la resistencia al estrés oxidativo y la capacidad antiadipogénica en el modelo animal *Caenorhabditis elegans*.

4. Evaluar la aceptación por medio de análisis sensorial de galletas formuladas con cladodios en polvo.
5. Evaluar los cambios antropométricos y bioquímicos (glucosa, perfil de lípidos y colesterol), antes, durante, y al finalizar el estudio, en una población infantil con sobrepeso u obesidad, por el consumo de galletas elaboradas con nopal en polvo.

## **4. Marco teórico**

### **4.1. Sobrepeso y obesidad**

La obesidad es una enfermedad crónica, compleja y multifactorial prevenible, suele iniciarse en la infancia y la adolescencia a partir de un desequilibrio entre la ingesta energética y el gasto calórico, se involucran factores genéticos y ambientales que determinan un trastorno metabólico que conduce a una excesiva acumulación de grasa corporal más allá del valor esperado según el sexo, talla y edad (INSP, 2006). Se ha estimado que, en México, el 6%, 28% y 62% de los casos de cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares, respectivamente, son atribuibles a factores de riesgo dietético (Pérez et al., 2019).

#### **4.1.1. Obesidad y trastornos asociados**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que la obesidad aumenta el riesgo de padecer enfermedades concomitantes como; diabetes, presión arterial elevada, dislipidemias, enfermedades cardiovasculares, gota, osteoartritis, síndrome de apnea del sueño, hígado graso y ciertos tipos de cáncer. De igual forma, la acumulación de grasa a nivel abdominal se asocia con resistencia a la acción de la insulina, intolerancia a los azúcares (glucosa) y una alteración en el perfil de las grasas (colesterol y triglicéridos), lo que aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular. La obesidad aumenta los trastornos metabólicos y determina un aumento significativo en la morbilidad y la mortalidad (OMS, 2006).

El panorama del sobrepeso, la obesidad y la diabetes se explica en parte por la transición nutricional que experimenta el país, ya que hay una disponibilidad a bajo costo de alimentos procesados, adicionados con altas cantidades de grasa, azúcares y sal, un aumento en el consumo de comida rápida y comida preparada fuera de casa y se ha disminuido en forma importante la actividad física de la población (Pérez et al., 2019). Por ello, los nutrientes

aportados por una dieta correcta pueden ser fundamentales en la prevención y disminución del sobrepeso y obesidad. Frutas, hortalizas y leguminosas son fuente de minerales, vitaminas, fibra y compuestos bioactivos como péptidos, polifenoles, flavonoides y carotenoides entre otros y son importantes en la prevención de enfermedades crónicas (Ortiz, 2017).

#### **4.1.2. Prevalencia en México del sobrepeso y la obesidad infantil, hábitos de alimentación**

De 1980 a la fecha, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en México se ha triplicado, alcanzando proporciones alarmantes (Barrera et al., 2013). Según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2021 y, realizando un comparativo con la encuesta del año 2012, en el grupo de infantes de 5 a 11 años, la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad pasó de 34.4% a 37.4% y en la población de 12 a 19 años, pasó de 33.2% a 42.9%, en la **Tabla 1**, se puede observar, la prevalencia de sobrepeso y obesidad por edades, así como los porcentajes del consumo de frutas y verduras, los cuales son menores a los porcentajes del consumo de bebidas lácteas no azucaradas, botanas, dulces y postres. El menor consumo de fruta es por parte de la población de 12 a 19 años y el menor consumo de verduras para las edades de 5 a 11 años. Con respecto al consumo de bebidas no lácteas azucaradas, la ingesta supera el 80 % para todos los grupos de edades y el mayor consumo de botanas, dulces y postres es de 5 a 11 años.

**Tabla 1.** Prevalencia de sobrepeso y obesidad, y consumo de diferentes productos por edades en México.

Edad	Prevalencia de sobrepeso y obesidad	Consumo de frutas	Consumo de verduras	Consumo bebidas no lácteas azucaradas	Consumo botanas, dulces y postres
5-11 años	37.4%	43.5%	22%	85.7%	64.6%
12-19 años	42.9%	28.2%	26.9%	80.6%	56.6%

Adaptada de ENSANUT, 2021.

El peso normal, sobrepeso u obesidad en niños y adolescentes puede determinarse de acuerdo con el Índice de Masa Corporal (IMC), se correlaciona con los trastornos metabólicos secundarios a la obesidad, hipertensión arterial, y permite evaluar el efecto de arrastre de la obesidad desde la infancia y la adolescencia hasta la edad adulta. Para la clasificación del IMC, se toman en cuenta la edad y el género. Los niños que están entre el *percentil* 5 y 85 se definen como niños de peso normal; entre el *percentil* 85 y 95, como niños con sobrepeso; y con *percentil*  $\geq 95$ , como niños con obesidad (Núñez, 2010). Incluso, la epidemia de obesidad infantil ha provocado un incremento paralelo en la prevalencia de formas pediátricas de enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2 y la presión arterial elevada, la cual hace pocos años eran enfermedades típicas de adultos (Pérez et al., 2019).

En una revisión hecha por Pérez et al. (2019) sobre la situación actual de la obesidad infantil en México, se menciona un estudio hecho por el Instituto Nacional de Salud Pública (2011), en donde solo el 28.1% de la población infantil consumía agua natural, contra el 44% que consumía bebidas de alto valor calórico. En otro estudio de esta revisión, llevado a cabo por Galván et al. (2018) se identificaron tres patrones dietéticos en niños de 5-15 años: a) patrón dietético diverso; b) patrón dietético rico en grasas; y c) patrón dietético alto en azúcares. El 87% de los participantes siguieron los patrones ricos en azúcares y grasas (36% y 51%, respectivamente) y solamente el 13% de los niños encuestados sigue el patrón dietético diverso (rico en vegetales, frutas, productos lácteos fermentados, frijoles, hojas verdes y vegetales con almidón). En la revisión concluyen que los hábitos alimenticios adoptados en edades muy tempranas suelen persistir en la edad adulta. Varios estudios han mostrado que niños y adolescentes que tienen un alto consumo de frutas y vegetales tienen el doble de probabilidad de apearse a recomendaciones saludables tras incrementar la ingesta de fibra y reducir los ácidos grasos saturados y la sal (Pérez, et al., 2019).

#### **4.2. Alimentos funcionales**

El término de alimentos funcionales se utilizó por primera vez en Japón, en la década de 1980, recientemente Granato et al. (2020), definió a los alimentos funcionales, como alimentos procesados o naturales que, cuando se consumen regularmente dentro de una dieta, en ciertas concentraciones, tienen efectos potencialmente positivos sobre la salud, más allá

de la nutrición básica. Para que un alimento se considere funcional, se requiere de tener ensayos clínicos aleatorizados, doble ciego, controlados con placebo, para establecer la eficacia funcional y cumplir con las regulaciones de cada país. En el documento de consenso sobre conceptos científicos de los alimentos funcionales en Europa (1999), se menciona que no existe una definición universalmente aceptada de alimentos funcionales, dado que los alimentos funcionales son más un concepto que un grupo bien definido de productos alimenticios, en Europa se considera que un alimento es “funcional” si se demuestra satisfactoriamente que afecta a una o más funciones objetivo del organismo, más allá de los efectos nutricionales adecuados, de manera que sea pertinente para mejorar el estado de salud y bienestar, así como reducir el riesgo de enfermedad. Los alimentos funcionales deben seguir siendo alimentos y deben demostrar sus efectos en cantidades que normalmente se consumen en la dieta, puede ser funcional para todos los miembros de una población determinada, que podría definirse, por ejemplo, por edad o por constitución genética.

De igual forma, se menciona que en los Estados Unidos de América se han permitido las afirmaciones de “reducción del riesgo de enfermedad” desde 1993 en determinados alimentos que son aceptados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) bajo la evidencia objetiva y científica de una correlación entre nutrientes o alimentos en la dieta y ciertas enfermedades.

#### **4.2.1. Fibra dietética y compuestos bioactivos**

El concepto de fibra dietética ha ido cambiando con los años, se reconoce que la fibra dietética abarca un rango mucho más amplio de sustancias de las que se reconocía con mayor significado fisiológico, no se acepta como general en el mundo, pero existe consenso sobre la necesidad de una definición basada en la fisiología, siendo la no digestibilidad en el intestino delgado una característica fisiológica clave de la fibra dietética (Gray, 2006). La fibra dietética está formada por polímeros de carbohidratos y polisacáridos no amiláceos que son los principales componentes de las paredes de las células vegetales, éstos incluyen a la celulosa, las hemicelulosas, los hemiglucanos y las pectinas, así como otros polisacáridos provenientes de vegetales y algas, como las gomas y los mucílagos. Otros componentes incluidos son los polisacáridos de reserva no digeribles como la inulina y el almidón resistente (Gray, 2006).



Así mismo, los términos fibra dietética soluble y fibra dietética insoluble, proporcionan una manera simple y útil de clasificar las propiedades fisiológicas de cada una, muchas de las fibras solubles son viscosas y forman geles en el intestino delgado, mientras que las fibras solubles (incluidas la celulosa y la lignina) tienen una mayor influencia en la función del intestino grueso (Gray, 2006). Para la Comisión del Codex Alimentarius (2006), la fibra dietética consiste en uno o más polímeros comestibles de carbohidratos que se encuentran en forma natural en los alimentos consumidos, que se han obtenido de materias primas alimentarias por medios físicos, enzimáticos o químicos. Entre sus propiedades están; que disminuye el tiempo de tránsito intestinal y aumenta el volumen de las deposiciones, es fermentable por la microflora colónica, reduce los niveles de colesterol total y/o colesterol LDL y reduce los niveles posprandiales de glucosa y/o insulina en la sangre.

Con relación a los compuestos bioactivos, el término “bioactivo” es un término alternativo para “biológicamente activo”, es una sustancia que tiene una actividad biológica, tiene un efecto sobre, causa una reacción o desencadena una respuesta en el tejido vivo. Los compuestos bioactivos suelen ser sustancias químicas como polifenoles, flavonoides, ácidos fenólicos, vitaminas y carotenoides entre otros, que se encuentran en pequeñas cantidades en las plantas y en ciertos alimentos y tienen acciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud (Guadaoui et al., 2014). Muchos compuestos bioactivos son estudiados por su capacidad para abordar problemas de salud. Estos compuestos pueden funcionar como sustratos para reacciones bioquímicas que proporcionan importantes beneficios para la salud, actúan eliminando las sustancias tóxicas; en otros casos mejoran la absorción y estabilidad de los nutrientes esenciales, algunos otros actúan ejerciendo efectos benéficos sobre el microbioma (factores de crecimiento, sustratos de fermentación, o inhibidores de bacterias intestinales dañinas) (Angulo et al; 2014).

Al respecto, numerosas investigaciones respaldan los beneficios de los compuestos bioactivos contra diferentes tipos de cáncer, cardiopatías coronarias, diabetes, presión arterial alta, la inflamación, las infecciones microbianas, virales y parasitarias y las úlceras, estas investigaciones se basan en los mecanismos químicos que utilizan sistemas *in vitro* y de cultivo celular, diversos estados de enfermedades en animales y epidemiología de los seres humanos (Angulo et al; 2014).

### 4.3. Cladodios *Opuntia ficus indica*

Los cladodios se producen principalmente en zonas templadas, semiáridas y tropicales secas, son originarios de América, se distribuyeron desde México hacia España y se han difundido en África, Asia, Europa y Oceanía. En México, el consumo de variedades silvestres de cladodios o también llamados nopales se realiza desde hace aproximadamente 25,000 años (Bautista et al., 2010). Se han utilizado desde la época prehispánica como un componente importante de la dieta en diferentes preparaciones o métodos de cocción, en la economía agrícola, como forraje y como control de la erosión del suelo, además de ser económico y abundante (Hernández et al., 2011). Asimismo, *Opuntia ficus indica* es un cactus adaptable al clima extremo, como en las regiones semiáridas de la parte central de México, las cuales albergan la mayor diversidad de este cactus en el mundo, el género *Opuntia spp* abarca alrededor de 1,500 especies de cactus. Su composición química depende del tipo de especie, la etapa de madurez, las condiciones ambientales, temporada de cosecha y el tratamiento postcosecha (Astello et al., 2015; Aruwa et al., 2018). Estudios previos muestran que los cladodios tienen un alto valor nutricional, principalmente debido a su contenido mineral, proteico, fibra dietética y fitoquímicos con actividad antioxidante (Bensadón et al., 2010).

De acuerdo con la norma mexicana NMX-FF-068-SCFI-2006, se define como nopal a los cladodios jóvenes (brotes tiernos) de la planta perteneciente a la familia de las cactáceas, de los géneros *Opuntia spp.* y *Nopalea spp.* Los cladodios son el segmento de un tallo de forma aplanada, provisto de hojas reducidas temporales, gloquidias (ahuates) y espinas en puntos específicos denominadas areolas. Los cladodios se clasifican por grado de calidad, tamaño y variedad. La longitud va desde 7 cm (Cambray) hasta 25.1 cm o más según la norma mexicana. En el 2019, según datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), se sembraron 12 mil 799 hectáreas de nopal verdura a nivel nacional, con una producción de 821 mil toneladas y un rendimiento promedio de 71 toneladas por ha. Con relación al Codex Alimentarius (2006), el nopal se define como el tallo modificado de las variedades comerciales de nopales obtenidos de *Opuntia ficus indica*, *O. tomentosa*, *O. hyptiacantha*, *O. robusta*, *O. inermis*, *O. undulata*, de la familia de las Cactáceas, que habrán de suministrarse frescos al consumidor, después de su acondicionamiento y envasado. La longitud del nopal puede variar de 9 a 30 cm.

Con relación a la cosecha de los cladodios en México, ésta se lleva a cabo por lo general cuando alcanzan una longitud de 20-25 cm y pesan de 90 a 100 g. La cosecha se realiza durante todo el año, aunque la productividad es mayor durante la primavera (Saénz et al., 2006). La especie más cultivada es *Opuntia ficus indica* de las variedades *Milpa Alta*, *Copena V-1*, *Copena F-1*, *Atlixco*, *Jalpa*, *Esmeralda* y *blanco de Valtierrilla* (Saénz et al., 2006). Así mismo, el consumo per cápita anual en 2015 fue de 6.4 kg (SAGARPA).

#### 4.3.1. Composición química proximal y compuestos bioactivos

La composición de los cladodios de nopal *Opuntia ficus indica* variedad Atlixco en polvo se muestra en la **Tabla 2**. El contenido de proteína reportado por Bensadón et al. (2010) es de 1.13 g por cada 100 g de materia seca y el reportado por Astello et al. (2015) es de 12.6 g por cada 100 g de materia seca, la diferencia en los valores reportados por estos autores puede deberse a la etapa de madurez de los cladodios al momento del análisis y la síntesis de proteína en la planta (Astello et al., 2015). La composición de cenizas reportada es parecida (14.8 g y 16.54 g), así como el contenido de lípidos (1.22 y 0.90 g). Con respecto al contenido de fibra, Bensadón et al. (2010) reporta un contenido de fibra dietética total de 64.25 g y Astello et al. (2015), solo reporta fibra cruda. El nopal produce un hidrocólido comúnmente conocido como mucílago, el cual forma redes moleculares capaces de retener grandes cantidades de agua. Son carbohidratos complejos, con una estructura altamente ramificada, el mucílago de *Opuntia ficus indica* está compuesto por 24.6 a 42% de arabinosa, 21 a 40.1% de galactosa, 7 a 13% de ramnosa, 22 a 22.2% de xilosa y de 8 a 12.7% de ácido galacturónico, tiene minerales como el calcio, potasio y fibra dietética. La capacidad de absorber agua es de gran importancia en la fisiología vegetal, ya que permite que los nopales puedan retener agua y crecer aún en condiciones climáticas desfavorables (Sepúlveda et al., 2007; Sáenz et al., 2004).

**Tabla 2.** Composición química de los cladodios de *Opuntia ficus indica* variedad Atlixco (g/100 g en base seca).

Parámetro	Referencia	
	Bensadón et al., 2010	Astello et al., 2015
Humedad	5.65	-
Proteína	1.13	12.60

Lípidos	1.22	0.90
Cenizas	16.54	14.80
Fibra dietética total	64.25	-
Fibra dietética soluble	9.8	-
Fibra dietética insoluble	54.45	-
Fibra cruda	-	5.35
Calcio	-	0.63
Potasio	-	2.67

En los últimos años ha aumentado el interés en formular alimentos con nopal deshidratado debido a los altos niveles de compuestos bioactivos que presenta, como la fibra dietética, flavonoides, flavonoles, carotenos, ácido ascórbico, fitoesteroles y clorofila (Medina et al., 2010). Entre los beneficios asociados al consumo de fibra, se encuentran, prevención de enfermedades como la diabetes, trastornos gastrointestinales, enfermedades asociadas con la baja ingesta de fibra dietética, reducción de los valores de glucosa en la sangre, efectos anti-hiperlipídemicos y anti-hipercolesterolémicos (Hernández et al., 2011). De igual forma, la fibra dietética puede transportar una cantidad significativa de compuestos bioactivos, tales como polifenoles y carotenoides vinculados a la matriz de fibra a través del intestino humano. En promedio el 2.5% de la fibra dietética insoluble consiste en polifenoles. El contenido de carotenoides en el nopal se distribuye como caroteno (36%), luteína (46%) y la criptoxantina (18%), al igual que los polifenoles, algunos de los carotenoides podrían estar unidos a la matriz de fibra dietética (Bensadón et al., 2010).

Con relación a los compuestos bioactivos presentes en el nopal con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, están los ácidos fenólicos, polifenoles, flavonoides, indicaxantina, neobetanina, betalaína y vitaminas. Los polifenoles contienen varios grupos fenólicos, que pueden estar asociados con grupos químicos más o menos complejos de alto peso molecular. Estos compuestos son generalmente subproductos del metabolismo de las plantas, por lo que hay un creciente interés por los polifenoles debido a su potencial capacidad antioxidante que participa en beneficios para la salud como la prevención de la inflamación, desregulación cardiovascular y las enfermedades neurodegenerativas, también han demostrado actividad anticancerígena (El-Mostafa et al., 2014). Algunos de los

compuestos bioactivos (polifenoles y flavonoides) presentes en *Opuntia ficus indica* y *O. ficus indica* variedad Atlixco se muestran en la **Tabla 3**. Entre los compuestos presentes en mayor cantidad, se encuentran la nicotiflorina y narcisina y en menor cantidad el ácido gálico y el ácido salicílico.

**Tabla 3** Contenido de polifenoles y flavonoides en cladodios de nopal *Opuntia ficus indica* y *O. ficus indica* variedad Atlixco.

Principal componente identificado en <i>Opuntia ficus indica</i>	Contenido en mg/100 g (base seca)
Ácido gálico	0.67-2.37
Ácido cumárico	14.08-16.18
3,4-dihidroxibenzoico	0.06-5.02
4-hidroxibenzoico	0.5-4.72
Ácido ferúlico	0.56-34.77
Ácido salicílico	0.58-3.54
Iso quercetina	2.29-39.67
Isoramnetina-3-O-glucosido	4.59-32.21
Nicotiflorina	2.89-146.5
Rutina	2.36-26.17
Narcisina	14.69-137.1
<i>O. ficus indica</i> variedad Atlixco	<b>Contenido</b>
Ácidos fenólicos	22.5 µmol ácido gálico/ g base seca
Flavonoides	20.1 µmol quercetina/ g base seca
Carotenoides	21.32 mg / g base seca

Adaptado de Bensadón et al. (2010); El-Mostafa et al. (2014); Astello et al. (2015).

#### 4.4. Método de procesamiento, secado de cladodios frescos

El secado es un proceso de remoción térmica de sustancias volátiles (humedad) hasta obtener un producto seco. Es una operación unitaria en la que se da el transporte simultáneo de calor y masa: la transferencia de energía desde el medio circundante para evaporar la humedad de la superficie y la transferencia de la humedad interna hacia la superficie del sólido y su posterior evaporación. El contenido de agua se elimina en forma de vapor desde la superficie del sólido, depende de condiciones externas de temperatura, flujo y humedad del aire, área de la superficie del material expuesta y presión, mientras que el movimiento del agua a través del sólido depende de su composición física, la temperatura y su porcentaje de humedad

(Padilla et al., 2018). Cabe destacar que la operación de secado implica cambios físicos, químicos y sensoriales en el alimento que dependen de su composición y de la severidad del método de secado. Ejemplos de estos cambios son encogimiento, cristalización, despolimerización, variación de color, sabor, textura, viscosidad, velocidad de reconstitución, valor nutritivo y estabilidad en el almacenamiento (Padilla et al., 2018).

Como los cladodios frescos tienen mucha agua y un pH bajo, son susceptibles a la contaminación microbiana y una vida útil corta, por lo que se sugiere un procesamiento postcosecha para conservarlos más tiempo para desarrollar los alimentos funcionales. El secado es una alternativa de bajo costo para la conservación de varios productos agrícolas, ayuda a reducir el contenido de agua en la que el deterioro microbiano se vuelve poco probable, también reduce la masa y el volumen del producto, lo cual facilita la manipulación, el transporte y el almacenamiento (Dey et al., 2019). Para el proceso de secado del nopal es importante determinar el efecto del tratamiento térmico sobre los compuestos bioactivos de este, tratando de garantizar su conservación en su mayoría tras la deshidratación, en un estudio realizado por Medina et al. (2010), donde se evaluaron los compuestos bioactivos como polifenoles, flavonoides, carotenos y ácido ascórbico del nopal deshidratado por convección, se encontró que el contenido total de flavonoides se conservó en más del 80%, el contenido de carotenos en un 50% y el ácido ascórbico en un 20%.

Así mismo en otro estudio llevado a cabo por Gallegos et al. (2009), donde se evaluó el contenido total de compuestos fenólicos y flavonoides totales, se encontró que los flavonoides se conservan mejor tras el secado con un 36 % aproximadamente. De la misma manera, en otro estudio realizado por Bejarano et al. (2014) donde se analizaron muestras frescas de nopal y de nopal deshidratado, se evaluaron fenoles libres, flavonoides,  $\beta$ -caroteno, luteína y la capacidad antioxidante, se observó que se conservaron los compuestos antioxidantes presentes en el nopal fresco. Por lo que el secado es un método de conservación viable para preservar los compuestos bioactivos del nopal. Se ha reportado que los cladodios en polvo presentan un mayor contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante, respecto a los cladodios frescos, ya que se ha observado que el calor impacta en las paredes de los tejidos celulares lo que provoca que los antioxidantes sean liberados, además el tratamiento térmico inactiva ciertas enzimas que pudiesen afectarlos. Por otra parte, el calor provoca la formación de nuevos grupos estructurales que aumentan la actividad antioxidante,

por ejemplo, la formación de grupos hidroxilo y cambios en la estructura de los polifenoles y aumenta la capacidad antioxidante del ácido gálico. Estos cambios también permiten que los antioxidantes sean más estables al pH y su actividad antioxidante continúe a lo largo del tracto digestivo (du Toit et al., 2018).

#### **4.5. Capacidad antioxidante**

Los antioxidantes son sustancias que, a bajas concentraciones, previenen o retrasan la oxidación de biomoléculas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos y contrarrestan los radicales libres para evitar el daño oxidativo. La capacidad antioxidante se reconoce por la habilidad de eliminar o barrer los radicales libres, lo que protege a las células contra los efectos perjudiciales de las especies reactivas de oxígeno (Ndhlala et al., 2010). El sistema amortiguador antioxidante puede ser evaluado indirectamente como una capacidad antioxidante total, este parámetro ofrece una idea de cómo se encuentra el conjunto de la respuesta antioxidante ante los agresores oxidativos en cada sistema. Las técnicas desarrolladas para evaluar la capacidad antioxidante total de las muestras biológicas valoran la habilidad de los compuestos antioxidantes, para reducir las especies oxidantes introducidas en el sistema de ensayo. Los distintos métodos difieren en el agente oxidante, en el sustrato empleado, en el tiempo de evaluación, en la técnica instrumental utilizada, la sensibilidad y en las interacciones de la muestra con el medio de reacción. Algunos ensayos usan sistemas complejos para poder generar radicales libres y medir la capacidad antioxidante por ejemplo el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Quintanar et al., 2009).

Al respecto, el oxígeno se transforma en especies reactivas de oxígeno (ROS) al reaccionar con los electrones de las moléculas. Durante mucho tiempo se ha sabido que ROS puede destruir bacterias y destruir las células humanas, ya que reaccionan fácilmente con proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos, a menudo inducen alteraciones funcionales irreversibles. Las defensas antioxidantes del organismo humano, en muchos casos no son suficientes para mantener el equilibrio adecuado y puede un proceso normal volverse patológico cuando persiste a largo plazo. El estrés oxidativo se asocia con el proceso general de envejecimiento y la muerte celular que afecta a todos los principales sistemas de órganos y tiene relación con todas las enfermedades cardiovasculares (Brieger et al., 2012).

En tal sentido, varios ensayos químicos *in vitro* se han desarrollado para medir las capacidades antioxidantes de los productos vegetales (Ndhlala et al., 2010). La primera documentación de las propiedades medicinales de *Opuntia ficus indica* se remonta a 1552, y, más tarde surgió evidencia experimental acumulada que sugiere sus capacidades para reducir el colesterol, inhibir la diabetes y reducir la hepatotoxicidad *in vivo*. Estudios adicionales han confirmado su capacidad antioxidante, así como su efecto neuro protector *in vitro* e *in vivo* (Kim et al., 2014). El nopal puede disminuir las especies reactivas de oxígeno por sus compuestos antioxidantes como los polifenoles y la vitamina C. El efecto protector del nopal se ha demostrado en algunos modelos experimentales como el daño neuronal en oxidación, en la lesión hepática inducida por el níquel y en las alteraciones renales y hepáticas causadas por micotoxinas, y resultados de la actividad antioxidante *in vivo* en sujetos sanos, que mostraron un aumento significativo por el consumo de 300 g de nopal durante 3 d, consistente con el efecto antioxidante directo del nopal determinado *in vitro* (Ávila et al., 2014).

#### **4.6. Capacidad antiadipogénica**

La dislipidemia es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular modificables, se observa una relación continua y gradual entre la hipercolesterolemia y mortalidad por enfermedad coronaria. La dislipidemia puede estar influenciada por determinantes genéticos y alimentarios, sobre todo relacionada con la ingestión de grasas saturadas, se ha observado que los hábitos alimentarios inadecuados pueden influir de manera negativa alterando las concentraciones lipídicas en el organismo. El sistema cardiovascular se beneficia con el consumo de alimentos que favorecen la salud, ya que influyen de manera positiva controlando el perfil lipídico, la oxidación lipoproteica, la función endotelial, la trombosis o la aterosclerosis en general (Llanes, 2017). La capacidad antiadipogénica o hipolipemiente se refiere a cualquier sustancia que tenga la propiedad de disminuir los niveles de lípidos en sangre. Dentro de los hipolipemientes naturales se encuentran la fibra dietética, los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, los fitoesteroles y los antioxidantes (como polifenoles y flavonoides). El consumo de alimentos con estas características puede ayudar a reducir las concentraciones séricas del colesterol total y los triglicéridos (Ramírez et al., 2018).



Los cladodios *Opuntia ficus indica* pueden tener múltiples efectos sobre el metabolismo, en la regulación de la glucosa, lípidos, colesterol total, lipoproteína de alta densidad y lipoproteína de baja densidad, los polifenoles inhiben la enzima lipasa pancreática, la cual cataliza la hidrólisis de los triglicéridos para ser absorbidos por el cuerpo, el nivel de colesterol se reduce y se previene la hiperlipidemia, en un estudio *in vivo* realizado por Padilla et al. (2015) con ratones, se demostró que los niveles de colesterol en la sangre se reducen significativamente de 246.5 mg/dL a 203.1 mg/dL al utilizar *Opuntia ficus indica* (Padilla et al., 2015). En otro estudio de Morán et al. (2017) con ratas obesas, se observó, que el consumo de nopal deshidratado al 4% durante dos semanas dio lugar a niveles de colesterol sérico total más bajo (de 96.8 mg/dL a 84.6 mg/dL). Estos cambios sugieren un efecto en la función hepática al disminuir la acumulación de triglicéridos y la peroxidación de ácidos grasos, reduciendo así el estrés oxidativo hepático (Morán et al., 2017). La eficacia *in vivo* de la fibra de nopal en la pérdida de peso, se analizó, durante un estudio llevado a cabo por Uebelhack et al. (2014) donde se mostró que los sujetos de una población con sobrepeso u obesidad que consumieron 2 tabletas de 500 mg c/u de fibra estandarizada de nopal durante 45 días experimentaron una pérdida de peso significativa en comparación con el grupo placebo, debido a la unión de la grasa a la fibra, con una reducción en la absorción de la grasa, lo que aumentó significativamente la excreción de grasa fecal. En general los estudios realizados *in vivo* para evaluar el efecto antiadipogénico del nopal, se han enfocado a poblaciones de adultos y jóvenes a partir de los 18 años, por lo que se pretende poder evaluar este efecto en la población infantil que presenta sobrepeso u obesidad.

#### **4.6.1. *Caenorhabditis elegans* como modelo para evaluar resistencia al estrés oxidativo y capacidad antiadipogénica *in vivo***

En los últimos años, diversos grupos de investigación han comenzado a utilizar el nemátodo *C. elegans* como organismo modelo para desarrollar estudios *in vivo* con distintos fitoquímicos, ya que se trata de un modelo con múltiples posibilidades, que ofrece una serie de ventajas respecto a otros modelos animales. Es el animal multicelular mejor caracterizado a nivel genómico, embriológico, neurobiológico y celular, su fácil manejo, bajo costo y su ciclo de vida corto permiten la rapidez y facilidad de trabajo de un microorganismo, pero con

las ventajas de un modelo animal real, por lo que constituye un buen modelo para estudios relacionados con estrés oxidativo, metabolismo calórico y longevidad (Surco et al; 2011). *Caenorhabditis elegans* es un nemátodo no parásito, de vida libre, que vive normalmente en el suelo, se alimenta de microorganismos como bacterias (p.ej., *E. coli*) y hongos. Es hermafrodita auto fertilizante, lo que hace posible cultivarlo en el laboratorio en grandes cantidades, tanto en medio líquido como en placas Petri, y propagar rápidamente diversas formas mutantes de una manera fácil y barata (Surco et al., 2011). Los nematodos adultos miden alrededor de 1 mm de longitud y 70  $\mu$ m de diámetro, y, por lo tanto, sólo requieren un pequeño espacio para su mantenimiento, sus movimientos están restringidos a suaves ondas sinusoidales, no emiten olor intenso y su apariencia transparente facilita su manipulación y observación. (Surco et al., 2011). Otra de las ventajas de *C. elegans* como modelo animal de estudio, es su corto ciclo de vida, desde huevo a adulto transcurren 3.5 d a 20 °C, con un intervalo que oscila entre 2.5 d a 25 °C, hasta 6 d a 15 °C. La puesta de huevos se produce a lo largo de un periodo de 4 d y cesa alrededor de los 5 d. El promedio de vida varía de 9 d (25.5 °C) a 35 d (10 °C), con una vida media a 20 °C entre 11 y 17 d (Surco et al; 2011).

#### **4.7. Aceptación sensorial de productos alimenticios formulados con cladodios en polvo**

Hoy en día, las personas ingieren alimentos no sólo para cubrir sus necesidades nutricionales; también solicitan alimentos saludables, naturales y convenientes con actividad biológica y que, además sean agradables sensorialmente. Por esta creciente demanda de los consumidores, se hacen muchos estudios para mejorar los productos alimenticios mediante cambios en la composición química, en este sentido, el nopal puede reemplazar una parte de la harina de trigo en la preparación de productos de panadería para aumentar el contenido de fibra dietética y reducir el riesgo de enfermedades degenerativas (Bejarano et al., 2014).

Con relación a estudios realizados para evaluar la respuesta sensorial en productos elaborados con harina de nopal, Bautista et al. (2010) evaluaron un panqué hecho con harina de nopal al 10%, en la evaluación participaron 60 personas y los resultados para las variables olor, color, sabor y textura mostraron valores por arriba de 8 (Me gusta mucho). En otro estudio llevado a cabo por Msaddak et al. (2015), donde evaluaron galletas adicionadas con 5% de nopal en polvo, las propiedades sensoriales (color, olor, sabor, crujiente, masticabilidad y aceptabilidad general) fueron evaluadas dando un producto con gran

aceptación. En otro estudio hecho por Castillo et al. (2013) con alfajores formulados con harina de nopal al 9.8%, se tuvo una aceptabilidad general por arriba del 90%. Otro estudio llevado a cabo por Attanzio et al. (2019) fortificaron pasta de harina de trigo con 20% de harina de nopal, evaluaron olor, sabor, textura y calidad general, por medio de una escala hedónica de 9 puntos, la aceptación fue casi de 7 puntos. Nabil et al. (2020), sustituyeron harina de trigo por harina de nopal en un 25, 50, 75 y 100% para elaborar galletas, con una aceptación similar al control, para la galleta con una sustitución del 25%. De igual forma en un estudio de Dick et al. (2020), donde se prepararon galletas tipo crackers sin gluten, se probó una concentración de 5, 10 y 15% de harina de nopal y 2% de mucílago de nopal con muy buena aceptación.

Por consiguiente, el nopal en polvo puede ser utilizado para formular distintos productos alimenticios más saludables por sus niveles de compuestos antioxidantes presentes, así como por su alto contenido de fibra que puede ayudar a prevenir la diabetes tipo 2 y en el control de peso, sus propiedades nutricionales y su alto potencial tanto para aplicaciones en la salud como en la industria alimentaria sigue siendo un nicho importante de investigación (Bejarano et al., 2014).

## **5. Metodología**

### **5.1. Materia vegetal y preparación de las muestras**

Los cladodios de *Opuntia ficus indica* variedad Atlixco fueron colectados en marzo 2022 en el municipio de Atlixco, Puebla (1,834 *m.a.s.l.*; 18° 54' 4.935''N 98° 27' 11.346''W) los cuales estaban libres de pesticidas y/o fertilizantes sintéticos. Se clasificaron según su grado de madurez (d) y tamaño (cm) en 30 d con 12 a 15 cm, 45 d con 20 a 22 cm y 60 d con 30 cm o más. Se llevó a cabo el despinado manual con un cuchillo de acero inoxidable, se lavaron con agua potable y se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 10%, posteriormente se cortaron a lo largo en tiras de 2 cm, se llevó a cabo el secado en un horno de convección a 45°C durante 30 h (MAPSA, HDP-334, México), se procedió al molido (WARING, blender 7011 HS, USA) y los polvos obtenidos de los diferentes estados de maduración se guardaron en frascos cerrados a 25°C.

### **5.2. Análisis químico proximal**

La caracterización de los cladodios en polvo se llevó a cabo por triplicado cada análisis de acuerdo con los métodos de la A.O.A.C. Se evaluó, humedad, proteína, grasa total, cenizas y fibra dietética total, fibra dietética insoluble y fibra dietética soluble. El contenido de humedad se determinó por el método 950.46, el contenido de ceniza por el método 31.012. El contenido total de nitrógeno se determinó mediante el método micro-Kjeldahl 2001.11, y posteriormente se calculó el contenido total de proteína utilizando un factor de 6.25. El contenido de grasa cruda se determinó mediante el método 920.3 (BUCHI, E-500, Flawil, Suiza). Las determinaciones de fibra dietética total, fibra dietética insoluble y fibra dietética soluble fueron realizadas por un método enzimático-gravimétrico 991.43 (enzimas Merck, 112979, Alemania) y el procedimiento de Prosky et al. (1992).

### **5.3. Tamaño de partícula**

El tamaño de partícula para los diferentes grados de maduración se llevó a cabo en un equipo analizador de difracción laser de partícula que cuenta con dos laser, 1x Rojo 780 nm / 2x

Azul 405 nm (Bluewave, Microtrac SDC, USA). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

#### **5.4. Determinación de la composición mineral por ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy)**

El análisis de la composición mineral para Potasio (K), Calcio (Ca), Fósforo (P), Magnesio (Mg), Sodio (Na) y Hierro (Fe) presente en el extracto de cladodios de 60 d se realizó siguiendo la metodología descrita en AOAC 2011.14. Se llevó a cabo la digestión ácida de una muestra de 0.5 g en 45 mL de agua destilada con 10 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado, se realizó en un microondas CEM MDS Mars 6 One Touch Technology (Carolina del Norte, USA). La muestra se calentó a 200°C durante 15 min, se enfrió, se agregaron inmediatamente 3 mL de agua destilada, se transfirió a un matraz aforado y se diluyó con 50 ml de agua destilada. Las muestras se analizaron utilizando un ICP-OES Agilent 5110 (Santa Clara, CA, USA), equipado con una llama de argón, una cámara de pulverización tipo Scott y un nebulizador de flujo cruzado. Se utilizó un inyector automático con una sonda de muestra de cuarzo para evitar la contaminación cruzada de las muestras. Las condiciones de trabajo del equipo fueron potencia RF 1100W, flujo nebulizador 0.950 L/min, flujo auxiliar 1.0 L/min, flujo de muestra 1.0 mL/min, flujo plasmático 15 L/min y tiempo de equilibrio de 5 s. Se prepararon curvas de calibración C de K, Ca, P, Mg, Fe y Na, y las mediciones se realizaron por duplicado. Los resultados se analizaron utilizando el software ICP Expert 7.5.1 (Agilent Technologies Inc., USA).

#### **5.5. Obtención de extractos para cuantificación y perfil de polifenoles, y capacidad antioxidante**

La obtención de los extractos se realizó según la técnica de Santiago et al. (2018) con ligeras modificaciones, se obtuvieron los extractos para los diferentes grados de maduración de los cladodios. A cada muestra de 2 g, se le agregaron 25 mL de metanol/agua (50:50) , se colocaron en un baño de ultrasonido (Branson, M1800H-E, USA) durante 30 min, posteriormente se centrifugaron a 2200 x g durante 10 min (Centrífuga Z 366K, HERMLE Labortechnik, Alemania), se recolectaron los sobrenadantes, se realizó una segunda

extracción con 25 mL de acetona:agua (70:30), los sobrenadantes se mezclaron y se filtraron a través de un papel filtro Whatman No. 1 y se concentraron en un evaporador rotatorio (R-300, Buchi, Flawil, Suiza). Los extractos se guardaron a -80°C hasta su uso.

### **5.5.1. Determinación de polifenoles totales**

Los polifenoles totales se cuantificaron a través del método colorimétrico Folin-Ciocalteu (Ereifej et al. 2016). Para ello, se preparó una solución del reactivo Folin-Ciocalteu 0.1 M (Hycel, México) y agua. En un tubo de ensayo se colocaron 1 mL de la solución anterior, se adicionaron 100 µL de extracto y se incubó durante 6 min, posteriormente, se agregó 1 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5% y se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 90 min. El blanco se preparó con agua destilada en lugar del extracto. Las muestras se analizaron por espectrofotometría a 765 nm (Espectrofotómetro UV-Vis 1900i, Shimadzu, Japón). Se preparó una curva de calibración con ácido gálico (Sigma-Aldrich, México; 0-500 ppm) y la concentración de fenoles totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de peso seco. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

### **5.5.2. Capacidad antioxidante *in vitro* por DPPH Y ABTS**

#### ***DPPH (2,2-difenil-1-picrylhidrazil)***

La capacidad antioxidante se determinó por el método desarrollado por Brand-Williams et al. (1995) con algunas modificaciones, se añadieron 200 µL del extracto a 2 mL de la solución etanólica de DPPH, se mezcló e incubó durante 30 min a temperatura ambiente. La absorción se midió a 517 nm (Espectrofotómetro UV-Vis 1900i, Shimadzu, Japón). Se preparó una curva de calibración con trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico; Sigma-Aldrich, México) en etanol. Las soluciones de trolox (0-155 ppm) se sometieron al mismo tratamiento con DPPH, previamente descrito. Se graficó la concentración de trolox contra el porcentaje de inhibición. Los resultados se expresaron como mg de trolox por 100 g de peso seco. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

#### ***ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etil-benzo-tiazolina-6-ácido sulfónico)***

La capacidad antioxidante por el método del ABTS se realizó de acuerdo al método desarrollado por Re et al. (1999) con algunas modificaciones. Se prepararon 5 mL de una solución acuosa de ABTS (Sigma-Aldrich, México) 7 mM. Se generó el radical catiónico ABTS<sup>•+</sup> al hacer reaccionar la solución stock de ABTS con K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 2.45 mM, se dejó reposar a temperatura ambiente en la oscuridad durante 12-16 h. Posteriormente, la solución se diluyó con etanol absoluto hasta obtener una absorbancia de  $0.70 \pm 0.02$  a 754 nm (Espectrofotómetro UV-Vis 1900i, Shimadzu, Japón), la cual se registró como la absorbancia inicial. Se mezclaron 3920 µL de la solución diluida de ABTS<sup>•+</sup> con 80 µL del extracto, y se midió la absorbancia a los 6 min. Se preparó una curva de calibración con trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico; Sigma-Aldrich, México) en etanol. Las soluciones de trolox (0-102 ppm) se sometieron al mismo tratamiento con ABTS<sup>•+</sup>, previamente descrito. Se graficó la concentración de trolox contra el porcentaje de inhibición. Los resultados se expresaron como mg de Trolox por 100 g de peso seco. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

### **5.5.3. Perfil de polifenoles por LC-ESI-MS/MS (Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry)**

Antes del análisis cromatográfico, el extracto de cladodios 60 d se filtró a través de una jeringa acoplada a un filtro de nylon de 0.2 µm. Los compuestos fenólicos se identificaron y cuantificaron utilizando un equipo Waters de cromatografía líquida-espectrómetro de masas (Milford, MA, USA). Para la separación de compuestos, se utilizó un Acquity UPLC BEH C18 (columna de 2,1 x 100 mm, 1,7 µm). La columna se mantuvo a 40°C y las fases móviles fueron (A) 0.1% v/v ácido fórmico en agua y (B) 1% v/v ácido fórmico en metanol. Se utilizó un caudal de 0.45 mL/min y un volumen de inyección de 5 µL. El equipo utilizado para la identificación y cuantificación fue un espectrómetro de masas Quattro Premier XE de triple cuadrupolo equipado con una doble interfase de ionización por electrospray (ESI), trabajando en modo de iones negativos. Para la cuantificación de compuestos fenólicos, se prepararon tres curvas de calibración (4-50 µg/mL) utilizando ácido gálico, ácido vanílico y rutina (Sigma-Aldrich, México). Los polifenoles se identificaron por sus tiempos de retención y patrones de fragmentación de espectrometría de masas.

## 5.6. Modelo biológico *Caenorhabditis elegans*

Para realizar los estudios *in vivo* se empleó la cepa silvestre (Bristol N2) del nemátodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), el cual se alimentó con la bacteria *Escherichia coli* OP50. Ambos organismos se obtuvieron en el Departamento de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad de las Américas Puebla. Los nemátodos se mantuvieron a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  en cajas Petri con el medio de cultivo NGM (Nematodo Growth Medium). Como paso previo, se llevó a cabo la sincronización de nematodos, el cual, es el proceso para obtener nematodos en el mismo estado larvario (huevos) al momento de realizar los ensayos experimentales. Para ello, los nematodos en etapa adulta (tercer día), se lavaron con la solución M9 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6 g/L;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 g/L; NaCl 5 g/L;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.215 g/L), se depositó el contenido en microtubos eppendorf y se centrifugo a  $2034 \times g / 4^\circ\text{C} / 1 \text{ min}$  (centrífuga Z 366K, HERMLE Labortechnik, Alemania). El paso anterior se repitió dos veces (Stiernagle, 2006). Se retiró el sobrenadante y se agregó 1 mL de NaOH 1M, se agito en un vórtex (Vortex-Genie 2 G560, Scientific Industries, E.E. U.U.) durante 30 s y se centrifugó bajo las mismas condiciones, se retiró el sobrenadante, se agregaron 500 mL de NaOH 1M y 500 mL de NaClO 5%, se agitó en el vórtex durante 60 s y se centrifugó bajo las mismas condiciones descritas. Se eliminó el sobrenadante, se adicionó 1 ml de la solución M9 y se centrifugó a  $3015 \times g / 4^\circ\text{C} / 1 \text{ min}$ , el paso anterior se repitió dos veces. Finalmente, se retiró el sobrenadante y el botón obtenido se depositó en placas de NGM suplementadas con *E. coli* OP50. Las placas se incubaron a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  (Surco-Laos et al., 2011).

### 5.6.1. Resistencia al estrés oxidativo

Se llevaron a cabo diferentes ensayos de estrés oxidativo con los nemátodos sincronizados, se estudió, un grupo control sin antioxidante, un grupo con antioxidante (trolox 225  $\mu\text{g}$ ) y dos grupos con el extracto del nopal de 60 días de maduración (110  $\mu\text{g}$  y 220  $\mu\text{g}$ ). Cada grupo de nemátodos se incubó a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  hasta alcanzar la etapa L4 (2-2.5 días), se transfirieron  $60 \pm 5$  nemátodos de cada grupo a placas de NGM con juglona (5 hidroxí-1,4-naftoquinona; Sigma-Aldrich, México) 400  $\mu\text{M}$ , la cual induce estrés oxidativo mortal (Sangha et al., 2013). Se evaluó la supervivencia de los nemátodos por medio de la observación en un microscopio



estereoscópico (Olympus, SZ-ST, Japón) cada hora consecutivamente durante 8 h, los nematodos se consideraban como muertos si no respondían a la estimulación con un asa de platino (Chen et al., 2013). A la par, los grupos de nemátodos en la etapa L4, se sincronizaron nuevamente y los huevos obtenidos se colocaron en placas con NGM, *E. coli* y en los grupos de estudio, se incubaron a  $22 \pm 2$  °C hasta que se alcanzó la etapa L4 y se evaluó la supervivencia de igual forma que la metodología anterior. Este ensayo se repitió hasta que se evaluó la resistencia al estrés oxidativo de cuatro generaciones continuas (G1, G2, G3 y G4) para cada grupo. Todos los experimentos se realizaron por duplicado. Los resultados se expresaron como porcentaje de supervivencia para cada grupo evaluado.

### **5.6.2. Capacidad antiadipogénica *in vivo***

Se realizaron cuatro experimentos sobre el efecto antiadipogénico con nemátodos sincronizados: un grupo control negativo (sin aceite de soya), un grupo con 1 mg de aceite de soya (Sugawara et al., 2013), un grupo con 1 mg de aceite de soya y extracto de cladodio (60 días de maduración) (110 µg/mL), y un grupo con 1 mg de aceite de soya y cladodio en polvo con 60 días de maduración (2.1 mg/ml). Se realizó una incubación de 37°C/24 h en una placa de Petri con aceite de soya y *E. coli* antes de poner los nematodos sincronizados. Después de la adición de cada solución, la placa se dejó secar completamente. Cada grupo de nemátodos se incubó a  $22 \pm 2$  °C hasta que se alcanzó la etapa L4 (2-2.5 días).

La adipogenicidad de los nemátodos se evaluó mediante tinción de rojo oleoso (OR) de acuerdo con el protocolo descrito por Escorcía et al. (2018) con ligeras modificaciones. Para este propósito, los nemátodos de la etapa L4 se lavaron con 1,000 µL de fosfato tampón salino (PBS) 1X, se transfirieron a un tubo de Eppendorf, se centrifugaron a 3,015 x g / min, se eliminó el sobrenadante y se repitió el paso anterior. Después del lavado, se agregaron 600 µL de isopropanol, se incubaron durante 3 min a temperatura ambiente con agitación constante a 30 rpm y se centrifugaron en las condiciones anteriores. Se retiró el sobrenadante y se añadieron 600 µL de solución OR (5 mg OR/ml de isopropanol), se dejó en agitación constante a 30 rpm y se aisló de la luz durante 2 h. Luego se centrifugó bajo las condiciones descritas y se retiró el sobrenadante. Posteriormente, se agregaron 600 µL de PBS y la muestra se incubó en la oscuridad durante 30 min para eliminar el exceso de tinción. Luego se centrifugó nuevamente y se retiró el sobrenadante, dejando aproximadamente 50 µL, que

se usaron para la visualización bajo un microscopio. Se utilizó un generador de imágenes celulares fluorescentes ZOE (Bio-Rad, USA) para medir la fluorescencia del OR. Se colocaron 5  $\mu$ L de la suspensión de nematodos en un portaobjetos de microscopio, se colocó el cubreobjetos y se selló antes de obtener las imágenes. La evaluación de los lípidos y la intensidad del color, se analizaron utilizando el programa ImageJ para obtener el valor de fluorescencia relativa por área de cada nemátodo.

### 5.7. Formulación y preparación de las galletas funcionales

Para la formulación y elaboración de las galletas, se llevó a cabo un diseño factorial compuesto (**Tabla 4**), con el fin de sustituir un porcentaje de harina de trigo por nopal en polvo (15, 20 y 25%) y, de aceite vegetal por mantequilla (30, 50 y 70%). Las variables evaluadas fueron actividad de agua, color (L, a, b), dureza, contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante por DPPH y evaluación sensorial (color, olor, textura, sabor y aceptación en general).

**Tabla 4.** Diseño factorial para los diferentes porcentajes de harina de trigo/cladodios en polvo y los porcentajes de aceite vegetal/mantequilla

Formulación	NP/WF %	O/B %
1	15/85	70/30
2	25/75	70/30
3	25/75	50/50
4	25/75	30/70
5	15/85	30/70
6	20/80	70/30
7	20/80	30/70
8	20/80	50/50
9	15/85	50/50

NP/WF: nopal en polvo/harina de trigo, O/B: aceite vegetal/mantequilla

Para la preparación de todas las galletas, se utilizó la misma cantidad de los ingredientes restantes. Se cremaron 17.5 a 40.8 g de mantequilla y de 17.5 a 40.8 g de aceite vegetal según el experimento con 33 g de azúcar morena en una batidora Kitchen aid,

posteriormente, se agregó huevo (18 g) y vainilla (2 mL), finalmente, se agregaron las mezclas de nopal en polvo de 15 a 25 g y harina de trigo de 75 a 85 g según sea el caso hasta que se obtuvo una masa tersa y homogénea. La masa resultante se moldeó con rodillo, se cortaron las galletas y se llevó a cabo la cocción a una temperatura de 180°C durante 15 min en un horno de convección ( Zucchelli Forni, Italia). Las galletas se dejaron enfriar y se almacenaron en bolsas herméticas para posteriores análisis.

## **5.8. Características físicas de las galletas**

### **5.8.1. Actividad de agua**

Para la determinación de la actividad de agua ( $a_w$ ), se utilizó un equipo Aqualab 4TEV, se colocó una muestra de galleta en polvo en la charola, y se realizó la determinación en el equipo. Se llevaron a cabo tres determinaciones de cada formulación.

### **5.8.2. Color**

El color se determinó de acuerdo a la técnica descrita por Anchondo et al. (2020). Se colocó la galleta en el plato y se determinó el color de las galletas con ayuda de un colorímetro (Konica Minolta CR-410, Tokio, Japón), se calibro con luz blanca y los valores registrados fueron  $L^*$  (Luminosidad),  $a^*$  (tendencia hacia el verde-, o rojo+) y  $b^*$  (tendencia hacia el azul-, o amarillo +). Se llevaron a cabo tres determinaciones de cada formulación.

### **5.8.3. Dureza**

La dureza se midió con la ayuda de un texturómetro EZ-SX (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón). La fuerza se midió con el dispositivo de corte a la mitad de la galleta, la cuchilla superior se movió hacia abajo a una velocidad de 1 mm/s y con una penetración de 5 mm, midiendo la fuerza máxima requerida para romper la muestra. El valor de la dureza se expresó en Newton (N). Se llevaron a cabo cinco determinaciones de cada formulación.

## **5.9. Determinación de polifenoles totales y capacidad antioxidante por DPPH, de las galletas**

### **5.9.1. Obtención de extractos para cuantificación de polifenoles totales, y capacidad antioxidante**

Los extractos se obtuvieron mediante la técnica descrita por Santiago et al. (2018), con ligeras modificaciones. A 2 g de galleta de cada formulación, se le agregaron 25 mL de metanol/agua (50:50), se colocaron en un baño de ultrasonido (Branson, M1800H-E, USA) durante 30 min, posteriormente se centrifugaron a  $2200 \times g$  durante 10 min (Centrífuga Z 366K, HERMLE Labortechnik, Alemania), se recolectaron los sobrenadantes, se realizó una segunda extracción con 25 mL de acetona:agua (70:30), los sobrenadantes se mezclaron y se filtraron a través de un papel filtro Whatman No. 1 y se concentraron en un evaporador rotatorio (R-300, Buchi, Flawil, Suiza). Los extractos se guardaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.

### **5.9.2. Determinación de polifenoles totales**

Los polifenoles totales se cuantificaron mediante el método colorimétrico Folin-Ciocalteu (Ereifej et al. 2016). Para ello, se preparó una solución del reactivo Folin-Ciocalteu 0.1 M (Hycel, México) y agua. En un tubo de ensaye se colocaron 1 mL de la solución anterior, se adicionaron 100  $\mu\text{L}$  de extracto y se incubó durante 6 min, posteriormente, se agregó 1 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 5% y se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 90 min. El blanco se preparó con agua destilada en lugar del extracto. Las muestras se analizaron por espectrofotometría a 765 nm (Espectrofotómetro UV-Vis 1900i, Shimadzu, Japón). Se preparó una curva de calibración con ácido gálico (Sigma-Aldrich, México; 0-500 ppm) y la concentración de fenoles totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de peso seco. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

### **5.9.3. Capacidad antioxidante *in vitro* por DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl)**

La capacidad antioxidante se determinó por el método desarrollado por Brand-Williams et al. (1995) con algunas modificaciones, se añadieron 200  $\mu\text{L}$  del extracto a 2 mL de la solución etanólica de DPPH, se mezcló e incubó durante 30 min a temperatura ambiente. La absorción

se midió a 517 nm (Espectrofotómetro UV-Vis 1900i, Shimadzu, Japón). Se preparó una curva de calibración con trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico; Sigma-Aldrich, México) en etanol. Las soluciones de trolox (0-155 ppm) se sometieron al mismo tratamiento con DPPH, previamente descrito. Se graficó la concentración de trolox contra el porcentaje de inhibición. Los resultados se expresaron como mg de trolox por 100 g de peso seco. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

### **5.10. Evaluación sensorial**

Para la evaluación sensorial de las galletas se utilizó un método afectivo que evalúa la respuesta (preferencia o aceptación) que provoca un producto en los consumidores potenciales. Participaron 30 adultos que evaluaron el color, el sabor, el olor, la textura y la aceptación en general, se utilizó una escala hedónica de 9 puntos, donde el 9 corresponde a “me gusta muchísimo”, 8: “me gusta mucho”, 7: “me gusta moderadamente”, 6: “me gusta poco”, 5: “no me gusta ni me disgusta”, 4: “me disgusta poco”, 3: “me disgusta moderadamente”, 2: “me disgusta mucho” y 1: “me disgusta muchísimo”. Las muestras se colocaron en platos blancos identificadas con números aleatorios de tres dígitos, los participantes se enjuagaban la boca con agua entre cada prueba.

### **5.11. Isotermas de sorción de humedad**

Para la galleta con el mayor puntaje en cuanto al atributo sensorial de aceptación en general, se llevó a cabo la evaluación de las isotermas de sorción de humedad como un parámetro de calidad durante el almacenamiento bajo diferentes niveles de humedad. Se empleó la metodología de Jimenez, et al. (2011), con ligeras modificaciones. Se utilizaron soluciones saturadas de, LiCl (11,3%), CH<sub>3</sub>COOK (22,5%), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (44,3%), Mg (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (53,6%), NaBr (56,6%), NaCl (75,3%), BaCl<sub>2</sub> (90,3%) y K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (97%). Se colocaron 0.5 g de galleta por triplicado dentro de los frascos de vidrio herméticamente sellados, los frascos se colocaron en un ambiente con una temperatura controlada de 25°C. El peso de las muestras se registró cada tres días durante cuatro semanas. Los datos experimentales de sorción de humedad se ajustaron al modelo de GAB. El contenido de humedad se llevó a cabo mediante el método AOAC 950.46.

## 5.12. Composición nutrimental y efecto en la salud, de un alimento funcional en una población infantil con sobrepeso u obesidad

### 5.12.1. Formulación y preparación de galletas

La formulación de las galletas a probar en la población infantil se observa en la **Tabla 5**, la preparación, se llevó a cabo de la misma forma descrita con anterioridad en el punto 5.7.

**Tabla 5.** Formulación para la elaboración de galletas a evaluar en una población infantil.

<b>Ingrediente (gramos)</b>	<b>Galleta Control</b>	<b>Galleta Funcional</b>
Harina de trigo	100	60
Nopal en polvo	-	40
Mantequilla	29.15	29.15
Aceite vegetal	29.15	29.15
Azúcar morena	33.3	33.3
Huevo	18.7	18.7

### 5.12.2. Caracterización de las galletas

El análisis químico proximal se realizó igual que el descrito en la sección 5.2. Para las propiedades físicas de, aw, color y dureza, se utilizaron las mismas técnicas descritas en la sección 5.8. Para la determinación de polifenoles totales y capacidad antioxidante por DPPH, fueron de acuerdo con el punto 5.9. Las isotermas de sorción de humedad, se determinaron con la técnica descrita en el punto 5.11. Para el análisis microbiológico, se almacenaron las galletas durante 21 días a 25°C en un empaque hermético, se realizó el recuento en placa (siembra en profundidad) para hongos y levaduras en el medio de cultivo de Agar Papa-Dextrosa (PDA), mesófilos aerobios en Agar cuenta estándar y coliformes totales en Agar bilis rojo violeta. Los valores obtenidos, se reportaron como Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por gramo.

### 5.12.3. Ensayo de intervención

El ensayo de intervención para evaluar el efecto nutrimental y en la salud de una galleta funcional al incluirla en la dieta de una población infantil con sobrepeso u obesidad, se realizó en el Centro Escolar (CEDAT) en San Andrés Cholula. Como primer punto y poder tener a los adolescentes que cubrieran con el requisito de tener sobrepeso u obesidad, se realizó una evaluación de toda la población estudiantil de la preparatoria turno vespertino (250 alumnos), se realizaron las mediciones antropométricas de: peso, talla, circunferencia de cintura y circunferencia de cadera. El peso se tomó con el paciente sin calzado y de pie en una báscula tanita y se registro en kilogramos, la estatura se determinó con un flexómetro clínico, y se registro en metros. El IMC se obtuvo de dividir el peso en kilogramos sobre la talla en metros al cuadrado ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). La circunferencia de cintura y abdominal se midieron con una cinta flexible, de pie, con el abdomen relajado y los brazos a los lados del cuerpo y los pies juntos. Con los resultados obtenidos, se invitó a participar en el ensayo a los adolescentes con un Índice de Masa Corporal (IMC) entre los percentiles 85-95. (Previa firma del consentimiento informado por parte de ellos y sus padres o tutores, anexo A). El ensayo de intervención realizado fue aleatorio, controlado con placebo (galleta control) y doble ciego, (Nicolucci et al, 2017). Los criterios de exclusión fueron adolescentes con diabetes tipo 1 o 2, enfermedad hepática, anomalías cardiovasculares, uso de medicamentos o antibióticos, intolerancia al gluten o cursen con alguna alergia a los ingredientes de la galleta. Se tuvieron dos grupos: grupo control 1 de 9 niños como blanco, que consumieron galletas sin nopal en polvo y, grupo 2 de 9 niños que consumieron la galleta con nopal en polvo. La ingesta diaria fue de 90 g de galletas, las cuales pesaban 15 g c/u. El consumo de las galletas funcionales proporcionaban el 50 % de la ingesta diaria de fibra dietética total (12.6 g) recomendada por la Organización Mundial de la Salud.

El ensayo se llevó a cabo durante 21 días, se tomaron medidas antropométricas de peso, talla, circunferencia de cintura y circunferencia abdominal, así como los parámetros bioquímicos de colesterol total, triglicéridos y glucosa al inicio y final del estudio. Con respecto a los parámetros bioquímicos de colesterol total y triglicéridos, estos se llevaron a cabo en ayunas por medio del equipo Accutrend® Plus (Roche Diagnostics GMBH,

Mannheim, Alemania), y para la medición de glucosa, se utilizó el equipo Accu-Chek® performa (Roche Diabetes Care Center, GMBH, Mannheim, Alemania), las punciones para todas las mediciones fueron, por medio de un lancetero Accu-Chek® Softclix (Roche, Mannheim, Alemania). El ensayo contó con la aprobación del Comité de ética de la Universidad de las Américas Puebla con el número de registro 065-03-2023, (anexo B).

### **5.13. Análisis estadístico**

Todos los experimentos y análisis de la caracterización, contenido de polifenoles y capacidad antioxidante se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar. La comparación de las medias se analizó mediante análisis de varianza (ANOVA) seguida de la prueba de Tukey para identificar diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las muestras. Los datos se analizaron utilizando el software Minitab (versión 19, Minitab Inc., USA). Para Los resultados obtenidos de sobrevivencia en los nemátodos, se utilizó el programa GraphPad Prism (versión 9.0.0 GraphPad Software, USA).



## 6. Resultados y discusión

### 6.1. Análisis químico proximal

Se llevó a cabo el análisis químico proximal de los cladodios en polvo obtenidos de los diferentes estados de maduración de los cladodios frescos, (30, 45 y 60 días). Los resultados se presentan en la **Tabla 6**. En cuanto al contenido proteico, se encontró una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en cada etapa de madurez (15.53% para los cladodios 30 d, 13.08% para los cladodios 45 d y 11.50% para los cladodios 60 d). Astello et al. (2015), reportaron un valor de 12.6 % para la variedad Atlixco. Hernández et al. (2011), describieron 7.07% para cladodios con 40 d y el 8.39% para cladodios con 60 d, lo cual puede deberse, a la especie y las condiciones ambientales del cultivar. Para el contenido de lípidos, no hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) cuando se analizaron diferentes etapas de madurez. Previamente se han descrito valores que oscilan entre 0.90 y 3% (Hernández et al, 2011; Astello et al, 2015; Rodríguez et al, 2007). Respecto al contenido de cenizas, hubo una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) cuando se compararon los cladodios 30 d y 60 d, previamente se han descrito valores de 14.8 a 16.54% (Astello et al, 2015; Bensadón et al, 2010). No se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el contenido total de fibra dietética (FDT) en las muestras estudiadas, la fibra dietética insoluble en los cladodios 60 d difirió significativamente ( $p < 0.05$ ) de los cladodios 30 d y 45 d y, la fibra dietética soluble no fue significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) en cada etapa de madurez. Varios autores han descrito valores totales de fibra dietética que van de 45 a 66%, fibra dietética insoluble de 32 a 56% y fibra dietética soluble de 5.6 a 12.5% para diferentes cultivares de *Opuntia ficus indica* (Astello et al, 2015; Rodríguez et al, 2007; Dick et al, 2020; Aguilera et al, 2013).

El componente presente en mayor porcentaje en los cladodios en polvo fue la fibra dietética (48.84 a 54.89%). En general, la composición química de los cladodios puede diferir por diversos factores como, la madurez, el tiempo de cosecha, las condiciones ambientales, el tratamiento posterior a la cosecha y el tipo de planta (Santos et al, 2017).

**Tabla 6.** Composición proximal de cladodios en polvo *Opuntia ficus indica* var. Atlixco en diferentes grados de maduración.

Composición (%)*	Cladodios 30 d	Cladodios 45 d	Cladodios 60 d
Humedad	10.52 ± 2.08 <sup>a</sup>	8.03 ± 0.14 <sup>a</sup>	8.52 ± 0.88 <sup>a</sup>
Proteína	15.53 ± 0.92 <sup>a</sup>	13.08 ± 0.40 <sup>b</sup>	11.50 ± 0.56 <sup>c</sup>
Lípidos	1.58 ± 0.06 <sup>a</sup>	2.10 ± 0.63 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.17 <sup>a</sup>
Hidratos de carbono	8.98	9.37	7.88
Fibra Dietética Total (FDT)	48.84 ± 3.89 <sup>a</sup>	52.43 ± 0.71 <sup>a</sup>	54.89 ± 3.76 <sup>a</sup>
Fibra Dietética Insoluble (FDI)	28.63 ± 2.35 <sup>b</sup>	31.1 ± 2.7 <sup>b</sup>	35.25 ± 2.74 <sup>a</sup>
Fibra Dietética Soluble (FDS)	20.21 ± 0.93 <sup>a</sup>	21.33 ± 1.43 <sup>a</sup>	19.64 ± 1.49 <sup>a</sup>
Cenizas	14.55 ± 1.07 <sup>b</sup>	14.99 ± 0.03 <sup>ab</sup>	15.38 ± 0.10 <sup>a</sup>

\*Los valores son la media ± desviación estándar de los triplicados expresados en seco. Diferentes letras en la misma fila son diferentes estadísticamente ( $p < 0.05$ ).

## 6.2. Tamaño de partícula

Se determinó el tamaño de partícula para los cladodios en polvo, por ser un parámetro fundamental que afecta las propiedades funcionales y fisicoquímicas de los productos vegetales en polvo. La granulometría está relacionada con el área superficial, que a su vez afecta la distribución de macronutrientes y componentes funcionales (Nabil et al, 2020). La distribución granulométrica de los cladodios en polvo obtenidos de los diferentes estados de maduración mostró que, los polvos tenían una distribución bimodal. El polvo preparado a partir de los cladodios madurados de 30 días tenía dos fracciones de tamaño, 20-200  $\mu\text{m}$  y 300-550  $\mu\text{m}$ , conteniendo este último un mayor porcentaje de partículas (70%). El polvo de cladodios a los 45 días de maduración mostró dos fracciones de tamaño 20-240  $\mu\text{m}$  y 300-400  $\mu\text{m}$ , con un mayor porcentaje de partículas para esta última fracción (65%), mientras que el polvo de cladodios a los 60 días de maduración mostró dos fracciones de tamaño 15-230  $\mu\text{m}$  y 300-500  $\mu\text{m}$ , con un mayor porcentaje de partículas para la fracción del mayor tamaño (67%). Anchondo et al. (2020), reportó para harina de nopal, tamaños de partícula superiores a 150  $\mu\text{m}$  en un porcentaje mayor. Las partículas más grandes pueden deberse a partículas no disociadas o parcialmente disociadas que se originan en una fracción de cladodios que son más difíciles de moler, como la fibra dietética insoluble (Nabil et al, 2020).

### 6.3. Polifenoles totales y capacidad antioxidante *in vitro*

Los resultados del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante para los extractos obtenidos de los cladodios en polvo, se presentan en la **Tabla 7**. El contenido total de polifenoles de los cladodios después de 30 días de maduración fue de  $1,718.66 \pm 61.63$  (mg GAE/100 g muestra seca), que fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ), que los valores encontrados en los extractos después de 45 y 60 días de maduración ( $2,223.12 \pm 142.66$  y  $2,052.21 \pm 71.94$  mg GAE/100 g muestra seca respectivamente). Hay informes (Santos et al, 2017; Bensadón et al, 2010; Missaoui et al, 2020) de contenido total de polifenoles que oscilan entre 670 y 2,690 (mg GAE/100 g de muestra seca) en diferentes cultivares de *Opuntia*. En términos de capacidad antioxidante *in vitro*, los cladodios con 30 d de maduración tuvieron cantidades significativamente menores ( $p < 0.05$ ) en mg de Trolox/100 g de muestra seca ( $115.72$  y  $623.67$ ). No hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en los cladodios a los 45 d ( $277.26$  y  $824.77$  mg de Trolox/100 g de muestra seca) y 60 d ( $312.14$  y  $785.66$  mg de Trolox/100 g de muestra seca), utilizando los métodos DPPH y ABTS respectivamente. Bensadon et al. (2010), describieron un valor de 1,307 mg de Trolox/100 g de muestra seca para el cultivar Atlixco como capacidad antioxidante utilizando el método ABTS, mientras que Missaoui et al. (2020), describieron valores de 185 y 193 mg Trolox / 100 g de muestra seca para cladodios de *Opuntia ficus indica* por métodos DPPH y ABTS, respectivamente. Las diferencias observadas pueden deberse a la madurez de los cladodios, el tipo de especie y las condiciones ambientales den el lugar donde se producen los cladodios.

**Tabla 7.** Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de cladodios en polvo *Opuntia ficus indica* var. Atlixco con diferentes grados de maduración.

	Cladodios 30 d	Cladodios 45 d	Cladodios 60 d
Compuestos fenólicos totales <sup>A</sup>	$1718.66 \pm 61.63^b$	$2223.12 \pm 142.66^a$	$2052.21 \pm 71.94^a$
Capacidad antioxidante:			
DPPH <sup>B</sup>	$115.72 \pm 25.17^b$	$277.26 \pm 29.64^a$	$312.14 \pm 55.65^a$
ABTS <sup>B</sup>	$623.67 \pm 73.84^b$	$842.77 \pm 35.39^a$	$785.66 \pm 29.52^a$

Los valores son el promedio de los triplicados expresados en base seca  $\pm$  DE. <sup>A</sup>Medido como equivalentes de ácido gálico y expresado como mg GAE/100 g de muestreo de base seca. <sup>B</sup>Expresado en mg de Trolox/100 g de muestra en base seca. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ).

#### 6.4. Contenido mineral

El contenido mineral se determinó a partir de los cladodios en polvo elaborados con cladodios *Opuntia ficus indica* var. Atlixco frescos de 60 d de maduración por ICP-OES. El mineral más abundante fue K ( $4485.64 \pm 51.30$  mg/100 g), seguido de Ca ( $1363.91 \pm 22.10$  mg/100 g), Mg ( $615.78 \pm 7.43$  mg/100 g), P ( $425 \pm 10.27$ ), Na ( $81.55 \pm 1.75$  mg/100 g) y Fe, con la menor cantidad ( $2.27 \pm 0.04$  mg/100 g). Astello et al. (2017), reportaron para el cultivar Atlixco, valores de K 2670 mg/100 g, Ca 627 mg/100 g y P 0.09 mg/100 g, que fueron menores que los detectados en este trabajo. Sin embargo, para Na, el valor descrito fue muy similar (63 mg/100 g), y un valor mayor fue descrito para Fe (8,6 mg/100 g). Por otro lado, Hernández et al. (2011), utilizando ICP-MS para cladodios de 60 días, describieron valores más altos de K, Ca y Fe (7090, 2400 y 10 mg/100 g, respectivamente), valores similares para Mg y P (1120 y 448 mg/100 g), y valores más bajos de Na (30 mg/100 g), en comparación con los resultados de este estudio. Ramírez et al (2011), encontraron concentraciones de K 5648 mg/100g, Ca 1701 mg/100g, Mg 724.93 mg/100 g, Na 112.45 mg/100g, y Fe 3.16 mg/100 g en *Opuntia ficus indica* var. Atlixco, lo cual es consistente con los resultados de este estudio. Por lo tanto, los cladodios en polvo pueden ser una fuente importante de K y Ca en la dieta humana.

#### 6.5. Perfil de compuestos fenólicos por LC-ESI-MS/MS

El perfil de los compuestos fenólicos para el extracto de cladodios en polvo 60 d de *Opuntia ficus indica* var. Atlixco se realizó utilizando LC-ESI-MS/MS. En total, se analizaron 18 metabolitos de acuerdo a sus tiempos de retención y espectros de masas. La presencia de los ácidos piscídico y eucómico fue notable, con concentraciones de 1027.6 y 700.47 mg/100 g respectivamente (**Tabla 8**), seguidos en cantidad por los derivados de isorhamnetina (148.17 mg/100 g), narcisina 68.33 mg/100 g y, en menores cantidades, rutina y ácido salicílico-hexósido (10.48 y 9.97 mg/100g, respectivamente). Varios autores han descrito la presencia

de ácidos piscídicos y eucómicos y derivados de isorhamnetina en diferentes especies de *Opuntia*. Por ejemplo, Missaoui et al. (2020), identificaron el ácido piscídico (984.6 mg/100 g) y los derivados de isorhamnetina (393.3 mg/100 g) como los metabolitos más abundantes en *Opuntia ficus indica*, y una menor concentración de ácido eucómico (48.8 mg/100 g). De la misma manera, Blando et al. (2019), describieron mayores concentraciones de ácido piscídico en cladodios maduros (328.1 mg/100 g), seguido de ácido eucómico (161.0 mg/100 g), y una concentración de 75.2 mg/100 g para la rutina, esta última superior a la descrita en este estudio. Sin embargo, se encontraron valores más bajos para los derivados de isorhamnetina (45.3 mg/100 g). Astello et al. (2015), describieron concentraciones más altas de ácido eucómico y algunos derivados de isorhamnetina en diferentes especies mexicanas de *Opuntia*, y niveles más bajos de ácido clorogénico.

**Tabla 8.** Perfiles fenólicos analizados por LC–ESI-MS/MS en *Opuntia ficus indica* var. Atlixco.

<b>Compuesto</b>	<b>RT</b>	<b>mg/100g db<sup>A</sup></b>
Ácido protocatecúico-hexósido	7.528	1.80 ± 0.05
Ácido piscídico	7.797	1027.60 ± 22.07
Ácido salicílico hexósido	9.353	9.97 ± 0.08
Ácido caféico hexósido	9.731	1.0 ± 0.01
Ácido eucómico	10.206	700.47 ± 20.13
Ácido ferúlico C-hexósido	10.639	2.04 ± 0.01
Derivado de ácido ferúlico	11.01	0.38 ± 0.01
Ácido sinápico hexósido	11.023	0.76 ± 0.02
Isorhamnetina 3-O-glucósido	12.933	15.24 ± 0.07
Rutinósido de isorhamnetina ramnosil	12.939	82.23 ± 0.07
Isorhamnetina glucosil rhamnosil pentósido	13.202	41.63 ± 0.60
Narcissina	15.284	68.33 ± 0.07
Isorhamnetina glucósido	16.086	9.07 ± 0.07
Ácido clorogénico	9.817	0.15 ± 0.01
Ácido caféico	10.913	0.59 ± 0.01
Cloruro de delphinidina	11.812	1.81 ± 0.01
Ácido p-coumárico	13.466	2.44 ± 0.01
Rutina	13.564	10.48 ± 0.05

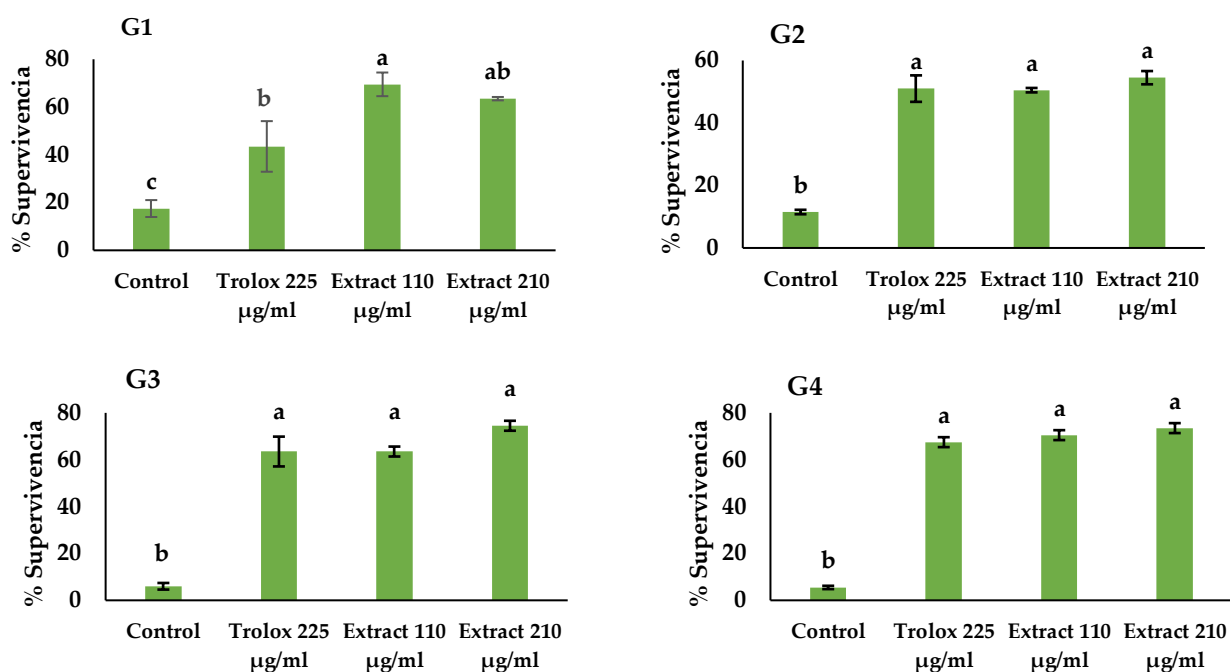
<sup>A</sup> Los valores son el promedio de duplicados expresado en base seca ± SD. RT, Tiempo de retención.

De acuerdo con Santos et al. (2011), en diferentes especies de *Opuntia* estudiadas, los compuestos en alta concentración fueron derivados de isorhamnetina, con valores de 5.89 a 72.62 mg/100 g. De Santiago et al. (2018), han identificado derivados de isorhamnetina y ácido eucómico en estudios de bioaccesibilidad realizados mediante digestión gástrica e intestinal simulada. El-H awari et al. (2020), informaron la presencia de varios derivados de isorhamnetina y ácidos eucómico, piscídico, p-cumárico, sinápico y ferúlico. Asimismo, estudiaron el efecto neuroprotector de los extractos de cladodio sobre la neurotoxicidad inducida por AlCl<sub>3</sub> en ratones, donde una administración diaria de 100 mg/kg del extracto durante 6 semanas contrarrestó la inflamación neuronal y el estrés oxidativo inducido por AlCl<sub>3</sub>, también mejoró las funciones de aprendizaje y memoria de los animales de experimentación. Ressaissi et al. (2017), estudiaron los efectos de los derivados de isorhamnetina y ácido piscídico de los cladodios de *Opuntia ficus indica* sobre la hipercolesterolemia al reducir la permeabilidad del colesterol a través de la monocapa celular en un 38%.

## 6.6. Resistencia al estrés oxidativo

La resistencia al estrés oxidativo *in vivo*, se evaluó, utilizando un extracto de cladodios en polvo elaborado con cladodios de 60 d de maduración. Los cladodios con este tiempo de maduración y, debido a su tamaño (> 30 cm), son difíciles de comercializar, pero su contenido total de polifenoles y su capacidad antioxidante *in vitro* los convierten en un producto viable para aplicaciones alimentarias funcionales. Para los estudios realizados en las cuatro generaciones de *C. elegans*, el compuesto de Trolox, un análogo de la vitamina E, se utilizó como un antioxidante de control estudiado previamente para revertir el daño oxidativo en el nemátodo y extender su vida (Zhang et al, 2018). La **Figura 1** muestra el porcentaje de nemátodos supervivientes en las cuatro generaciones (G1-G4) después de la exposición a una dosis letal de juglona (prooxidante natural). Los resultados mostraron que el tratamiento con Trolox (225 µg/mL) y dos concentraciones de extracto en polvo de cladodios 60 d (110 y 210 µg/mL) fueron significativamente diferentes de las del grupo control ( $p < 0.05$ ). En la primera generación de nemátodos (G1), se encontró una diferencia significativa entre los tratamientos con Trolox y extracto de cladodio 110 µg/mL, mientras que no se encontró diferencia con 210 µg/mL de extracto de cladodio. En las generaciones posteriores, no se encontraron

diferencias entre los tratamientos con Trolox y las dos concentraciones de extracto diferentes. Los resultados obtenidos indican que el extracto de cladodio aumentó la supervivencia y la resistencia contra el estrés oxidativo en *C. elegans* a partir de una dosis de 100 µg/mL, que es inferior a la dosis protectora de Trolox.

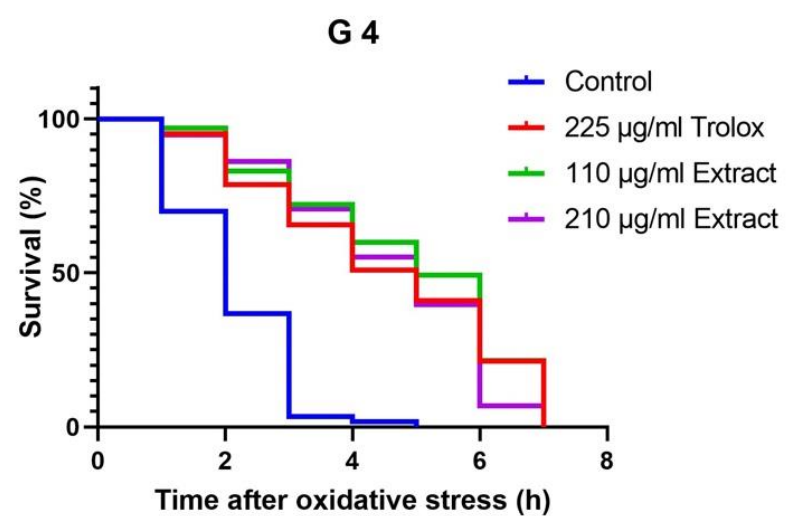
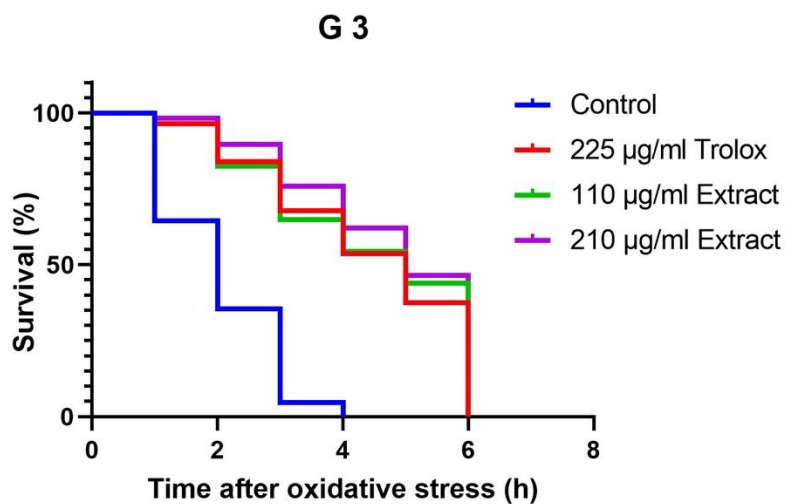
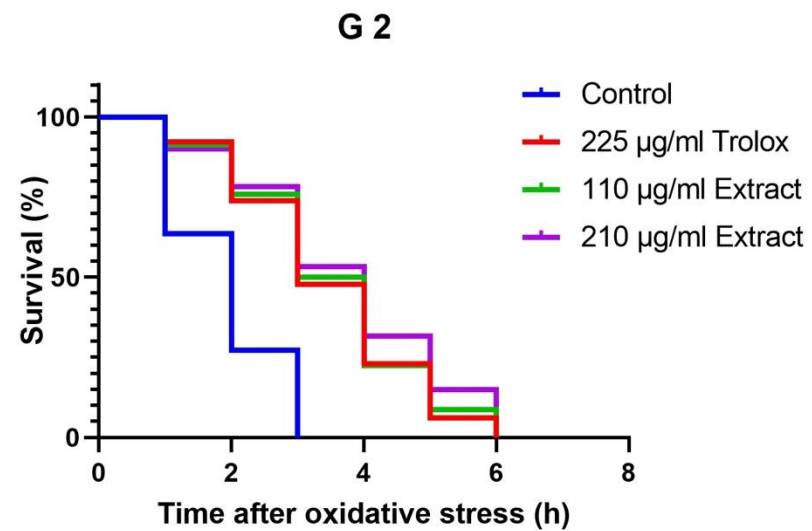
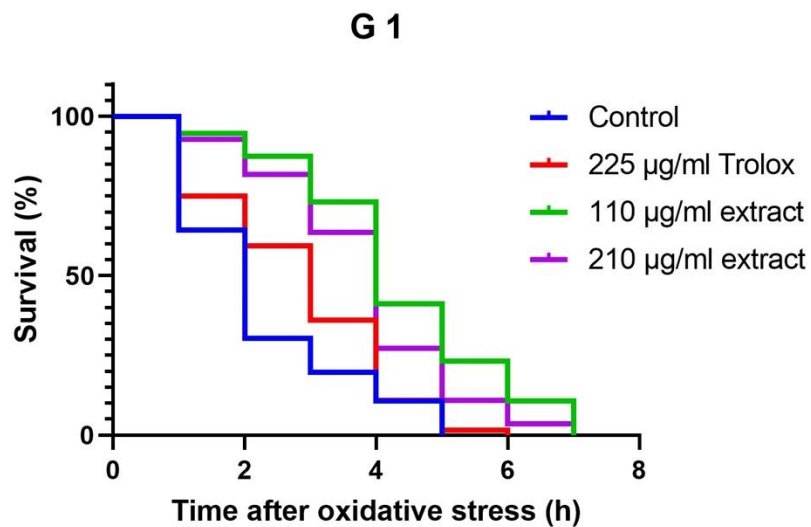


**Figura 1.** Efecto de los tratamientos sin antioxidantes (Control), Trolox y extracto de cladodios sobre los porcentajes de supervivencia tras el estrés oxidativo inducido por juglona en *C. elegans*. Primera (G1); segunda (G2); tercera (G3) y cuarta generación (G4). Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

La **Figura 2** muestra las curvas de supervivencia de los grupos de tratamiento en comparación con el grupo control, trazadas según el modelo de Kaplan-Meier. Para la primera generación de nemátodos (G1), el tiempo hasta la muerte (h) fue el mismo que el de los tratamientos probados. En contraste, para las generaciones posteriores, el tiempo de supervivencia fue significativamente mayor para los nemátodos tratados con Trolox y / o extractos de cladodios. Experimentos similares con compuestos fenólicos presentes en extractos de plantas mostraron un aumento en la vida útil de *C. elegans* de una manera dependiente del factor de transcripción DAF-16, el cual es un homólogo humano de FOXO.

Las proteínas FOXO están asociadas con la longevidad en humanos y promueven la salud neuronal (Moliner et al, 2018).





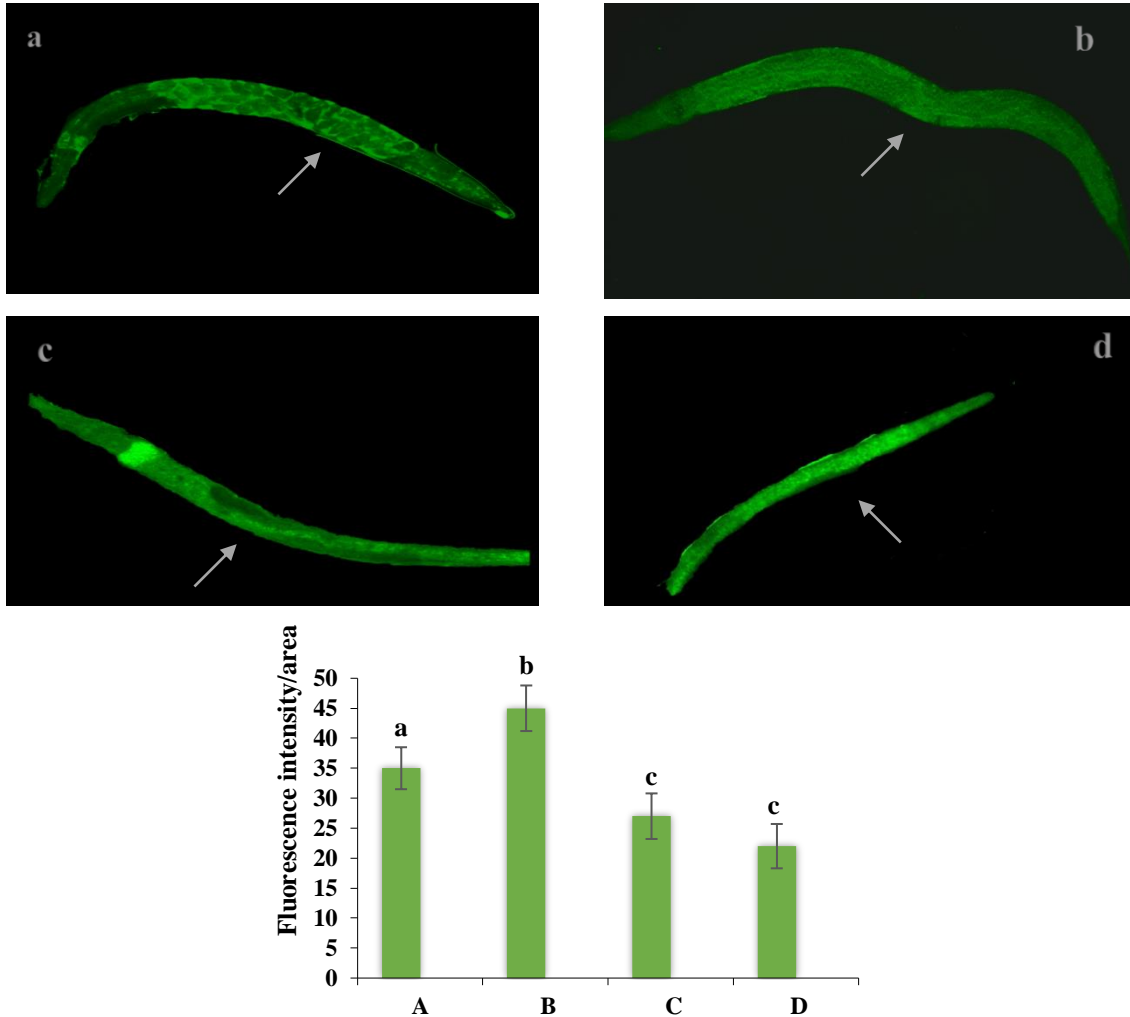
**Figura 2.** Curvas de supervivencia de *C. elegans* sin antioxidante (Control), Trolox, y extractos de cladodio después del estrés oxidativo inducido por juglona. Primera (G1); segunda (G2); tercera (G3) y cuarta generación (G4).

## 6.7. Capacidad antiadipogénica *in vivo*

La evaluación de la capacidad antiadipogénica *in vivo*, se realizó por medio de un estudio cualitativo de la acumulación y distribución de lípidos en el nemátodo *C. elegans* mediante tinción con el colorante rojo aceite, ya que su naturaleza hidrofóbica facilita la solubilidad en lípidos, reduce la interacción con los tejidos circundantes, permite la observación y comparación del tamaño de los glóbulos de grasa, y la intensidad del color indica una mayor acumulación de reservas de grasa en su estructura (Sugawara et al, 2013). Los resultados mostraron que el grupo control sin aceite (**Figura 3**) presentó la misma composición corporal en términos de la morfología de los glóbulos de grasa y la intensidad del colorante. Sin embargo, en el grupo con aceite de soya, los glóbulos de grasa fueron más grandes, formando una capa más gruesa en las cuatro generaciones de nemátodos. Finalmente, para el tratamiento combinado con aceite y extracto de cladodio, los glóbulos de grasa fueron más pequeños y uniformes a lo largo de las cuatro generaciones, y, para el tratamiento combinado con aceite y cladodio en polvo, se observó una menor deposición de grasa con pequeñas células uniformes, con una tinción más homogénea y clara. A partir de estos resultados, es evidente que tanto el extracto de cladodio como el polvo de cladodio de *Opuntia ficus indica* var. Atlixco pueden modular la adipogénesis a través de la complejión y morfología de glóbulos grasos en *C. elegans*.

Diferentes estudios han descrito beneficios en el modelo de *C. elegans* en términos de deposición de grasa intestinal de varios compuestos bioactivos. Zheng et al. (2010), describieron una reducción en la intensidad de fluorescencia del rojo Nilo de 76.5% con almidón resistente y de 63.6% con ácidos grasos de cadena corta.

Del mismo modo, Gao et al. (2015), observaron en estudios llevados a cabo con avena, la deposición de grasa intestinal y mejora en la salud de *C. elegans* a través de un mecanismo que involucra el gen *DAF-2*, el cual codifica para un receptor similar a la insulina. Rodrigues, et al. (2018), informaron que un extracto de *Salvia hispanic* L. (chía) redujo los triglicéridos y las gotas de lípidos en nemátodos obesos al proporcionar resistencia antioxidante. Yue et al. (2021), proporcionaron una visión general del uso de *C. elegans* como modelo animal en el estudio de la obesidad, dado que las vías metabólicas de la grasa en mamíferos están bien conservadas en nemátodos mostrando el comportamiento de preferencia alimentaria regulada por varias señales neurológicas comparables a las humanas.



**Figura 3.** Imágenes de ensayo antiadipogénico en *C. elegans*. Las flechas indican gotas de grasa en el intestino. Grupo de control (a), tratamiento de aceite (b), tratamiento combinado de aceite y extracto (c) y tratamiento combinado de aceite y cladodio en polvo (d). El Histograma muestra los valores relativos de los lípidos por área de cada grupo de nemátodos. Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

## 6.8. Características de las galletas

### 6.8.1. Propiedades físicas

#### Actividad de agua

La determinación de la actividad de agua ( $a_w$ ), para las diferentes formulaciones de galletas, mostraron valores en un intervalo de 0.20 a 0.29, y la galleta control mostró un valor de 0.14

(**Tabla 9**), estos valores, pueden indicar que las galletas son estables al deterioro químico ( $a_w < 0.5$ ), ya que presentan un nivel bajo de agua disponible para reacciones enzimáticas y/o microbiológicas (Uriarte et al. 2021). La diferencia en el  $a_w$  del control con relación a las galletas formuladas con cladodios en polvo puede deberse al contenido de fibra dietética presente, ya que esta tiene una mayor capacidad de retención de agua. Los valores  $a_w$ , mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) según el tipo de formulación, el  $a_w$  mayor, fue para una de las fórmulas con el mayor contenido de cladodios en polvo (25%), pero de igual forma, se presentaron los valores más altos de  $a_w$  para las fórmulas con 15 y 20% de nopal en polvo, pero que tenían el mismo porcentaje de aceite vegetal/mantequilla (30/70), por lo que un mayor contenido de mantequilla, también influyó en el  $a_w$  de las galletas. Los valores más bajos, fueron para las galletas con un mayor porcentaje de aceite vegetal/mantequilla (70/30). Valores similares, fueron reportados por Uriarte et al. (2021) (0.25 a 0.41) para galletas elaboradas con amaranto, champiñones y cladodios en polvo.

### **Color**

La determinación de color en las diferentes formulaciones de galletas, ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) (**Tabla 9**), presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Para el parámetro de color  $L^*$ , se presentó una disminución en el valor, con relación al control (67.52), el valor más bajo fue para las galletas con 25% de cladodios en polvo. Los valores de  $a^*$  y  $b^*$  también disminuyeron con relación al control (5.83 y 29.36 respectivamente). Los valores más bajos de  $a^*$ , fueron para las galletas con 20% de cladodios en polvo y un porcentaje O/B de 50/50. El valor de  $b^*$  más bajo fue para la galleta con 25% de cladodios en polvo. Estos valores indican que el color amarillo de las galletas cambió hacia un color verdoso, lo que puede deberse al contenido de clorofila y otros compuestos presentes en los cladodios en polvo Nabil et al. (2020).

### **Dureza**

La prueba de dureza, llevada a cabo en las diferentes formulaciones de galletas (**Tabla 9**), mostró una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), entre la galleta control (5.56) y la formula con 25% de cladodios en polvo y un porcentaje O/B de 30/70, con un aumento en la dureza de la galleta (12.5 N). No hubo una diferencia significativa entre el control y las fórmulas con el

número 8 y 9. Para las otras galletas, se observó que no hay una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en las formulaciones con el número 2,5 y 6. En general, las fórmulas con un mayor contenido de cladodios en polvo causaron un aumento en la dureza de las galletas, aunque no de una manera drástica. Datos similares fueron reportados por Msaddak et al. (2015), en galletas elaboradas con cladodios en polvo, en donde al aumentar el porcentaje de estos, se incrementó la dureza de las galletas.

### **6.8.2. Compuestos bioactivos en las galletas**

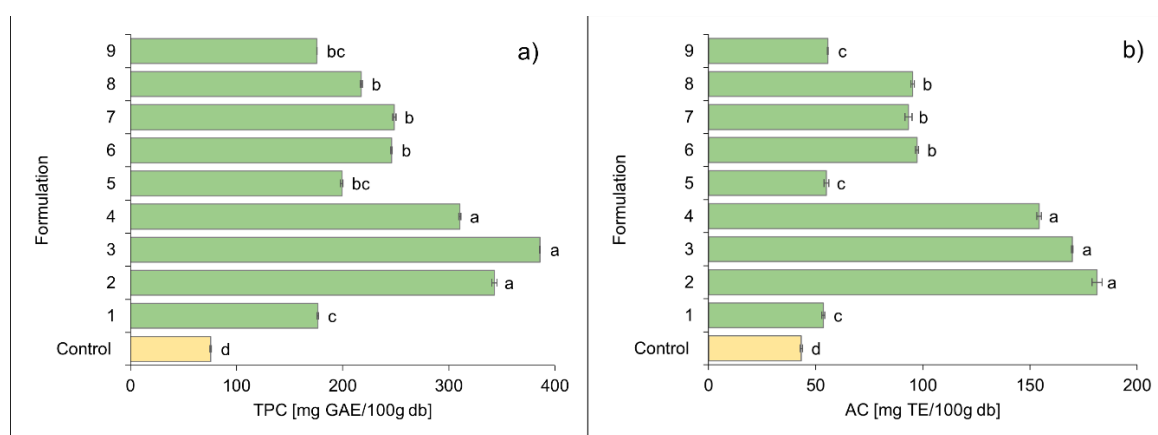
Los resultados del contenido de compuestos fenólicos totales (TPC) y la capacidad antioxidante (AC), se muestra en la **Figura 4**. El contenido de TPC para la galleta control fue de 75.74 mg GAE/100 g de galleta, dando una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con el resto de las formulaciones, en donde, al aumentar la concentración de los cladodios en polvo se observó un aumento de TPC. Para las galletas con 15% de cladodios y 70% de aceite vegetal (formula 1), los valores fueron de 176.58, para la fórmula 5, con 30% de aceite, fue de 199.17 y para la fórmula 9 con 50% de aceite vegetal, fue de 175.71 mg GAE/100 g base seca respectivamente, donde se observa que no hay una influencia en el cambio del porcentaje de aceite vegetal/mantequilla (O/B). Para las galletas con 20% de cladodios en polvo (formulas 6, 7 y 8), los valores fueron de 246.0, 248.71 y 217.66 mg GAE/100 g de galleta respectivamente, sin diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre ellas. Para las fórmulas 2, 3 y 4 con 25% de cladodios en polvo, los valores fueron de, 342.85, 385.90 y 310.38 mg GAE/100 g galleta respectivamente. Diversos autores, como Msaddak et al, 2017; Nabil et al, 2020; Cruz et al, 202; Uriarte et al, 202; Dick et al, 2020, han encontrado valores de TPC, que van de 100 a 500 mg GAE/100 g base seca para alimentos como, galletas, pan, pastel, hojuelas de cladodios en diferentes porcentajes de suplementación con cladodios en polvo de 10 a 25%. Para la AC, se observaron resultados similares, la galleta control tuvo un valor de 43.28 mg TE/100 g galleta mostrando una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a las otras galletas. Las fórmulas, 1,5 y 9, con 15% de cladodios en polvo, presentaron valores de, 53.52, 54.98 y 55.62 43.28 mg TE/100 g galleta respectivamente. Las galletas con fórmula, 6, 7 y 8 y 20% de cladodios en polvo, los valores mostrados son, 97.31, 93.31 y 95.91 43.28 mg TE/100 g galleta respectivamente.

**Tabla 9.** Características físicas de las galletas elaboradas con nopal en polvo/harina de trigo y aceite vegetal/mantequilla.

Formulación	NP/WF %	O/B	aw	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	H (N)
Control	0/100	0/100	0.14 ± 0.03 <sup>e</sup>	67.52 ± 2.24 <sup>d</sup>	5.83 ± 0.95 <sup>d</sup>	29.36 ± 0.94 <sup>c</sup>	5.56 ± 1.62 <sup>d</sup>
1	15/85	70/30	0.20 ± 0.004 <sup>d</sup>	49.76 ± 1.81 <sup>a, b</sup>	1.18 ± 0.43 <sup>a, b</sup>	24.60 ± 0.89 <sup>a</sup>	12.32 ± 4.93 <sup>a, b</sup>
2	25/75	70/30	0.20 ± 0.005 <sup>d</sup>	43.55 ± 1.43 <sup>c</sup>	2.38 ± 0.84 <sup>a</sup>	19.42 ± 2.90 <sup>b</sup>	8.92 ± 1.01 <sup>a, b, c, d</sup>
3	25/75	50/50	0.20 ± 0.001 <sup>d</sup>	47.41 ± 1.08 <sup>b</sup>	1.03 ± 0.48 <sup>b</sup>	23.09 ± 0.56 <sup>a, b</sup>	7.88 ± 1.10 <sup>b, c, d</sup>
4	25/75	30/70	0.29 ± 0.003 <sup>a</sup>	47.79 ± 0.37 <sup>b</sup>	-0.43 ± 0.32 <sup>c</sup>	23.49 ± 1.20 <sup>a</sup>	12.50 ± 1.64 <sup>a</sup>
5	15/85	30/70	0.28 ± 0.014 <sup>a, b</sup>	52.71 ± 0.25 <sup>a</sup>	-0.62 ± 0.41 <sup>c</sup>	26.79 ± 1.21 <sup>a</sup>	9.13 ± 1.65 <sup>a, b, c, d</sup>
6	20/80	70/30	0.23 ± 0.001 <sup>c</sup>	48.06 ± 1.08 <sup>b</sup>	-0.26 ± 0.34 <sup>c</sup>	23.96 ± 0.71 <sup>a</sup>	8.36 ± 1.82 <sup>a, b, c, d</sup>
7	20/80	30/70	0.26 ± 0.008 <sup>b</sup>	50.03 ± 1.30 <sup>a, b</sup>	-0.69 ± 0.28 <sup>c</sup>	24.91 ± 1.94 <sup>a</sup>	10.03 ± 2.47 <sup>a, b, c</sup>
8	20/80	50/50	0.26 ± 0.003 <sup>b</sup>	48.63 ± 0.52 <sup>b</sup>	-0.72 ± 0.40 <sup>c</sup>	23.12 ± 0.77 <sup>a</sup>	6.37 ± 1.65 <sup>c, d</sup>
9	15/85	50/50	0.22 ± 0.001 <sup>c, d</sup>	51.93 ± 0.13 <sup>a</sup>	-0.50 ± 0.14 <sup>c</sup>	23.53 ± 0.30 <sup>a</sup>	5.63 ± 2.14 <sup>d</sup>

NP/WF: Nopal en polvo/harina de trigo, O/B: Aceite vegetal/Mantequilla, aw: actividad de agua, colour parameter: (*L*\*, *a*\*, *b*\*), dureza: H. Los valores son la media ± desviación estándar. Valores que no comparten letras (a, b, c, d, e) en la misma columna son significativamente diferentes  $p < 0.05$ .

Para las galletas con 25% de cladodios en polvo, fórmulas 2,3 y 4, los valores de AC fueron, 181.31, 169.70 y 154.15 43.28 mg TE/100 g galleta, respectivamente. En todos los casos, al aumentar el contenido de cladodios en polvo, la AC fue mayor, con una buena capacidad de eliminación de radicales libres por el método DPPH. Los valores encontrados, van acordes con los encontrados por otros autores (Msaddak et al, 2017; du Toit et al, 2018) en alimentos similares con datos que van de 53.29 a 120 mg TE/100 g base seca. Los resultados obtenidos, muestran que las galletas adicionadas con los cladodios en polvo tienen un mayor potencial antioxidante que la galleta control, lo que refuerza su valor nutricional.



**Figura 4.** (a) Compuestos Fenólicos Totales (TPC), (b) Capacidad Antioxidante (AC) por DPPH, en las diferentes formulaciones de galletas. La proporción de ingredientes, NP:WF, O:B (Nopal en polvo/harina de trigo, Aceite vegetal/Mantequilla) está indicada como: Control:0:100, 0:100; F1:15:85,70:30; F2: 25:75,70:30; F3: 25:75, 50:50; F4: 25:75, 30:70; F5: 15:85, 30:70; F6: 20:80, 70:30; F7: 20:80, 30:70; F8: 20:80, 50:50; F9: 15:85, 50:50. Los valores son la media  $\pm$  desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### 6.8.3. Análisis sensorial

El análisis sensorial de las diferentes formulaciones de galletas, así como del control, se llevó a cabo para evaluar las características de color, olor, textura, sabor y aceptación general, los resultados se presentan en la **Tabla 10** y, en la **Figura 5**, se observan las fotografías de las galletas elaboradas. Para el parámetro del color, hay una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), entre la galleta control, con una puntuación de 8.5 y las formulaciones con 20 y 25% de cladodios en polvo y puntuaciones entre 6.61 a 7.10, las galletas presentaban un color verdoso, característico de los cladodios en polvo, como se observa en la **Figura 5**. Con

relación al aroma, solo se observó diferencia significativa entre la galleta control con un valor de 8 y la fórmula con 20% de cladodios en polvo y un porcentaje O/B de 50/50 con una puntuación de 6.7, dando como resultado que la adición de los cladodios no tiene una gran influencia en el aroma final de las galletas. En cuanto a la textura de las galletas, se tuvo una diferencia significativa del control con una puntuación de 8.30 y las formulaciones con 20 y 25% de cladodios en polvo con valores de 6.29 a 6.87, con excepción de la fórmula con 20% y O/B 30/70 con una calificación de 7.23, donde un contenido mayor de mantequilla podría influir en la textura, la cual es una propiedad importante en las galletas. Los puntajes para la característica del sabor muestran una diferencia significativa entre el control (8.55) y las fórmulas 1, 2, 4 y 8 con puntuaciones de 7.10 a 7.37, estas fórmulas presentan porcentajes de cladodios en polvo de 15, 20 y 25%, por lo que la aceptación del sabor también está influenciada por el contenido de aceite vegetal/ mantequilla, ya que los puntajes más altos en general tienen un mayor contenido de mantequilla o una proporción 50/50. Finalmente, para la aceptación en general de las galletas, no hubo diferencia significativa entre la galleta control, con un puntaje de 8.5 y las fórmulas 5 y 9 (15% de cladodios en polvo, O/B 30/70 y 50/50) con valores de 7.97 y 7.77 respectivamente, para el resto de las formulaciones, hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). Los resultados obtenidos, muestran, que en general los atributos sensoriales mejor evaluados, después de los puntajes de la galleta control, son para las galletas con una adición de 15% de cladodios en polvo y una relación aceite vegetal/mantequilla de 30/70.

La **Figura 6**, muestra la interacción del porcentaje de cladodios en polvo (% NP) y el porcentaje de aceite vegetal (%Oil) para los diferentes atributos sensoriales. Los valores máximos de cada atributo corresponden a la galleta control. Para las formulaciones que tienen diferentes porcentajes de NP y Oil. Con relación al color, se encontró el valor máximo (7.45) para 15% NP y 30% Oil y el valor mínimo para 25% NP y 30% Oil. Para el aroma, el valor máximo (7.53) fue para 20% NP y 70% Oil y el valor mínimo para 20% NP y 50% Oil. El valor máximo para la textura (8.0) correspondió a 15%NP y 30% Oil y el valor mínimo con 25%NP y 70% Oil. Para el atributo de sabor, el valor máximo (8.0) corresponde al 15%NP y 30% Oil y el valor mínimo (7.10) con 25% NP y 70% Oil. Con respecto a la aceptación general, el valor máximo (7.97) fue para 15% NP y 30% Oil. Los valores encontrados de la

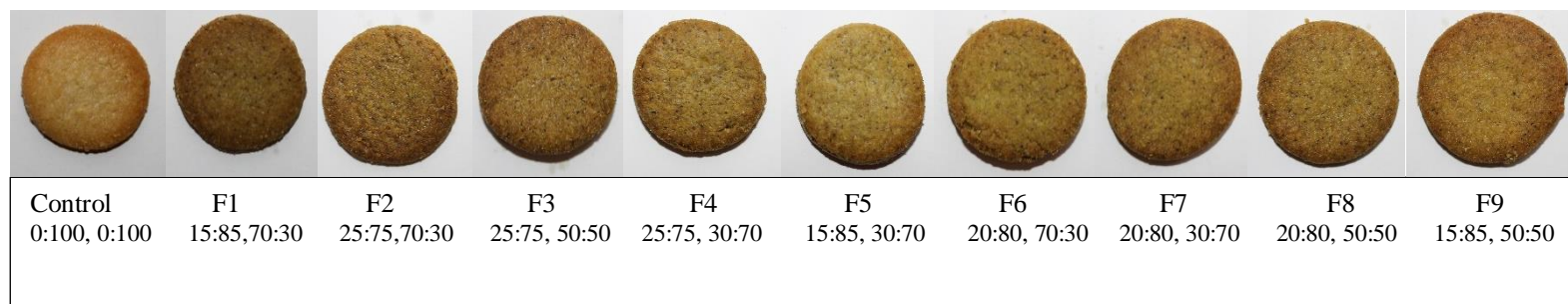


interacción %NP y % Oil, arrojan como resultado que la galleta mejor evaluada en todos los atributos estudiados corresponde al 15% NP y 30% Oil.

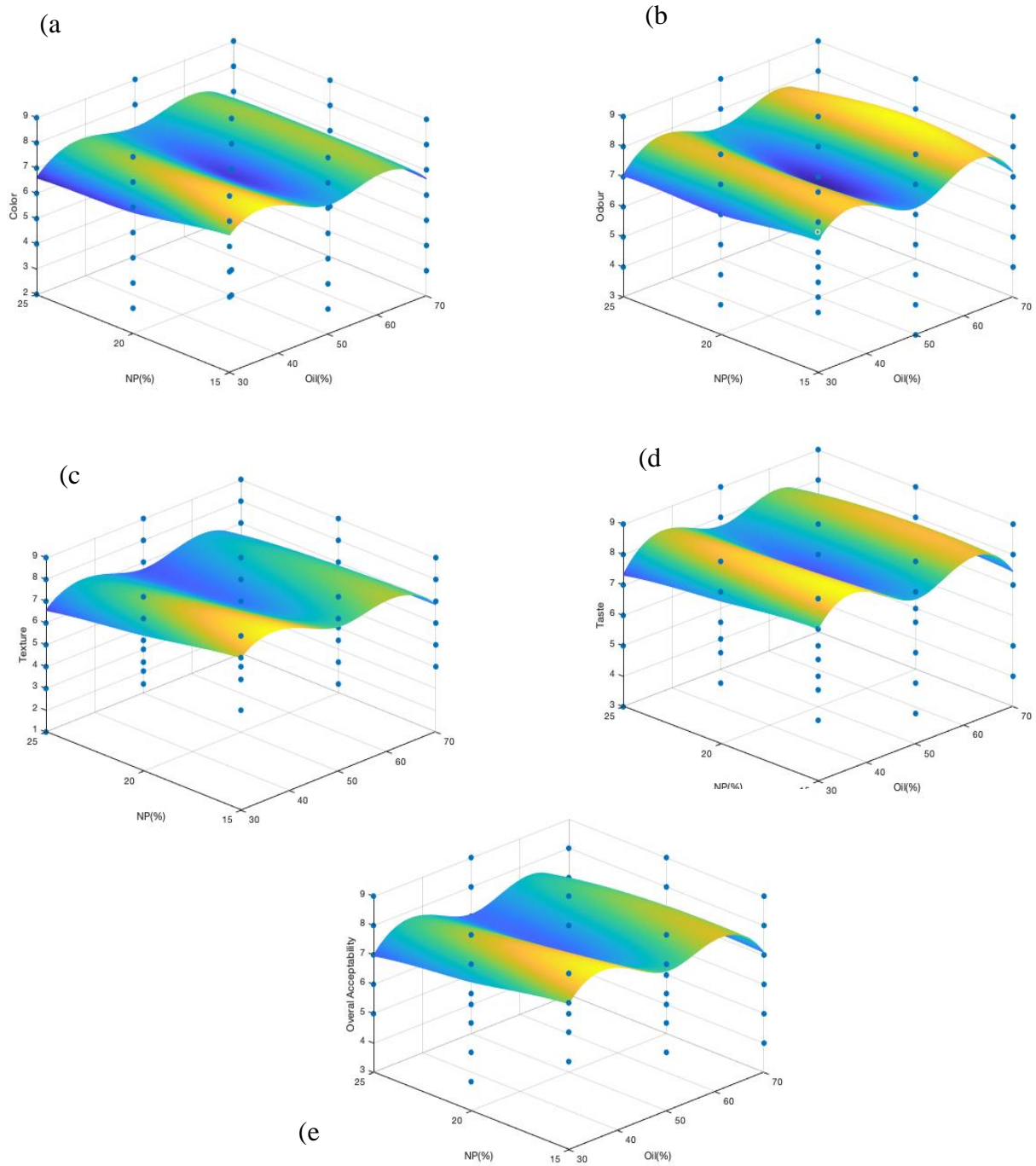
**Tabla 10.** Resultados de la evaluación sensorial para diferentes galletas elaboradas con nopal en polvo/harina de trigo y aceite vegetal/mantequilla.

Formulación	NP/WF %	O/B %	Color	Aroma	Textura	Sabor	Aceptación general
Control	0/100	0/100	8.50 ± 0.84 <sup>a</sup>	8.0 ± 1.52 <sup>a</sup>	8.30 ± 0.81 <sup>a</sup>	8.55 ± 0.61 <sup>a</sup>	8.50 ± 0.61 <sup>a</sup>
1	15/85	70/30	6.58 ± 1.54 <sup>b</sup>	7.19 ± 1.42 <sup>a,b</sup>	6.71 ± 1.53 <sup>c,d</sup>	7.35 ± 1.45 <sup>b</sup>	7.03 ± 1.22 <sup>c,d</sup>
2	25/75	70/30	6.58 ± 1.61 <sup>b</sup>	6.84 ± 1.21 <sup>a,b</sup>	6.29 ± 1.60 <sup>d</sup>	7.10 ± 1.35 <sup>b</sup>	6.61 ± 1.38 <sup>d</sup>
3	25/75	50/50	7.10 ± 1.56 <sup>b</sup>	7.39 ± 1.15 <sup>a,b</sup>	6.68 ± 1.70 <sup>c,d</sup>	7.71 ± 1.13 <sup>a,b</sup>	7.06 ± 1.15 <sup>b,c,d</sup>
4	25/75	30/70	6.61 ± 1.63 <sup>b</sup>	7.03 ± 1.40 <sup>a,b</sup>	6.58 ± 1.86 <sup>c,d</sup>	7.32 ± 1.30 <sup>b</sup>	6.97 ± 1.05 <sup>c,d</sup>
5	15/85	30/70	7.45 ± 1.31 <sup>a,b</sup>	7.39 ± 1.31 <sup>a,b</sup>	8.00 ± 0.77 <sup>a,b</sup>	8.00 ± 1.00 <sup>a,b</sup>	7.97 ± 0.84 <sup>a,b</sup>
6	20/80	70/30	6.67 ± 1.38 <sup>b</sup>	7.53 ± 1.11 <sup>a,b</sup>	6.70 ± 1.62 <sup>c,d</sup>	7.47 ± 1.28 <sup>a,b</sup>	7.07 ± 1.41 <sup>b,c,d</sup>
7	20/80	30/70	6.80 ± 1.56 <sup>b</sup>	7.07 ± 1.36 <sup>a,b</sup>	7.23 ± 1.38 <sup>a,b,c,d</sup>	7.70 ± 1.15 <sup>a,b</sup>	7.40 ± 1.33 <sup>b,c,d</sup>
8	20/85	50/50	6.70 ± 1.64 <sup>b</sup>	6.70 ± 1.76 <sup>b</sup>	6.87 ± 1.57 <sup>b,c,d</sup>	7.37 ± 1.33 <sup>b</sup>	7.07 ± 1.08 <sup>b,c,d</sup>
9	15/85	50/50	7.13 ± 1.68 <sup>a,b</sup>	7.27 ± 1.53 <sup>a,b</sup>	7.63 ± 1.27 <sup>a,b,c</sup>	7.77 ± 1.43 <sup>a,b</sup>	7.77 ± 1.10 <sup>a,b,c</sup>

NP/WF: Nopal en polvo/harina de trigo, O/B: Aceite vegetal/Mantequilla. Los valores son la media ± desviación estándar (n= 30). Valores que no comparten letras (a, b, c, d) en la misma columna son significativamente diferentes  $p < 0.05$ .



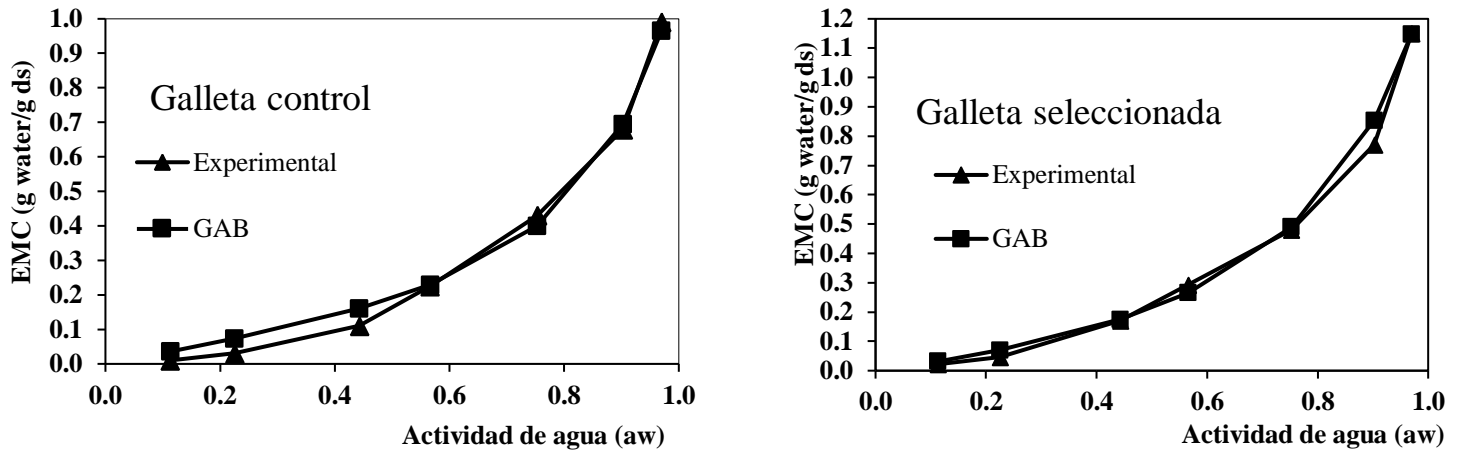
**Figura 5.** Imágenes de las galletas obtenidas para las diferentes formulaciones. La proporción de ingredientes está indicada para cada formulación como, NP:WF, O:B (Nopal en polvo/harina de trigo, Aceite vegetal/Mantequilla).



**Figura 6.** Efecto de la interacción del % de cladodios en polvo (NP) y el % de Aceite vegetal (Oil) en los atributos sensoriales de (a) color, (b) aroma, (c), textura, (d) sabor y (e) aceptación general en las galletas.

## 6.9. Isotermas de sorción de humedad

Las isotermas de sorción llevadas a cabo se presentan en la **Figura 7**, para la galleta control y la galleta con el puntaje más alto en la aceptación general de la prueba sensorial (15% NP y 30% Oil). Las isotermas mostraron un aumento en el contenido de la humedad en equilibrio al aumentar la actividad de agua a la temperatura estudiada de 25°C. En la galleta control, el aumento observado fue entre 0.11 a 0.99 g agua/g sólidos secos en el rango de  $a_w$  de 0.25 a 1. Para la galleta seleccionada, el rango fue de 0.17 a 1.15 g agua/g sólidos secos con valores de  $a_w$  de 0.25 a 1. La forma de las isotermas fue sigmoïdal tipo III, que corresponde a productos ricos en azúcar (Farías et al, 2017). Los datos de sorción de humedad se ajustaron al modelo matemático GAB, los resultados obtenidos, se muestran en la **Tabla 11**, el valor del contenido de humedad monocapa ( $X_M$ ) indica la cantidad de agua que se absorbe con mayor fuerza en sitios específicos en la superficie y se considera como el valor deseable para la estabilidad de los alimentos (Caballero et al, 2015; Sadeghi et al, 2016). En este estudio, los valores de  $X_M$  fueron 0.18 y 0.31g agua/ g s.s. para la galleta control y seleccionada respectivamente, la diferencia puede deberse al contenido de fibra dietética soluble (mucilago) presente en los cladodios en polvo, que provoca una mayor absorción de agua (Farías et al, 2017). La humedad inicial de las galletas fue de 1.87 galleta control y 3.24 % para la seleccionada, lo que se acerca a los valores de  $X_M$  obtenidos, lo que supone que son estables en los parámetros obtenidos. Los coeficientes de correlación  $R^2$  de las isotermas fueron mayores a 0.9, y el error menor a 0.01, lo que indica que el modelo GAB puede predecir el comportamiento de los datos experimentales.



**Figura 7.** Isothermas de sorción para la galleta control y la galleta seleccionada a 25°C experimental y ajustada al modelo GAB

**Tabla 11.** Valores de los parámetros del modelo GAB y los coeficientes estadísticos para las isothermas de las galletas evaluadas a 25°C.

Parámetro	Galleta Control	Galleta seleccionada
$X_M$	0.1804	0.3169
$C$	2.0329	0.9817
$K$	0.860	0.810
$R^2$	0.9980	0.997
$E$	0.006	0.002
$E_{RMS}$	0.0313	0.0161

$X_M$ : Contenido de humedad de la monocapa.  $C$  and  $K$  son constantes de energía de interacción para la monocapa y las otras moléculas de agua.  $R^2$ : coeficiente de regresión lineal,  $E$ : error,  $ERMS$ : error de la raíz cuadrática media.

## 6.10. Contenido nutricional y efecto en la salud de un alimento funcional en una población de adolescentes con sobrepeso u obesidad

### 6.10.1. Análisis químico proximal de las galletas

El análisis químico proximal realizado de la galleta control y la galleta funcional se observa en la **Tabla 12**. Con relación al contenido de humedad, no se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), el valor de la galleta funcional fue mayor (3.01%), que la galleta control (1.87%), lo cual puede deberse al mucílago del nopal presente en la fibra dietética soluble y su capacidad de retener un mayor contenido de agua. Para el contenido de proteína, no hubo diferencia significativa, la galleta control, presento un valor de 8.55% y la galleta funcional de 9.03%, aportado por los cladodios en polvo. Respecto al contenido de grasa total, no se

presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), teniendo valores muy similares de 23.83 y 24.38% la galleta control y funcional respectivamente. Con relación a la fibra dietética total, se observó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), con un valor de 2.47% para la galleta control y de 14.14% para la galleta funcional, esta diferencia se debe al contenido de fibra presente en la composición del cladodio en polvo (54.89%). La fibra dietética insoluble, presentó una diferencia significativa, con valores de 1.02 y 8.80% para la galleta control y funcional respectivamente. Respecto a la fibra dietética soluble, se encontró diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), con valores para la galleta control de 1.45% y la galleta funcional de 5.34%. Para el contenido de ceniza, hubo diferencia significativa para los valores de 3.36% de la galleta control y de 6.91% de la galleta funcional. Los datos obtenidos, nos muestran que la galleta funcional puede ser considerada un producto alto en fibra, al proporcionar  $0.01414 \pm 0.02$  kg por cada 100 g de galletas, la ingesta de fibra diaria recomendada por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), es para niños de 2 a 5 años de 0.015 kg, de 6 a 9 años de 0.021 kg y de 10 años en adelante de 0.025 kg. El consumo que se utilizó en el proyecto, fueron de 90 g de galletas en adolescentes mayores de 10 años, cubriendo un poco más del 50% de la ingesta diaria de fibra recomendada.

**Tabla 12.** Análisis químico proximal de las galletas elaboradas utilizadas en el ensayo de intervención con adolescentes.

<b>Composición (%)<sup>A</sup></b>	<b>Galleta control</b>	<b>Galleta Funcional</b>
Humedad	$1.87 \pm 0.11^a$	$3.01 \pm 0.21^a$
Proteína	$8.55 \pm 1.24^a$	$9.03 \pm 0.28^a$
Grasa	$23.83 \pm 1.24^a$	$24.38 \pm 0.48^a$
Hidratos de Carbono <sup>b</sup>	59.92	42.53
Fibra Dietética Total (FDT)	$2.47 \pm 0.01^a$	$14.14 \pm 0.02^b$
Fibra Dietética Insoluble (FDI)	$1.02 \pm 0.02^a$	$8.80 \pm 0.01^b$
Fibra Dietética Soluble (FDS)	$1.45^a$	$5.34^b$
Cenizas	$3.36 \pm 1.07^a$	$6.91 \pm 2.85^b$
Contenido energético (kcal) en 100 g	488.35	425.66

<sup>A</sup>Los valores son la media  $\pm$  desviación estándar de los triplicados expresados en porcentaje. Diferentes letras en la misma fila son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). <sup>b</sup>Calculado mediante la ecuación: Hidratos de carbono =  $100 - (\text{Humedad} + \text{Proteínas} + \text{Lípidos} + \text{Fibra dietética Total} + \text{Cenizas})$

### 6.10.2. Características físicas de las galletas

Las características físicas evaluadas en la galleta control y la galleta funcional, se observan en la **Tabla 13**. Los valores de actividad de agua (*aw*) fueron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ), siendo de 0.14 para la galleta control, y para la galleta funcional de 0.24, estos valores, pueden indicar que las galletas son estables al deterioro químico ( $aw < 0.5$ ), ya que presentan un nivel bajo de agua disponible para reacciones enzimáticas y/o microbiológicas (Uriarte et al. 2021). La diferencia en el *aw* de la galleta control con relación a la galleta funcional, puede deberse al contenido de fibra dietética presente, ya que esta tiene una mayor capacidad de retención de agua. Para los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Para el parámetro de color  $L^*$ , se presentó una disminución en el valor de la galleta funcional (47.41), con relación al control (67.52). Los valores de  $a^*$  y  $b^*$  (-1.03 y 23.09 respectivamente), también disminuyeron con relación al control (5.83 y 29.36 respectivamente). Los valores de dureza mostraron una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), entre la galleta control (7.43) y la galleta funcional (8.34), en donde el contenido de nopal en polvo, le confiere una mayor dureza, lo que puede ser de ayuda para su manejo y distribución.

**Tabla 13.** Características de actividad de agua, color y dureza de las galletas utilizadas en el ensayo de intervención con adolescentes

Galleta	<i>aw</i>	$L^*$	$a^*$	$b^*$	Dureza H (N)
Control	$0.14 \pm 0.03^a$	$67.52 \pm 2.24^b$	$5.83 \pm 0.95^a$	$29.36 \pm 0.94^b$	$7.43 \pm 1.86^a$
Funcional	$0.24 \pm 0.02^b$	$47.41 \pm 1.08^a$	$-1.03 \pm 0.48^b$	$23.09 \pm 0.56^{a,b}$	$8.34 \pm 1.17^b$

Los valores son la media  $\pm$  desviación estándar. Valores que no comparten letras (a, b) en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

### 6.10.3. Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de las galletas

El análisis de los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante para la galleta control y la galleta funcional, se encuentra en la **Tabla 14**. El contenido de compuestos fenólicos totales para la galleta control fue de 77.74 mg GAE/100 g, dando una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con la galleta funcional que presentó un valor de 461.26 mg GAE/100 g. Con respecto a la actividad antioxidante, esta fue significativamente diferente, con una buena capacidad de eliminación de radicales libres por el método DPPH para la galleta funcional (109.07 mg Trolox/100 g), con relación a la galleta control (63.89 mg Trolox/100

g). Los resultados obtenidos, muestran que la galleta funcional, tiene un mayor potencial antioxidante que la galleta control, lo que refuerza su valor nutrimental.

**Tabla 14.** Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de las galletas.

Determinación	Galleta control	Galleta Funcional
Compuestos fenólicos totales <sup>A</sup>	77.7447 ± 10.40 <sup>a</sup>	461.2691 ± 22.8323 <sup>b</sup>
Capacidad antioxidante:		
Método DPPH <sup>B</sup>	63.8900 ± 4.3393 <sup>a</sup>	109.0763 ± 6.9541 <sup>b</sup>

Los valores son la media ± desviación estándar de los triplicados expresados en base seca. <sup>A</sup>Medidos como equivalentes de ácido gálico y expresado como mg GAE/100g muestra base seca. <sup>B</sup>Expresado como mg Trolox/100 g muestra base seca. Diferentes letras en la misma fila son diferentes estadísticamente (p < 0.05).

#### 6.10.4. Análisis microbiológico de las galletas comparado con la norma oficial mexicana

El análisis microbiológico de la galleta control y la galleta funcional, se observa en la **Tabla 15**. Los valores encontrados para el contenido de mesófilos aerobios mostraron, que tanto la galleta control, como la galleta funcional con valores de 70 y 80 UFC/g respectivamente, cumplen con la Norma Oficial Mexicana de galletas (NOM-247-SSA-2008). Con relación al parámetro de coliformes totales, los valores observados, fueron de 5 y 2 UFC/g para la galleta control y funcional respectivamente, la norma marca que deben ser menos de 30 UFC/g. Para el contenido de hongos y levaduras, se tuvieron valores de 10 y 18 UFC/g para la galleta control y funcional respectivamente, cumpliendo con la norma mexicana, que marca un valor de 300 UFC/g en galletas. Con los datos obtenidos, tanto la galleta control y la funcional, se consideraron inocuas para el consumo por parte de la población en estudio.

**Tabla 15.** Análisis microbiológico de las galletas comparado con la norma oficial mexicana.

Análisis microbiológico UFC/g <sup>A</sup>	Galleta control	Galleta Funcional	Norma galletas NOM-247-SSA-2008
Mesófilos aerobios	70	80	10,000
Coliformes totales	5	2	Menos de 30
Hongos y levaduras	10	18	300

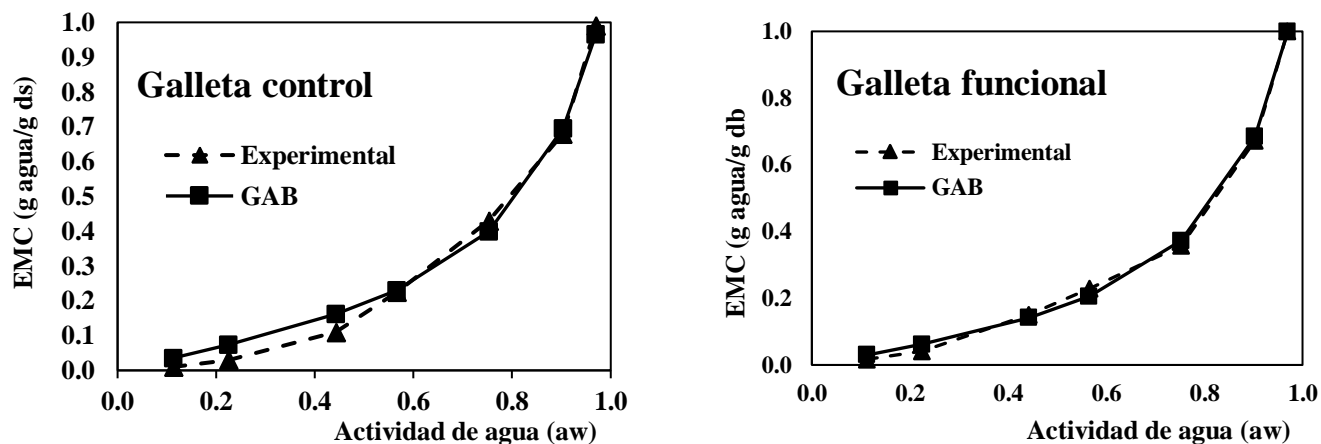
<sup>A</sup>UFC: Unidades Formadoras de Colonia/ gramo.

#### 6.10.5. Isotermas de sorción

La isoterma de sorción para la galleta control y la galleta funcional se reporta en la **Figura 8**. Los datos de sorción de humedad, se ajustaron al modelo matemático GAB y los resultados obtenidos, se muestran en la **Tabla 16**. Las isotermas mostraron un aumento en el contenido



de la humedad en equilibrio al aumentar la actividad de agua a la temperatura estudiada de 25°C. En la galleta control, el aumento observado fue entre 0.11 a 0.99 g agua/g sólidos secos en el rango de  $a_w$  de 0.25 a 1. Para la galleta funcional, el rango fue de 0.15 a 1.0 g agua/g sólidos secos con valores de  $a_w$  de 0.25 a 1. La forma de las isothermas fue sigmoïdal tipo III, que corresponde a productos ricos en azúcar (Farías et al, 2017). El valor del contenido de humedad monocapa ( $X_M$ ) indica la cantidad de agua que se absorbe con mayor fuerza en sitios específicos en la superficie y se considera como el valor deseable para la estabilidad de los alimentos (Caballero et al, 2015; Sadeghi et al, 2016). En este estudio, los valores de  $X_M$  fueron 0.18 y 0.16 g agua/ g s.s. para la galleta control y funcional respectivamente, Las galletas tuvieron una humedad inicial de 1.87 galleta control y 3.01% para la galleta funcional, la diferencia puede deberse al contenido de fibra dietética soluble (mucilago) presente en los cladodios en polvo, que provoca una mayor absorción de agua (Farías et al, 2017). Los coeficientes de correlación  $R^2$  de las isothermas fueron mayores a 0.9, y el error menor a 0.01, lo que indica que el modelo GAB puede predecir el comportamiento de los datos experimentales.



**Figura 8.** Isothermas de sorción para la galleta control y la galleta funcional a 25°C experimental y ajustada al modelo GAB

**Tabla 16.** Valores de los parámetros del modelo GAB y los coeficientes estadísticos para las isothermas de las galletas evaluadas a 25°C

Parámetro	Galleta Control	Galleta funcional
$X_M$	0.1804	0.1614
$C$	2.0329	1.8097
$K$	0.860	0.8789
$R^2$	0.9980	0.999
$E$	0.006	0.00145
$E_{RMS}$	0.0313	0.01555

$X_M$ : Contenido de humedad de la monocapa.  $C$  and  $K$  son constantes de energía de interacción para la monocapa y las otras moléculas de agua.  $R^2$ : coeficiente de regresión lineal,  $E$ : error, ERMS: error de la raíz cuadrática media.

#### 6.10.6. Ensayo de intervención

El ensayo de intervención para evaluar el beneficio de una galleta funcional en una población infantil con sobrepeso u obesidad, se realizó durante 21 días con los adolescentes seleccionados y que aceptaron participar, los datos encontrados, se proporcionan en la **Tabla 17**. Se inició con la participación de 18 adolescentes con edades entre los 15 y 17 años, de los cuales, terminaron el estudio 12 personas, 6 adolescentes del grupo control que consumió la galleta sin cladosdios en polvo y 6 adolescentes que consumieron la galleta funcional con cladosdios en polvo. Para los valores antropométricos evaluados, no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), entre el grupo control y el grupo que consumió la galleta con cladosdios en polvo, aunque en todos los valores se notaron ciertas diferencias. Con relación al peso, el grupo control mostró una reducción de 0.12 kg frente a 1.17 kg que tuvo el grupo con la galleta funcional y se reflejó en una mayor reducción del IMC ( $0.53 \text{ kg/m}^2$ ), respecto al grupo control ( $0.05 \text{ kg/m}^2$ ). Para el parámetro de circunferencia de cintura, el grupo control mostró una reducción de 4.52 cm con respecto a los 6.37 cm que perdió el grupo con la galleta funcional. Respecto a la circunferencia de cadera, el grupo con la galleta funcional, presentó una reducción de 1.90 cm frente a 1.12 cm que obtuvo el grupo control.

Para los valores bioquímicos, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en todos los parámetros estudiados. Con relación al valor de glucosa, el grupo control, no presentó reducción ( $-0.5 \text{ mg/dL}$ ), frente a los 8 mg/dL que disminuyó el grupo con la galleta funcional. Para el parámetro de colesterol, el grupo control, mostró un valor de  $-4.8 \text{ mg/dL}$ , es decir, que iniciaron con un valor menor y al finalizar el estudio, habían aumentado sus niveles de colesterol, mientras que, para el grupo con la galleta funcional, el valor para la media del grupo se redujo en 41 mg/dL. Finalmente, para el contenido de triglicéridos, el grupo control, presentó un aumento ( $-0.33 \text{ mg/dL}$ ), frente a una disminución de 32.67 mg/dL para el grupo con la galleta funcional. En un estudio de Muñoz et al. (2014), donde se les administró de manera oral 3g/día de nopal deshidratado durante 90 días a personas con dislipidemia y sobrepeso, se encontró una disminución significativa en los valores de colesterol total y triglicéridos y una tendencia no significativa hacia la reducción de glucosa.

Así mismo, en el ensayo clínico de Uebelhack et al. (2014), se estudió el consumo de fibra de *Opuntia ficus indica* (3 g/ d) o placebo en el contenido de masa grasa excretada, encontrando una diferencia significativa ( $P < 0.001$ ) en gramos, en relación de la masa grasa absoluta excretada y en el porcentaje de grasa dietética excretada. Otro estudio llevado a cabo en el año 2020 por Giglio et al. donde se evaluó un producto de pasta suplementado con un extracto de *Opuntia ficus indica* (500 g pasta y extracto al 3% / día) en pacientes con al menos un componente de síndrome metabólico y si este producto podía reducir las lipoproteínas aterogénicas y mejorar diferentes parámetros metabólicos como el peso corporal, circunferencia de la cintura, lípidos y glucosa plasmáticos, sus resultados, mostraron una reducción significativa en la circunferencia de cintura, la glucosa plasmática, los triglicéridos un aumento en lipoproteínas menos aterogénicas y sin diferencia para el peso corporal.

**Tabla 17.** Valores finales antropométricos y bioquímicos del ensayo de intervención realizado en adolescentes durante 21 días

Parámetro	Consumo galleta control			Consumo galleta funcional		
	Inicial	Final	Diferencia	Inicial	Final	Diferencia
Peso (kg)	71.5	70	1.5	70.7	70.2	0.5
	73.6	73.4	0.2	68.2	67.2	1
	85	84.3	0.7	62.9	62.2	0.7
	81.4	81.8	-0.4	145.5	144	1.5
	77.2	79	-1.8	66.8	63.2	3.6
	75.1	74.6	0.5	68.7	69	-0.3
	<sup>A</sup> 77.3 ± 5.06	<sup>A</sup> 77.19 ± 5.44	<sup>A</sup> 0.1166 ± 1.12 <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 80.47 ± 31.97	<sup>A</sup> 79.30 ± 31.85	<sup>A</sup> 1.17 ± 1.33 <sup>a</sup>
Índice de Masa Corporal (IMC) (kg/m <sup>2</sup> )	26.6	26.0	0.6	28.3	28.1	0.2
	26.4	26.3	0.1	26.0	25.6	0.4
	35.4	35.1	0.3	24.0	23.7	0.3
	30.6	30.8	-0.2	45.4	44.9	0.5
	31.7	32.5	-0.7	36.1	34.2	1.9
	36.2	36.0	0.2	27.2	27.3	-0.1
	<sup>A</sup> 31.15 ± 4.18	<sup>A</sup> 31.11 ± 4.25	<sup>A</sup> 0.05 ± 0.45 <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 31.16 ± 8.12	<sup>A</sup> 30.64 ± 7.85	<sup>A</sup> 0.53 ± 0.72 <sup>a</sup>
Circunferencia cintura (cm)	85	78.7	6.3	96	90.2	5.8
	99.2	91	8.2	90.4	81.9	8.5
	110.2	101.3	8.9	80.3	75	5.3
	104	100.3	3.7	146.5	141.2	5.3
	109	109	0	116	108	8
	94.4	94.6	-0.2	92.3	87	5.3
	<sup>A</sup> 100.3 ± 9.56	<sup>A</sup> 95.82 ± 10.41	<sup>A</sup> 4.52 ± 3.94 <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 103.58 ± 24.07	<sup>A</sup> 97.22 ± 24.22	<sup>A</sup> 6.37 ± 1.48 <sup>a</sup>
Circunferencia cadera (cm)	102.5	102.2	0.3	106.7	105	1.7
	108.2	108	0.2	99	99	0
	117.5	112.8	4.7	95.8	94.4	1.4

	107.5	107.1	0.4	146	144.5	1.5
	104	103.2	0.8	120	101	19
	111.8	111.5	0.3	100	98.5	1.5
Glucosa (mg/dL)	<sup>A</sup> 108.58 ± 5.46	<sup>A</sup> 107.46 ± 4.27	<sup>A</sup> 1.12 ± 1.77 <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 111.25 ± 19.08	<sup>A</sup> 107.07 ± 18.66	<sup>A</sup> 4.18 ± 7.28 <sup>a</sup>
	96	94	2	86	79	7
	82	81	1	91	82	9
	100	104	-4	94	89	5
	97	98	-1	102	95	7
	92	94	-2	106	88	18
	125	124	1	92	90	2
		<sup>A</sup> 98.67 ± 14.33	<sup>A</sup> 99.16 ± 14.32	<sup>A</sup> -0.5 ± 2.26 <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 95.17 ± 7.44	<sup>A</sup> 87.17 ± 5.78
Colesterol (mg/dL)	210	207	3	166	156	10
	176	205	-29	214	159	55
	229	231	-2	197	161	36
	184	178	6	210	176	34
	189	177	12	281	176	105
	188	207	-19	185	179	6
		<sup>A</sup> 196 ± 19.71	<sup>A</sup> 200.83 ± 20.46	<sup>A</sup> -4.8 ± 15.84 <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 208.84 ± 39.44	<sup>A</sup> 167.83 ± 10.22
Triglicéridos (mg/dL)	253	257	-4	135	125	10
	170	151	19	208	170	38
	180	180	0	120	92	28
	256	268	-12	227	156	71
	132	135	-3	194	173	21
	167	169	-2	204	176	28
		<sup>A</sup> 193 ± 50.33	<sup>A</sup> 193.33 ± 55.84	<sup>A</sup> -0.33 ± 10.33 <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 181.33 ± 43.31	<sup>A</sup> 148.66 ± 33.62

<sup>A</sup>Los valores son la media ± desviación estándar. Valores que no comparten letras (a, b) en la misma fila son significativamente diferentes (p < 0.05).



## 7. Conclusiones y recomendaciones

Se analizó la composición química, el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante de muestras en polvo de cladodios con tres diferentes etapas de maduración. Los resultados mostraron valores significativos de fibra dietética. Los cladodios con 60 d de maduración podrían ser una fuente de potasio y calcio. Los cladodios contienen compuestos fenólicos, principalmente ácidos piscídico y eucómico, seguidos de derivados de isorhamnetina.

El extracto preparado a partir de cladodios con 60 d de maduración aumentó la supervivencia de *C. elegans* cuando se expuso a condiciones de estrés oxidativo. Además, tanto el extracto como los cladodios en polvo disminuyeron la deposición de grasa intestinal en los nematodos tratados.

En la formulación de las galletas, la sustitución de harina de trigo por cladodios en polvo mejoró significativamente en todos los casos el contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante frente a las galletas elaboradas solo con harina de trigo, siendo mayor, para las formulaciones con 25% de cladodios en polvo. Para la evaluación sensorial, las galletas con un 15% de cladodios en polvo y un contenido de 30% de aceite vegetal, mostraron la mejor puntuación de sabor y aceptabilidad general, con relación al control. La isoterma de sorción mostró que fue posible ajustar el modelo GAB a los datos experimentales y que a 25°C se tiene un producto estable.

Los resultados del ensayo de intervención realizado con adolescentes, mostró, que el consumo de la galleta elaborada con los cladodios en polvo durante 21 días redujo significativamente los valores bioquímicos de glucosa, colesterol y triglicéridos frente al grupo control.

A partir de los resultados obtenidos, puede considerarse a los cladodios en polvo como un ingrediente funcional fuente de fibra dietética y antioxidantes para la fabricación de alimentos con beneficios a la salud y nutrición humana. Este informe comprende una visión detallada y amplía el conocimiento sobre los cladodios de *Opuntia ficus indica* var. Atlixco. Por lo tanto, estos resultados representan un gran incentivo para futuras investigaciones sobre cladodios en polvo en la elaboración de alimentos funcionales y sí, su consumo podría ayudar a prevenir enfermedades o mejorar ciertos padecimientos en la salud humana.

## Bibliografía

- Alexander, E., Ventura, E., Spruijt, Metz., Weigensberg, J., Goran, I., & Davis, N. (2009). Association of Breakfast Skipping with Visceral Fat and Insulin Indices in Overweight Latino Youth. *Obesity*, 17(8), 1528-1533.
- Anchondo-Trejo, C.; Loya-Carrasco, J.A.; Galicia-García, T.; Estrada-Moreno, I.; Mendoza-Duarte, M.; Castellanos-Gallo, L.; Márquez-Meléndez, R.; Portillo-Arroyo, B.; Soto-Figueroa, C. (2020). Development of a Third Generation Snack of Rice Starch Enriched with Nopal Flour (*Opuntia ficus indica*). *Molecules*, 26, 54, doi:10.3390/molecules26010054.
- Angulo, B., Martínez, C., & Paredes, L. (2014). Phytochemical Content, Nutraceutical Potential and Biotechnological Applications of an Ancient Mexican Plant: Nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Current Nutrition & Food Science*, 10(3), 196-217.
- Aruwa, C. E., Amoo, S. O., y Kudanga, T. (2018). *Opuntia* (Cactaceae) plant compounds, biological activities, and prospects – A comprehensive review. *Food Research International*, 112, 328–344.
- Astello-García, M. G., Cervantes, I., Nair, V., Santos-Díaz, M. del S., Reyes-Agüero, A., Guéraud, F., Negre-Salvayre, A., Rossignol, M., Cisneros-Zevallos, L., y Barba de la Rosa, A. P. (2015). Chemical composition and phenolic compounds profile of cladodes from *Opuntia* spp. Cultivars with different domestication gradient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 43, 119–130.
- Attanzio, A., Diana, P., Barraja, P., Carbone, A., Spanò, V., Parrino, B., Cascioferro, S., Allegra, M., Cirrincione, G., Tesoriere, L., & Montalbano, A. (2019). Quality, functional, and sensory evaluation of pasta fortified with extracts from *Opuntia ficus-indica* cladodes. *Journal Science Food Agricultural*, 99, 4242–4247.
- Ávila, A., Calderón, M., Medina, N., Zou, T., Gu, L., Torres, N., & Pedraza, J. (2014). Extract of cactus (*Opuntia ficus indica*) cladodes scavenges reactive oxygen species in vitro and enhances plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Functional Foods*, 10, 13-24.
- Barrera, C., Rodríguez, G., & Molina, A. (2013). Escenario actual de la obesidad en México. *Revista Médica Instituto Mexicano Seguro Social*, 51(3), 292-299.
- Bautista, J., Pineda, T., Camarena, A., Alanís, G., Da Mota., V. & Barboza, C. (2010). El Nopal fresco como fuente de fibra y calcio en panqués. *Acta Universitaria*, 20(3), pp. 11-17 Universidad de Guanajuato Guanajuato, México.
- Bensadón, S., Hervert, H., Sáyago, A., & Goñi, I. (2010). By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3).
- Bourges, H., Casanueva, E., & Rosado J. (2008). Recomendaciones de ingestión de nutrimentos para la población mexicana: bases fisiológicas; Editorial Médica Panamericana; tomo 2.
- Brieger, K., Schiavonea, S., Miller, F., & Heinz, K. (2012). Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Medical Weekly*, 142: w13659.



- Caballero-Cerón C, Guerrero-Beltrán JA, Mújica-Paz H, Torres JA, Welte-Chanes J. Moisture Sorption Isotherms of Foods: Experimental Methodology, Mathematical Analysis, and Practical Applications. In: Gutiérrez-López GF, Alamilla-Beltrán L, del Pilar Buera M, Welte-Chanes J, Parada-Arias E, Barbosa-Cánovas GV, editors. *Water Stress in Biological, Chemical, Pharmaceutical and Food Systems*, New York, NY: Springer New York; 2015, p. 187–214. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2578-0\\_15](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2578-0_15).
- Carretero, D. (2014). Análisis sensorial. Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, 1-76.
- Chen, C., Chen, Y., Jiang, H., Chen, C., & Pan, C. (2013). Neuronal aging: Learning from *C. elegans*. *Journal of Molecular Signaling*, 8, 14.
- Chen, W., Rezaizadehnajafi, L., & Wink, M. (2013). Influence of resveratrol on oxidative stress resistance and life span in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 65(5), 682-688.
- Cocciadiferro, L., Zarcone, M., Montalto, G., Stoian, A. P., Banerjee, Y., Rizvi, A. A., Toth, P. P., & Rizzo, M. (2020). Pasta Supplemented with *Opuntia ficus-indica* Extract Improves Metabolic Parameters and Reduces Atherogenic Small Dense Low-Density Lipoproteins in Patients with Risk Factors for the Metabolic Syndrome: A Four-Week Intervention Study. *Metabolites*, 10(11), 428. <https://doi.org/10.3390/metabo10110428>
- Contreras, M., Gutiérrez, E., Valderrama, D., Rojas, I., Espinosa, G., Suárez, R., & Rodríguez, E. (2011). Effects of Drying Process on the Physicochemical Properties of Nopal Cladodes at Different Maturity Stages. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(1), 44-49.
- Contreras, M., Rodríguez, E., Gutiérrez, E., Valderrama, D., Rojas, I., & Rivera, M. (2016). Physicochemical and rheological characterization of *Opuntia ficus* mucilage at three different maturity stages of cladode. *European Polymer Journal*, 78, 226-234.
- Corzo, R., Bautista, R., Gómez y Gómez, Y., & Torres, B. (2016). Frutas de cactáceas: Compuestos bioactivos y sus propiedades nutraceuticas. En M.E. Ramírez Ortiz (Ed.). *Alimentos Funcionales de Hoy*. Barcelona, España: OmniaScience. 35-66.
- Cruz De La Cruz LL, García-Mateos R, Ybarra-Moncada MC, Corrales-García J. Sweetened nopal flakes: a functional snack. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 2021:169-175 Pages. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2021.094.020>.
- Cruz, C., Sánchez, M., Dávila, O., & Jiménez, M. (2016). Aspectos evolutivos de la alimentación básica de la población mexicana y su efecto en la obesidad. En M.E. Ramírez Ortiz (Ed.). *Alimentos Funcionales de Hoy*. Barcelona, España: OmniaScience. 247-284.
- Dey, A., Singhal, S., Rasane, P., Kaur, S., Kaur, N., & Singh, J. (2019). Comparative kinetic analysis of convective and vacuum dried *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes. *Research in Agricultural Engineering*, 65(No. 1), 1-6.
- Díaz, M., Héliès, T., Guéraud, F., & Nègre, S. (2017). *Opuntia spp.*: Characterization and Benefits in Chronic Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-17.
- Dick, M., Limberger, C., Thys, C., Rios, D., & Flôres, H. (2020). Mucilage and cladode flour from cactus (*Opuntia monacantha*) as alternative ingredients in gluten-free crackers. *Food Chemistry*, 314, 126178.

- du Toit, A., de Wit, M., Osthoff, G., y Hugo, A. (2018). Antioxidant properties of fresh and processed cactus pear cladodes from selected *Opuntia ficus-indica* and *O. robusta* cultivars. *South African Journal of Botany*, *118*, 44–51.
- El-Mostafa, K., Kharrassi, E., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., Kebbaj, E., & Cherkaoui, M. (2014). Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for Nutrition, Health, and Disease. *Molecules*, *19*(9), 14879-14901.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT). (2018-2019). Presentación de resultados. *Secretaría de Salud, Instituto Nacional de Salud Pública e INEGI*.
- Farías-Cervantes VS, Chávez-Rodríguez A, Delgado-Licon E, Aguilar J, Medrano-Roldan H, Andrade-González I. Effect of Spray Drying of Agave Fructans, Nopal Mucilage and Aloe Vera Juice: Spray Drying of Carbohidrates. *Journal of Food Processing and Preservation* 2017;41:e13027.
- Fernández, M. (2010). La fibra dietética en la prevención del riesgo cardiovascular. *Nutrición clínica y dietética hospitalaria*, *30*(2), 4-12.
- Fitzenberger, E., Deusing, J., Marx, C., Boll, M., Lüersen, K., & Wenzel, U. (2014). The polyphenol quercetin protects themev-1 mutant of *Caenorhabditis elegans* from glucose-induced reduction of survival under heat-stress depending on SIR-2.1, DAF-12, and proteasomal activity. *Molecular Nutrition & Food Research*, *58*(5), 984-994.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. (2005). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids. Washington DC, The National Academies Press.
- Gallegos, I., Rocha, G., González, L., Reynoso, C., Medina, T., & Cervantes, C. (2009). Effect of air flow rate on the polyphenols content and antioxidant capacity of convective dried cactus pear cladodes (*Opuntia ficus indica*). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *60*(Sup2), 80-87.
- Galvan, M., Sánchez, E., Cárdenas, M., Karam, R., Claudio, L., Cruz, M., & Burguete, I. (2018). Dietary patterns in Mexican children and adolescents: Characterization and relation with socioeconomic and home environment factors. *Appetite*, *121*, 275-284.
- Gao, C.; Gao, Z.; Greenway, F.L.; Burton, J.H.; Johnson, W.D.; Keenan, M.J.; Enright, F.M.; Martin, R.J.; Chu, Y.; Zheng, J. (2015). Oat Consumption Reduced Intestinal Fat Deposition and Improved Health Span in *Caenorhabditis elegans* Model. *Nutrition Research*, *35*, 834–843, doi:10.1016/j.nutres.2015.06.007.
- Gems, D., & Riddle, L. (2000). Defining wild-type life span in *Caenorhabditis elegans*. *The Journal of Gerontology*, *55*, 393-401.
- Giglio, R. V., Carruba, G., Cicero, A. F. G., Banach, M., Patti, A. M., Nikolic, D., Cociadiferro, L., Zarcone, M., Montalto, G., Stoian, A. P., Banerjee, Y., Rizvi, A. A., Toth, P. P., & Rizzo, M. (2020). Pasta Supplemented with *Opuntia ficus-indica* Extract Improves Metabolic Parameters and Reduces Atherogenic Small Dense Low-Density Lipoproteins in Patients with Risk Factors for the Metabolic Syndrome: A Four-Week Intervention Study. *Metabolites*, *10*(11), 428.

- Granato D, Barba FJ, Bursać Kovačević D, et al (2020). Functional Foods: Product Development, Technological Trends, Efficacy Testing, and Safety. *Annual Review Food Science Technology* 11:93–118.
- Gray, J. (2006). Dietary Fiber, ILSI Europe Concise Monograph Series. *International Life Sciences Institute*, 1-35.
- Grossi, V., Ohaco, D., & De Michelis, A. (2105). Determinación de fibra dietética total, soluble e insoluble en hongos comestibles de cultivo *Pleurotus ostreatus*. *INTA Ediciones* 1-32.
- Guaadaoui, A., Elmajdoub, N., Bellaoui, M., & Hamal, A. (2014). What is a Bioactive Compound? A Combined Definition for a Preliminary Consensus. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(3), 174.
- Hernández, U., Pérez, T., & Rodríguez, G. (2011). Chemical Analysis of Nutritional Content of Prickly Pads (*Opuntia ficus indica*) at Varied Ages in an Organic Harvest. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8(5), 1287-1295.
- Kemphues, K. (2005). The *C. elegans*. *Essential Genes the C. elegans Research Community*, Wormbook. 1.57.1.
- Kim, J., Soh, Y., Shin, J., Cho, C., Choi, H., & Nam, S. (2014). Bioactives in cactus (*Opuntia ficus-indica*) stems possess potent antioxidant and pro-apoptotic activities through COX-2 involvement. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(13).
- Klünder, K., Cruz, M., García, M., & Flores, H. (2014). Inflammatory cytokines adiponectin, resistin, IL-6 and IFN- $\gamma$  are associated with insulin resistance in eutrophic and obese children. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 71(1).
- León, F., Méndez, L., & Rodríguez, J. (2010). Spray drying of nopal mucilage (*Opuntia ficus-indica*): Effects on powder properties and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 81(4), 864-870
- Llanes, E. (2017). Alimentos hipolipemiantes que mejoran la salud cardiovascular. *Revista cubana de cardiología y cirugía cardiovascular*, 24(4).
- López, R., & Vaca, M. (2009). Drying of prickly pear cactus cladodes (*Opuntia ficus indica*) in a forced convection tunnel. *Energy Conversion and Management*, 50(9), 2119-2126.
- Martínez, E., & Lira, L. (2010) Análisis y aplicación de las expresiones del contenido de humedad en sólidos. *Simposio de metrología*. 1-6.
- Medina, T., Vernon, C., Gallegos, I., Rocha, G., Herrera, V., Calderas F., & Jiménez, A. (2011). Study of the antioxidant properties of extracts obtained from nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes after convective drying. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(6).
- Missaoui, M., D'Antuono, I., D'Imperio, M., Linsalata, V., Boukhchina, S., Logrieco, A. F., & Cardinali, A. (2020). Characterization of Micronutrients, Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Prickly Pear Cladodes as Functional Ingredient. *Molecules*, 25(9), 2176.
- Moliner, C.; Barros, L.; Dias, M.; López, V.; Langa, E.; Ferreira, I.; Gómez-Rincón, C. (2018). Edible Flowers of *Tagetes Erecta* L. as Functional Ingredients: Phenolic

- Composition, Antioxidant and Protective Effects on *Caenorhabditis elegans*. *Nutrients*, 10, 2002, doi:10.3390/nu10122002.
- Morán, R., He, X. C., Tovar, A., Torres, N., Slupsky, C., & Raybould, E. (2017). Nopal feeding reduces adiposity, intestinal inflammation and shifts the cecal microbiota and metabolism in high-fat fed rats. *PLoS ONE* 12(2).
- Msaddak, Siala., Nahed, A., Ayadi, N., & Nacim, Z. (2015). Cladodes from prickly pear as a functional ingredient: effect on fat retention, oxidative stability, nutritional and sensory properties of cookies. *International Journal Food Science Nutrition*; 66(8), 851–857.
- Muñoz, L., Díaz, Y., González, C., Medina, E., & Cardona, E. (2014). Efecto de la administración oral de nopal deshidratado sobre el perfil de lípidos en individuos con dislipidemia y sobrepeso/obesidad. *Revista Iberoamericana de Ciencias* 1(1), 11.
- Nabil, B., Ouaabou, R., Ouhammou, M., Saadouni, L., & Mahrouz, M. (2019). Impact of particle size on functional, physicochemical properties and antioxidant activity of cladode powder (*Opuntia ficus-indica*). *Journal of Food Science and Technology*, 57(3), 943-954.
- Nabil, B., Ouaabou, R., Ouhammou, M., Saadouni, L., & Mahrouz, M. (2020). Functional Properties, Antioxidant Activity, and Organoleptic Quality of Novel Biscuit Produced by Moroccan Cladode Flour *Opuntia ficus-indica*. *Journal of Food Quality*, 20, 1-12.
- Ndhlala, A., Moyo, M., & Staden, J. (2010). Natural Antioxidants: Fascinating or Mythical Biomolecules? *Molecules*, 15(10), 6905-6930.
- Nicolucci, A. C., Hume, M. P., Martínez, I., Mayengbam, S., Walter, J., & Reimer, R. A. (2017). Prebiotics Reduce Body Fat and Alter Intestinal Microbiota in Children Who Are Overweight or With Obesity. *Gastroenterology*, 153(3), 711–722.
- NMX-FF-068-SCFI-2006 Hortaliza fresca - nopal verdura (*Opuntia spp.*) - Especificaciones (Cancela a la NMX-FF-068-1988).
- Núñez, N. (2010). Evaluación nutricional en niños: Parámetro antropométricos. *Revista Gastrohnutp*, 12(3), 103-106.
- Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Granzella, L., & Montonati, M. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. *Diaeta (B. Aires)*, 25(121), 20-33.
- Ortiz, M. E. (2017). Propiedades funcionales de hoy. Barcelona, España: OmniaScience.
- Padilla, E., Flores, M., Fernandez, O., Gutierrez, Y., Luz, C., Sandoval, F., & Allen, K. (2015). Hypocholesterolemic Effect and *In Vitro* Pancreatic Lipase Inhibitory Activity of an-*Opuntia ficus indica* extract. *BioMedical Research International*, 1-4.
- Padilla, F., Granados, C., Leon, M., Arrieta, P., & Torrenegra, A. (2018). Evaluación de la influencia de la temperatura en procesos de secado. *@limentech Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 16(1), 107 – 117.
- Peña-Valdivia, C. B., Trejo, C., Arroyo-Peña, V. B., Sánchez Urdaneta, A. B., & Balois Morales, R. (2012). Diversity of Unavailable Polysaccharides and Dietary Fiber in Domesticated Nopalito and Cactus Pear Fruit (*Opuntia spp.*). *Chemistry & Biodiversity*, 9(8), 1599–1610.

- Pérez, A.; & Cruz, M. (2019). Situación actual de la obesidad infantil en México. *Nutrición Hospitalaria*, 36(2), 463-469.
- Quintanar, E., & Calderón, S. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*, 28(3), 89-101.
- Ramírez, B., & Román, M. (2018). Sobre los alimentos con actividad hipolipemiente. *Revista cubana de cardiología y cirugía cardiovascular*, 28(2), 417-456.
- Ressaissi A, Attia N, Falé PL, et al (2017) Isorhamnetin derivatives and piscidic acid for hypercholesterolemia: cholesterol permeability, HMG-CoA reductase inhibition, and docking studies. *Archives of Pharmacal Research* 40:1278–1286.
- Rodrigues, C.F.; Salgueiro, W.; Bianchini, M.; Veit, J.C.; Puntel, R.L.; Emanuelli, T.; Dernadin, C.C.; Ávila, D.S. (2018). Salvia Hispanica L. (Chia) Seeds Oil Extracts Reduce Lipid Accumulation and Produce Stress Resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Nutrition. Metabolism.*, 15, 83, doi:10.1186/s12986-018-0317-4.
- Sadeghi M, Mehryar E, Razavi J, Mireei SA. Moisture Sorption Isotherm and Glass Transition Temperature of Date Powder in Terms of Various Model Systems: Glass Transition Temperature of Date Powder. *Journal Food Process Engineering*, 2016;39:61–8. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12199>.
- Sáenz, C., Berger, H., Corrales, J., Galleti, Ljubica., García, V., Higuera, I., Mondragón, C., Rodríguez, A., Sepúlveda, E. y Varnero, M. (2006). Utilización agroindustrial del nopal. *Boletín de servicios agrícolas de la FAO*, 162.
- Sáenz, C., Sepúlveda, E., & Matsuhira, B. (2004). Opuntia spp mucilage's: A functional component with industrial perspectives. *Journal of Arid Environments*, 57(3), 275-290.
- Santiago, D., Gill, I., Carafa, I., Tuohy, M., Peña, D., & Cid, C. (2019). Digestion and Colonic Fermentation of Raw and Cooked *Opuntia ficus-indica* Cladodes Impacts Bioaccessibility and Bioactivity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(9), 2490-2499.
- Santiago, D., Pereira, G., Moreno, M., Cid, C., & Peña, D. (2018). Digestibility of (Poly)phenols and Antioxidant Activity in Raw and Cooked Cactus Cladodes (*Opuntia ficus-indica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(23).
- Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document. (1999). *British Journal of Nutrition*, 81, S1-S27.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2015). Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero. *Gobierno de México*.
- Sepúlveda, E., Sáenz, C., Aliaga, E., & Aceituno, C. (2007). Extraction and characterization of mucilage in Opuntia spp. *Journal of Arid Environments*, 68(4), 534-545.
- Stella, C., Margalef, M., & Tóffoli, S. (2013). Obtención de harina de nopal y formulación de alfajores de alto contenido en fibra. *Diaeta* (B.Aires); 31(142):20-26.
- Surco, L., Buelga, S., & Patón, D. (2011). *Evaluación de la actividad de flavonoides y sus metabolitos en el organismo modelo Caenorhabditis elegans* (Unpublished master's thesis). Tesis-Universidad de Salamanca.

- Teodoro, A. (2019). Bioactive Compounds of Food: Their Role in the Prevention and Treatment of Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-4.
- Trejo, M., Lira, V., & Pascual, B. (2016). Fibra para el futuro: propiedades y beneficios. *Alimentos Funcionales de Hoy*. Barcelona, España: OmniaScience. 1-34.
- Uebelhack, R., Busch, R., Alt, F., Beah, Z., & Chong, P. (2014). Effects of Cactus Fiber on the Excretion of Dietary Fat in Healthy Subjects: A Double Blind, Randomized, Placebo-Controlled, Crossover Clinical Investigation. *Current Therapeutic Research*, 76, 39-44.
- Uriarte-Frías G, Hernández-Ortega MM, Gutiérrez-Salmeán G, Santiago-Ortiz MM, Morris-Quevedo HJ, Meneses-Mayo M. Pre-Hispanic Foods Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*), Nopal (*Opuntia ficus-indica*) and Amaranth (*Amaranthus* sp.) as New Alternative Ingredients for Developing Functional Cookies. *Journal of Fungi* 2021;7:911.
- Vilchis, J., Galván, M., Klünder, M., Cruz, M., & Flores, S. (2015). Food habits, physical activities, and sedentary lifestyles of eutrophic and obese school children: A case–control study. *BMC Public Health*, 15(1).
- Yue, Y.; Li, S.; Shen, P.; Park, Y. (2021). *Caenorhabditis elegans* as a Model for Obesity Research. *Current. Research. Food Science.*, 4, 692–697, doi:10.1016/j.crfs.2021.09.008.
- Zhang, J., Xue, X., Yang, Y., Ma, W., Han, Y., & Qin, X. (2018). Multiple Biological Defects Caused by Calycosin-7-O- $\beta$ -d-Glucoside in the Nematode *Caenorhabditis Elegans* Are Associated with the Activation of Oxidative Damage. *Journal of Applied. Toxicology*, 38, 801–809.

## Anexos

### Anexo A: Consentimiento informado por parte de padres o tutores

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN EL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

**Título:** *Evaluación de las propiedades bioactivas y la fibra dietética de cladodios *Opuntia ficus indica* var. *Atlixco (NOPAL)* en polvo, su utilización en alimentos funcionales y su efecto en la dieta de una población infantil con sobrepeso u obesidad*

Estimado(a) Señor /Señora: \_\_\_\_\_

Mamá/papá o tutor de: \_\_\_\_\_

Se le está invitando a que su hijo(a) participe en este estudio de investigación, el cual es desarrollado por la Universidad de las Américas Puebla, en colaboración con la Dra. Karen Villaseñor López. Antes de decidir si su hijo(a) o familiar participa, debe conocer y comprender la siguiente información. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya comprendido el propósito del estudio, si decide que su hijo(a) participe, entonces le pediré que al finalizar firme esta carta de consentimiento informado.

**Patrocinador externo:** Ninguno.

**Justificación:** En la actualidad México se encuentra dentro de los primeros 5 lugares a nivel mundial con niños que padecen sobre peso y obesidad. La finalidad de realizar un alimento funcional (galleta con fibra proveniente del nopal) ayuda a que los niños mejoren la calidad de alimentación, por lo tanto, su estado de salud.

**Objetivos:** Evaluar los cambios que se presenten en los bioquímicos (glucosa, triglicéridos, colesterol), peso, circunferencias (cintura, cadera) en niños con sobrepeso y obesidad tras el consumo de un alimento funcional con alto aporte de fibra.

**Posibles riesgos y molestias:** Durante la toma de laboratorios dolor, moretón. Alergia o intolerancia a alguno de los componentes de la galleta (Es importante saber los ingredientes que contiene el producto: harina de trigo, nopal en polvo, mantequilla, aceite vegetal, azúcar, huevo, vainilla, royal y cocoa).

**Posibles beneficios.** Conocer el estado de salud, modificar el estilo de vida.

**Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:** Se le entregara a usted la evaluación del estado de nutrición, resultados de laboratorios.

**Participación o retiro:** Su participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Usted está en plena libertad de negarse a que su hijo(a) participe o retire su participación del mismo en cualquier momento.

**Privacidad y confidencialidad:** Se garantiza la privacidad de la información de los participantes. En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse con la Investigadora o con la responsable del Comité de Ética en la Secretaría de Investigación de la UDLAP, llamando al teléfono 2292000 Ext. 2644 del departamento de Ciencias en un horario de 9:00 a 13:00 con dirección Ex Hacienda Sta. Catarina Mártir S/N. San Andrés Cholula, Puebla. C.P. 72810. México.

- Autorizo que mi hijo(a) participe en el protocolo de investigación.  
 No autorizo que mi hijo(a) participe en el protocolo de investigación.



Nombre y firma de padre, madre o tutores o representante legal.

Karen Villaseñor López  
Nombre y firma del investigador responsable

## Anexo B: Carta aceptación proyecto de intervención



San Andrés Cholula Puebla, a 21 de abril de 2023.

**Dr (a). Ana Eugenia Ortega Regules**  
Profesor/Investigador  
del Departamento de Ciencias de la Salud  
**PRESENTE**

Con base en el Reglamento del Comité de ética en Investigación y Creación artística, el Comité de ética de la Universidad de las Américas Puebla, confirma el registro y revisión del siguiente proyecto de investigación:

**065-03-2023 : Evaluación de las propiedades bioactivas y la fibra dietética de cladodios de nopal (Opuntia ficus indica variedad Atlixco) en polvo, su utilización en alimentos funcionales y su efecto en la dieta de una población infantil con sobrepeso u obesidad**

Así mismo, se informa que el dictamen otorgado a partir de la revisión por parte del Comité es el siguiente:

**APROBADO**

La categoría de riesgo en que se clasificó fue:

**Categoría 1. De nulo o mínimo riesgo para los sujetos, el equipo de colaboradores, el medio ambiente y/o la Sociedad.**

Atentamente

  
**Dra. Laura Marissa Islas Romero**  
Presidenta del Comité de Ética

  
**Mtra. Gabriela Stefanie Solís Santos**  
Secretaria del Comité de Ética

c.c.p. Dr. Israel Cedillo Lazcano, Director de Investigación y Posgrado. *Para su conocimiento*



## Evidencias de participación en congresos y publicaciones





El Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla otorga el presente

# RECONOCIMIENTO A:

## Dra. Rocío Aparicio Ortuño

Por su participación en el programa de Jueves y Viernes en la Ciencia, con la conferencia "El nopal mexicano (*Opuntia ficus*), como fuente de fibra dietética y compuestos antioxidantes con beneficios en la nutrición y salud humana"

Atentamente

H. Puebla de Zaragoza, 08 de septiembre de 2023



DR. VICTORIANO GABRIEL COVARRUBIAS SALVATORI  
DIRECTOR GENERAL DEL CONSEJO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DEL ESTADO DE PUEBLA




Sobre Contexto | Contáctanos | +52 222 229 2000

INICIO | CON MEMORIA | CON ENTORNO | **CIENCIA Y SALUD** | NEGOCIOS Y FINANZAS | ARTE Y CULTURA | MÁS

### El Nopal (*Opuntia ficus indica*), propiedades y beneficios

Portada | Destacada | El Nopal (*Opuntia ficus indica*), propiedades y beneficios



Buscar  Buscar

#### Nuestro boletín

SUSCRIBETE

Nombre completo:

Correo electrónico:

Suscribirse

30 **El Nopal (*Opuntia ficus indica*), propiedades y beneficios**

May

Ciencia y salud, Destacada



Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C.

otorga la presente

### CONSTANCIA

a:

Rocío Aparicio Ortuño

Por su asistencia al XLIV Encuentro Nacional de la AMIDIQ





Dr. Víctor Romo Hernández  
Presidente del Comité Organizador

Dr. Jorge Basilio Balbuena Ortiz  
Presidente Nacional de la AMIDIQ

Dr. Emma Lorente García  
Presidente del Comité Técnico



Huamilo, Oaxaca, México 30 de mayo al 2 de junio de 2023

### Foro AMEPAL

Actualización en Inocuidad Alimentaria



AMEPAL A.C.

La Asociación Mexicana para la Protección de los Alimentos A.C. otorga a:

### Rocío Aparicio Ortuño

la presente

### CONSTANCIA DE CAPACITACIÓN EN INOCUIDAD ALIMENTARIA

con un total de: 10 h

llevado a cabo en línea de mayo a noviembre 2023




Dra. María Teresita Jiménez Munguía  
Presidente AMEPAL A.C.



**Certificate of Attendance**

Este documento certifica que:  
**Rocío Aparicio**  
 ha asistido al seminario:  
**Novedades analíticas para el sector alimentario y medioambiental**  
 Celebrado el 9 de abril de 2024 en Murcia, de 10 a 14h.

Y, para que así conste, firmo el presente documento a 9 de abril de 2024.



Waters Cromatografía, s.o.  
 Avenida del País, 1A  
 Parc Tecnològic del Vallès  
 08220 Castellnou del Vallès (Barcelona)

Anna Farré Gabernet  
 Responsable de marketing

© 2024 Waters Corporation

Waters™

## Sustainable Food Technology



PAPER

[View Article Online](#)  
[View Journal](#)

Check for updates

Cite this: DOI: 10.1039/d4fb00019f

### Cladodes of *Opuntia ficus indica* as a functional ingredient in the production of cookies: physical, antioxidant and sensory properties

Rocío Aparicio-Ortuño,<sup>a</sup> Oscar Jiménez-González,<sup>a</sup> J. Daniel Lozada-Ramírez<sup>b</sup> and Ana E. Ortega-Regules

*Opuntia ficus indica* cladodes are a rich source of bioactive compounds and dietary fiber; therefore, they could be a functional ingredient in the production of health-promoting foods. This study aimed to develop cookies by substituting wheat flour with powdered cladodes in different proportions, 15, 20 and 25%, and analyze them in terms of physical and bioactive compounds and sensory characteristics. Proximal analysis showed that powdered cladodes were high in total dietary fiber (54.89%). The analysis of total phenolic compounds and antioxidant capacity revealed values of 2050.20 mg GAE per 100 g db and 312.14 mg Trolox per 100 g db. Powdered cladode supplementation increased hardness and decreased color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ) compared to control (without cladode powder). Moreover, rising levels of powdered cladodes contribute to the increased total phenolic compound content and antioxidant capacity compared to control. Sensory analysis showed that 15% cladode supplementation was adequate for preparing an acceptable functional cookie. The sorption isotherm showed that it was possible to fit the GAB model to the experimental data and the cookies were stable at 25 °C. Cladodes of *Opuntia ficus indica* could be considered as a functional ingredient and a source of dietary fiber and antioxidants for the manufacture of foods with benefits to human health and nutrition.

Received 20th January 2024  
 Accepted 8th April 2024

DOI: 10.1039/d4fb00019f

[rsc.li/susfoodtech](https://rsc.li/susfoodtech)

#### Sustainability spotlight

Our research group harnessed *Opuntia ficus indica* cladodes for sustainable and health-conscious food choices, introducing a new dimension to functional ingredients. In this study, powdered cladodes replaced traditional wheat flour in cookie formulations, revealing substantial total dietary fiber content and serving as a potent source of bioactive compounds. The cookies exhibited promising stability at 25 °C, crucial for sustainability. *Opuntia ficus indica* cladodes offer a sustainable solution, enabling the food industry to contribute to health and environmental well-being. This research signifies a step towards integrating sustainable practices in food manufacturing for a healthier, environmentally conscious future.

Open Access Article. Published on 26 April 2024. Downloaded on 4/29/2024 12:49:30 PM.  
 This article is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 3.0 Unported Licence.





## Characterization of mexican *Opuntia ficus indica* cladode and bioactive compound profile. Oxidative stress resistance and anti-adipogenic effect in *Caenorhabditis elegans*

Rocío Aparicio-Ortuño<sup>1</sup> · J. Daniel Lozada-Ramírez<sup>2</sup> · Cecilia Anaya de Parrodi<sup>2</sup> · Taisa S. Silva-Pereira<sup>3</sup> · Karen Villaseñor-López<sup>3</sup> · Milena M. Ramírez-Rodrigues<sup>4</sup> · Ana E. Ortega-Regules<sup>3</sup> 

Received: 14 January 2024 / Accepted: 26 April 2024

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2024

### Abstract

Cladodes from *Opuntia ficus indica* var. Atlixco serve as a valuable source of dietary fiber and bioactive compounds. This study delves into the chemical composition, total polyphenolic content, and antioxidant capacity of powdered samples at three ripening stages. Notably, cladodes at 60 days of ripening (60 d) exhibited the highest dietary fiber content, while those at 45 days of ripening (45 d) showcased superior levels of total polyphenols and antioxidant capacity, as measured by ABTS. Key minerals identified through ICP-OES included Ca, K, Mg, P, and Na, with Ca and K being more abundant. Liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) facilitated the identification and quantification of polyphenols in 60 d cladodes. Despite their size (> 30 cm), rendering them unsuitable for commercialization, these cladodes' extract revealed elevated proportions of piscidic and eucomic acids, along with isorhamnetin derivatives. Evaluation of oxidative stress resistance and anti-adipogenic capacity in a *Caenorhabditis elegans* animal model revealed that the extract from 60 d cladodes enhanced the survival rate under oxidative stress conditions and reduced fat deposition in the *C. elegans* intestine. These findings not only highlight the health and nutritional advantages but also inspire further research and the potential development of innovative functional products.