



"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

OFICIO: ITV/DEPI/No.109/2020

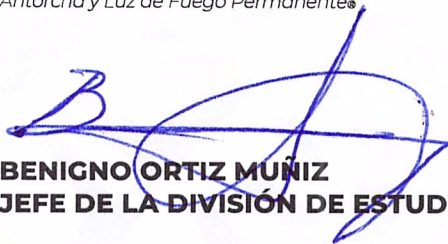
**A QUIEN CORRESPONDA  
PRESENTE**

Por medio de la presente el que suscribe Dr. Benigno Ortiz Muñoz, Jefe de la División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Veracruz me permito hacer **CONSTAR** que, de acuerdo a los archivos de esta División de Estudios, el (la) **Dra. Carolina Peña Montes** fungió como **Director(a)** de la Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica titulada: **"Caracterización del mucilago de cruceta y efecto de su consumo en un modelo murino con síndrome metabólico"** desarrollada por el (la) **C. Kalid Gabriela Lagunes Vela**, número de control **M17020008**.

Se extiende la presente a la Ciudad de Veracruz, Veracruz a los cinco días del mes de marzo del año dos mil veinte.

**ATENTAMENTE**

*Excelencia en Educación Tecnológica®  
Antorcha y Luz de Fuego Permanente®*

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE VERACRUZ  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE  
POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**BENIGNO ORTIZ MUÑOZ  
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



C.c. Archivo





## ***Secretaría de Educación Pública***

### **TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO** **Instituto Tecnológico de Veracruz**

**Caracterización del mucílago de cruceta y efecto de su consumo en un modelo murino con síndrome metabólico**

PRESENTA:

**Q.C. Kalid Gabriela Lagunes Vela**

DIRECTORES:

**Dra. Carolina Peña Montes**

**Dra. Rosa María Oliart Ros**

**Dr. Michel Müller (University East Anglia, England)**

**H. VERACRUZ, VER.**

**JUNIO, 2019**

CARACTERIZACIÓN DEL MUCÍLAGO DE CRUCETA Y EFECTO DE  
SU CONSUMO EN UN MODELO MURINO CON SÍNDROME  
METABÓLICO

Por:

Q.C. Kalid Gabriela Lagunes Vela

Tesis propuesta a la

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN ALIMENTOS  
DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE VERACRUZ

Como requerimiento parcial para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN  
INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Junio 2019

## DEDICATORIA

En este trabajo quiero agradecer principalmente a Dios, por permitirme llegar a este momento importante de mi formación profesional.

A la luz de mis días y mi motor, mi pequeña Ivanna, gracias por entender que había veces en las que mamá no podía pasar el día entero a tu lado.

A mi esposo Martín por todo el apoyo a lo largo de esta etapa, por estar a mi lado dándome la fuerza necesaria para acabar.

A mi pequeña bebé, que te encuentras en el vientre, deseo que cuando leas esto sepas que llegaste en el mejor momento de mi vida.

A mis padres Esbeidy y Víctor, por estar siempre al pendiente de nosotras y apoyarnos en los mejores momentos y aun en los difíciles.

A mis abuelas Blanca y Raquelina, siempre son y serán una parte fundamental de mi vida y mi abuelo Fidencio que aunque no pudimos llegar juntos al final sé que estas feliz de ver como concluimos esta etapa.

A todos los que estuvieron a mi lado compartiendo el laboratorio de Genética Aplicada, chicos de servicio, chicos de estancia, pero en especial a Laura, Zyany, Aarón, Jorge, Jonathan, Iván, Alejandra, Carmen, Yemitzel, Karla y Alondra.

A mis amigas Alejandra, Flor y en especial a Olga por siempre contar con tu apoyo incondicional, y convertirte en una hermana para mí.

A mis asesores, Dra Carolina, porque fue una gran guía para el cumplimiento de este trabajo.

Gracias a todos.

## RECONOCIMIENTOS

Es importante reconocer a CONACYT por el apoyo económico brindado para la realización de esta tesis.

A la Dra. Carolina Peña Montes, por ser la principal guía de este trabajo, y aportar el material necesario para concluir de manera satisfactoria.

A la Dra. Abril Ramírez Higuera, por el préstamo de las instalaciones del bioterio para la realización del modelo murino de esta tesis.

Al Dr. Hugo Sergio García Galindo, por la facilitación de equipos del laboratorio de Química de Alimentos para la realización del modelo *in vitro* de esta tesis.

Al Dr. Arturo Navarra Ocaña (Facultad de Química UNAM) por las estancias realizadas en el laboratorio para la realizar parte de la caracterización de la cruceta.

A la Dra. Mónica Navarro Meza (UdeG, CUSur) por las estancias realizadas en el laboratorio para la realizar parte de la caracterización de la cruceta.

A los médicos veterinarios Martín Cantellano Partida y Arturo Trueba Moreno, por el apoyo durante el cuidado y sacrificio de los roedores.

Y muy especialmente a los 25 roedores que aportaron resultados favorables en el estudio.

## RESUMEN

Lagunes Vela, Kalid Gabriela. M. en C. Unidad de investigación y Desarrollo en Alimentos. Junio 2019. **Caracterización del mucílago de cruceta y efecto de su consumo en un modelo murino con síndrome metabólico.**

Directores: Dra. Carolina Peña Montes, Dra. Rosa María Oliart Ros, Dr. Michael Müller

El síndrome metabólico (SMe) se puede definir como un grupo de factores de riesgo que aumenta las posibilidades de padecer diabetes mellitus tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares como la hipertensión arterial, estos factores incluyen: sobrepeso/obesidad, hipertensión, hiperglucemia y trastornos en el metabolismo de los lípidos. Este síndrome es considerado una epidemia creciente en todo el mundo por lo que se requieren nuevas estrategias para su prevención y tratamiento. Una estrategia podría ser el desarrollo de alimentos enriquecidos con prebióticos o componentes dietéticos que al ingerirse sean fermentados por la microbiota intestinal y estimulen el crecimiento de bacterias específicas, donde algunos de los metabolitos que se formen puedan tener efectos benéficos sobre la salud. Los prebióticos son componentes de los alimentos que estimulan selectivamente el crecimiento y las actividades de ciertas bacterias específicas del tracto gastrointestinal, en la naturaleza podemos encontrarlos en la fibra dietética, que es la parte comestible de las plantas que resiste a la absorción en el tracto gastrointestinal, y en el intestino grueso, funcionando así como un sustrato fermentable para las bacterias de la microbiota intestinal. Los mucílagos son un tipo de fibra soluble que proporciona beneficios a la salud al ser incorporados en la dieta, *Acanthocereus tetragonus* (cruceta) es una planta endémica de México con potencial prebiótico que forman parte de la dieta en algunas regiones, por lo que además pueden ser utilizadas como un potencial terapéutico para el síndrome metabólico. En este contexto, el objetivo de esta propuesta fue caracterizar el mucílago de *A. tetragonus* y evaluar los cambios en un modelo con síndrome metabólico. Los resultados obtenidos concluyen que el componente principal del mucílago de la cruceta es la fibra dietética, seguida de carbohidratos y proteínas, en el mucílago de cruceta podemos encontrar la presencia de azúcares como ácido galacturónico, ramnosa y arabinosa, por otro lado se demostró que la cruceta tiene un efecto prebiótico en bacterias como *Lactobacillus rhamnosus* y *Enterococcus faecalis* y finalmente se observó que la cruceta tiene un efecto benéfico disminuyendo los parámetros del síndrome metabólico y puede ser utilizada como potencial terapéutico.

## ABSTRACT

Lagunes Vela, Kalid Gabriela. M. en C. Unidad de investigación y Desarrollo en Alimentos. Jun 2019. **Characterization of the cruciate mucilage and effect of its consumption in a murine model with metabolic syndrome.**

Directors: Dra. Carolina Peña Montes, Dra. Rosa María Oliart Ros, Dr. Michael Müller

The metabolic syndrome (SMe) can be defined as a group of risk factors that increases the chances of suffering from type 2 diabetes mellitus and cardiovascular diseases, these factors include: overweight / obesity, hypertension, hyperglycemia and disorders in lipid metabolism . It is considered a growing epidemic throughout the world so new strategies for its prevention and treatment are required. One strategy could be the development of prebiotics or dietary components that when ingested are fermented by the intestinal microbiota and stimulate the growth of specific bacteria, where some of the metabolites that are formed can have beneficial effects on health. Prebiotics are components of foods that selectively stimulate the growth and activities of certain specific bacteria of the gastrointestinal tract, in nature we can find them in dietary fiber, which is the edible part of plants that resists absorption in the gastrointestinal tract, and in the large intestine, functioning as a fermentable substrate for the bacteria of the gut microbiota. The mucilage's are a type of soluble fiber that provides health benefits when incorporated into the diet, *Acanthocereus tetragonus* (crossbows) is an endemic plant in Mexico with prebiotic potential that are part of the diet in some regions, so they can also be used as a therapeutic potential for the metabolic syndrome. In this context, the objective of this proposal was to characterize the mucilage of *A. tetragonus* and to evaluate the changes in a model with metabolic syndrome. The results obtained conclude that the main component of the cruciate mucilage is dietary fiber, followed by carbohydrates and proteins, in the cross-sectional mucilage we can find the presence of sugars such as galacturonic acid, rhamnose and arabinose, on the other hand it was shown that the The crosspiece has a prebiotic effect on bacteria such as *Lactobacillus rhamnosus* and *Enterococcus faecalis* and finally it was observed that the cross has a beneficial effect by decreasing the parameters of the metabolic syndrome and can be used as a therapeutic potential.

# CONTENIDO

RESUMEN .....	iv
ABSTRACT .....	v
CONTENIDO .....	vi
LISTA DE TABLAS .....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 ANTEDECENTES.....	3
2.1 Síndrome Metabólico.....	3
2.1.1 Obesidad .....	5
2.1.2 Diabetes Mellitus .....	6
2.1.2.1 Diabetes Mellitus tipo I.....	8
2.1.2.2 Diabetes Mellitus tipo II.....	9
2.1.3 Resistencia a la Insulina .....	9
2.1.4 Enfermedades cardiovasculares.....	10
2.2 Microbiota intestinal .....	10
2.2.1 <i>Bacteroidetes</i> .....	11
2.2.2 <i>Firmicutes</i> .....	12
2.2.2.1 <i>Lactobacillus</i> .....	12
2.2.2.2 <i>Enterococcus</i> .....	13
2.3 Alimentos funcionales.....	13
2.3.1 Probióticos.....	14
2.3.2 Prebióticos.....	15
2.3.2.1 Fibra dietética .....	16
2.3.2.1.1 Polisacáridos no almidón .....	16
2.3.2.1.2 Oligosacáridos .....	17
2.3.2.1.2.1 Fibra soluble .....	17
2.3.2.1.2.2 Fibra insoluble .....	17
2.3.2.1.2.2.1 Galactooligosacáridos (GOS) .....	18
2.3.2.1.2.2.2 Fructooligosacáridos (FOS) .....	18



2.3.2.1.2.3 Inulina .....	19
2.3.2.1.2.4 Pectinas .....	19
2.3.2.1.2.5 Mucílagos .....	19
2.4 Cactáceas con alto contenido de mucílago en México.....	20
2.4.1 <i>Opuntia ficus</i> .....	21
2.4.2 <i>Acanthocereus tetragonus</i> .....	22
3 JUSTIFICACIÓN .....	25
4 HIPÓTESIS.....	26
5 OBJETIVOS.....	27
OBJETIVO GENERAL.....	27
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	27
6 MATERIALES Y MÉTODOS .....	28
6.1 Recolección de las muestras de cruceta.....	28
6.2 Extracción del mucílago de cruceta .....	28
6.3 Caracterización del mucílago de <i>Acanthocereus tetragonus</i> .....	29
6.3.1 Capacidad de retención de agua del mucílago de cruceta.....	29
6.3.2 Caracterización química de la cruceta y su mucílago .....	29
6.3.2.1 Determinación de humedad de la cruceta y su mucílago .....	30
6.3.2.2 Determinación de cenizas de la cruceta y su mucílago.....	30
6.3.2.3 Determinación del contenido de grasas de la cruceta y su mucílago ....	30
6.3.2.4 Determinación de proteínas de la cruceta y su mucílago .....	31
6.3.2.5 Determinación de fibra dietética de la cruceta y su mucílago.....	32
6.3.2.6 Determinación de monosacáridos del mucílago de cruceta mediante una hidrólisis ácida.....	32
6.3.2.7 Determiación de monosacáridos por cromatografía en capa fina (TLC) .....	33
6.3.2.9 Espectrofotómetro de infrarrojo por transformada de Fourier .....	33
6.3.2.10 Análisis de compuestos bioactivos mediante cromatografía en capa fina (TLC).....	34
6.4. Simulación química en el tránsito gastrointestinal.....	35
6.4.1 Determinación de carbohidratos totales por el método de fenol-sulfúrico	36
6.4.2 Determinación de azúcares reductores por el método de ácido di-nitro salicílico (DNS).....	37
6.4.3 Determinación de proteínas por el método de Bradford .....	37
6.5 Evaluación del efecto prebiótico <i>in vitro</i> .....	38

6.5.1	Cinéticas de crecimiento con bacterias probióticas .....	38
6.6	Efecto prebiótico en el modelo murino .....	38
6.6.1	Modelo murino experimental con síndrome metabólico .....	38
6.6.2	Medición de glucosa para realización de curva de tolerancia a la glucosa	40
6.6.3	Medición de presión arterial .....	40
6.6.4	Evaluación de parámetros séricos relativos al síndrome metabólico .....	40
6.6.4.1	Determinación de glucosa en suero .....	40
6.6.4.2	Determinación de colesterol en suero .....	41
6.6.4.3	Determinación de triglicéridos en suero .....	42
7	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	45
7.1	Recolección de las muestras de cruceta .....	45
7.2	Extracción del mucílago de cruceta .....	45
7.3	Caracterización del mucílago de <i>Acanthocereus tetragonus</i> .....	47
7.3.1	Determinación de la capacidad de retención de agua del mucílago de cruceta .....	47
7.3.2	Caracterización química de la cruceta y su mucílago .....	47
7.3.2.1	Determinación de monosacáridos del mucílago de cruceta mediante una hidrólisis ácida .....	49
7.3.2.2	Determinación de monosacáridos por cromatografía en capa fina (TLC) .....	50
7.3.2.3	Determinación de grupos funcionales mediante espectrofotometría de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) .....	51
7.3.2.4	Análisis de compuestos bioactivos mediante cromatografía en placa fina (TLC) .....	53
7.4	Simulación química en el tránsito gastrointestinal .....	54
7.4.1	Determinación de carbohidratos totales por el método de fenol-sulfúrico	54
7.4.2	Determinación de azúcares reductores por el método de ácido dinitro salicílico (DNS) .....	55
7.4.3	Determinación de proteínas por el método de Bradford .....	55
7.5	Evaluación del efecto prebiótico <i>in vitro</i> .....	56
7.5.1	Cinéticas de crecimiento con bacterias probióticas .....	56
	.....	58
7.6	Efecto prebiótico en modelo murino .....	58
7.6.1	Modelo murino con síndrome metabólico .....	58
7.6.1.1	Consumo de alimento y ganancia de peso corporal del modelo murino	58
7.6.2	Curva de tolerancia a la glucosa en el modelo murino .....	60

7.6.3 Niveles de presión arterial en el modelo murino .....	61
7.6.4 Evaluación de parámetros séricos relativos al síndrome metabólico .....	62
7.6.4.1 Concentración de niveles de glucosa sérica en el modelo murino .....	62
7.6.4.2 Concentración de niveles de colesterol sérico en el modelo murino .....	62
7.6.4.3 Concentración de niveles de triglicéridos séricos en el modelo murino .....	63
8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	65
8.1 Conclusiones .....	65
8.2 Recomendaciones .....	65
REFERENCIAS .....	66
ANEXOS.....	76
Anexo 1. Curva de calibración para la medición de carbohidratos totales por el método fenol sulfúrico. ....	76
Anexo 2. Curva de calibración para la medición de azúcares reductores por el método de DNS.....	78
Anexo 3. Curva de calibración para la medición de proteínas por el método de Bradford .....	79

## LISTA DE TABLAS

TABLA 1 Criterios para el diagnóstico clínico de síndrome metabólico .....	5
TABLA 2 Clasificación de la obesidad de acuerdo a la OMS y la NOM por IMC ....	6
TABLA 3 Clasificación de la obesidad de acuerdo a la circunferencia abdominal ..	6
TABLA 4 Bacterias consideradas como probióticos .....	14
TABLA 5 Composición química del mucílago de nopal, elaboración propia con datos de Sepúlveda et al., 2007 .....	20
TABLA 6 Taxonomía del nopal .....	21
TABLA 7 Taxonomía de la Cruceta .....	23
TABLA 8 Composición de las soluciones utilizadas en la simulación química del tránsito gastrointestinal .....	35
TABLA 9 Formulación de la dieta para la inducción de síndrome metabólico .....	39
TABLA 10 Determinación de glucosa sérica .....	41
TABLA 11 Determinación de colesterol sérico .....	42
TABLA 12 Determinación de triglicéridos séricos .....	43
TABLA 13 Rendimientos obtenidos en la extracción del mucílago de cruceta .....	46
TABLA 14 Caracterización química de la cruceta .....	48
TABLA 15 Caracterización química del mucílago de cruceta .....	48
TABLA 16 Medición de presión arterial en modelo murino .....	61
TABLA 17 Diluciones para la preparación de curva de calibración para la determinación de carbohidratos totales .....	76
TABLA 18 Diluciones para la preparación de curva de calibración para la determinación de azúcares reductores .....	78

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Principales causas de muerte en México, elaboración propia con datos de INEGI 2015. ....	4
FIGURA 2 Principales causas de muerte en hombres de México, elaboración propia con datos de INEGI 2015 .....	7
FIGURA 3 Principales causas de muerte en mujeres de México, elaboración propia con datos de INEGI 2015 .....	8
FIGURA 4 Grado de fermentación de la fibra dietética .....	18
FIGURA 5 Planta de cruceta .....	22
FIGURA 6 Metodología general .....	28
FIGURA 7 Espectrofotómetro de infrarrojo por transformado de Fourier .....	34
FIGURA 8 Equipo de simulación de digestión <i>in vitro</i> .....	36
Figura 9 Modelo de síndrome metabólico en ratas .....	39
FIGURA 10 Diseño del estudio .....	40
FIGURA 11 Cruceta lavada y desinfectada tierna al corte .....	45
FIGURA 12 Estructura propuesta del mucílago de nopal (Sáenz <i>et al.</i> , 2014). ....	49
FIGURA 13 Monosacáridos en TLC y muestra de cruceta hidrolizada; 1: arabinosa, 2: glucosa, 3: xilosa, 4: ácido galacturónico, 5: fructosa, 6: galactosa, 7: ramnosa, 8: mucílago de nopal, 9: mucílago de cruceta. Placa revelada con anisaldehído .....	50
FIGURA 14 Espectro de IR de muestra de mucílago de cruceta .....	52
FIGURA 15. Espectro de IR de muestra de mucílago de nopal .....	52
Figura 16 Compuestos bioactivos en TLC. F: ácido férulico, C: ácido cumárico, 1: cruceta, 2: mucílago de cruceta, 3: pectina de cruceta. Placa revelada con DPPH. ....	54
Figura 17 Cinética de crecimiento de <i>Enterococcus faecalis</i> .....	56
FIGURA 18 Cinética de crecimiento de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> .....	57
Figura 19 Cinética de crecimiento de <i>Bifidobacterium animalis</i> .....	58
FIGURA 20 Consumo de alimento durante el estudio .....	59
FIGURA 21 Ganancia de peso corporal durante el estudio .....	60
Figura 22 Curva de tolerancia a la glucosa .....	61
FIGURA 23 Concentración de glucosa sérica .....	62
FIGURA 24 Concentración de colesterol sérico .....	63
FIGURA 25 Concentración de triglicéridos séricos .....	64
FIGURA 26 Curva de calibración para carbohidratos totales por el método de fenol-sulfúrico .....	77
FIGURA 27 Curva de calibración para azúcares reductores por el método de DNS .....	78
FIGURA 28 Curva de calibración proteínas por el método de Bradford .....	79

## LISTA DE ABREVIATURAS

SMe	Síndrome metabólico
DM	Diabetes mellitus
ENSANUT	Encuesta nacional de salud y nutrición
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
OMS	Organización mundial de la salud
IMC	Índice de masa corporal
CC	Circunferencia de cintura
GC	Guanina-Citosina
FOS	Fosfooligosacáridos
GOS	Galactooligosacáridos
XOS	Xilooligosacáridos
IMOS	Isomaltooligosacáridos
CONABIO	Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
AOAC	The Association of Official Analytical Chemists
TLC	Cromatografía en capa fina
FTIR	Espectrofotometría de infrarrojo por transformada de Fourier
DNS	Ácido 3,5 dinitrosalicílico
MRS	Man, Rogosa y Sharpe
TS	Testigo sano
SMe-Muc	Síndrome metabólico-Mucílago
SMe-Cruc	Síndrome metabólico-Cruceta
GOD	Glucosa oxidasa
POD	Peroxidasa
IR	Infrarrojo

BSA

Albumina de suero bovino

HPLC

High performance liquid chromatography

PCR

Reacción en cadena de la polimerasa

# 1 INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico (SMe) es un concepto ampliamente aceptado que agrupa varios factores de riesgo como la diabetes mellitus tipo II y las enfermedades cardiovasculares: las cuáles incluyen al sobrepeso/obesidad, hipertensión arterial, hiperglucemia y trastornos en el metabolismo de lípidos y carbohidratos. Debido a la complejidad del SMe, tanto la calidad de vida de los pacientes y en los costos que implica en los sistemas de salud, los cuáles han aumentado de manera significativa en los últimos años. Se buscan alternativas de prevención y tratamiento (Fernández de Cossio *et al.*, 2016). Las evidencias recientes sugieren que la modulación de la composición de la microbiota intestinal mediante intervenciones nutricionales pueden tener un potencial terapéutico en el manejo del SMe y las comorbilidades asociadas (Erejuwa *et al.*, 2014; Petra *et al.*, 2015).

Se han demostrado algunas mejoras en las alteraciones metabólicas con el uso de probióticos, los cuales son microorganismos vivos capaces de conferir beneficios en la salud del huésped administrados en una cantidad adecuada (Delzenne *et al.*, 2011). De igual manera se ha demostrado que el consumo de prebióticos como la oligofruktosa, puede estimular selectivamente el crecimiento de algunas bacterias comensales, mejorando la salud del hospedero (Mallappa *et al.*, 2011).

La dieta es un factor importante que da forma a la composición de la microbiota intestinal. El consumo de fibras dietéticas ha demostrado constantemente una relación con efectos positivos sobre la salud y mejoras en los componentes individuales del SMe. En la fibra dietética existen carbohidratos no digeribles, como los oligosacáridos que pueden tener efectos benéficos en la salud, los carbohidratos prebióticos a menudo han demostrado ser carbohidratos de bajo peso molecular como los fructooligosacáridos y galactooligosacáridos (Jakobsdottir *et al.*, 2013). Recientemente se ha estudiado a los mucílagos por su potencial prebiótico, siendo el mucílago de nopal el más estudiado, con resultados benéficos para la salud. México cuenta con una variedad de plantas con alto contenido de mucílago, la familia de las cactáceas donde encontramos al nopal es un ejemplo, dentro de esta familia podemos encontrar a la cruceta la cuál no cuenta con estudios que



demuestren el potencial prebiótico que pueda tener, por lo que para este estudio resulto de interés.

La cruceta es utilizada como parte de la dieta en algunas regiones de México, como Veracruz y Oaxaca, y al conocer sus beneficios, puede ser utilizada como un potencial terapéutico en enfermedades asociadas al síndrome metabólico.

En este estudio se realizó la caracterización química de la cruceta y su mucílago, además de que se evaluó el potencial prebiótico de ambas utilizando bacterias probióticas como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Enterococcus*, y finalmente se analizó el efecto de la cruceta y su mucílago en los parámetros del síndrome metabólico utilizando un modelo murino.

## 2 ANTEDECENTES

México se enfrenta actualmente a un escenario alimentario, con graves repercusiones en el estado nutricional individual y colectivo. La tasa de aumento de la obesidad en México entre 1988 y 2006 ha sido una de las más altas en el ámbito global. Según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2016, se evaluó la prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños, adolescentes y adultos, en mujeres se presentó un aumento respecto a las cifras del 2012, en los tres grupos de edad con mayor prevalencia en zonas rurales, mientras que en la de población masculina aumentó en zonas rurales de 61.1% en el 2012, a 67.5% en 2016, mientras que en las zonas urbanas se mantiene en un nivel elevado de 69.9%. Por otro lado, se han observado enfermedades crónicas como la diabetes (9,2% de los adultos) e hipertensión (con un número alarmante de 31,5% de adultos diagnosticados) en edades más tempranas. En este contexto, existe la necesidad de monitorear y mejorar estas condiciones, derivadas en primer lugar de una dieta pobre en nutrientes que beneficien la salud (Gutiérrez *et al.*, 2012).

### 2.1 Síndrome Metabólico

El SMe se define como una serie de alteraciones relacionadas y factores de riesgo que predisponen a un individuo al desarrollo de diabetes mellitus tipo II y enfermedades cardiovasculares (Lam *et al.*, 2015). Las principales causas de muerte en México son las enfermedades cardiovasculares y la diabetes mellitus (INEGI, 2015) (Figura 1), ambas estrechamente relacionadas con el SMe. La resistencia a la insulina está vinculada a todas las manifestaciones de SMe, aunque hay medicamentos, se considera que el mejor tratamiento es un cambio en el estilo de vida (Orchard *et al.*, 2005).



**FIGURA 1 Principales causas de muerte en México, elaboración propia con datos de INEGI 2015.**

Además, del cambio del estilo de vida este tiene que ser complementado con la ingesta de alimentos con propiedades beneficiosas en el SMe como los prebióticos. La Organización Mundial de la Salud junto con otras organizaciones como, la Federación Internacional de la diabetes, el Instituto Nacional del Corazón, Pulmón y Sangre, la Asociación americana del corazón, la Federación Mundial del Corazón, la Sociedad Internacional de Aterosclerosis y la Asociación Internacional para el estudio de la Obesidad propusieron un diagnóstico armonizado del síndrome metabólico, donde se estipula que al poseer al menos tres de los cinco factores de riesgo (Tabla 1) son causa de diagnóstico del síndrome metabólico (Alberti *et al.*, 2009).

**TABLA 1 Criterios para el diagnóstico clínico de síndrome metabólico**

Parámetros	Puntos límite característicos
Circunferencia abdominal	Parámetros específicos para países y poblaciones
Triglicéridos	≥ 150 mg/dL
Colesterol HDL	Hombres < 40 mg/dL Mujeres < 50 mg/dL
Presión arterial	≥ 130/ ≥85
Glucosa en ayuno	≥ 100 mg/Dl

### 2.1.1 Obesidad

La obesidad es una epidemia mundial en donde México ocupa el primer lugar en sobrepeso en adultos y el segundo lugar en obesidad infantil. Aunque la obesidad como tal se define como una acumulación excesiva de grasa que es perjudicial para la salud (OMS), también la podemos definir como un desbalance entre la ingesta energética y el gasto calórico, actualmente se sabe que los mecanismos involucrados en el desarrollo de esta enfermedad son complejos, y se siguen descubriendo nuevo factores involucrados, tal es el caso de la microbiota intestinal, la cual se ha postulado en la última década como un factor clave en el desarrollo de obesidad y sus complicaciones metabólicas (Moran Ramos *et al.*, 2015).

La obesidad es el principal factor de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo II, enfermedades cardiovasculares, hipertensión arterial, dislipidemias, enfermedades osteoarticulares y ciertos tipos de cáncer, como el de mama y próstata (Barquera *et al.*, 2010). La clasificación de la obesidad en un individuo permite identificar a aquellos individuos con mayor riesgo de morbilidad y mortalidad, las clasificaciones más utilizadas para definir obesidad en adultos (Tabla 2 y 3) consideran lo siguiente:

- Índice de masa corporal (IMC). Es el indicador más útil para poder evaluar la composición corporal a nivel poblacional, ya que es de bajo costo, fácil de aplicar y su cálculo no varía en función del sexo ni la edad en la población adulta.

$$\text{IMC} = \text{peso (kg)} / \text{estatura (m)}^2.$$

- Circunferencia abdominal. Es un indicador de adiposidad central útil para evaluar el riesgo cardiovascular.

**TABLA 2 Clasificación de la obesidad de acuerdo a la OMS y la NOM por IMC**

Fuente	Bajo peso	Normal	Sobrepeso	Obesidad		
OMS	<18.5	18.5 – 24.9	25.0 – 29.9	Grado I 30.0 – 34.9	Grado II 35.0 - 39.9	Grado III >40.0
NOM	-	-	25.0 – 26.9	>27		

**TABLA 3 Clasificación de la obesidad de acuerdo a la circunferencia abdominal**

Por el riesgo de desarrollar complicaciones metabólicas de acuerdo con la circunferencia abdominal		
Riesgo de complicaciones metabólicas	Incrementado	Sustancialmente incrementado
Hombres	≥ 94 cm	≥ 102 cm
Mujeres	≥ 80 cm	≥ 88 cm

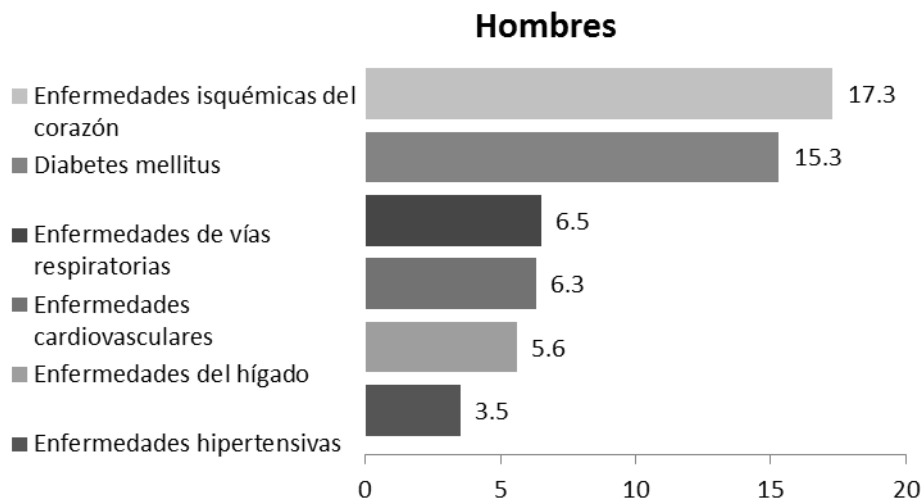
### 2.1.2 Diabetes Mellitus

La diabetes es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia resultante de defectos en la secreción de insulina, la acción de la insulina, o ambos, se origina debido a la combinación de diversos factores, entre los que se encuentran la edad, la obesidad, el sedentarismo, la alimentación inadecuada, los antecedentes familiares y algunos factores genéticos. La hiperglucemia crónica de la diabetes se asocia con daño a largo plazo, disfunción en diferentes órganos, especialmente los ojos, los riñones, los nervios, el corazón y los vasos sanguíneos (American Diabetes Association, 2014). La gran mayoría de los casos de diabetes se dividen en dos grandes categorías:

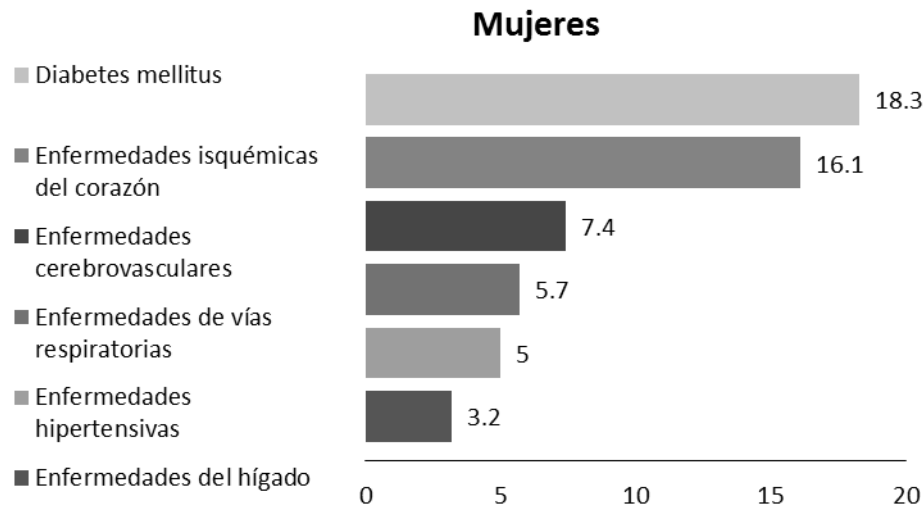
- La diabetes tipo I. La cual es causada por una deficiencia absoluta de secreción de insulina.

- La diabetes tipo II. Es la forma más común de diabetes, se produce cuando la persona no produce suficiente insulina o la células no hacen uso de la insulina por lo que se presenta una resistencia a la insulina, y uno de sus principales tratamientos es con cambios en el estilo de vida, así como la aplicación de medicamentos orales e insulina.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que el número de personas con diabetes en el mundo es de 171 millones y pronostica que aumentará a 366 millones en el año 2030. En México, desde 1940 la diabetes ya se encontraba dentro de las primeras 20 causas de mortalidad, con una tasa de 4.2 por 100 000 habitantes. A partir de 2000, la diabetes es la primera causa de muerte en mujeres y la segunda en hombres, después de la cardiopatía isquémica, enfermedad resultante muchas veces de la diabetes (INEGI, 2015) (Figura 2 y 3).



**FIGURA 2 Principales causas de muerte en hombres de México, elaboración propia con datos de INEGI 2015**



**FIGURA 3 Principales causas de muerte en mujeres de México, elaboración propia con datos de INEGI 2015**

Entre las estrategias que se pueden seguir individualmente para prevenir la aparición de diabetes se encuentran las siguientes: tener una alimentación alta en fibra, moderar el consumo de los alimentos con alto contenido calórico así como la disminución de alimentos altos en grasas saturadas y grasas trans, realizar actividad física con regularidad, mantener un peso saludable, moderar el consumo de alcohol, no fumar, evitar el consumo de las bebidas azucaradas y refrescos, después de un periodo prolongado de estar sentado levantarse unos minutos, y finalmente realizarse periódicamente pruebas sanguíneas para medir concentraciones de glucosa, colesterol y triglicéridos.

Los factores relacionados con el estilo de vida pueden modificarse con el objetivo de mejorar la salud de las personas y disminuir las posibilidades de desarrollar diabetes. Estas intervenciones pueden disminuir hasta en 31% la presentación de casos de diabetes mellitus II (Lauro *et al.*, 2004)

#### **2.1.2.1 Diabetes Mellitus tipo I**

Esta forma de diabetes sólo representa el 5 al 10% de los diabéticos, se le conoce como diabetes insulino-dependiente o diabetes juvenil, resulta de una destrucción

autoinmune celular mediada por las células  $\beta$  del páncreas (American Diabetes Association, 2014).

### **2.1.2.2 Diabetes Mellitus tipo II**

Esta forma de diabetes, que representa el 90-95% de los diabéticos, se le conoce como diabetes no insulino-dependiente, la diabetes tipo II o la diabetes de aparición en adultos, abarca a individuos que tienen resistencia a la insulina y por lo general tienen una deficiencia relativa de insulina. La mayoría de los pacientes con esta forma de diabetes son obesos, y la obesidad misma causa algún grado de resistencia a la insulina, los pacientes que no son obesos según los criterios tradicionales de peso pueden tener un mayor porcentaje de grasa corporal distribuida predominantemente en la región abdominal. El riesgo de desarrollar esta forma de diabetes aumenta con la edad, la obesidad y la falta de actividad física (American Diabetes Association, 2014). El problema principal es que la insulina no funciona correctamente, por lo que al principio se suele tratar con fármacos orales, sin embargo, conforme pasa el tiempo, las células beta que fabrican insulina van muriendo poco a poco hasta que finalmente también es necesario el tratamiento con insulina. Este tipo de diabetes se trata de una enfermedad progresiva y se puede evitar o retrasar su progresión si se actúa en las fases iniciales. Sin duda, el tratamiento más eficaz es el “abordaje multifactorial” que incluye el tratamiento de la diabetes y de todo el resto de los factores de riesgo.

### **2.1.3 Resistencia a la Insulina**

La resistencia a la captación de glucosa a través de la insulina es un fenómeno común que desempeña un papel central en la patogénesis y la evolución clínica de importantes enfermedades como la diabetes mellitus, la hipertensión arterial y la obesidad central, se define como la disminución de la capacidad de la insulina para producir la respuesta fisiológica sobre el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa, como consecuencia, hay un incremento de la secreción de insulina con el fin de compensar la homeostasis de la glucosa, dando lugar a un hiperinsulinismo,



que puede ser compatible con una glucemia plasmática normal (De Morenti *et al.*, 2003).

#### **2.1.4 Enfermedades cardiovasculares**

Las enfermedades cardiovasculares suponen un problema de salud pública en todo el mundo, el actual aumento de la obesidad y el síndrome metabólico probablemente llevará a una epidemia de enfermedades cardiovasculares, la razón de esta epidemia se asocia a factores medio ambientales y cambios en el estilo de vida, como dietas con un importante aporte de calorías y la disminución de la actividad física.

El aumento de tejido adiposo en el cuerpo como consecuencia de las dietas hipercalóricas y el bajo gasto energético, y en particular incremento de la grasa visceral abdominal, tienen un papel primordial en la patogenia de la enfermedad y el síndrome metabólico (Grima Serrano *et al.*, 2005).

#### **2.2 Microbiota intestinal**

En general, al conjunto de formado por microorganismo, sus genes y metabolitos se denomina microbioma, por lo que el microbioma humano hace referencia a la población total de microorganismos, con sus genes y metabolitos que colonizan el cuerpo humano, se encuentran en el tracto gastrointestinal, el genitourinario, la cavidad oral, la nasofaringe, el tracto respiratorio y la piel.

La microbiota intestinal es la comunidad de microorganismos vivos residentes en el tubo digestivo. Esta es indispensable para el correcto crecimiento corporal, el desarrollo de la inmunidad y la nutrición. La microbiota intestinal es una de las comunidades más densamente pobladas en comparación con el suelo, subsuelo y los océanos, la cifra de estos microorganismos se eleva a  $1 \times 10^{14}$ . Alrededor del 50% de la masa fecal está constituida por bacterias, principalmente pertenecientes a cuatro principales filos: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* y *Proteobacteria*, llegando a ser las dos primeras el 90% del total (Icaza-Chávez, 2013).

En el útero, el ser humano carece de microbiota, al nacer, el tracto gastrointestinal se coloniza inmediatamente, se ha demostrado que la vía de nacimiento y el tipo de alimentación puede producir diferencias en la microbiota intestinal (Penders *et al.*, 2006). Durante la infancia y a lo largo de la vida, la composición de la microbiota cambia de acuerdo con la edad y la dieta, en los primeros dos años de vida la microbiota intestinal tiene una mayor proporción de bifidobacterias, posteriormente, se diversifica y alcanza su máxima complejidad en la edad adulta, con cientos de filotipos, dominados principalmente por *Bacteroidetes* y *Firmicutes* (Icaza-Chávez, 2013).

Las alteraciones de la microbiota intestinal y la respuesta adversa del hospedero a estos cambios se le denomina como disbiosis, esta se ha asociado recientemente con afecciones como el asma, las enfermedades inflamatorias crónicas y la obesidad, por lo que se ha pasado de considerar a la microbiota intestinal como un simple comensal acompañante a un órgano metabólico, con funciones de importancia en la salud, estimulando al sistema inmunitario, protegiendo contra la invasión de agentes patógenos y con una serie de actividades asociadas con la utilización de los carbohidratos dietarios no digeribles.

El papel de la microbiota intestinal en la salud ha sido cada vez más reconocida, ya que en estudios previos se ha demostrado que los cambios en la composición microbiana podrían estar relacionados con el fenotipo del síndrome metabólico (De Wit *et al.*, 2012). Se ha descrito una microbiota de tipo obeso, que se encuentra asociada al exceso de peso y al síndrome metabólico, con un incremento en la relación *Firmicutes/Bacteroidetes*, las *bifidobacterias* y los *Bacteriodes spp.* parecen proteger contra el desarrollo de la obesidad (Ley *et al.*, 2006).

### **2.2.1 *Bacteroidetes***

Los *Bacteroidetes* son un grupo grande de bacterias Gram negativas y anaerobias con amplia distribución en el medio ambiente, incluyendo el suelo, sedimentos, agua de mar y el tracto digestivo de los animales.

El grupo incluye cuatro clases, los *Bacteriodes* que son organismos abundantes en las heces de animales de sangre caliente, en los cuáles se incluye a los seres

humanos, y *Porphyromonas*, un grupo de organismos que habita en la cavidad bucal humana. Los miembros del género *Bacteroides* son patógenos oportunistas. Las otras clases de *Bacteroidetes* raramente son patógenas para los seres humanos, que son representativas de las clases *Flavobacteria*, *Sphingobacteria* y *Cytophagia*.

### **2.2.2 Firmicutes**

Los *Firmicutes* son un filo de bacterias Gram positivas, aunque existen dentro de ellas un género que carece de pared celular (*Mollicutes*). Este filo fue creado originalmente para incluir todas las bacterias Gram positivas, pero recientemente se ha restringido a un grupo base de formas relacionadas, llamado grupo de contenido GC bajo, estas tienen forma de bacilo y a veces de coco. Muchas de ellas producen endosporas que las hacen resistentes a la desecación y pueden sobrevivir en condiciones extremas, por lo que se pueden encontrar en diversos hábitats e incluyen algunos patógenos notables.

Los *Firmicutes* se dividen en las clases *Bacilli*, que son aerobios facultativos u obligados y estos se dividen en *Bacillales* y *Lactobacillales*, *Clostridia*, que son organismos anaerobios y *Mollicutes*, que son los que carecen de pared celular.

#### **2.2.2.1 Lactobacillus**

Los *Lactobacillus* son bacterias Gram positivas con forma de bacilos largos, que pueden ser rectos o curvados, crecen en anaerobiosis y fermentan azúcares formando ácido láctico, por lo que son clasificados como bacterias ácido lácticas. El género *Lactobacillus* tiene una amplia distribución y generalmente se encuentran a lo largo del tracto gastrointestinal, en la industria es utilizada en la preparación de productos farmacéuticos para reestablecer la microbiota intestinal después de tratamientos agresivos con antibióticos.

La pared celular del género *Lactobacillus*, observada al microscopio electrónico, contiene peptidoglicanos del tipo Lisina-D-Asparagina. Esta pared también contiene polisacáridos unidos al peptidoglicano mediante enlaces fosfodiéster, pero sólo presenta ácidos teicoicos relacionados a ella en algunas especies.

La mayoría de los *Lactobacillus* no presentan actividad proteolítica ni lipolítica en medios que contienen proteínas o grasas, sin embargo, algunas cepas pueden presentar ligera actividad proteolítica debido a proteasas y peptidasas ligadas a la pared celular o liberadas por ésta, así como una débil actividad lipolítica debido a la acción de lipasas intracelulares. Normalmente no reducen los nitratos, pero ciertas especies si lo hacen cuando el pH está por encima de 6, generalmente no licúan la gelatina, ni digieren la caseína, así como tampoco producen indol, ni ácido sulfídrico, pero la mayoría producen pequeñas cantidades de nitrógeno soluble. Son catalasa negativos, aunque algunas cepas producen la enzima pseudocatalasa que descompone el peróxido de hidrógeno.

#### **2.2.2.2 *Enterococcus***

Los *Enterococcus* son cocos Gram positivos y anaerobios facultativos, siendo dos especies comensales de la microbiota intestinal *E. faecalis* y *E. faecium*, aunque generalmente los *Enterococcus* son los causantes de distintas infecciones clínicas en las cuales podemos incluir infecciones urinarias, bacteriemias, endocarditis y meningitis entre otras.

Los *Enterococcus* se diferencian de los *Streptococcus* en que pueden crecer en un rango de temperatura de 10°C a 45°C. Son más resistentes a los cambios ambientales adversos, pudiendo tolerar concentraciones de 6,5% de NaCl, desarrollarse a pH 9.6 y soportar temperaturas de 60°C hasta por media hora.

### **2.3 Alimentos funcionales**

Un alimento funcional se define como aquel alimento o producto alimenticio que actúa de manera benéfica sobre una o más funciones del cuerpo, más allá de su efecto nutricional mejorando la salud y el bienestar, y/o reduciendo el riesgo de enfermedad. Puede ser un alimento natural, un alimento al que se ha añadido, eliminado o modificado un componente por medios biotecnológicos, un alimento en el que se ha modificado la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes o una combinación de cualquiera de estas posibilidades (Lorente y Serra, 2001). El

concepto de alimentos funcionales fue inventado en Japón en 1984, por científicos que estudiaban la relación entre nutrición, satisfacción sensorial y fortificación, como elementos para favorecer aspectos específicos para la salud. Dentro de las condiciones que existen para que un alimento sea considerado como funcional se debe cumplir lo siguiente: debe ser de naturaleza alimentaria y consumirse como parte de una dieta diaria, debe haber pruebas científicas de sus propiedades y estar definido a que grupos de población va dirigido (Schneider, 2001). Además estos alimentos al consumirse tienen que tener una particular función en el cuerpo como, el mejoramiento de mecanismos de defensa biológica, la prevención o recuperación de enfermedades específicas, o el retraso del envejecimiento celular. Actualmente se han desarrollado alimentos funcionales para la regulación de los procesos de metabolismo básicos como el control del peso, hiperglucemia e hipertrigliceridemia, así como para la regulación de problemas cardiovasculares y problemas digestivos con el uso de probióticos y prebióticos.

### 2.3.1 Probióticos

Los probióticos son microorganismos vivos que pueden agregarse a la fórmula de diferentes tipos de productos, incluyendo alimentos, medicamentos y suplementos dietéticos, que al ser ingeridos en cantidades suficientes ejercen un efecto positivo en la salud del huésped. Las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las usadas con mayor frecuencia como probióticos (Guarner *et al.*, 2011).

Dentro de las características que deben tener las bacterias para ser consideradas como probióticos es que deben ser tolerantes a los ácidos gástricos y sales biliares, y puedan adherirse a las superficies epiteliales y que persistan en el tracto gastrointestinal, además que tenga una actividad antagonista contra patógenos, así como propiedades antimutagénicas y anticancerígenas (Saarela, 2000). Los microorganismos considerados probióticos se muestran en la Tabla 4 (Holzapfel, 2001):

**TABLA 4 Bacterias consideradas como probióticos**

<i>Lactobacillus</i> <i>spp</i>	<i>Bifidobacterium</i> <i>spp</i>	Otras bacterias	Bacterias ácido lácticas	no Levaduras
------------------------------------	--------------------------------------	-----------------	-----------------------------	-----------------

---

<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Scharomyces cerevisiae</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i>	
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propioinbacterium freudenreichii</i>	
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		
<i>L. delbreukii</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidolactici</i>		
subespecie <i>bulgaricus</i>				
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>		
<i>L. gasseri</i>	<i>B. logum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>		
<i>L. johnsonii</i>				
<i>L. paracasei</i>				
<i>L. plantarum</i>				
<i>L. reuteri</i>				
<i>L. rhamnosus</i>				

---

### 2.3.2 Prebióticos

Los prebióticos son componentes de los alimentos que estimulan selectivamente el crecimiento y las actividades de ciertas bacterias específicas del tracto gastrointestinal, tales como *Lactobacillus spp.* y *Bifidobacterium spp.*, que tiene un impacto benéfico sobre la salud del huésped (Guarner *et al.*, 2011)

Algunas de las enfermedades que pueden beneficiar a la salud después de incorporarse prebióticos en la dieta incluyen el síndrome metabólico y la obesidad, entre otros (García-Curbelo *et al.*, 2015). Los prebióticos contienen fructanos, que son polímeros de fructosa derivados de sacarosa. Investigaciones recientes han demostrado que los fructanos pueden aumentar la actividad metabólica de la microbiota intestinal, así como modular el metabolismo de la glucosa y los lípidos,

estimulando el sistema inmunológico y también mejorando la absorción de algunos nutrientes y minerales. En la actualidad, hay una serie de carbohidratos prebióticos en el mercado, la mayoría de ellos aislados de polisacáridos vegetales como inulina y fructooligosacáridos (FOS) o enzimáticamente sintetizado como galactooligosacáridos (GOS). Un inconveniente de estos comúnmente utilizados prebióticos podría ser su rápida fermentación en la parte proximal del colon. Muchas enfermedades del colon, como la colitis ulcerosa y los tumores, ocurren en la parte distal del tracto gastrointestinal (Gullon *et al.*, 2014).

En la naturaleza, se dividen principalmente en dos clases: inulina y levana (Ulloa *et al.*, 2010).

### **2.3.2.1 Fibra dietética**

La fibra dietética hoy en día se reconoce como un elemento importante para la nutrición sana. No existe una definición universal ni tampoco un método analítico que mida todos los componentes alimentarios que ejercen los efectos fisiológicos de la fibra. Según la Asociación Americana de Químicos de Cereales (American Association of Cereal Chemist, 2001) la fibra dietética fue definida como: “La parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. En esta definición la fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas de la planta (Escudero Álvarez y González Sánchez, 2006). En la clasificación de la fibra dietética propuesta por Jarvis, 2000 se engloban los conocimientos actuales que permiten una ordenación conceptual, donde los principales componentes son:

#### **2.3.2.1.1 Polisacáridos no almidón**

Los polisacáridos son todos los polímeros de carbohidratos que contienen al menos veinte residuos de monosacáridos. El almidón digerido y absorbido en el intestino delgado es un polisacárido, por ello se utiliza el término polisacáridos no almidón

para aquellos que llegan al colon y poseen los efectos fisiológicos de la fibra. Podríamos clasificarlos en celulosa,  $\beta$ -glucanos, hemicelulosas, pectinas y análogos, gomas y mucílagos.

### **2.3.2.1.2 Oligosacáridos**

Son carbohidratos con un nivel de polimerización menor, tienen de tres a diez moléculas de monosacáridos. Se dividen en fructooligosacáridos (FOS) e inulina, galactooligosacáridos (GOS), xilooligosacáridos (XOS), isomaltooligosacáridos (IMOS). Dentro de las propiedades de la fibra dietética tenemos la solubilidad y el grado de fermentación. El grado de solubilidad en agua es muy variable para las distintas fibras, por lo que se pueden dividir en:

#### **2.3.2.1.2.1 Fibra soluble**

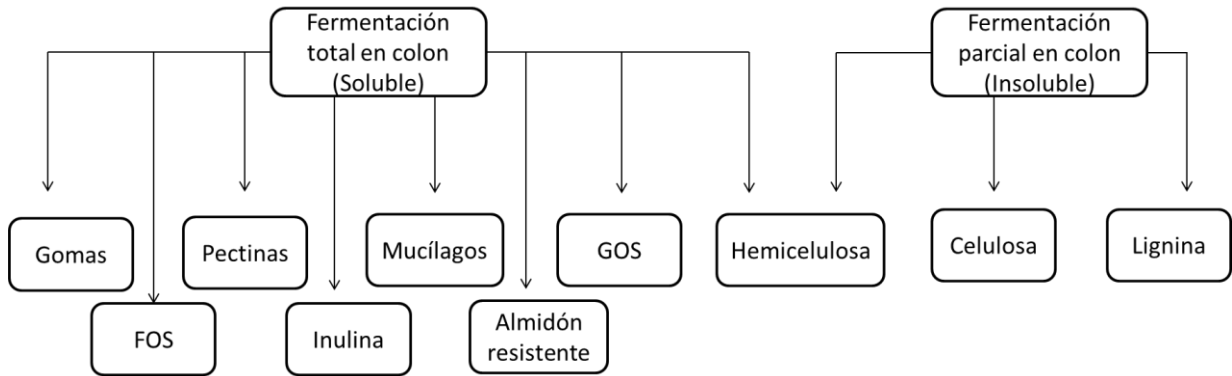
Las fibras solubles, las cuales en contacto con el agua forman un retículo donde queda atrapada, originándose soluciones de gran viscosidad. Los efectos derivados de la viscosidad de la fibra son los responsables de sus acciones sobre el metabolismo lipídico e hidrocarbonado.

#### **2.3.2.1.2.2 Fibra insoluble**

Las fibras insolubles o poco solubles, las cuales son capaces de retener el agua en su matriz estructural formando mezclas de baja viscosidad; esto produce un aumento de la masa fecal que acelera el tránsito intestinal (Kim, 2000).

Mientras que el grado de fermentación está bastante relacionada con la solubilidad de cada fibra como se muestra en la Figura 4, ya que la fibra dietética llega al intestino grueso de forma inalterada y aquí las bacterias del colon, con sus numerosas enzimas de gran actividad metabólica, pueden digerirla en mayor o menor medida dependiendo de su estructura. Este proceso de digestión se produce en condiciones anaerobias, por lo que se denomina fermentación. En el colon se dan fundamentalmente dos tipos de fermentación: fermentación sacarolítica y fermentación proteolítica.





**FIGURA 4 Grado de fermentación de la fibra dietética**

### 2.3.2.1.2.1 Galactooligosácaridos (GOS)

Los galactooligosácaridos son oligosacáridos no digeribles los cuales son resistentes a las enzimas digestivas gastrointestinales. Se encuentran de forma natural en la leche de mamíferos y en algunos productos procesados, dentro de sus características podemos encontrar que son solubles, con bajo peso molecular, pueden actuar como fibra dietética y son clasificados como prebióticos (Rastall y Maitin, 2002).

### 2.3.2.1.2.2 Fructooligosácaridos (FOS)

Los fructooligosácaridos son polímeros de glucosa o fructosa que se encuentran naturalmente en las plantas. La mayoría de los fructooligosácaridos disponibles son manufacturados como azúcar y considerados fibra funcional, que son carbohidratos no digeribles que tienen efectos benéficos. Al igual que ocurre con otros tipos de fibra, nuestro cuerpo no es capaz de digerirlos ni de asimilarlos, no obstante, una porción de esta fibra es fermentada por bacterias, en especial por las bifidobacterias que colonizan el intestino grueso. Los fructooligosácaridos son más solubles que la inulina y por esto se usan como aditivos en algunos alimentos. Se encuentran incluidas en el grupo de prebióticos.

Los podemos encontrar en una gran variedad de alimentos vegetales como la achicoria, la alcachofa, el espárrago, el ajo, la cebolla, el puerro, el tomate o la banana, entre otros, pero en cantidades más bien pequeñas (Yun, 1996).

### **2.3.2.1.2.3 Inulina**

La inulina es un componente dietético importante desde los tiempos prehispánicos en México. Es un carbohidrato complejo compuesto por una mezcla de polímeros lineales de fructosa unidos por enlaces (2-1) y enlazados con una unidad de glucosa por un  $\alpha$ - (2-1) al final de cada cadena. Debido a la composición química de la inulina, los fructanos no pueden ser hidrolizados por las enzimas digestivas en el tracto gastrointestinal superior, por lo que permanecen intactos; sin embargo, cuando alcanzan el tracto digestivo inferior son hidrolizados y fermentados por las bacterias colonizadoras de esta zona.

La inulina se considera un alimento funcional ya que sus componentes tienen un efecto benéfico sobre una o varias funciones del organismo, dando lugar a un efecto positivo sobre la salud y reduciendo el riesgo de algunas enfermedades (Lara, 2011).

### **2.3.2.1.2.4 Pectinas**

La pectina es una molécula compleja que se encuentra exclusivamente en las plantas, esta es un hidrocoloide de la pared celular, son un tipo de heteropolisacáridos, los cuales tiene una mezcla de polímeros ácidos y neutro, esta constituida principalmente por ésteres metílicos parciales de ácido galacturónico y sales de sodio, potasio, amonio o calcio.

### **2.3.2.1.2.5 Mucílagos**

Los mucílagos son constituyentes normales de las plantas, los cuáles son polisacáridos heterogéneos formados por diferentes azúcares, los cuales se caracterizan por formar disoluciones coloidales viscosas o geles en agua, y formar redes moleculares capaces de retener gran cantidad de agua. Los mucílagos son producto del metabolismo de las plantas y se acumulan en células especiales dentro de los tejidos, se localizan como material de reserva hidrocarbonado (Farela-Lara, 2017).

El mucílago secretado por cactáceas es una sustancia polimérica compleja compuesta por carbohidratos con una estructura altamente ramificada que contiene L-arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa, D-xylosa y ácido galacturónico (Medina-Torres *et al.*, 2000). Dentro de los mucílagos mas estudiados podemos encontrar al mucílago de nopal, el cuál es un hidrocoloide que podría integrar la oferta de una gran gama de agentes espesantes de amplio uso en la industria de alimentos y la industria farmacéutica, además de que tiene una gran capacidad de absorción de agua. Su poder espesante está siendo actualmente estudiado (Cárdenas *et al.*, 1997; Medina–Torres *et al.*, 2000; Medina-Torres *et al.*, 2003; Sepúlveda *et al.*, 2003b; Cárdenas *et al.*, 2008). La composición química del mucílago de nopal como se muestra en la Tabla 5 podemos observar su mayor contenido de carbohidratos.

**TABLA 5 Composición química del mucílago de nopal, elaboración propia con datos de Sepúlveda *et al.*, 2007**

<b>Composición</b>	<b>(g/100g de muestra)</b>
Humedad	4.9
Proteínas	7.9
Carbohidratos	36.2
Cenizas	1.3
Nitrógeno	10.9
Minerales	1.6

Dentro de las metodologías existentes para la extracción de los mucílagos señaladas en los diferentes estudios realizados son muy variadas y van desde metodologías simples como las señalada por Vargas-Rodríguez y Ramos-Ramírez (2003) hasta otras más complicadas como la utilizada por Habibi *et al.*, 2005. El método cambia según la fuente de mucílago (cladodio o fruto) y la parte concreta de la que se extraerá el hidrocoloide (piel, pulpa o semillas).

#### **2.4 Cactáceas con alto contenido de mucílago en México**

La biodiversidad de plantas de México es una de las mayores en el mundo, se ha calculado que existen cerca de 18,000 a 30,000 especies, del total de estas

especies aproximadamente entre 10,000 y 13,000 son endémicas y se presentan principalmente en las zonas áridas y semiáridas.

La familia de las cactáceas es una familia exclusiva de América, existen aproximadamente 1,400 especies alrededor del mundo, México alberga a 699 de estas especies de las cuales 518 son endémicas de nuestro país. Dentro de las variedades que podemos encontrar de cactus tenemos a las columnares, de barril, esféricos, arbustos y opuntias (CONABIO, 2017).

Estas tienen gran importancia debido a sus propiedades o usos, ya que son ampliamente utilizadas como alimento para humanos y ganado, así como sus propiedades medicinales.

#### 2.4.1 *Opuntia ficus*

El nopal (*Opuntia ficus*) forma parte de la familia de las cactáceas (Tabla 6) es planta arbustiva que puede alcanzar de 3 a 5 m de altura, en las pencas tiene un color verde opaco, las cuáles se encuentran protegidas por una cutícula gruesa, que en algunas ocasiones esta cubierta de cera o espinas, este tejido tiene la capacidad de almacenar considerables cantidades de agua lo que permite que la planta soporte largos períodos de sequía, cabe mencionar que el papel uno de los papeles del mucílago es la capacidad de retención de agua (Nobel *et al.*, 1992). El nopal es uno de los símbolos nacionales de México ya que se encuentra plasmado en el escudo nacional, además de ser parte de la mitología mexicana en la que es considerada como la planta de la vida, sus cladidos jóvenes son utilizados en la gastronomía.

**TABLA 6 Taxonomía del nopal**

Taxonomía	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Caryophyllidae
Orden	Caryophyllales
Familia	Cactaceae

Subfamilia	Opuntioideae
Tribu	Opuntieae
Género	<i>Opuntia ficus</i>

---

Actualmente existen diversos estudios relaciones con las propiedades benéficas del nopal en la alimentación y los cambios que ocurren en distintas enfermedades relacionadas al síndrome metabólico (Moran-Ramos *et al.*, 2012) los datos obtenidos demuestran que el consumo de nopal prevenie el desarrollo de hígado graso, además de que aumenta la oxidación de los ácidos grasos como la síntesis de VLDL y mejora la señalización de la insulina hepática (Moran-Ramos *et al.*, 2012)

#### **2.4.2 *Acanthocereus tetragonus***

La cruceta (*Acanthocereus tetragonus*) (Figura 5) es una especie endémica de México (Tabla 7), que se encuentra frecuentemente en estados como Veracruz, Tamaulipas, Sinaloa, Colima, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Campeche, Yucatán, Quintana Roo, San Luis Potosí y Querétaro, es un cactus rampante y de vez en cuando columnar y arbustivo.



**FIGURA 5** Planta de cruceta

Este es uno de los principales cactus que son cultivados de traspatio por algunas comunidades indígenas aunque no se tienen datos exactos de su domesticación, se trata de una especie multipropósito ya que es comestible, ornamental y medicinal. Según la norma 059 de la SEMARNAT 2010 en México, no se encuentra bajo categoría de riesgo (CONABIO, 2017). Dentro de sus usos como alimentación los brotes se comen crudos o cocidos como verdura y en varias regiones mexicanas es considerada como comida típica, en la medicina tradicional la infusión de los tallos era considerado como un diurético

**TABLA 7 Taxonomía de la Cruceta**

Taxonomía	
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Caryophyllidae
Orden	Caryophyllales
Familia	Cactaceae
Subfamilia	Cactoideae
Tribu	Pachycereeae
Género	<i>Acanthocereus</i>
Especie	<i>A. tetragonus</i>



### **3 JUSTIFICACIÓN**

Una de las principales formas de prevenir el síndrome metabólico es con un cambio en el estilo de vida y complementándolo con una ingesta de alimentos con propiedades benéficas, como los prebióticos que son un factor importante en la composición de la microbiota intestinal.

México cuenta con plantas endémicas con potencial prebiótico, las cuáles son consideradas como especies subutilizadas y subvaloradas. En algunas regiones estas plantas son utilizadas como parte de la dieta la cuál ha pasado por varias generaciones. Al generar nuevos conocimientos sobre el beneficio del consumo de estas plantas en la salud, estas pueden ser utilizados además como un potencial terapéutico en enfermedades relacionadas al síndrome metabólico.



## 4 HIPÓTESIS

El consumo del mucílago de la planta *A. tetragonus*, tendrá un efecto benéfico en los parámetros del síndrome metabólico

## 5 OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

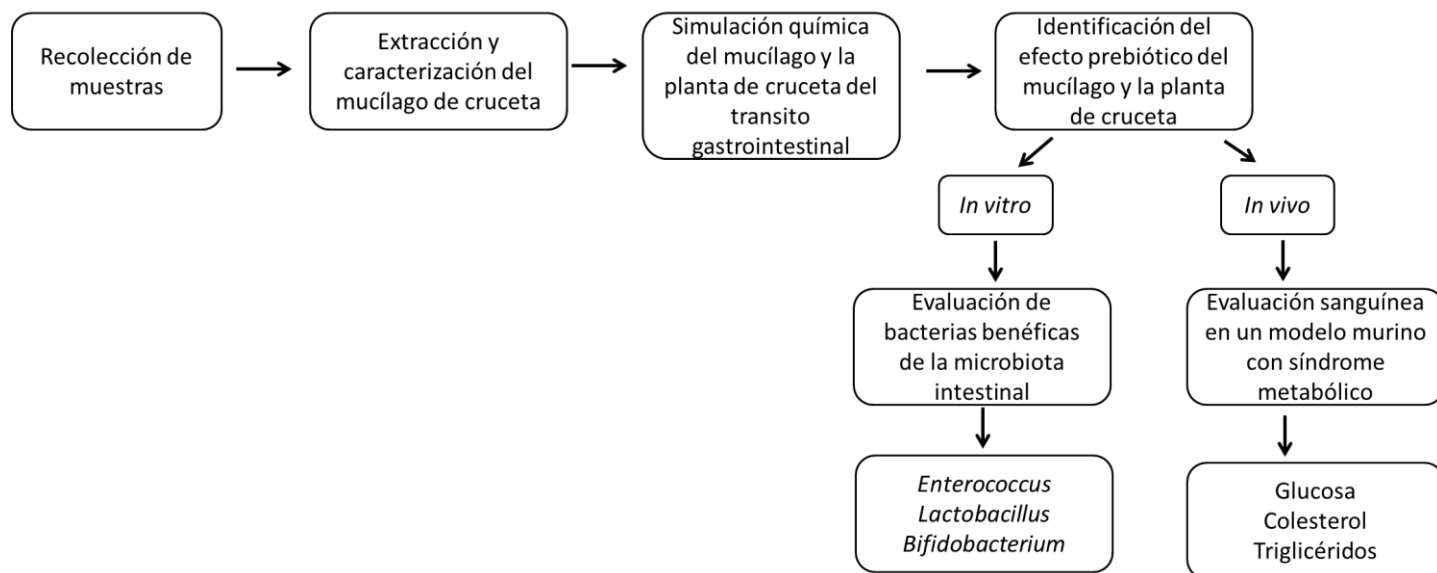
Caracterizar el mucílago de la planta *A. tetragonus*, y evaluar su efecto en un modelo con síndrome metabólico.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Extraer y caracterizar el mucílago de *A. tetragonus*.
2. Analizar el efecto prebiótico del mucílago de *A. tetragonus* en bacterias benéficas que forman parte de la microbiota intestinal.
3. Analizar el efecto del mucílago de *A. tetragonus* en los parámetros de síndrome metabólico en un modelo murino.

## 6 MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología general consistió como se muestra en la Figura 6 comenzando por la recolección de la materia prima (cruceta) con un período de crecimiento de un año de cultivo a partir de la siembra de un monocultivo, para su posterior extracción del mucílago y caracterización química tanto de la planta como el mucílago. Posteriormente se realizó la identificación del efecto prebiótico de ambas partes de manera *in vitro* como *in vivo*, se utilizaron ratas Wistar macho recién destetadas de dos camadas distintas, y se repartieron de manera aleatoria en los grupos de estudio.



**FIGURA 6 Metodología general**

### 6.1 Recolección de las muestras de cruceta

Las plantas frescas se recolectaron en el municipio de Soledad de Doblado, Veracruz. Posterior a su recolección las muestras fueron lavadas con agua para eliminar la suciedad y se desinfectaron, para la posterior extracción del mucílago.

### 6.2 Extracción del mucílago de cruceta

Para la extracción del mucílago, las plantas previamente lavadas y desinfectadas se trozaron en pedazos de aproximadamente de 2cm y se embeben en agua destilada en una relación 1:2 (p/v). Se realizó el escaldado a 80°C durante 5

minutos, a continuación, la suspensión se mantuvo a 80°C durante 30 minutos, dejándola reposar toda la noche. Se realizó un filtrado para separar los trozos y la fase acuosa a la cual se le adicionó etanol al 90 % en una proporción 1:2 (v/v) para precipitar el mucílago, finalmente se procedió a liofilizar o secar en estufa a 40° C (INIFAP, 2011).

### **6.3 Caracterización del mucílago de *Acanthocereus tetragonus***

#### **6.3.1 Capacidad de retención de agua del mucílago de cruceta**

La capacidad de retención de agua se determinó por el método descrito por Line *et al.* 1974 y mejorado por Sila *et al.*, 2014, donde en un tubo eppendorf se colocaron 0.5g de muestra y se añadió 50 ml de agua destilada, la suspensión se mantuvo a temperatura ambiente durante 1h con agitación constante, posteriormente se realizó la centrifugación durante 20 minutos a 5, 000 g y 17 °C, el sobrenadante se eliminó y se deja escurrir el tubo durante 30 min.

La capacidad de retención de agua se registró de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{WHC} = \frac{\text{El peso del contenido del tubo despues de escurrir}}{\text{El peso de la muestra seca}}$$

#### **6.3.2 Caracterización química de la cruceta y su mucílago**

El planta de cruceta y su mucílago se caracterizó por los métodos de la A.O.A.C. (2015), los métodos se normalizaron previamente en el laboratorio y se determinó la humedad, el porcentaje de cenizas, así como algunos componentes inorgánicos, el contenido de grasa, el contenido de proteínas, el contenido de fibra cruda y se realizó la determinación de carbohidratos y la determinación de los monosacáridos del mucílago de cruceta mediante una hidrólisis ácida (Puerta-Quintero y Ríos-Arias, 2011).

### **6.3.2.1 Determinación de humedad de la cruceta y su mucílago**

Para la determinación de humedad se utilizó el método de secado por estufa en donde se peso de 2 a 3g de muestra en un pesafiltro con tapa el cual fue previamente pesado después de tenerlo a peso constante durante 2h a 130 ° C aproximadamente. Se dejó secar la muestra en una estufa durante 2h a 110 ° C, posteriormente se retiró de la estufa, se tapa y se deja enfriar en el desecador, se pesó en cuanto se equilibró con la temperatura ambiente, y se hicieron repeticiones de pesado hasta alcanzar un peso constante (Kirk *et al.*, 1996)

### **6.3.2.2 Determinación de cenizas de la cruceta y su mucílago**

Para la determinación de cenizas totales se pone a peso constante un crisol de porcelana durante 2h aproximadamente en una mufla a 600 °C. Se pesó de 3 a 5g de muestra en el crisol, la cuál no debe sobrepasar la mitad del crisol que fue previamente pesado. Se calcinó la muestra, primero con un mechero en la campana hasta que no desprenda humos y posteriormente se metió a la mufa durante 2h, cuidando que la temperatura no sobrepasara los 550 ° C. Se repitió la operación anterior hasta conseguir cenizas blancas o ligeramente grises homogéneas. Se enfrió en un desecador y se pesó, para calcular el porcentaje de cenizas (Kirk *et al.*, 1996).

### **6.3.2.3 Determinación del contenido de grasas de la cruceta y su mucílago**

Para la determinación del contenido de grasas se utilizó el método de Soxhlet, para este estudio se colocó a peso constante un matraz bola con fondo plano adicionandole perlas de ebullición, en una estufa a 100 ° C durante 2h. Se pesó de 4 a 5g de muestra sobre un papel, se enrolló y se colocó en un cartucho de de celulosa, se tapó con algodón y se colocó el cartucho en el extractor. Se conectó el matraz al extractor, en el cual se debe encontrar el cartucho con la muestra y posteriormente se conectó éste al refrigerante, se agregaron dos cargas de disolvente en este caso se utilizó éter etílico como disolvente, por el refrigerante y

se calentó el matraz con una parrilla hasta que observar una suave ebullición. Para verificar que se extrajo toda la grasa se dejó caer una gota de la descarga sobre el papel filtro y al evaporarse el disolvente no debe dejar residuos de grasa. Una vez que se extrajo toda la grasa, se quita el cartucho con la muestra desengrasada, y se sigue calentando hasta la casi total eliminación del disolvente, el cuál se recuperó antes de que se descargue, se quitó el matraz y se secó el extracto en una estufa a 100 ° C durante 30min, se enfrió y se pesó, finalmente se calculo el porcentaje de grasa (James, 1999).

### **6.3.2.4 Determinación de proteínas de la cruceta y su mucílago**

Para la determinación de proteína cruda se utilizó el método de Kjeldahl, en donde se pesó de 0.1- 0.2g de muestra y se introdujó a un tubo Kjeldahl, se agregó 0.15g de sulfato de cobre pentahidratado, 2.5g de sulfato de potasio y 10ml de ácido sulfúrico concentrado. Se encendió el aparato y se precalentó a una temperatura de 360 ° C, los tubos se colocaron en portatubos del equipo de Kjeldahl y se colocaron en el bloque de precalentamiento, se puso la unidad de evacuación de gases con las juntas colocadas sobre los tubos de digestión, y se accionó la trampa de succión de gases antes de que estos se produzcan, se calentó hasta la total destrucción de la materia orgánica, es decir hasta que el líquido quede transparente con una coloración azul verdosa, una vez que finalizó la digestión, sin retirar la unidad de evacuación de gases, se colgaron los tubos para enfriar. Después de que los tubos se enfriaron, se termina la digestión, se para el equipo y se desconecta la trampa. En un matraz Erlenmeyer de 250 ml se adicionó 50 ml de HCl 0.1N y unas gotas de indicador rojo de metilo 0.1%, se conectó el aparato de destilación y se esperó a que se genere vapor, se colocó el tubo de digestión con la muestra diluida y las sales disueltas en un volumen no mayor de 10 ml de agua destilada en el aparato de destilación y se encendió, se adicionó NaOH al 36%, y se colocó la palanca de vapor en encendido hasta alcanzar el volumen de destilado en el matraz Erlenmeyer de 100- 150 ml, se lavó la manguera con agua destilada y se recogió el agua del

lavado sobre el destilado. Una vez que finalizó la destilación, se regresó la palanca de vapor a su posición original.

Se tituló el exceso de ácido con una solución de NaOH 0.1N, y se calculó el porcentaje de proteínas.

### **6.3.2.5 Determinación de fibra dietética de la cruceta y su mucílago**

Para la determinación de la fibra dietética, se pesó 1g de muestra en un matraz de 500 ml y se adicionó 50 ml de buffer de fosfato (0.08M pH 6), se midió el pH y se ajustó a 6, posteriormente se adicionó 0.1 ml de solución amilasa y se cubrió el matraz con papel aluminio, se colocó el matraz a baño a ebullición durante 15 min, se agitó cada 5 min el matraz suavemente, se enfrió el matraz a temperatura ambiente y se ajustó el pH a 7.5 utilizando NaOH 0.275N, se adicionó 5 mg de proteasa la cual estaba disuelta en buffer de fosfatos, se cubrió el matraz con papel aluminio y se colocó a baño a 60 ° C durante 30 min con agitación continua. Se dejó enfriar nuevamente a temperatura ambiente y se adicionó 10 ml de HCl 0.325N, se ajustó el pH a 4 y se adicionó 0.1 ml de aminoglucosidasa, se dejó incubar a 60 ° C durante 30 minutos con agitación constante., se adicionaron 280 ml de etanol 95%, y se dejó reposar durante 1h.

Se pesó un crisol con celita y la celita se humedeció con etanol al 78% para distribuirla como camita, se aplicó succión y se mantuvo mientras se transfería el contenido del matraz con la digestión enzimática. Se lavó el residuo con etanol 78%, después con etanol 95% y finalmente con acetona, se dejó secando el crisol con el residuo de los lavados a 70 ° C, una vez seco se dejó enfriar y se pesó, para conocer el peso del residuo se resta el peso del crisol con la celita.

### **6.3.2.6 Determinación de monosacáridos del mucílago de cruceta mediante una hidrólisis ácida**

Para realizar la determinación de los monosacáridos que se encuentran en el mucílago de la cruceta se realizó la hidrólisis total del mucílago, donde se utilizaron

0.5 g de mucílago y 10ml de ácido clorhídrico 2N, la solución se calentó a 100 ° C durante 6 h con agitación constante, la solución resultante se diluyó con agua destilada y se calentó a reflujo durante 2 h, la solución se concentró a vacío y se eliminó el exceso de ácido mediante repetidas co-destilaciones con agua destilada (Matsuhira *et al.*, 2006). El resultado se analizó mediante una cromatografía en capa fina (AOAC 45.4.07)

### **6.3.2.7 Determinación de monosacáridos por cromatografía en capa fina (TLC)**

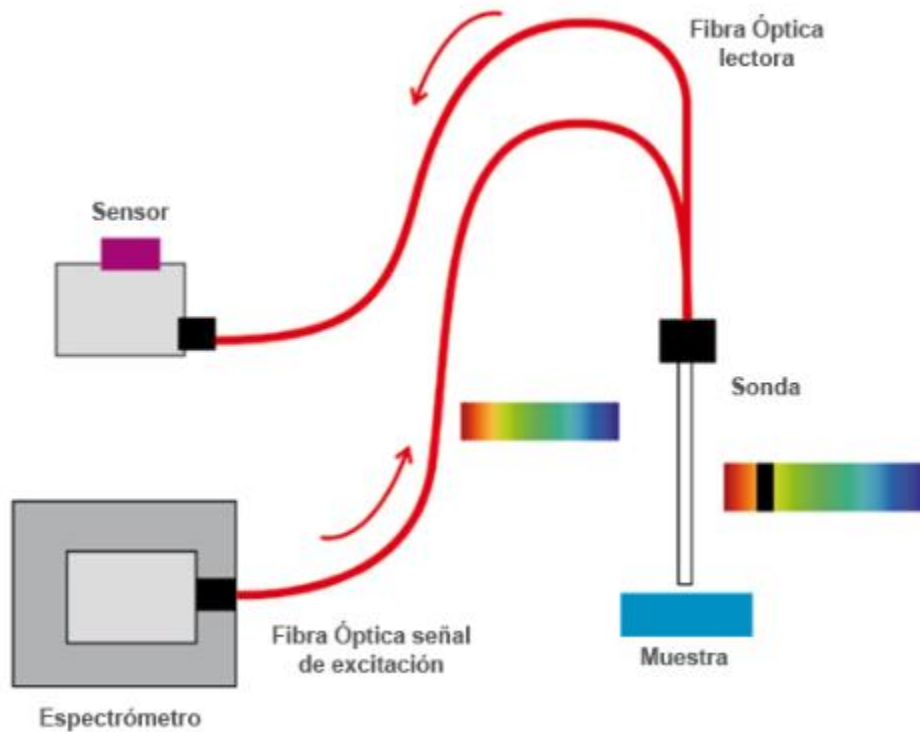
El producto resultante de la hidrólisis ácida se analizó mediante TLC con placas de sílica gel con indicador de fluorescencia 254nm y una fase móvil de acetonitrilo: agua (8:2), utilizando como estándares ácido galacturónico, ramnosa, fructosa, galactosa, xilosa, glucosa y arabinosa, y anisaldehído como revelador.

### **6.3.2.9 Espectrofotómetro de infrarrojo por transformada de Fourier**

El espectro FTIR es una de las técnicas más utilizadas para analizar la estructura de los polímeros y determinar sus principales grupos funcionales.

Esta técnica proporciona un espectro de reflexión de las bandas de los grupos funcionales de las sustancias inorgánicas y orgánicas, por lo cual es posible realizar una identificación de los materiales. El equipo está dotado como se muestra en la Figura 7, de una sonda con fibra óptica que permite el análisis directo de la superficie del objeto de estudio. Se trata de un Mid-FTIR, Remspec con resolución de 10 cm<sup>-1</sup> en el intervalo espectral de 900-5000 cm<sup>-1</sup>.





**FIGURA 7 Espectrofotómetro de infrarrojo por transformado de Fourier**

Para el análisis de la muestra se pesó 1g de muestra y se analizó en el equipo, el cuál dio como resultado el infrarrojo de la muestra.

#### **6.3.2.10 Análisis de compuestos bioactivos mediante cromatografía en capa fina (TLC)**

Para el análisis de compuestos bioactivos se realizó una cromatografía en placa fina utilizando placas de sílica gel con indicador de fluorescencia 254nm, como fase móvil acetato de hexano: acetato de tilo 1:1 y se reveló con sulfato cérico y DPPH, como estándares se utilizaron el ácido férulico, cumarico, cafeico y sinápico. Para la muestra se realizó una hidrólisis con 0.2g de cruceta liofilizada y se disolvió en 5 ml de hidróxido de sodio 2.5M, se sónico durante 20 min a 40 °C y se filtró con una gasa para recuperar la fase líquida, esta fase se acidificó con ácido clorhídrico (HCl) concentrado hasta llegar a un pH de 4, se adicionó acetato de etilo y se agitó lentamente.

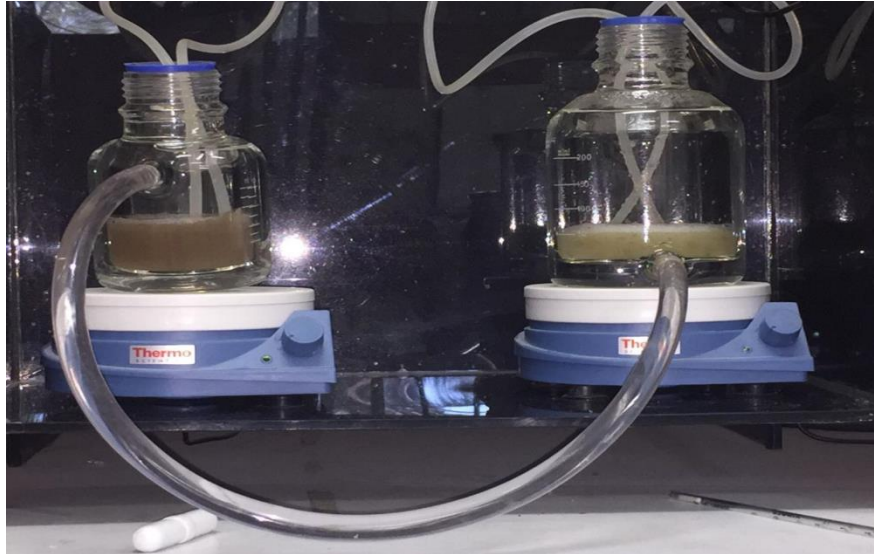
#### 6.4. Simulación química en el tránsito gastrointestinal

Para la simulación en el tracto gastrointestinal, se utilizó un digestor dinámico *in vitro*, que se permite conocer en que parte del tracto gastrointestinal son hidrolizados los compuestos. Este aparato reproduce las condiciones naturales del tracto gastrointestinal humano. Este equipo se divide en diferentes secciones como se muestra en la Tabla 8, utilizando una muestra de 9ml, que es adicionada en el primer frasco para simular la primera fase donde se adiciona la solución que corresponde a la saliva utilizando un pH de 6.8 durante 5 min, posterior se adiciona la solución de jugo gástrico reduciendo el pH a 2.5 durante 2h.

**TABLA 8 Composición de las soluciones utilizadas en la simulación química del tránsito gastrointestinal**

	Saliva	Jugo gástrico	Jugo duodenal	Jugo biliar
Fase orgánica	480 µl KCl	1.5 ml NaCl	3.84 ml NaCl	1.44 ml NaCl
	480 µl KSCN	288 µl NaOH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3.84 ml NaHCO <sub>3</sub>	3.27 ml NaHCO <sub>3</sub>
	480 µl NaOH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	833 µl KCl	960 µl NaOH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	201.6 µl KCl
	480 µl NaSO <sub>4</sub>	1.72 ml CaCl <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O	0.6 ml KCl	7.2 µl HCl
	86 µl NaCl	960 µl NH <sub>4</sub> Cl	0.96 ml MgCl <sub>2</sub>	
	960 µl NaHCO <sub>3</sub>	624 µl HCl	17.2 µl HCl	
Fase inorgánica	384 µl Urea	960 µl glucosa	0.384 ml Urea	0.48 ml Urea
		960 µl ác.galacturo		
		960 µl glucosamina		
		326.4 µl Urea		
Enzimas	1.319 µg α-amilasa	0.96 g BSA	864 µl CaCl <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O	0.48 ml CaCl <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O
	2.112 µg ác. Úrico	0.24 g pepsina	0.96 g BSA	86.4 µg BSA
	1.2 µg mucina	0.288 g mucina	864 µg pancreatina	1.44 g bilis
			144 µg lipasa	

Finalmente se realiza una recirculación al segundo frasco donde se adiciona las soluciones correspondientes a las secretadas en el intestino delgado que son el jugo biliar y el jugo duodenal a un pH de 6.5 durante 2 h (Versantvoort *et al*, 2005)(Figura 8).



**FIGURA 8** Equipo de simulación de digestión *in vitro*

Para observar los cambios en las muestras se midió las concentraciones de carbohidratos totales, azúcares reductores y las proteínas de las muestras antes y después de pasar por el proceso de la simulación *in vitro*.

### **6.4.1 Determinación de carbohidratos totales por el método de fenol-sulfúrico**

Se preparó una solución de la muestra en agua destilada, procurando que los carbohidratos se encontraran en el intervalo de sensibilidad del método que es de 10- 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , en tubos de ensayo etiquetados se colocó 1 ml de la solución de la muestra, para cada tubo se adicionó 0.6 ml de solución acuosa de fenol al 5%, mezclándolo perfectamente, posteriormente se adicionó 3.6 ml de ácido sulfúrico concentrado y se homogenizó, se dejó enfriar a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos y se determinó la intensidad del color mediante un

espectrofotometro leyendo la absorbancia a 480 nm, frente a un blanco preparado de la misma manera utilizando una solución de agua.

Se calculó la cantidad de carbohidratos totales presentes en la muestra a partir de una curva patrón preparada con glucosa tratada de la misma manera (Dubois *et al.*, 1956)

La curva de patrón se describe en el Anexo 1.

### **6.4.2 Determinación de azúcares reductores por el método de ácido di-nitro salicílico (DNS)**

Para la preparación del reactivo DNS se agregan 0.4g de hidróxido de sodio (NaOH), 7.5 g de tartrato de sodio y potasio (Sal de Rochelle) y 0.25g de DNS, y aforar a 25 ml con agua destilada.

Se tomó 1 ml de la solución acuosa de la muestra, se adicionó 1 ml del reactivo DNS y se calentó durante 5 min en un baño de agua hirviendo, se dejó enfriar y se diluyó con 10 ml de agua destilada. Se midió la absorbancia a 540 nm frente a un blanco de reactivos y agua tratados igual que la muestra.

Se cuantificaron los azúcares reductores interpolando los valores de la absorbancia obtenida en una curva estándar preparada con glucosa en concentraciones de 0.2 a 2 mg/ ml (James, 1999).

La curva de patrón se describe en el Anexo 2.

### **6.4.3 Determinación de proteínas por el método de Bradford**

Se colocó en un tubo de ensaye etiquetado 0.1 ml de la muestra en solución con agua destilada, posteriormente se le adicionó 5 ml del reactivo azul de Coomasie, se mezcló con un vortex o por inversión del tubo, se dejó reposar durante 5 min a temperatura ambiente, y se midió la absorbancia a 595 nm frente a un blanco de reactivos.

La concentración de proteínas se calculo a partir de una curva patrón preparada con una solución de albúmina de suero bovino de 1 a 10 mg/ ml, tratada de la misma manera que la muestra.

La curva de patrón se describe en el Anexo 3.

### **6.5 Evaluación del efecto prebiótico *in vitro***

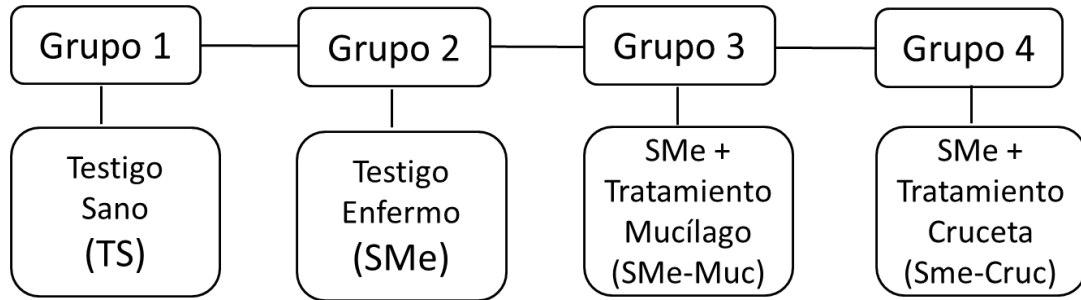
#### **6.5.1 Cinéticas de crecimiento con bacterias probióticas**

Para la reactivación de las cepas *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium animalis* y *Enterococcus faecalis* se tomaron 100 ul de las cepas almacenadas en glicerol y 10 ml de medio de cultivo Man Rogosa Sharpe (MRS), realizando dos resiembras posteriores en caldo MRS a 37°C durante 8 h. Las cepas reactivadas se inocularon al 1% en medio MRS y en medios modificados (MRS y mucílago de cruceta al 1%, MRS y cruceta liofilizada al 5%). La cinética se realizó durante 28 h haciendo lecturas a una longitud de onda de 600nm.

### **6.6 Efecto prebiótico en el modelo murino**

#### **6.6.1 Modelo murino experimental con síndrome metabólico**

Para el modelo murino experimental se utilizó un modelo descrito por González Romero, 2017 con una pequeña modificación, se utilizaron ratas Wistar machos recién destetados, los cuales después de 3 semanas de adaptación se colocaron en jaulas individuales en habitación cerrada bajo ciclos de luz oscuridad (12h) a temperatura controlada de 24 ° C, administrando en los ciclos de oscuridad para respetar el ciclo natural del roedor. Las ratas se dividieron en cuatro grupos de estudio cada grupo con una población de cinco ratas, distribuidos de las siguiente manera: el primer grupo representó el testigo sano con una dieta comercial en pellet, y los grupos 2, 3 y 4 son los grupos que fueron inducidos a síndrome metabólico, los grupos 3 y 4 se implementó la administración de tratamientos de mucílago de cruceta y cruceta liofilizada como se muestra en la Figura 9.



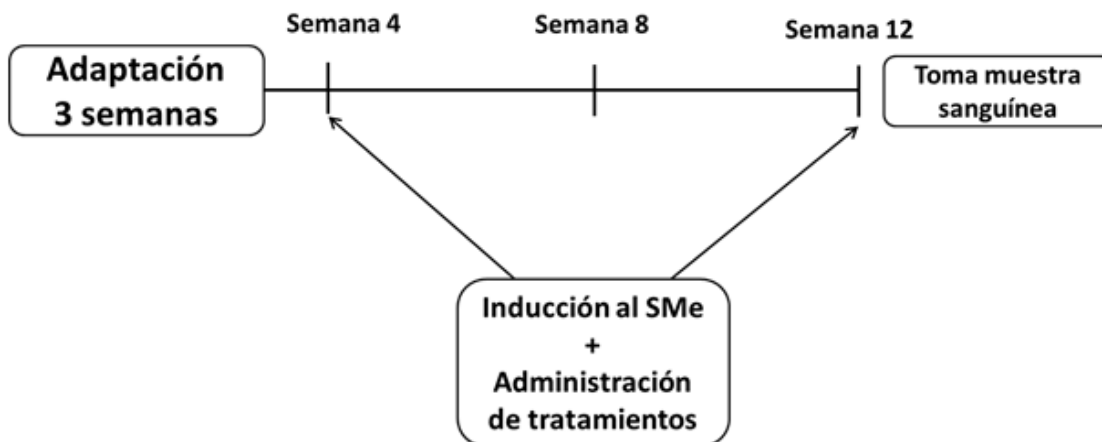
**Figura 9 Modelo de síndrome metabólico en ratas**

Para la inducción a síndrome metabólico se administró una dieta con los componentes que se muestran en la Tabla 6, para los casos de los tratamientos con la adición del 1% de mucílago de cruceta y 5% de cruceta liofilizada respectivamente.

**TABLA 9 Formulación de la dieta para la inducción de síndrome metabólico**

Cantidad (g)	Componente
197.5	Leche condensada
120	Mantequilla
120	Fructosa
350	Alimento comercial molido
12.5	Mezcla de sales Hubble, Mendel y Wakeman

La administración de los tratamientos se realizó al inicio de la semana 4 hasta la semana 12 junto con la inducción al síndrome metabólico como se muestra en la Figura 10, este modelo se realizó de manera simultánea, al finalizar el estudio se tomaron las muestras sanguíneas para la determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos utilizando los reactivos de la marca comercial Grupo Mexlab®.



**FIGURA 10** Diseño del estudio

### 6.6.2 Medición de glucosa para realización de curva de tolerancia a la glucosa

Se realizó una curva de tolerancia a la glucosa, la cual se llevó a cabo en la semana 10. Para la curva se administró suero glucosado 25% (0.5 ml/ 100 g de peso) después de 8 h de ayuno. Se tomaron mediciones de glucosa en sangre con el aparato FreeStyle Lite puncionando la cola de la rata, a los tiempos 0 (antes de la inyección) y 15, 30, 60 y 120 min después de la inyección.

### 6.6.3 Medición de presión arterial

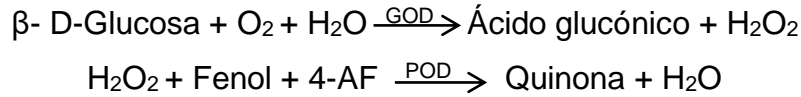
Se realizó la toma de presión arterial en la semana 11, donde se inmovilizó al roedor y se procedió a hacer la toma de presión con un baumanómetro infantil.

### 6.6.4 Evaluación de parámetros séricos relativos al síndrome metabólico

#### 6.6.4.1 Determinación de glucosa en suero

Para la determinación de glucosa, esta reacciona con el reactivo enzimático que contiene una mezcla de las enzimas glucosa oxidasa (GOD) y peroxidasa (POD). En la primera etapa la glucosa es oxidada a ácido glucónico por la acción de la

enzima GOD, liberándose como producto  $H_2O_2$ , el cual en una reacción mediada por la enzima POD, reacciona con el ácido p-hidroxibenzoico y 4-aminoantipirina produciéndose un compuesto coloreado con un máximo de absorción a 505 nm, en cantidad proporcional a la cantidad de glucosa que se encuentra presente en la muestra.



Para llevar a cabo la prueba, las muestras fueron descongeladas y los reactivos se mantuvieron a temperatura ambiente, se utilizó 1 ml de reactivo y 10  $\mu\text{l}$  de un calibrador con una concentración conocida de glucosa y la muestra cómo se observa en la Tabla 10, en cada reacción con un período de incubación de 5 min a 37°C, posteriormente se midió la longitud de onda a una absorbancia de 505 nm.

**TABLA 10 Determinación de glucosa sérica**

	Blanco	Calibrador	Desconocido
Muestra	-	-	10 $\mu\text{l}$
Calibrador	-	10 $\mu\text{l}$	-
Reactivo	1000 $\mu\text{l}$	1000 $\mu\text{l}$	1000 $\mu\text{l}$

Se utilizaron las siguientes fórmulas que se muestran a continuación para sacar el factor y la concentración de glucosa en las muestras.

$$\text{Factor} = \frac{\text{Concentración del calibrador}}{\text{Absorbancia del factor}}$$

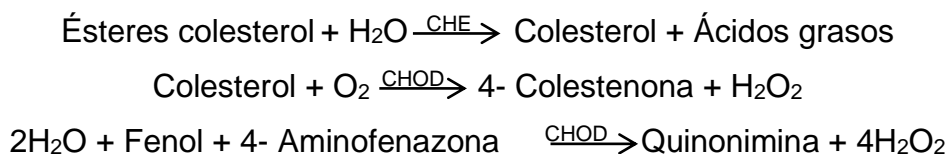
$$\text{Glucosa} \left( \frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right) = \text{Factor} \times \text{Absorbancia de la muestra}$$

#### 6.6.4.2 Determinación de colesterol en suero

El colesterol se determina por acción de las enzimas colesterol éster hidrolasa y colesterol oxidasa. La primera libera el colesterol de los ésteres de colesterol, y la



segunda oxida el colesterol libre produciéndose peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de la enzima peroxidasa reacciona con el sistema cromogénico dando origen a un compuesto coloreado que absorbe a 505 nm.



Para llevar a cabo la prueba, las muestras fueron descongeladas y los reactivos se mantuvieron a temperatura ambiente, se utilizó 1 ml de reactivo y 10 µl de un calibrador con una concentración conocida de colesterol y la muestra cómo se observa en la Tabla 11, en cada reacción con un período de incubación de 5 min a 37°C, posteriormente se midió la longitud de onda a una absorbancia de 505 nm.

**TABLA 11 Determinación de colesterol sérico**

	Blanco	Estandar	Desconocido
Muestra	-	-	10 µl
Calibrador	-	10 µl	-
Reactivo	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Se utilizaron las siguientes fórmulas para sacar el factor y la concentración de glucosa en las muestras.

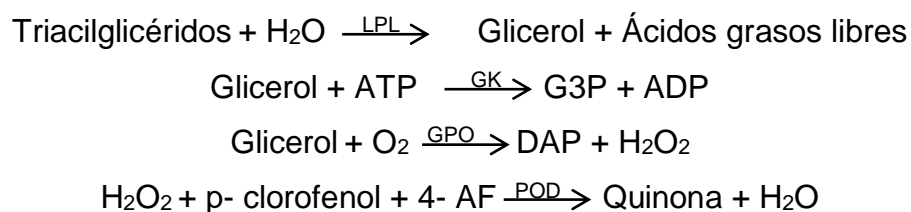
$$\text{Factor} = \frac{\text{Concentración del calibrador}}{\text{Absorbancia del factor}}$$

$$\text{Colesterol total} \left( \frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right) = \text{Factor} \times \text{Absorbancia de la muestra}$$

#### 6.6.4.3 Determinación de triglicéridos en suero

Los triglicéridos son hidrolizados por una lipasa específica, liberando ácidos grasos y glicerol. El glicerol es fosforilado por la enzima gliceroquinasa y posteriormente, el

glicerol-1-fosfato es oxidado a dihidroxiacetona fosfato por la enzima glicerol-fosfato oxidasa, generándose peróxido de hidrógeno. Posteriormente, en una reacción del tipo Trinder la cuál se utiliza para determinar salicilatos, el peróxido de hidrógeno reacciona con 4- Aminoantipirina y el ácido 3,5-Dicloro-2-Hidroxibencensulfónico para producir por medio de la enzima peroxidasa un compuesto coloreado, en cantidad proporcional a la concentración de los triglicéridos presentes en la muestra, midiéndose la longitud de onda a una absorbancia de 520 nm.



Para llevar a cabo la prueba, las muestras fueron descongeladas y los reactivos se mantuvieron a temperatura ambiente, se utilizó 1 ml de reactivo y 10 µl de un calibrador con una concentración conocida de colesterol y la muestra como se observa en la Tabla 8, en cada reacción con un período de incubación de 5 min a 37°C, posteriormente se midió la longitud de onda a una absorbancia de 520 nm.

**TABLA 12 Determinación de triglicéridos séricos**

	Blanco	Calibrador	Muestra
Muestra	-	-	10 µl
Calibrador	-	10 µl	-
Reactivo	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Se utilizaron las siguientes fórmulas para sacar el factor y la concentración de glucosa en las muestras.

$$\text{Factor} = \frac{\text{Concentración del calibrador}}{\text{Absorbancia del factor}}$$

$$\text{Triglicéridos } \left( \frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right) = \text{Factor} \times \text{Absorbancia de la muestra}$$

## 7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Recolección de las muestras de cruceta

Las muestras fueron recolectadas en el rancho “ La Chapulina” en la localidad del Espinal de Santa Bárbara en el municipio de Soledad de Doblado, Veracruz, se escogieron muestras tiernas al corte (Figura 11), se llevaron al laboratorio de Genética Aplicada de la UNIDA en el Instituto Tecnológico de Veracruz, en donde se les realizó una limpieza profunda lavándolas con agua y jabón, posteriormente se desinfectaron con una solución de cloro y finalmente se enjuagaron con agua destilada para quitar cualquier impureza restante.



**FIGURA 11** Cruceta lavada y desinfectada tierna al corte

### 7.2 Extracción del mucílago de cruceta

Se realizó el montaje de la técnica para la extracción del mucílago de *Acanthocereus tetragonus*, de acuerdo con Rodríguez-González *et al.*, 2014, modificando adicionalmente parámetros como: relación cruceta/agua y relación de mucílago/etanol. La modificación de estos parámetros se realizó de la siguiente

manera: 1) la relación cruceta/agua: 1:1, 1:2, 1:3 y 1:4 (w/v), 2) la relación de mezcla en solución de mucílago/etanol: 1:1, 1:2, 1:3 (v/v), utilizando como condiciones óptimas para la extracción un tiempo de calentamiento de 1 h a 80 °C y un pH de 4. Se obtuvieron los siguientes rendimientos descritos en la Tabla 13:

**TABLA 13 Rendimientos obtenidos en la extracción del mucílago de cruceta**

	1:1	1:2	1:3	1:4
1:1	0.0055 g/g	0.0064 g/g	0.0060 g/g	0.0063 g/g
1:2	0.0057 g/g	0.0095 g/g	0.0061 g/g	0.0056 g/g
1:3	0.0054 g/g	0.0054 g/g	0.0084 g/g	0.0060 g/g

La fórmula utilizada para calcular el rendimiento fue la siguiente:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{gramos obtenidos de mucílago}}{\text{gramos de cruceta}}$$

Se observa que con una relación de cruceta/agua 1:2 y una relación de mucílago/etanol de 1:2, se obtuvo el rendimiento más alto para la extracción. De igual manera se realizó la extracción del mucílago de nopal, obteniendo un rendimiento de 0.0247 g/g, con estos datos podemos comparar y observar que la cruceta tiene menor rendimiento en comparación con nuestra muestra de comparación que fue el nopal, los datos obtenidos en el rendimiento de la extracción del mucílago de nopal coinciden con los reportados por Rodríguez- González (2014), las diferencias que existen en el rendimiento entre el nopal y la cruceta pueden atribuirse a la época de corte de la planta y el ambiente en el que fue cultivado, así como muy importante recordar la composición de cada uno, ya que el nopal contiene mayores cantidades de carbohidratos en comparación con la cruceta, recordando que ambas plantas pertenecen a la familia de las cactáceas esperamos tener rendimiento similares.

### 7.3 Caracterización del mucílago de *Acanthocereus tetragonus*

#### 7.3.1 Determinación de la capacidad de retención de agua del mucílago de cruceta

La capacidad de retención de agua (WHC, por sus siglas en inglés) es una propiedad funcional que indica la capacidad de la muestra para incluir agua, esta es de importancia en relación con la formulación y procesamiento de alimentos altos en fibra, ya que de esta dependerá en gran medida el nivel máximo de incorporación de fibra. El mucílago de cruceta mostro una capacidad de retención de agua de 0.7 g/g de mucílago como se muestra en la formula.

$$\text{WHC} = \frac{0.35 \text{ g}}{0.5 \text{ g}} = 0.7 \text{ g/g}$$

En comparación con estudios reportados por Bayar *et al.*, 2016, la capacidad de retención de agua que mostro el mucílago de nopal fue de 7.1 g/g utilizando las mismas condiciones, la capacidad de retención de agua de las fibras dietéticas tiene relación con la porosidad de la muestra, tamaño de partícula y pH. Con estos datos podemos darnos cuentas que el mucílago de cruceta presentó una baja capacidad de retención de agua, cuando tenemos una alta capacidad de retención de agua está también incrementara la viscosidad del jugo intestinal (Zambrano, 2011).

#### 7.3.2 Caracterización química de la cruceta y su mucílago

Se realizó la caracterización química tanto de la planta como del mucílago de cruceta obteniendo los resultados descritos en la Tabla 15 y 16, donde la Tabla 15 corresponde al análisis proximal de la planta y la Tabla 16 al análisis proximal del mucílago de cruceta, podemos concluir que la planta completa tiene una cantidad de humedad de casi el 100%, después de la extracción y el secado del mucílago de la planta solo se preservó un porcentaje de humedad del 9%, y todos los componentes se concentraron, obteniendo un 20% de carbohidratos y un 19% de

proteínas en el mucílago de cruceta, esto en comparación con estudios previos realizados en nopal por Perez-Sanchez en el 2015, donde obtuvieron una concentración de proteínas de solo 6%.

**TABLA 14 Caracterización química de la cruceta**

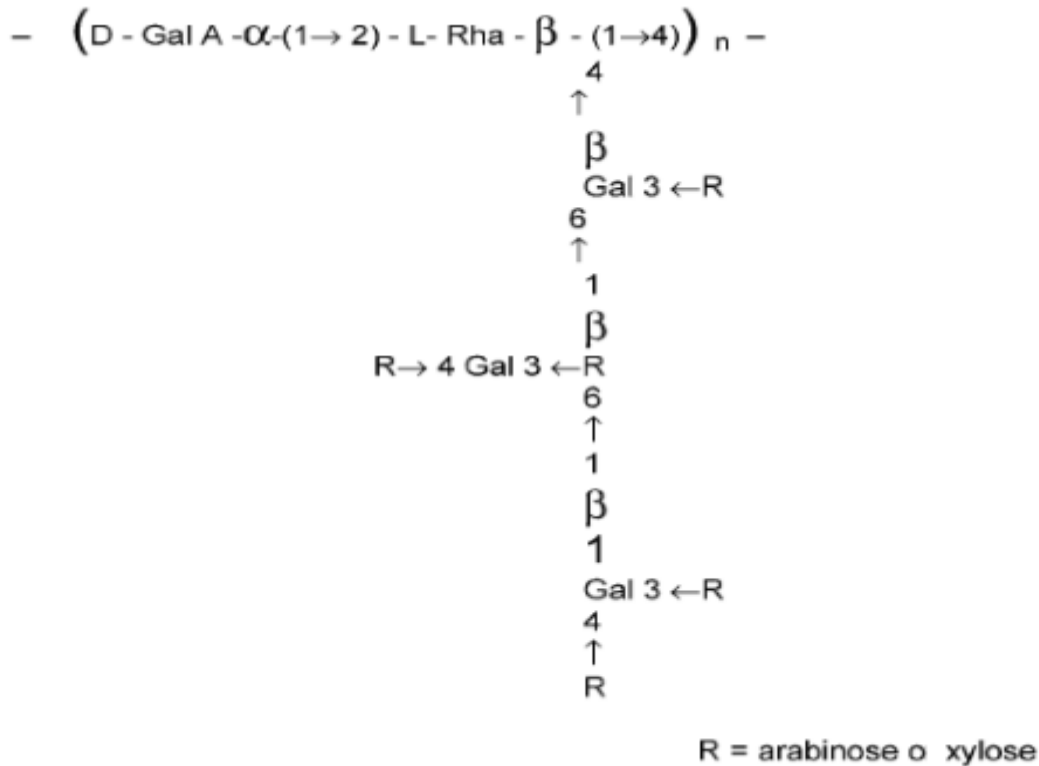
<b>Componente</b>	<b>Resultado por cada 100g</b>
Humedad (g)	94.18
Cenizas (g)	0.68
Grasa (g) (extracto etéreo)	0.10
Proteína (g)	1.09
Fibra dietética (g)	2.94
Carbohidratos digeribles totales (g) base seca	1.01

**TABLA 15 Caracterización química del mucílago de cruceta**

<b>Componente</b>	<b>Resultado por cada 100g</b>
Humedad (g)	8.97
Cenizas (g)	22.87
Grasa (g) (extracto etéreo)	1.03
Proteína (g)	18.75
Fibra dietética (g)	28.60
Carbohidratos digeribles totales (g)	19.78

**7.3.2.1 Determinación de monosacáridos del mucílago de cruceta mediante una hidrólisis ácida**

Se realizó la hidrólisis ácida con ácido clorhídrico 2 N, para romper los enlaces glucosídicos de la muestra y poder observar que carbohidratos componen al mucílago de la muestra, en estudios ya realizados con nopal, se ha observado que el mucílago de nopal contiene galactosa, arabinosa, xilosa y ramnosa, como las principales unidades de azúcares, así como ácido galacturónico. En la Figura 12 propuesta por Sáenz *et al.*, 2004, el mucílago de nopal presenta una cadena principal lineal con repeticiones de  $\beta$  (1-4) ácido galacturónico y  $\alpha$ (1-2) ramnosa ligado con cadenas laterales de oligosacáridos.

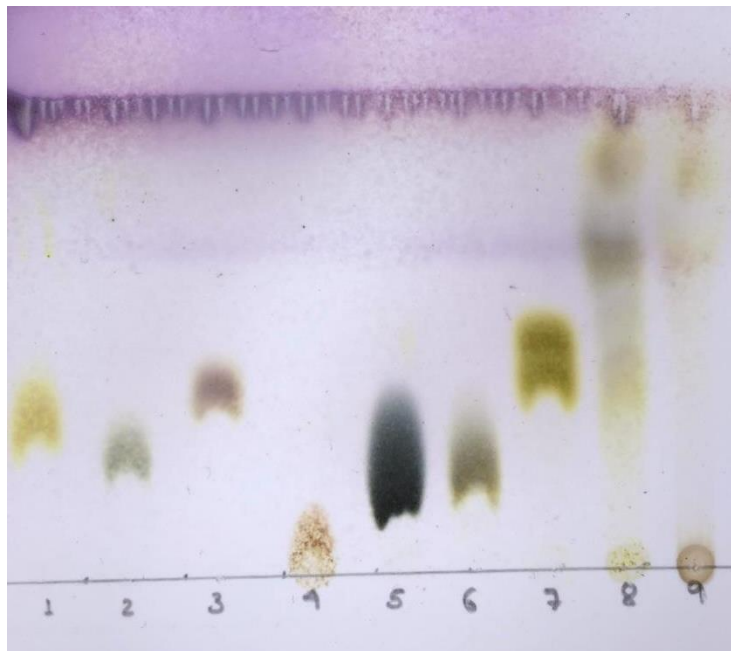


**FIGURA 12 Estructura propuesta del mucílago de nopal (Sáenz *et al.*, 2014).**



**7.3.2.2 Determinación de monosacáridos por cromatografía en capa fina (TLC)**

La cromatografía en capa fina es un proceso que se utiliza para separar moléculas relativamente pequeñas como los azúcares, en la Figura 13 podemos observar la separación de los azúcares que conforman al mucílago de nopal y al mucílago de la cruceta, utilizando como estándares arabinosa, ramnosa, xilosa, ácido galacturónico, fructosa, glucosa, galactosa, podemos observar que para la muestra del mucílago del nopal hidrolizado coinciden los estándares de arabinosa, xilosa, ácido galacturónico y ramnosa, mientras que con la muestra del mucílago de la cruceta hidrolizado solo coincide con el estándar de ácido galacturónico.



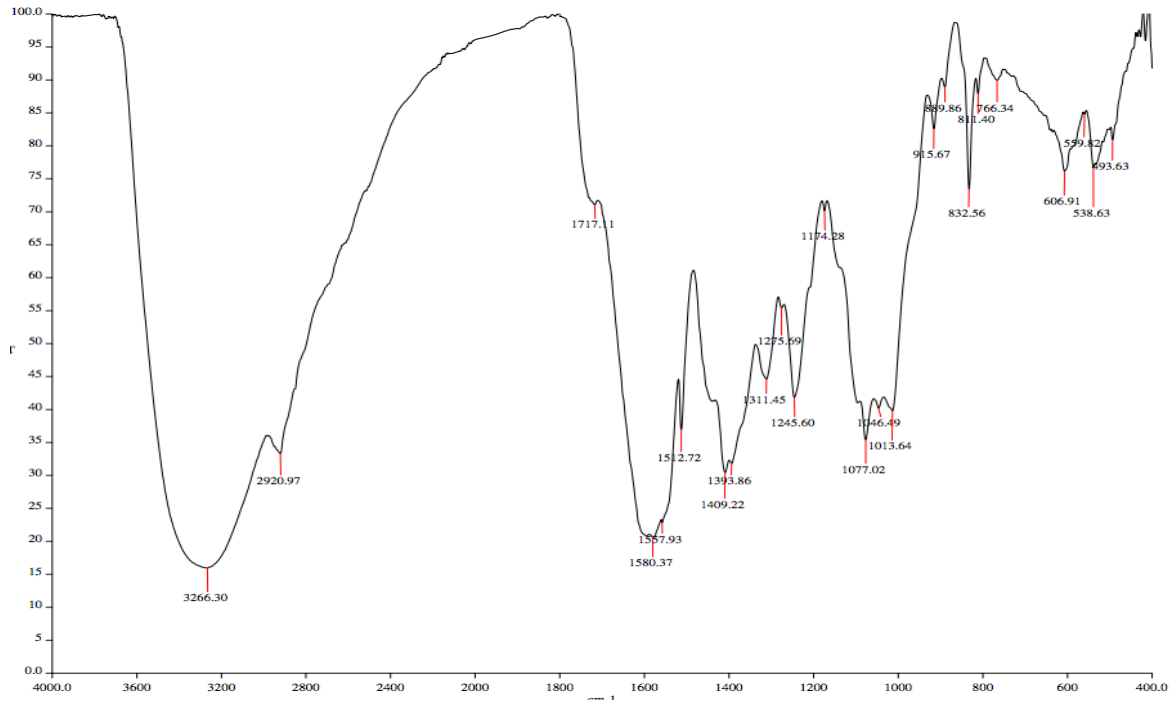
**FIGURA 13 Monosacáridos en TLC y muestra de cruceta hidrolizada; 1: arabinosa, 2: glucosa, 3: xilosa, 4: ácido galacturónico, 5: fructosa, 6: galactosa, 7: ramnosa, 8: mucílago de nopal, 9: mucílago de cruceta. Placa revelada con anisaldehído**

### 7.3.2.3 Determinación de grupos funcionales mediante espectrofotometría de infrarrojo por transformada de Furier (FTIR)

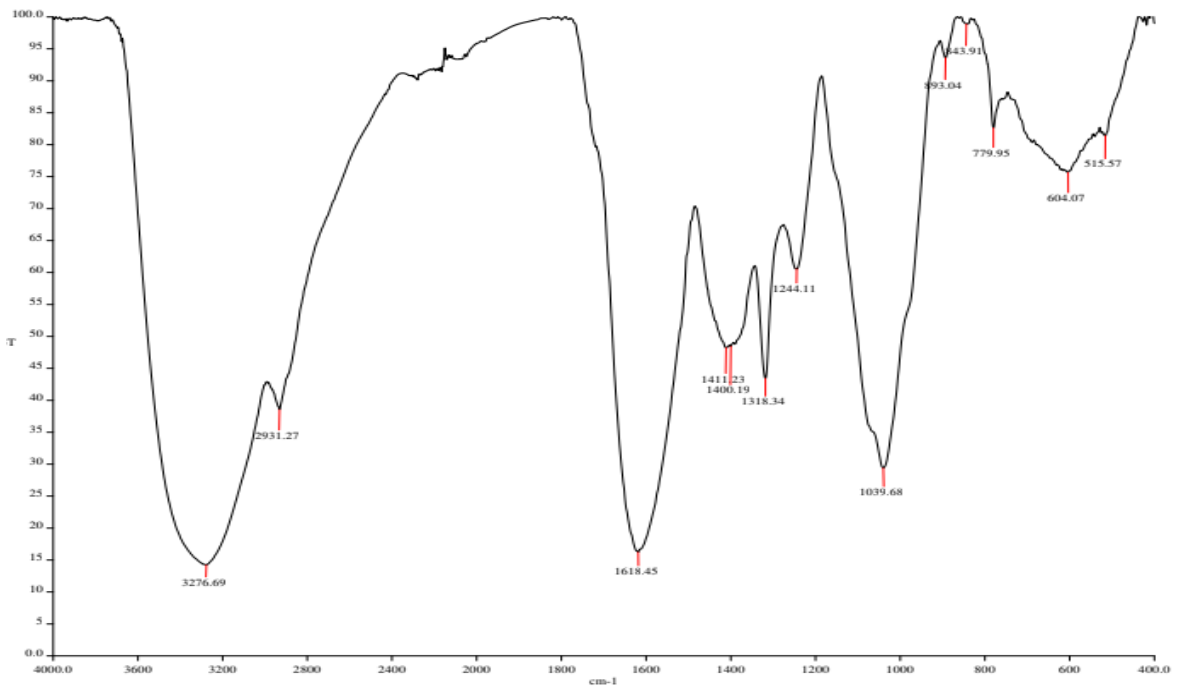
En los espectros de infrarrojo de las muestras de mucílago de cruceta y nopal que se muestran en la Figura 14 y 15 respectivamente, podemos observar en la región de 3270-3286  $\text{cm}^{-1}$  que representa el estiramiento de los grupos hidroxilo, para 2919.89  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a las vibraciones de estiramiento simétricas del grupo CH del éster metílico del ácido galacturónico, esta banda refleja el sitio de unión de iones que pueden interactuar con el agua y facilitar la capacidad gelificante de las fracciones. El pico en 1253.27  $\text{cm}^{-1}$  indica la presencia de grupos acetilo. Mientras que el área entre 800-1200  $\text{cm}^{-1}$  es la región para la huella digital de carbohidratos y permite la identificación de algunas características de grupos funcionales de polisacáridos tales como estiramiento (C-O-C), flexión (O-H) y deformación (CH<sub>3</sub>). Las bandas a 851.41  $\text{cm}^{-1}$  y 841.55  $\text{cm}^{-1}$  indican los principales enlaces que son  $\alpha$ -glucosídicos. Los picos a 1651.06  $\text{cm}^{-1}$ , 1621.24  $\text{cm}^{-1}$  y 1567.89  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyeron a la vibración de estiramiento de grupos carboxílicos libres. El pico a 1409.65  $\text{cm}^{-1}$  que se refiere a la presencia de ácidos carboxílicos libres. Los picos de absorción a 1146.70 y 1012.91  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyen a la banda C-O-H de alcohol primario, mientras que los picos 1148.43 y 1015.53  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyen a la D-arabinosa.

Al comparar ambos espectros de infrarrojo podemos observar que el mucílago de cruceta y nopal tienen grandes similitudes en cuanto a sus compuestos, ya que ambas plantas pertenecen a la misma familia.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN



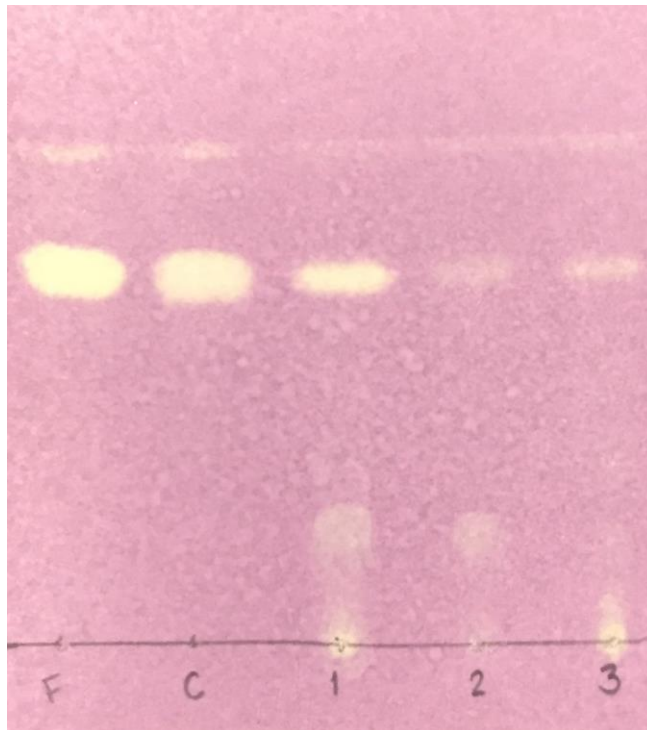
**FIGURA 14** Espectro de IR de muestra de mucílago de cruceta



**FIGURA 15.** Espectro de IR de muestra de mucílago de nopal

#### 7.3.2.4 Análisis de compuestos bioactivos mediante cromatografía en placa fina (TLC)

Se realizó un análisis de compuestos bioactivos mediante TLC donde se logró observar la presencia de flavonoides con capacidad antioxidante. En Figura 16 podemos observar el mucílago, la pectina y la planta de *A. tetragonus*, utilizando como estándares al ácido ferúlico y la catequina, en donde las tres muestras de cruceta (cruceta entera, mucílago y pectina) coinciden con la presencia de ácido ferúlico. También se observan otras dos bandas con un Rf menor en cruceta entera y mucílago con capacidad antioxidante, estas pueden corresponder a los flavonoides. Se utiliza como revelador DPPH para poder visualizar la capacidad antioxidante en color amarillo. En estudios ya realizados se ha demostrado que el nopal tiene una gran capacidad antioxidante, en el 2017 Bonilla Rivera y colaboradores, analizaron cinco compuestos flavonoides que se encuentran presentes en los cladodios de nopal con propiedades antioxidantes y antitumorales.



**Figura 16 Compuestos bioactivos en TLC. F: ácido férulico, C: ácido cumárico, 1: cruceta, 2: mucílago de cruceta, 3: pectina de cruceta. Placa revelada con DPPH.**

### **7.4 Simulación química en el tránsito gastrointestinal**

En la realización de la simulación química del tránsito gastrointestinal se realizaron las soluciones de saliva, jugo gástrico, jugo duodenal y jugo biliar, donde se utilizó 9 ml de muestra las cuáles fueron mucílago de cruceta al 1% (0.09g) y cruceta liofilizada al 5% (0.45g), y se adiciono 12 ml de saliva, 24 ml de jugo gástrico, 24 ml de jugo duodenal y finalmente 12 ml de jugo biliar, al finalizar el tiempo de agitación con todas las fases, se centrifugo y se recuperó el precipitado, y al cuál se le midieron las concentraciones de carbohidratos totales, azúcares reductores y proteínas, para realizar la comparación antes y después de pasar por el proceso de digestión, ya que las soluciones contienen enzimas y sustancias que hidrolizan los componentes de la muestra.

#### **7.4.1 Determinación de carbohidratos totales por el método de fenol-sulfúrico**

La concentración de carbohidratos totales antes del proceso de digestión fue de 791 mg/ml en el mucílago de cruceta, y de 577 mg/ml en la cruceta liofilizada, después del proceso de digestión la concentración en el mucílago de cruceta fue de 419 mg/ml la cuál disminuyo debido a que en el mucílago los carbohidratos se encuentran expuestos y pueden ser hidrolizados con mayor facilidad por los componentes y enzimas de las soluciones que se utilizaron para digestión, en comparación con la cruceta liofilizada que después del proceso de digestión la concentración de los carbohidratos totales fue de 942 mg/ml, por lo que se observó un aumento significativo ya que en la composición completa la planta los carbohidratos se encuentran atrapados dentro de la membrana de las células y esta al pasar por el proceso de digestión es hidrolizada y de esta manera libera los carbohidratos y se pueden detectar con mayor facilidad.

#### **7.4.2 Determinación de azúcares reductores por el método de ácido dinitro salicílico (DNS)**

En los estudios realizados para medir la concentración de azúcares reductores, logramos observar un comportamiento similar en cuanto a la concentración de carbohidratos totales, ya que las concentraciones que se obtuvieron antes del proceso de digestión fue de 1054 mg/ml en el mucílago de cruceta, y de 636 mg/ml en la cruceta liofilizada, de igual manera después del proceso de digestión la concentración en el mucílago de cruceta fue de 936 mg/ml el cual también tuvo una evidente disminución y debemos atribuirlo a las mismas condiciones ya descritas en el proceso anterior ya que los azúcares reductores son una parte de los carbohidratos, y ya se había medido los carbohidratos totales, en cuanto a la cruceta liofilizada observamos la misma tendencia ya que la concentración obtenida después de pasar por el proceso de digestión fue de 808 mg/ml, y también observamos el aumento de esta concentración como en el caso de los carbohidratos totales.

#### **7.4.3 Determinación de proteínas por el método de Bradford**

Las concentraciones observadas antes del proceso de digestión fueron de 3635 µg/ml para el mucílago de la cruceta y de 1124 µg/ml para la cruceta liofilizada, después del proceso de digestión se realizó la medición de concentraciones de proteínas y se observó una disminución en el mucílago de cruceta la cual tuvo una concentración de 2661 µg/ml y un aumento en la cruceta liofilizada el cual tuvo una concentración de 2849 µg/ml, con los resultados que obtuvimos los análisis proximales del mucílago de cruceta y la cruceta, pudimos observar que el principal componente que podíamos encontrar eran los carbohidratos seguido de las proteínas. Al cuantificar la concentración proteica se observa que se encuentran en mayor proporción, sin embargo al pasar por el proceso de hidrolisis enzimática durante la simulación del proceso de digestión en el mucílago de la cruceta estas proteínas fueron hidrolizadas por lo que disminuían, mientras que en la cruceta liofilizada, la hidrolisis primero rompía la membrana, la pared celular para así poder liberar las proteínas y detectarlas con mayor facilidad.

## 7.5 Evaluación del efecto prebiótico *in vitro*

### 7.5.1 Cinéticas de crecimiento con bacterias probióticas

En las Figuras 17, 18 y 19 se presentan las cinéticas de crecimiento de las cepas. *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis*, utilizando medio de cultivo MRS y MRS suplementado con cruceta liofilizada y mucílago de cruceta, en donde podemos observar que el mucílago cruceta favorece el crecimiento de *E. faecalis* y *L. rhamnosus* mientras que con *B. animalis* no se observa este comportamiento. En estudios relacionados con el nopal en 2012 por Guevara- Arauza, se observa un comportamiento similar de las bacterias, dado que el mucílago de nopal favoreció el crecimiento de *Lactobacillus sp.* mientras que la pectina del nopal favoreció el crecimiento de las *Bifidobacterium sp.*

En la Figura 17 que representa el comportamiento de *E. faecalis*, podemos observar que el mayor efecto se observa al utilizar el medio MRS suplementado con la cruceta liofilizada antes de pasar por el proceso de digestión *in vitro*, y el menor efecto se observa al utilizar el medio MRS sin ningún suplemento.

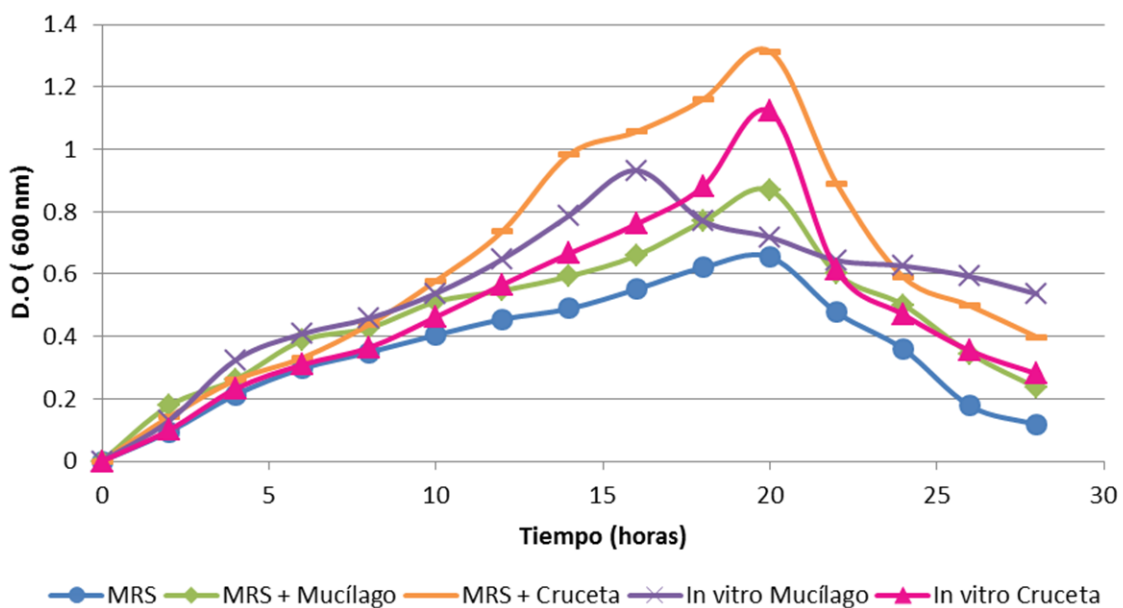
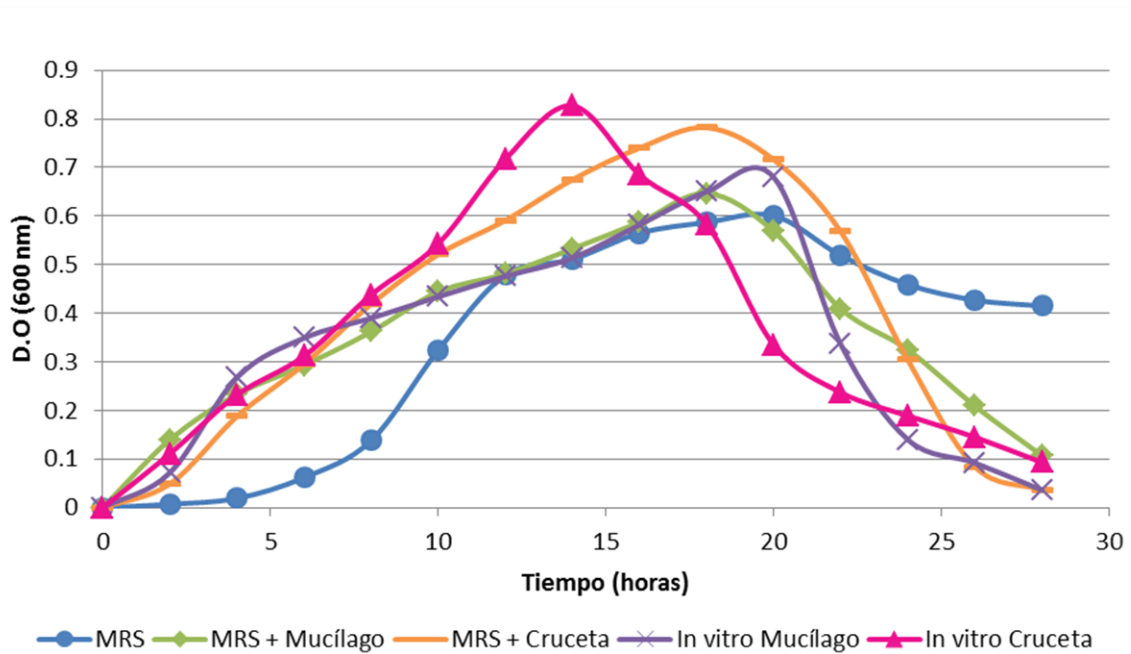


Figura 17 Cinética de crecimiento de *Enterococcus faecalis*

En la Figura 18 que representa el comportamiento de *L. rhamnosus* podemos observar el mayor efecto al utilizar el medio MRS suplementado con cruceta liofilizada después de pasar por el proceso de digestión *in vitro*, y el menor efecto podemos observarlo cuando utilizamos el MRS sin suplementación.

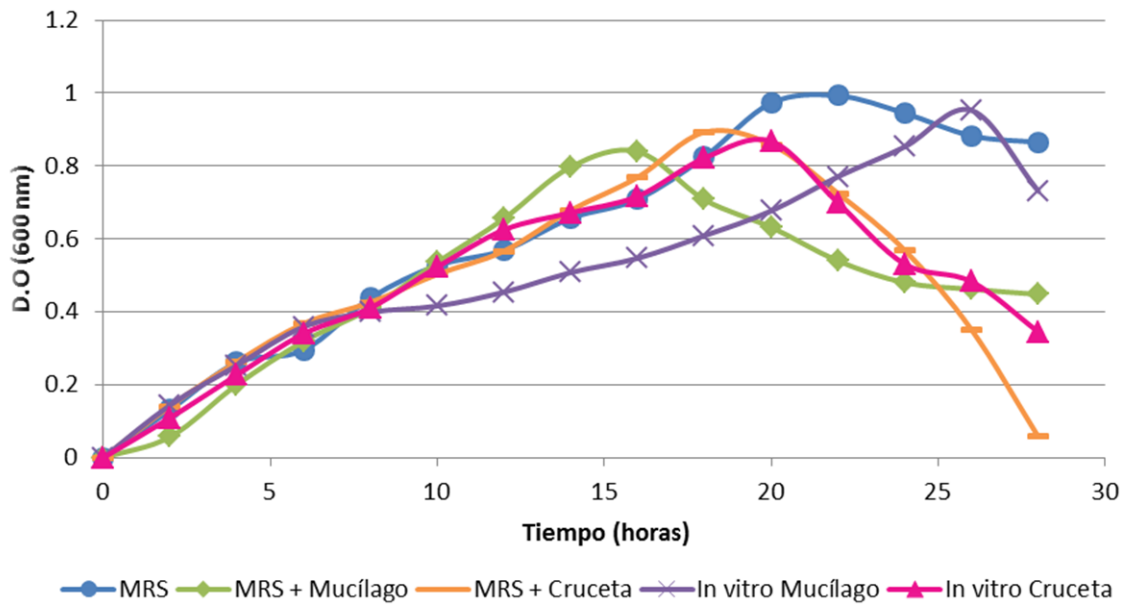
En cuanto a la utilización del mucílago de cruceta como suplemento para el crecimiento de estas bacterias, se observa que favorece el crecimiento de ambas bacterias pero no logra superar a la cruceta liofilizada, ya que en la cruceta liofilizada podemos encontrar mas componentes como las pectinas, que también favorecen el crecimiento de las bacterias beneficios de la microbiota intestinal.



**FIGURA 18 Cinética de crecimiento de *Lactobacillus rhamnosus***

En la Figura 19 se representa el comportamiento de *B. animalis*, y podemos observar que en las primeras 8 horas no existe diferencia significativa entre todos los medios utilizados, con el paso de las horas se logra observar un efecto sobresaliente en la utilización del medio MRS sin suplementación, con esto no se descarta el efecto prebiótico del mucílago de cruceta y la cruceta liofilizada con esta bacteria.





**Figura 19** Cinética de crecimiento de *Bifidobacterium animalis*

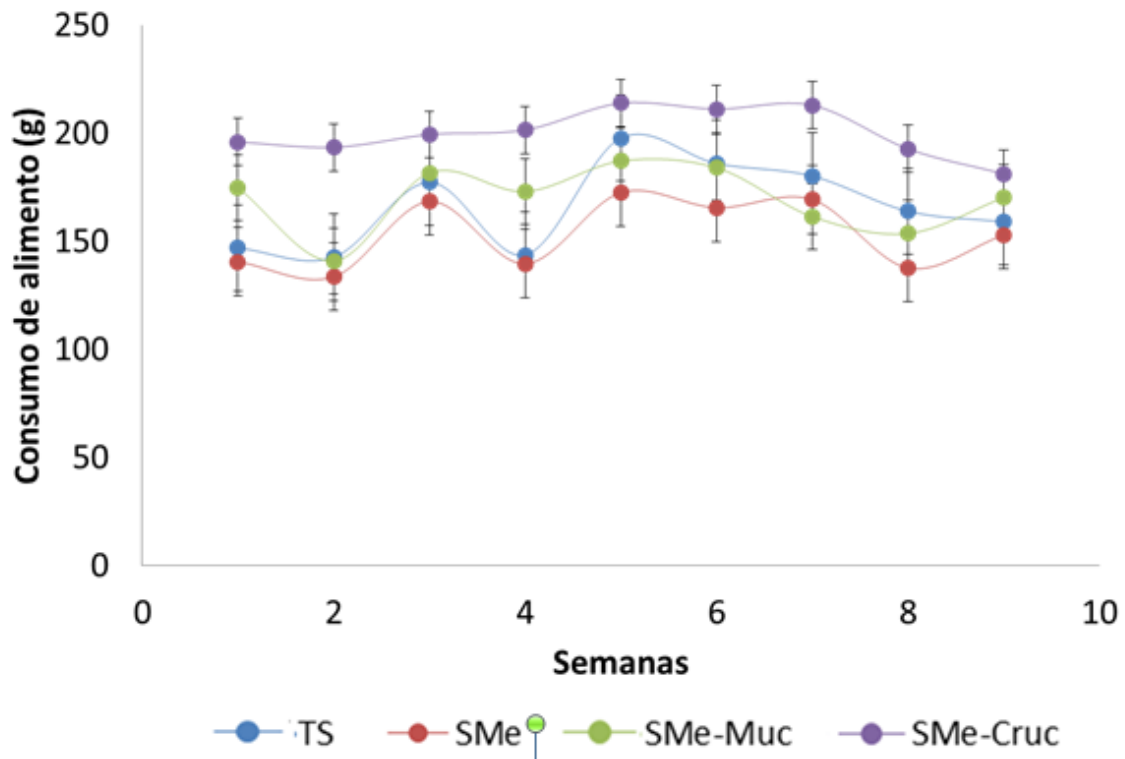
## 7.6 Efecto prebiótico en modelo murino

Los resultados que se obtuvieron después de la inducción al síndrome metabólico y la administración de los tratamientos de manera simultánea se representan a continuación:

### 7.6.1 Modelo murino con síndrome metabólico

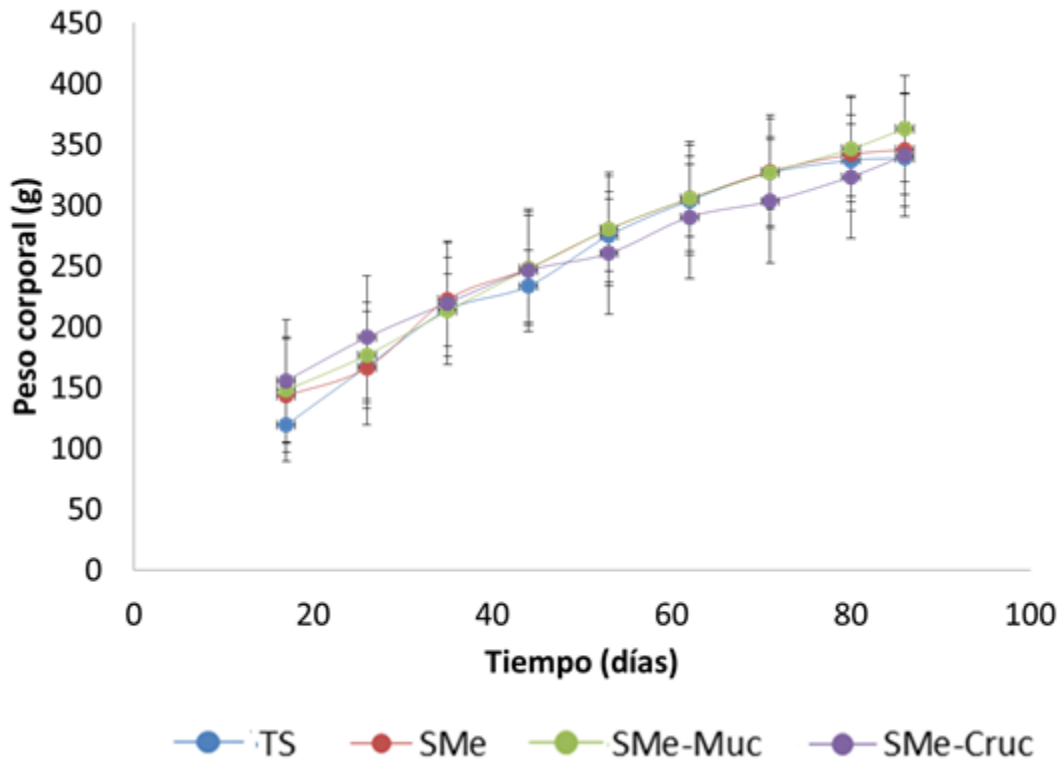
#### 7.6.1.1 Consumo de alimento y ganancia de peso corporal del modelo murino

En la Figura 20 se observa el consumo de alimento durante las 12 semanas, donde podemos observar que el grupo con mayor consumo de alimento es el grupo SMe-Cruc que pertenece a las ratas que fueron inducidas a síndrome metabólico y utilizando como tratamiento la cruceta liofilizada.



**FIGURA 20 Consumo de alimento durante el estudio**

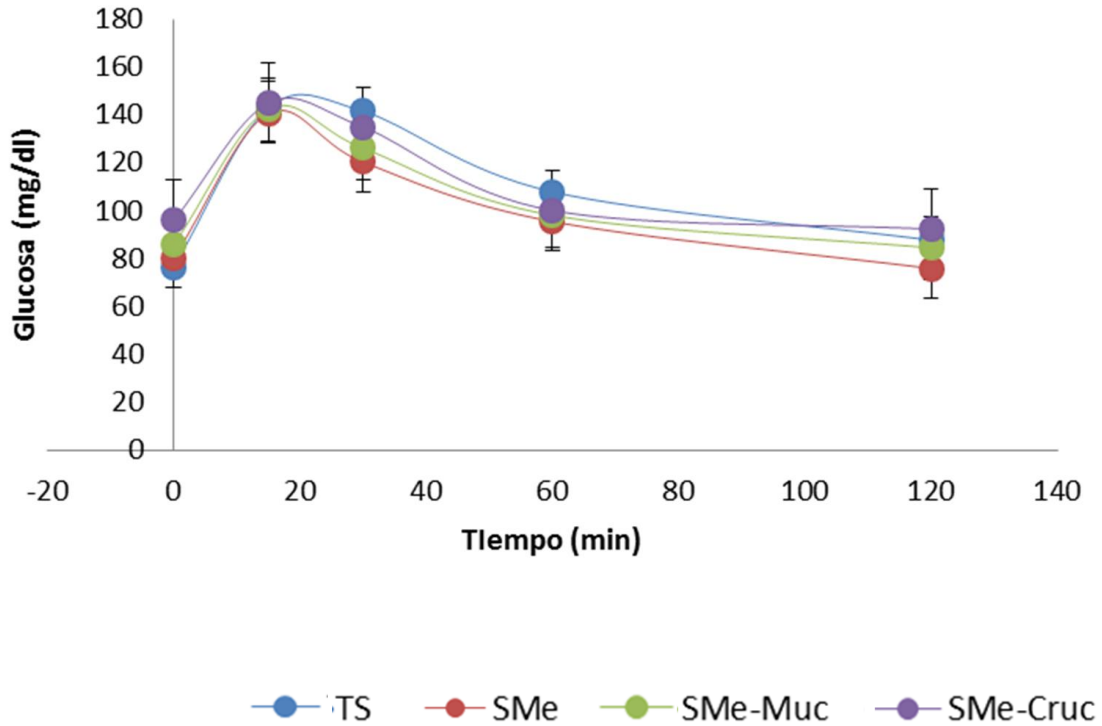
Comparándolo con la Figura 21 que muestra la ganancia de peso corporal, este mismo grupo es el que tuvo menor ganancia de peso, lo cual no es proporcional al consumo de alimento, el grupo con menor consumo de alimento es el SMe el cual es el grupo al que se indujo al síndrome metabólico que fue nuestro testigo enfermo y de acuerdo a la ganancia de peso corporal este grupo es el de los que tuvieron una mayor ganancia de peso junto con el SMe-Muc que se indujo a síndrome metabólico y se le dio como tratamiento el mucílago de cruceta, en cuanto al grupo TS que fue el testigo sano, el consumo de alimento aumento conforme el paso de las semanas y esto fue proporcional a la ganancia de peso. La ganancia de peso corporal no tuvo diferencias significativas entre los grupos, por lo que con el consumo de alimento pudimos marcar esas diferencias entre los diferentes grupos.



**FIGURA 21 Ganancia de peso corporal durante el estudio**

### 7.6.2 Curva de tolerancia a la glucosa en el modelo murino

Una de las principales herramientas para el diagnóstico de la diabetes mellitus tipo II, que forma parte de los parámetros del síndrome metabólico, es la curva de tolerancia a la glucosa. En la Figura 22 se muestran que no existe una diferencia significativa entre los grupos, ya que se observa que todos los grupos muestran un patrón similar en los niveles de glucosa, de igual manera no se encontraron diferencias significativas entre los grupos al calcular el área bajo la curva. En estudios realizados por Dupas en el 2017, demuestran que una dieta alta en carbohidratos provoca síndrome metabólico, pero en algunas ocasiones no logra desarrollar diabetes mellitus tipo II hasta después de las 20 semanas, dado que la curva se midió a las 10 semanas no pudimos observar diferencias significativas en la curva realizada.



**Figura 22 Curva de tolerancia a la glucosa**

**7.6.3 Niveles de presión arterial en el modelo murino**

Se realizó la toma de presión arterial en la última semana del estudio, obteniendo valores como se muestran en la Tabla 1, para el grupo TS de 115/73 mmHg, para el grupo SMe 125/80 mmHg, para el grupo SMe-Muc 107/85 mmHg y finalmente para el grupo SMe-Cruc de 110/72 mmHg, tomando como referencia la presión del grupo TS, los grupos SMe-Cruc y SMe-Muc se encuentran por debajo de este valor, por lo que la presión en estos grupos podemos considerarla dentro de los niveles de individuos sanos, por lo que los tratamientos tuvieron un efecto positivo en otro parámetro del síndrome metabólico que es la hipertensión arterial.

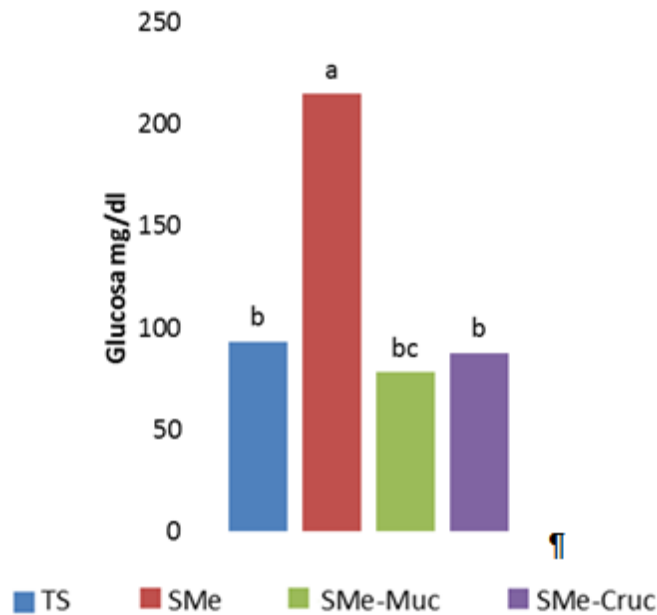
**TABLA 16 Medición de presión arterial en modelo murino**

TS	SMe	SMe-Muc	SMe-Cruc
115 / 73 ± 6.58	125 / 80 ± 5.83	107 / 85 ± 5.91	110 / 72 ± 7.57

**7.6.4 Evaluación de parámetros séricos relativos al síndrome metabólico**

**7.6.4.1 Concentración de niveles de glucosa sérica en el modelo murino**

La glucemia es la concentración de niveles de glucosa libre en sangre, constituye una de las variables de mayor importancia para la homeostasis corporal, en la Figura 23 podemos observar las concentraciones de niveles de glucosa en sangre, donde la concentración de glucosa del grupo SMe fue de 215 mg/dl en comparación con el grupo TS que fue de 93 mg/dl, los grupos SMe-Muc se encuentra en 78 mg/dl y SMe-Cruc en 88 mg/dl, los valores de los grupos con tratamientos se encuentran por debajo del TS el cual tomamos como referencia, por lo que podemos concluir que ambos tratamientos tuvieron un efecto positivo para la disminución de la concentración de glucosa en suero. La hiperglucemia es el indicador más habitual de la diabetes, el cuál es un parámetro del síndrome metabólico.

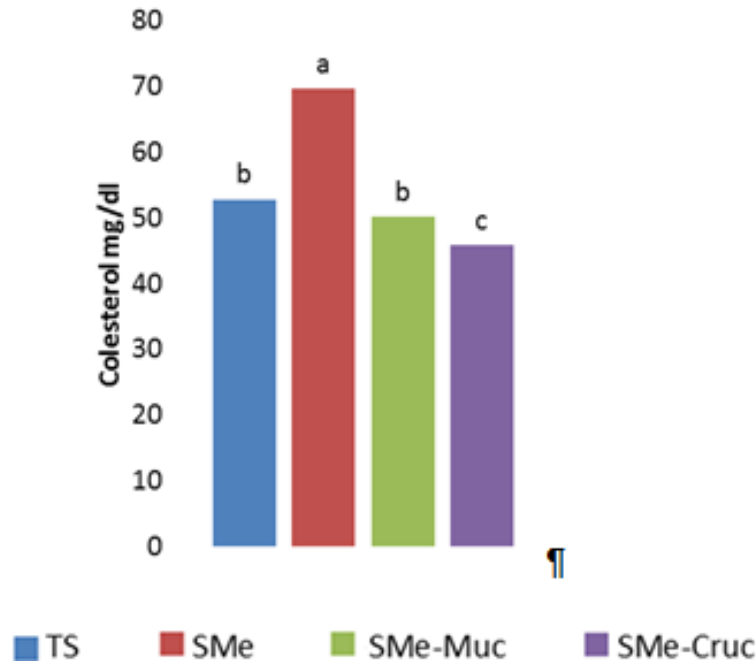


**FIGURA 23 Concentración de glucosa sérica**

**7.6.4.2 Concentración de niveles de colesterol sérico en el modelo murino**

El colesterol es un lípido que el organismo necesita para funcionar de manera apropiada, pero si se encuentra en exceso en la sangre aumenta las probabilidades

de padecer enfermedades cardiovasculares, en la Figura 24 se muestra la concentración de colesterol sérico en los diferentes grupos, donde obtuvimos en el grupo TS una concentración de 53 mg/dl la cual se tomó como referencia para clasificar a los individuos sanos, en los grupos que fueron sometidos a los tratamientos se obtuvieron concentraciones para SMe-Muc de 50 mg/dl y para SMe-Cruc 46 mg/dl, los cuales se encuentran por debajo de la concentración del grupo TS, mientras que el grupo SMe tuvo una concentración de 70 mg/dl observando que este grupo tuvo la mayor concentración de niveles de colesterol sérico, y esto es acorde a la dieta a la que fue sometido, con estos resultados también podemos concluir que los tratamientos de igual manera tuvieron un efecto positivo en otro parámetro del síndrome metabólico que es la hiperlipidemia.

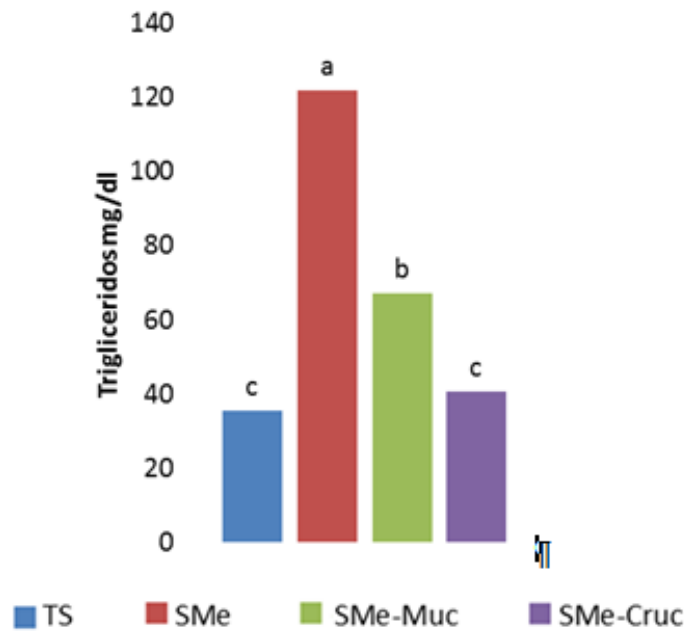


**FIGURA 24 Concentración de colesterol sérico**

#### 7.6.4.3 Concentración de niveles de triglicéridos séricos en el modelo murino

Los triglicéridos se obtienen generalmente de la alimentación y otros son producidos por el organismo, el exceso de estos puede producir distintas enfermedades arteriales, como aterosclerosis, en la Figura 25 podemos observar los niveles de triglicéridos séricos en los diferentes grupos donde obtuvimos en el grupo SMe una

concentración de 122 mg/dl, y en el grupo TS de 35 mg/dl tomando esta referencia como los valores normales que deberían tener los grupos, en cuanto a los grupos que tuvieron la administración de los tratamientos obtuvimos una concentración de 67 mg/dl para el grupo SMe-Muc y de 41 mg/dl para el grupo SMe-Cruc, aunque estos niveles se encuentra por arriba de nuestra referencia, según datos proporcionados por Carpenter en el 2006, los valores que se pueden tomar como referencia para este tipo de modelo va de 20-110mg/dl, por lo que los niveles obtenidos en los grupos que se administró tratamientos se encuentran dentro de los valores normales y el grupo SMe, se encuentra por arriba de ambas referencias, finalmente con estos últimos datos, podemos observar que ambos tratamientos tuvieron un efecto positivo en otro parámetro más del síndrome metabólico.



**FIGURA 25** Concentración de triglicéridos séricos

## 8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 8.1 Conclusiones

En la extracción del mucílago utilizando proporciones de 1: 2 (p/ v) de cruceta y agua y una proporción de 1: 2 (v/v) mucílago y etanol, se obtuvo un rendimiento del 1.6%, aunque este valor es menor que el valor obtenido del rendimiento de nopal, utilizando este método, es posible aumentarlo cambiando condiciones de pH, temperatura y tiempo de calentamiento, por el momento el rendimiento de 1.6% de mucílago de cruceta es el más alto descrito.

El mucílago de cruceta está compuesto principalmente por fibra dietética (28.6%) en comparación con el mucílago de nopal la cuál es menor, ya que el mucílago de nopal tiene un porcentaje del 57.8%, seguida de carbohidratos (19.78%) como ácido galacturónico, ramnosa y arabinosa, y proteínas (18.7%).

La cruceta tiene un efecto prebiótico en el crecimiento bacterias como *Lactobacillus rhamnosus* y *Enterococcus faecalis*.

El consumo de cruceta y su mucílago tienen un efecto benéfico sobre parámetros del síndrome metabólico (glucosa, colesterol, triglicéridos, presión arterial) por lo que puede ser utilizado como terapéutico.

### 8.2 Recomendaciones

Para concluir con la caracterización del mucílago, evaluar mediante HPLC los carbohidratos que lo componen así como un aminograma para detectar los aminoácidos que forman las proteínas presentes en el mucílago.

Evaluar el cambio de la microbiota intestinal del modelo murino, para observar el favorecimiento del crecimiento de bacterias benéficas y poder comprobar el efecto prebiótico de la cruceta in vivo. Utilizando PCR en tiempo real, con primers y sondas específicas para las bacterias ya estudiadas de manera *in vitro*.

Realizar los estudios ya demostrados para el mucílago de la cruceta, con la pectina de la cruceta, hacer una comparación en el crecimiento de las bacterias benéficas.



## REFERENCIAS

- Akaberi, M., Sobhani, Z., Javadi, B., Sahebkar, A., & Emami, S. A. (2016). Therapeutic effects of Aloe spp. in traditional and modern medicine: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 759-772.
- Alberti, K. G. M. M., & Zimmet, P. F. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic medicine*, 15(7), 539-553.
- Alberti, K. G. M. M., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., ... & Smith, S. C. (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; national heart, lung, and blood institute; American heart association; world heart federation; international atherosclerosis society; and international association for the study of obesity. *Circulation*, 120(16), 1640-1645.
- Ariffin, A. A., Bakar, J., Tan, C. P., Rahman, R. A., Karim, R., & Loi, C. C. (2009). Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. *Food Chemistry*, 114(2), 561-564.
- Armenta, R. Á., & Peña-Valdivia, C. B. (2009). Structural polysaccharides in xoconostle (*Opuntia matudae*) fruits with different ripening stages. *J Prof Assoc Cactus*, 11, 26-44.
- American Diabetes Association. (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 33(Suppl 1), S62.
- Anderson J. W., Bridges S.R. (1988). Dietary fiber content of selected foods. *Am J Clin Nutr.*, 47(3):440-7.
- Andersson, A. F., Lindberg, M., Jakobsson, H., Bäckhed, F., Nyrén, P., & Engstrand, L. (2008). Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PloS one*, 3(7), e2836.
- AOAC International: "Official Methods of Analysis".(AOAC, 45. 4. 07) 17<sup>a</sup>ed. Gaithersburg, USA, 2005.
- Aquino-González, L. V., Rodríguez, R. J., Méndez, R. A. M., & Hernández, A. S. E. (2007). Extracción y caracterización de fibra de nopal (*Opuntia ficus indica*). *Naturaleza y Desarrollo*, 10(1), 46-63.

- Archana, G., Sabina, K., Babuskin, S., Radhakrishnan, K., Fayidh, M. A., Babu, P. A. S., ... & Sukumar, M. (2013). Preparation and characterization of mucilage polysaccharide for biomedical applications. *Carbohydrate polymers*, 98(1), 89-94.
- Avila-Nava, A., Noriega, L. G., Tovar, A. R., Granados, O., Perez-Cruz, C., Pedraza-Chaverri, J., & Torres, N. (2017). Food combination based on a pre-hispanic Mexican diet decreases metabolic and cognitive abnormalities and gut microbiota dysbiosis caused by a sucrose-enriched high-fat diet in rats. *Molecular nutrition & food research*, 61(1), 1501023.
- Azeredo, H. M. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability—a review. *International journal of food science & technology*, 44(12), 2365-2376.
- Barquera, S., Campos-Nonato, I., Hernández-Barrera, L., Pedroza, A., & Rivera-Dommarco, J. A. (2011). Prevalencia de obesidad en adultos mexicanos, 2000-2012. *Salud publica de Mexico*, 55, S151-S160.
- Bayar, N., Kriaa, M., & Kammoun, R. (2016). Extraction and characterization of three polysaccharides extracted from *Opuntia ficus indica* cladodes. *International journal of biological macromolecules*, 92, 441-450.
- Bayar, N., Bouallegue, T., Achour, M., Kriaa, M., Bougatef, A., & Kammoun, R. (2017). Ultrasonic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica* cladodes after mucilage removal: Optimization of experimental conditions and evaluation of chemical and functional properties. *Food chemistry*, 235, 275-282.
- Benítez-Cortés, I., Pérez-Martínez, A., Álvarez-Borroto, R., Collado-García, O., & González-Díaz, Y. (2015). Perspectivas de la producción de inulina a partir de la tuna (*Opuntia ficus-indica*). *Tecnología Química*, 35(2), 181-192.
- Benson, A. K., Kelly, S. A., Legge, R., Ma, F., Low, S. J., Kim, J., ... & Kachman, S. D. (2010). Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(44), 18933-18938.
- Bervoets, L., Van Hoorenbeeck, K., Kortleven, I., Van Noten, C., Hens, N., Vael, C., ... & Vankerckhoven, V. (2013). Differences in gut microbiota composition between obese and lean children: a cross-sectional study. *Gut pathogens*, 5(1), 10.
- Bustamante, M., Oomah, B. D., Rubilar, M., & Shene, C. (2017). Effective *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium infantis* encapsulation with chia seed (*Salvia hispanica* L.) and flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) mucilage and soluble protein by spray drying. *Food chemistry*, 216, 97-105.

Cagigas, A., & Blanco, J. (2002). Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. *Revista Cubana Aliment Nutr*, 16(1), 63-8.

Cai, W., Gu, X., & Tang, J. (2008). Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*. *Carbohydrate polymers*, 71(3), 403-410.

Cervera, S. B., Campos-Nonato, I., Rojas, R., & Rivera, J. (2010). Obesidad en México: epidemiología y políticas de salud para su control y prevención. *Gaceta Médica de México*, 146(6), 397-407.

Cho, I., & Blaser, M. J. (2012). The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature Reviews Genetics*, 13(4), 260.

Claesson, M. J., Cusack, S., O'Sullivan, O., Greene-Diniz, R., de Weerd, H., Flannery, E., ... & Stanton, C. (2011). Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(Supplement 1), 4586-4591.

Claesson, M. J., Jeffery, I. B., Conde, S., Power, S. E., O'connor, E. M., Cusack, S., ... & Fitzgerald, G. F. (2012). Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*, 488(7410), 178.

Collado, M. C., Isolauri, E., Laitinen, K., & Salminen, S. (2008). Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *The American journal of clinical nutrition*, 88(4), 894-899.

Cuvas-Limón, R. B., Julio, M. S., Carlos, C. E. J., Mario, C. H., Mussatto, S. I., & Ruth, B. C. (2016). Aloe vera and probiotics: a new alternative to symbiotic functional foods. *Annual Research & Review in Biology*, 9(2), 1.

De Cossío, L. F., Fourrier, C., Sauvart, J., Everard, A., Capuron, L., Cani, P. D., ... & Castanon, N. (2017). Impact of prebiotics on metabolic and behavioral alterations in a mouse model of metabolic syndrome. *Brain, behavior, and immunity*, 64, 33-49.

De Morentin, B. M., Rodríguez, M. C., & Martínez, J. A. (2003). Síndrome metabólico, resistencia a la insulina y metabolismo tisular. *Endocrinología y nutrición*, 50(8), 324-333.

De Wit, N., Derrien, M., Bosch-Vermeulen, H., Oosterink, E., Keshtkar, S., Duval, C., ... & van der Meer, R. (2012). Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 303(5), G589-G599.

Del-Valle, V., Hernández-Muñoz, P., Guarda, A., & Galotto, M. J. (2005). Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chemistry*, 91(4), 751-756.

Delzenne, N. M., Neyrinck, A. M., Bäckhed, F., & Cani, P. D. (2011). Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics. *Nature Reviews Endocrinology*, 7(11), 639.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.

Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., & Wahab, M. S. A. (2014). Modulation of gut microbiota in the management of metabolic disorders: the prospects and challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(3), 4158-4188.

Escudero Álvarez, E., & González Sánchez, P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición hospitalaria*, 21, 61-72.

Espino-Díaz, M., De Jesús Ornelas-Paz, J., Martínez-Téllez, M. A., Santillán, C., Barbosa-Cánovas, G. V., Zamudio-Flores, P. B., & Olivas, G. I. (2010). Development and characterization of edible films based on mucilage of *Opuntia ficus-Indica* (l.). *Journal of food science*, 75(6), E347-E352.

Farela Lara L.(2017). Extracción y caracterización del mucílago de la semilla de chan (*Salvia hispánica L.*) para la determinación de los parámetros de aplicación como aditivo espesante en función a la concentración en mermelada de fresa (Tesis de Licenciatura). Universidad Rafael Landivar, Guatemala de la Asunción.

Fanaro, S., Boehm, G., Garssen, J., Knol, J., Mosca, F., Stahl, B., & Vigi, V. (2005). Galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides as prebiotics in infant formulas: a review. *Acta paediatrica*, 94, 22-26.

Fanyi Ma, Yun Zhang, Yanna Yao, et al; (2017). Chemical components and emulsification properties of mucilage from *Dioscorea opposita* Thunb. *Food Chemistry*, 228, 315–322.

Fernandez-de-Cossio-Diaz, J., & Mulet, R. (2016). Fast inference of ill-posed problems within a convex space. *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*, 2016(7), 073207.

Festi D., et al; (2014). Gut microbiota and metabolic syndrome. *World Journal of Gastroenterology*. 20(43): 16079-16094.

- García-Curbeloa Yanelys, Ramón Bocourta, Lourdes L. Savóna, Maria Isabel García-Vieyrab and Mercedes G. López (2015). Prebiotic effect of *Agave fourcroydes* fructans: An animal model. *Food and Function*, 4-8.
- Gareau, M. G., Sherman, P. M., & Walker, W. A. (2010). Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 7(9), 503.
- Gerritsen, J., Smidt, H., Rijkers, G. T., & de Vos, W. M. (2011). Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. *Genes & nutrition*, 6(3), 209.
- Gomez, E., Tuohy, K. M., Gibson, G. R., Klinder, A., & Costabile, A. (2010). In vitro evaluation of the fermentation properties and potential prebiotic activity of Agave fructans. *Journal of applied microbiology*, 108(6), 2114-2121.
- González Romero E.(2017). Efecto del aceite de coco sobre la expresión de los genes de PPAR $\gamma$  y neuropéptido Y, en un modelo de síndrome metabólico (Tesis de Maestría). Instituto Tecnológico de Veracruz, Veracruz,Ver.
- Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., & Fedorak, R. (2011). Probióticos y prebióticos. *Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos*, 1-29. ISO 690
- Guevara-Arauza, J. C., de Jesús Ornelas-Paz, J., Pimentel-González, D. J., Mendoza, S. R., Guerra, R. E. S., & Maldonado, L. M. T. P. (2012). Prebiotic effect of mucilage and pectic-derived oligosaccharides from nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Food Science and Biotechnology*, 21(4), 997-1003.
- Gullón B., Gullón P., Tavaría F., Alonso José L. and Pintado M. (2014). In vitro assessment of the prebiotic potential of *Aloe vera* mucilage and its impact on the human microbiota. *Food and Function*, 6, 525-531.
- Guo, X., Xia, X., Tang, R., Zhou, J., Zhao, H., & Wang, K. (2008). Development of a real-time PCR method for Firmicutes and Bacteroidetes in faeces and its application to quantify intestinal population of obese and lean pigs. *Letters in applied microbiology*, 47(5), 367-373.
- Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, Romero-Martínez M, Hernández-Ávila M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX), 2012.
- Holzapfel, W. H., P. Haberer, R. Geisen, J. Björkroth & U. Schillinger. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr* 73:365S-73S.

Icaza-Chavez, M. E. (2013). Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Revista de Gastroenterología de México*, 78(4), 240-248.

INEGI (2015). *Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido*. México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

Jakobsdottir, G., Nyman, M., & Fåk, F. (2014). Designing future prebiotic fiber to target metabolic syndrome. *Nutrition*, 30(5), 497-502.

Jarvis, M. C., Ha, M. A., & Man, J. L. (2000). A definition for Dietary Fiber. *Eur J Clin Nutr*, 54, 861-864.

Kaczmarczyk, M. M., Miller, M. J., & Freund, G. G. (2012). The health benefits of dietary fiber: beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer. *Metabolism*, 61(8), 1058-1066.

Kim, Y. I. (2000). AGA technical review: impact of dietary fiber on colon cancer occurrence. *Gastroenterology*, 118(6), 1235-1257.

Kirk, R. S., & Sawyer, R. (1996). *Composición y análisis de alimentos de Pearson* (No. 543.1 K5Y 1991).

Kovatcheva-Datchary, P., & Arora, T. (2013). Nutrition, the gut microbiome and the metabolic syndrome. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 27(1), 59-72.

Lam, David W y LeRoith, Derek. (2015) *Metabolic Syndrome*. [aut. libro] LJ Groot, P Beck Peccoz y G Chrousos. South Dartmouth : Endotext, NCBI Bookshelf

Lara Castor Laura. (2011). INULINA: Polisacárido con interesantes beneficios a la salud humana y con aplicación en la industria farmacéutica. *www.infarmate.org.mx* , 7 (27), 99-104.

Lauro, J., José, J., & Sosa, S. (2004). Calidad de vida en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med IMSS*, 42(2), 109-116.

Lecomte, V., Kaakoush, N. O., Maloney, C. A., Raipuria, M., Huinao, K. D., Mitchell, H. M., & Morris, M. J. (2015). Changes in gut microbiota in rats fed a high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters. *PloS one*, 10(5), e0126931.

Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S., & Gordon, J. I. (2006). Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444(7122), 1022.

López-Contreras, B. E., Morán-Ramos, S., Villarruel-Vázquez, R., Macías-Kauffer, L., Villamil-Ramírez, H., León-Mimila, P., ... & del Río-Navarro, B. (2018). Composition of gut microbiota in obese and normal-weight Mexican school-age children and its association with metabolic traits. *Pediatric obesity*, 13(6), 381-388.

Lorente, F. B., & Serra, D. J. (2001). Alimentos funcionales: probióticos. *Acta Pediatr Espan*, 59(3), 150-5.

Malinen, E., Rinttilä, T., Kajander, K., Mättö, J., Kassinen, A., Krogius, L., ... & Palva, A. (2005). Analysis of the fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients and healthy controls with real-time PCR. *The American journal of gastroenterology*, 100(2), 373.

Mallappa, S., & Jiao, L. R. (2011). Juxtapapillary duodenal diverticulum masquerading as a cystic pancreatic neoplasm. *JRSM short reports*, 2(11), 1-3.

Mariat, D., Firmesse, O., Levenez, F., Guimarães, V. D., Sokol, H., Doré, J., ... & Furet, J. P. (2009). The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC microbiology*, 9(1), 123.

Marques, C., Meireles, M., Norberto, S., Leite, J., Freitas, J., Pestana, D., ... & Calhau, C. (2016). High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte*, 5(1), 11-21.

Márquez-Aguirre, A. L., Camacho-Ruiz, R. M., Arriaga-Alba, M., Padilla-Camberos, E., Kirchmayr, M. R., Blasco, J. L., & González-Avila, M. (2013). Effects of Agave tequilana fructans with different degree of polymerization profiles on the body weight, blood lipids and count of fecal Lactobacilli/Bifidobacteria in obese mice. *Food & function*, 4(8), 1237-1244.

Matsuhiro, B., Lillo, L., Sáenz, C., Urzúza, C., Zárate, O. (2006). Chemical characterization of mucilage from fruits of *Opuntia ficus-indica*. *Carbohydrate polymers*, 63, 263-267.

Medina-Torres, L., Brito-De La Fuente, E., Torrestiana-Sanchez, B., & Katthain, R. (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). *Food hydrocolloids*, 14(5), 417-424.

Medina-Torres, L., Brito-De La Fuente, E., Torrestiana-Sanchez, B., & Alonso, S. (2003). Mechanical properties of gels formed by mixtures of mucilage gum (*Opuntia ficus indica*) and carrageenans. *Carbohydrate polymers*, 52(2), 143-150.

Morán-Ramos, S., Avila-Nava, A., Tovar, A. R., Pedraza-Chaverri, J., López-Romero, P., & Torres, N. (2012). *Opuntia ficus indica* (nopal) attenuates hepatic

steatosis and oxidative stress in obese Zucker (fa/fa) rats. *The Journal of nutrition*, 142(11), 1956-1963.

Morán-Ramos, S., López-Romero, P., Tovar, A. R., & Torres, N. (2012). Consumption of dehydrated *Opuntia ficus Indica* (nopal) prevents the development of fatty liver by modifying hepatic lipid metabolism in obese Zucker fa/fa rats.

Mueller, M., Čavarkapa, A., Unger, F. M., Viernstein, H., & Praznik, W. (2017). Prebiotic potential of neutral oligo-and polysaccharides from seed mucilage of *Hyptis suaveolens*. *Food chemistry*, 221, 508-514.

Nobel, P. S., & Cui, M. (1992). Prediction and measurement of gap water vapor conductance for roots located concentrically and eccentrically in air gaps. *Plant and Soil*, 145(2), 157-166.

Orchard, T.J, et al; (2005). The effect of metformin and intensive lifestyle intervention on the metabolic syndrome: the Diabetes Prevention Program randomized trial. 8, s.l.: *Annals of Internal Medicine*. 142: 611-619.

Panchal, S. K., Poudyal, H., Iyer, A., Nazer, R., Alam, A., Diwan, V., ... & Gobe, G. (2011). High-carbohydrate high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 57(1), 51-64.

Penders, J., Thijs, C., Vink, C., Stelma, F. F., Snijders, B., Kummeling, I., ... & Stobberingh, E. E. (2006). Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*, 118(2), 511-521.

Puerta-Quintero Gloria I., Ríos-Arias Sara. (2011). Composición química del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y refrigeración. *Cenicafé*, 62(2): 23-40.

Rastall, R. A., & Maitin, V. (2002). Prebiotics and synbiotics: towards the next generation. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(5), 490-496.

Rendón-Huerta, J. A., Juárez-Flores, B., Pinos-Rodríguez, J. M., Aguirre-Rivera, J. R., & Delgado-Portales, R. E. (2012). Effects of different sources of fructans on body weight, blood metabolites and fecal bacteria in normal and obese non-diabetic and diabetic rats. *Plant foods for human nutrition*, 67(1), 64-70.

Roberfroid, M. B. (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods?. *The American journal of clinical nutrition*, 71(6), 1682S-1687S.

Rodríguez, J. M., Sobrino, O. J., Marcos, A., Collado, M. C., Pérez-Martínez, G., Martínez-Cuesta, M. C., ... & Requena, T. (2013). ¿ Existe una relación entre la



microbiota intestinal, el consumo de probióticos y la modulación del peso corporal?. *Nutrición Hospitalaria*, 28, 3-12.

Rodríguez-González Sarahí, Martínez-Flores Hector E., Chávez-Moreno Carla K., Macías-Rodríguez Lourdes I., Zavala-Mendoza Eder, Garnica-Romo M.G., Chacón-García Luis. (2014). Extraction and characterization of mucilage from wild species of *Opuntia*. *Journal of Food Process Engineering*, 37, 285–292.

Saarela M., G. Mogensen, R. Fondén, J. Mättö & T. Mattila-Sandholm. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol* 84:197-215.

Sepúlveda, E., Sáenz, C., & Vallejos, M. I. (2003). Comportamiento reológico de néctar elaborado con hidrocoloide de nopal: efecto del tratamiento térmico. In *Memorias. IX Congreso Nacional y VII Congreso Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal*. Zacatecas. México (pp. 269-272).

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.

SIAP. (2014). Servicio de Información Agraria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx/>

Tremaroli, V., & Bäckhed, F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*, 489(7415), 242.

Ulloa J, Espinosa Andrews H, et al. (2010). Los fructanos y su papel en la promoción de la salud. *Revista Fuente*, 2(5): 57-60.

Versantvoort, C. H., Oomen, A. G., Van de Kamp, E., Rompelberg, C. J., & Sips, A. J. (2005). Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology*, 43(1), 31-40.

Vrieze, A., Holleman, F., Zoetendal, E. G., De Vos, W. M., Hoekstra, J. B. L., & Nieuwdorp, M. (2010). The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition. *diabetologia*, 53(4), 606-613.

Wang I-Kuan, Hsueh-Chou Lai, Cheng-Ju Yu, Chih-Chia Liang, Chiz-Tzung Chang, Huey-Liang Kuo, Ya-Fei Yang, Chung-Chih Lin, Yao-Lung Liu, Yi-Ying Wu, Chu-Huang Chen, Chi-Yuan Li, Feng-Rong Chuang, Chiu-Ching Huang, CHih-Hsueh Lin and Hung-Chih Lin. (2011). Real-Time PCR Analysis of the Intestinal Microbiotas in Peritoneal Dialysis Patients. *Applied and Environmental Microbiology*, 1107–1112

YAGI, A., Al-Madboly, L., Kabbash, A., & El-Aasr, M. (2017). Symbiotic effect of Aloe vera juice on the growth of *Lactobacillus fermentum* and *L. helveticus*

## REFERENCIAS

isolates in vitro. *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research*, 6(3), 2365-2369.

Yun, J. W. (1996). Fructooligosaccharides—occurrence, preparation, and application. *Enzyme and microbial technology*, 19(2), 107-117.

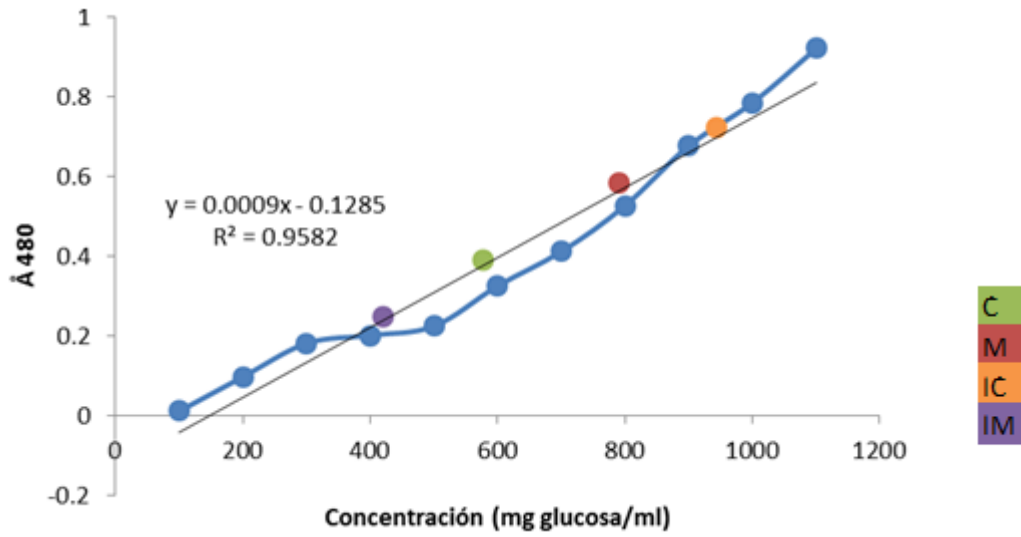
## ANEXOS

### Anexo 1. Curva de calibración para la medición de carbohidratos totales por el método fenol sulfúrico.

Para realizar la curva de calibración se prepara una solución patrón de glucosa (1g/L), la cual se adiciona a tubos de ensaye con agua destilada, en las siguientes proporciones mostradas en la Tabla 17 .

**TABLA 17 Diluciones para la preparación de curva de calibración para la determinación de carbohidratos totales**

	Agua destilada	Solución patrón Glucosa
1	10 ml	-
2	9 ml	1 ml
3	8 ml	2 ml
4	7 ml	3 ml
5	6 ml	4 ml
6	5 ml	5 ml
7	4 ml	6 ml
8	3 ml	7 ml
9	2 ml	8 ml
10	1 ml	9 ml
11	-	10 ml



**FIGURA 26** Curva de calibración para carbohidratos totales por el método de fenol-sulfúrico

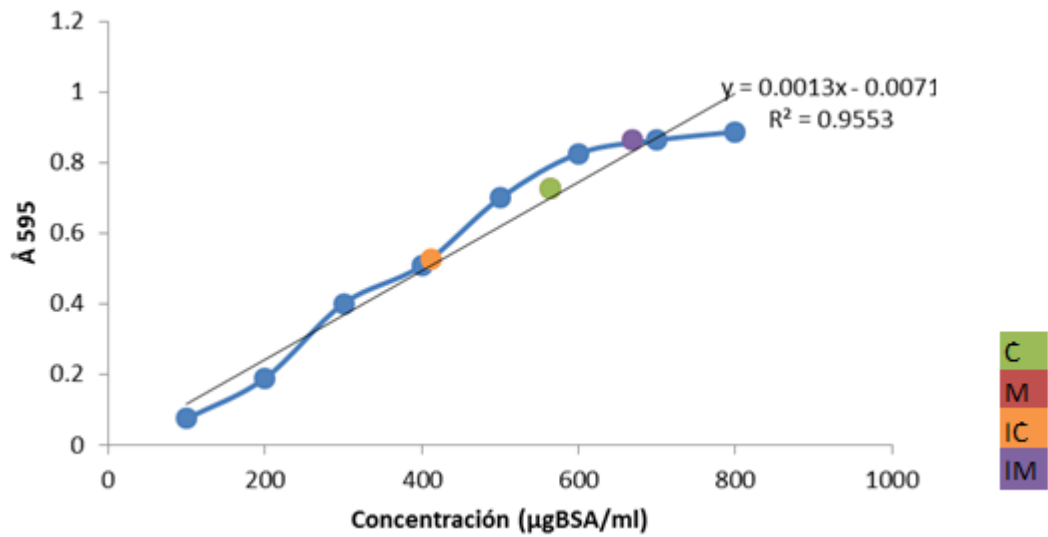
**Anexo 2. Curva de calibración para la medición de azúcares reductores por el método de DNS.**

Se realiza una curva de calibración con una solución patrón de glucosa (1g/L), la cual se adiciona a tubos de ensaye con agua destilada, en las siguientes proporciones mostradas en la Tabla 18 .

**TABLA 18 Diluciones para la preparación de curva de calibración para la determinación de azúcares reductores**

	Agua destilada	Solución patrón Glucosa
1	10 ml	-
2	9 ml	1 ml
3	8 ml	2 ml
4	7 ml	3 ml
5	6 ml	4 ml
6	5 ml	5 ml
7	4 ml	6 ml
8	3 ml	7 ml
9	2 ml	8 ml
10	1 ml	9 ml
11	-	10 ml

**FIGURA 27 Curva de calibración para azúcares reductores por el método de DNS**

**Anexo 3. Curva de calibración para la medición de proteínas por el método de Bradford****FIGURA 28 Curva de calibración proteínas por el método de Bradford**