Caracterización química y nutricional de la harina de mezquite Prosopis juliflora Prosopis granulosa para la formulación de un alimento funcional para la diabetes mellitus tipo 2



Caracterización química y nutricional de la harina de mezquite (prosopis juliflora, prosopis granulosa) para la formulación de un alimento funcional para la diabetes mellitus tipo 2

Vianey Méndez Trujillo Erick Baltazar Ibarra Fernández Daniel Gonzalez Mendoza

Marzo 2024

OmniaScience

Caracterización química y nutricional de la harina de mezquite (*prosopis juliflora*, *prosopis granulosa*) para la formulación de un alimento funcional para la diabetes mellitus tipo 2

Autores:

Vianey Méndez Trujillo, Erick Baltazar Ibarra Fernández, Daniel Gonzalez Mendoza Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Medicina, Programa de Nutrición e Instituto de Ciencias Agrícolas, México



ISBN: 978-84-126475-8-7

DOI: https://doi.org/10.3926/oms.415

© OmniaScience (Omnia Publisher SL), Terrassa, Barcelona, España, 2024

© Diseño de cubierta: OmniaScience

© Imágenes de cubierta: Autores

OmniaScience no se hace responsable de la información contenida en este libro y no aceptará ninguna responsabilidad legal por los errores u omisiones que puedan existir.

ÍNDICE

Resumen	1
Capítulo 1. Antecedentes	3
1.1. Diabetes Mellitus	3
1.1.1. Patogénesis de la Diabetes Mellitus tipo 2	4
1.1.2. Complicaciones de la Diabetes Mellitus tipo 2	5
1.2. Alimentos Funcionales	6
1.2.1. Compuestos bioactivos	7
1.2.2. Compuestos fenólicos	8
1.2.3. Los ácidos fenólicos	8
1.2.4. Flavonoides	8
1.3. Proteínas alimentarias	9
1.4. Carbohidratos alimentarios	10
Capítulo 2. Justificación	13
Capítulo 3. Planteamiento del problema	15
Capítulo 4. Objetivo general	17
Capítulo 5. Metodología	19
5.1. Obtención de la muestra	19
5.2. Determinación de la humedad	19
5.3. Tratamiento térmico	20
5.4. Determinación de compuestos bioactivos	20

	5.4.1. Extracción de compuestos bioactivos	20
	5.4.2. Determinación de compuestos fenólicos totales	20
	5.4.3. Determinación de flavonoides	20
	5.4.4. Determinación de actividad antioxidante mediante	
	reactivo DPPH·	21
5.5.	Cuantificación de proteínas mediante el método descrito	
	por Bradford	21
	5.5.1. Extracción de proteínas	21
	5.5.2. Cuantificación de proteínas	21
5.6.	Cuantificación de carbohidratos mediante el método	
	ácido-sulfúrico	22
	5.6.1. Extracción de azúcares reductores totales	22
	5.6.2. Determinación de azúcares totales mediante el método	
	ácido sulfúrico – UV	22
5.7.	Análisis estadístico	22
	ılo 6. Resultados	23
	% Humedad en harina de vaina de <i>Prosopis juliflora</i> (VPj)	23
6.2.	Compuestos bioactivos en harina de vaina de Prosopis juliflora (VPj)	
	tratada térmicamente	24
	6.2.1. Compuestos fenólicos totales (CFT)	24
	6.2.2. Flavonoides	25
6.3.	Compuestos bioactivos en harinas crudas (harina SPj, harina SPg,	
	Harina Parkinsonia spp.)	26
	6.3.1. Compuestos fenólicos totales	20
	6.3.2. Flavonoides	20
	6.3.3. % Inhibición DPPH·	27
6.4.	Propiedades nutrimentales en harinas crudas (harina VPj,	
	harina SPj, harina SPg, harina Parkinsonia spp.)	27
	6.4.1. Proteínas totales	27
	6.4.2. Azúcares Reductores Totales	28
C ''	1.7.6. 1.77	26
Capiti	ılo 7. Conclusión	29
Biblio	rra fía	31

RESUMEN

La Diabetes Mellitus (DM) comprende un grupo de trastornos metabólicos que comparten la característica clínica de hiperglucemia. Se puede clasificar según la patogenia que resulta en la hiperglucemia. En la DM tipo 2 existen grados variables de resistencia a la insulina, menor secreción de dicha hormona y una mayor producción de glucosa. Aproximadamente el 90 % de todos los casos de DM son del tipo 2. La resistencia a la insulina se considera como el defecto primario en la DM tipo 2.

Los alimentos funcionales se definen como alimentos que además de satisfacer las necesidades nutricionales básicas, existe evidencia de que contienen compuestos bioactivos, que, al ser consumidos de forma habitual como parte de dieta balanceada, son capaces de brindar beneficios fisiológicos y protección contra enfermedades crónico-degenerativas. Estos pueden ser alimentos similares en apariencia a los alimentos convencionales, o bien ser un alimento convencional.

Los compuestos bioactivos se pueden definir como metabolitos secundarios producidos por las plantas y se pueden dividir en tres grandes grupos: compuestos fenólicos (protegen contra la lesión oxidativa de la fotosíntesis), terpenoides (relacionados con la atracción de polinizadores y dispersores de semillas) y los alcaloides (inhiben a plantas circundantes). Se ha demostrado que la mayoría de los beneficios fisiológicos provienen de los compuestos fenólicos.

En la actualidad se busca el desarrollo de nuevos alimentos funcionales para aumentar el consumo de compuestos bioactivos en la población. Esto con la finalidad de prevenir la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas, para disminuir los signos y síntomas y/o para disminuir dosis de medicamentos y reducir el riesgo de efectos adversos.

2

Se obtuvieron tres muestras de harina de mezquite (harina de vaina de *Prosopis juliflora* [VPj], harina de semilla de *Prosopis juliflora* [SPj], y harina de semilla de *Prosopis granulosa* [SPg]) y una muestra de harina de *Parkinsonia spp*.

Se determinaron compuestos bioactivos en todas las muestras. Se utilizó el reactivo Folin-Ciocaulteu y el reactivo de cloruro de aluminio para las determinaciones de compuestos fenólicos totales y flavonoides, respectivamente. Para determinar la capacidad antioxidante se utilizó la metodología de inhibición del reactivo DPPH.

Para el perfil nutricional, se realizó la metodología descrita por Bradford para la determinación de proteínas. Mientras que para la determinación de azúcares reductores totales se empleó la metodología de ácido sulfúrico-UV.

La harina de VPj presentó una concentración de CFT de 17.38 mg EAG / g extracto, 27.64 mg EAG / g extracto y 27.9 mg EAG / g extracto a las 24, 48 y 72 horas, respectivamente después del tratamiento térmico a 50 °C. Mientras que el tratamiento térmico a 70 °C disminuyó la concentración aparente de CFT a las 72 horas. La harina de VPj presentó también una concentración de flavonoides de 1,579 mg EAG / g extracto, 1,508 mg EAG / g extracto y 862 mg EQ / g extracto a las 24, 48 y 72 horas, respectivamente, posterior al tratamiento térmico de 50 °C.

Se observó la presencia de compuestos fenólicos en todas las muestras de harina. La concentración de compuestos fenólicos totales fue de 5.52 mg EAG / g extracto en la harina de SPj, de 5.4 mg EAG / g extracto en la harina SPg y de 5.2 mg EAG / g extracto en la harina de *Parkinsonia spp.* Además, se observó la presencia de flavonoides en todas las muestras de harina. La concentración de flavonoides fue de 500.3 mg EQ / g extracto en la harina SPj, de 296.9 mg EQ / g extracto en harina de SPg y de 30.02 en la harina de *Parkinsonia spp.* Todas las muestras de harina presentaron un porcentaje de inhibición superior al 80 %.

También se demuestra la presencia de proteínas y de azúcares reductores en todas las muestras de harina.

Estos resultados sustentan a las especies de *Prosopis juliflora y Prosopis granulosa* como posibles fuentes de compuestos bioactivos para la posterior formulación de alimentos funcionales.

Capítulo 1

ANTECEDENTES

1.1. Diabetes Mellitus

La Diabetes Mellitus (DM) comprende un grupo de trastornos metabólicos que comparten la característica clínica de hiperglucemia. Los factores que contribuyen a la hiperglucemia pueden ser deficiencia de la secreción de insulina, disminución de la utilización de glucosa y/o aumento en la producción de esta.¹

La DM se puede clasificar con base a la patogénesis que resulta en la hiperglucemia característica. Las dos categorías amplias de la DM se designan tipo 1 y tipo 2. Ambos son antecedidos por una fase de metabolismo anormal de glucosa. La DM tipo 1 es el resultado de la destrucción de las células ß de los islotes pancreáticos, lo que provoca una deficiencia completa o casi total de insulina. La DM tipo 2 comprende diversos trastornos que se caracterizan por grados variables de resistencia a la insulina, menor secreción de dicha hormona y una mayor producción de glucosa. Aproximadamente el 90 % de todos los casos de DM son del tipo 2.

Existen otros tipos de DM que son causas de defectos genéticos específicos, trastornos pancreáticos, trastornos metabólicos o endocrinos, por fármacos o agentes químicos, infecciones, entre otros.

4 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL DE LA HARINA DE MEZQUITE (PROSOPIS JULIFLORA, PROSOPIS GRANULOSA) PARA LA FORMULACIÓN DE UN ALIMENTO FUNCIONAL PARA LA DIABETES MELLITUS TIPO 2.

La DM que se desarrolla durante el embarazo se denomina diabetes mellitus gestacional.¹

1.1.1. Patogénesis de la Diabetes Mellitus tipo 2

La DM tipo 2 se caracteriza por una alteración en la secreción, acción y sensibilidad a la insulina. Estas alteraciones afectan el metabolismo de la glucosa y de los lípidos en órganos sensibles a la insulina, como el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo, resultando en un estado de hiperglucemia e hiperlipidemia. Presenta además una fuerte asociación con la obesidad visceral (> 80 % de diabéticos presentan obesidad).¹

La resistencia a la insulina se considera como el defecto primario en la DM tipo 2. En etapas iniciales de la enfermedad, las células ß pancreáticas mantienen niveles euglucémicos aumentando la producción de insulina de forma compensatoria. Conforme progresa la enfermedad y la resistencia a la insulina se vuelve más marcada, algunas células ß pancreáticas son incapaces de aumentar aún más la producción de insulina. La incapacidad de mantener el estado hiperinsulinémico compensatorio ocasiona la intolerancia a la glucosa. La resistencia a la insulina también incrementa los niveles de glucemia al estimular la gluconeogénesis hepática. Ambos mecanismos culminan en diabetes mellitus franca con hiperglucemia. Por último, surge la insuficiencia de las células ß pancreáticas con la posterior disminución progresiva de insulina. Una característica de la DM tipo 2 es que dentro de las células ß pancreáticas se empiezan a formar depósitos de fibrillas de amilina. Se ignora si este es un fenómeno primario o secundario.¹

Clínicamente, el aumento de la gluconeogénesis por el hígado se traduce a hiperglucemia en ayuno, mientras que la menor utilización periférica de glucosa por los tejidos sensibles a la insulina se traduce en hiperglucemia postprandial.

No todas las vías de señalización de la insulina están afectadas por la resistencia a la insulina, como las vías que controlan el crecimiento y la diferenciación celular. Como consecuencia, el hiperinsulinismo compensatorio puede incrementar la acción de la insulina a través de estas vías, lo que aceleraría en potencia los trastornos relacionados con la DM, como la ateroesclerosis.¹

Otro resultado de la resistencia a la insulina es que aumenta la lipólisis y el flujo de ácidos grasos libres desde los adipocitos. Esto conlleva un incremento en la síntesis hepática de lípidos como triglicéridos y VLDL. Este incremento en la síntesis de lípidos puede provocar desde anomalías en las pruebas de función hepática, dislipidemia o hasta una esteatosis hepática no alcohólica.¹

La asociación entre la obesidad visceral y la DM tipo 2 está relacionada con la masa de adipocitos metabólicamente activos. Estas células liberan ácidos grasos no esterificados, TNF-α, proteína 4, leptina, resistina y adiponectina. El aumento en el volumen de adipocitos provoca una mayor producción de ácidos grasos libres no esterificados, los cuales disminuyen la utilización de glucosa por parte del músculo esquelético, estimulan la gluconeogénesis hepática y alteran la función de las células β. En la obesidad también se observa una disminución en la producción de adiponectinas, que son péptidos insulinosensibilizantes. Además, algunas adipocinas pueden generar un estado inflamatorio, lo que pudiera explicar el aumento en los niveles de marcadores inflamatorios como IL-6 y Proteína C reactiva, que se observa en estos pacientes.¹

1.1.2. Complicaciones de la Diabetes Mellitus tipo 2

Las complicaciones se pueden dividir en agudas y crónicas. Las complicaciones agudas abarcan la cetoacidosis diabética y el estado hiperosmolar hiperglucémico. Las complicaciones crónicas se pueden dividir a su vez en vasculares y no vasculares. Las vasculares se dividen en complicaciones microangiopáticas (que abarca la retinopatía, neuropatía y la nefropatía) y macroangiopáticas (que abarca coronariopatía, enfermedad vascular periférica y enfermedad cerebral vascular). Las complicaciones no vasculares incluyen procesos infecciosos, gastroparesia, y afecciones de la piel.¹

Existe evidencia basada en estudios clínicos que demuestran que la reducción de la hiperglucemia crónica puede reducir o evitar las complicaciones microangiopáticas. Sin embargo, no se ha observado que esta intervención disminuya de forma significativa el riesgo de complicaciones macroangiopáticas.¹

Se han propuesto cuatro teorías principales no mutualmente excluyentes para explicar la relación causal entre la hiperglucemia crónica con las complicaciones crónicas de la DM.¹

La primera teoría propone que el aumento en la concentración de glucosa intracelular da por resultado productos avanzados terminales de la glucosilación por una vía de glucosilación no enzimática de proteínas intracelulares y extracelulares. Se ha demostrado que estos productos forman enlaces cruzados entre proteínas, aceleran la ateroesclerosis, promueven disfunción glomerular, reducen síntesis de óxido nítrico e inducen disfunción endotelial.

Una segunda teoría sugiere que la hiperglucemia estimula el metabolismo de glucosa hacia la vía del sorbitol por la enzima aldolasa reductasa. El aumento en las concentraciones de sorbitol altera el potencial oxidorreductor de la célula, incrementa la osmolalidad celular y genera especies reactivas de oxígeno.

La tercera teoría plantea que la hiperglucemia incrementa la formación de diacilglicerol, lo que da por resultado activación de la proteína cinasa C. Esta enzima modifica la transcripción de los genes de fibronectina, del colágeno tipo IV, de las proteínas contráctiles y las proteínas de la matriz extracelular de las células endoteliales y neuronales, entre otras vías de señalización.

La cuarta teoría explica la posibilidad de que la hiperglucemia aumente el metabolismo de la glucosa hacia la vía de la hexosamina con generación de glucosa 6 fosfato, sustrato para la glucosilación ligada a oxígeno y la producción de proteoglucanos.

Un posible mecanismo unificador consiste en que la hiperglucemia propicia la producción de especies reactivas de oxígeno o superóxido en las mitocondrias. Dichos compuestos pueden activar todas las vías anteriormente mencionadas en las mitocondrias.¹

Aunque la hiperglucemia sea un factor desencadenante común de las complicaciones de la DM, aún no se sabe si los procesos fisiopatológicos sean los mismos en todas las complicaciones de la DM o si solamente predominan algunas vías de señalización en ciertos órganos.¹

1.2. Alimentos Funcionales

Los alimentos funcionales se definen como alimentos que además de satisfacer las necesidades nutricionales básicas, existe evidencia de que contienen compuestos bioactivos, que, al ser consumidos de forma habitual como parte de dieta balanceada, son capaces de brindar beneficios fisiológicos y protección contra enfermedades crónico-degenerativas. Estos pueden ser alimentos similares en apariencia a los alimentos convencionales, o bien ser un alimento convencional.²⁻⁵

Los alimentos funcionales pueden contener ciertos fitoquímicos (compuestos bioactivos) tales como polifenoles, terpenoides, flavonoides, alcaloides, esteroles, pigmentos y ácidos grasos poliinsaturados que presentan un papel importante en la homeostasis del organismo y contribuyen a la prevención de enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, la depresión, la diabetes mellitus tipo 2, la obesidad, el asma o como el deterioro cognitivo.²⁻⁵

Los efectos benéficos específicamente asociados a la DMT2 de los alimentos funcionales son su capacidad antioxidante, su capacidad hipolipemiante e hipoglucemiante, su capacidad de inhibición enzimática de α -glucosidasa, α -amilasa y disacaridasas y su capacidad para incrementar la sensibilidad a la insulina. Todos estos efectos son considerados como parte integral del manejo y prevención de esta enfermedad.²⁻⁵

1.2.1. Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos se pueden definir como metabolitos secundarios producidos por microorganismos y por las plantas. A diferencia de los metabolitos primarios (carbohidratos, proteínas, lípidos y aminoácidos) que intervienen directamente en el desarrollo y en el crecimiento de la planta, los metabolitos secundarios participan en los mecanismos de supervivencia.

Los metabolitos secundarios de las plantas se pueden dividir en tres grandes grupos: compuestos fenólicos (protegen contra la lesión oxidativa de la fotosíntesis), terpenoides (relacionados con la atracción de polinizadores y dispersores de semillas) y los alcaloides (inhiben a plantas circundantes). Se ha demostrado que la mayoría de los beneficios fisiológicos provienen de los compuestos fenólicos.⁴

8

1.2.2. Compuestos fenólicos

Estructuralmente, los compuestos fenólicos presentan uno o más anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilo. Se pueden clasificar según el número de anillos fenólicos en su estructura en ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos, cada uno teniendo un beneficio a la salud potencial. Se encuentran en cantidades significativas en frutas, vegetales, cereales, legumbres y en algunas bebidas.

En la fisiología vegetal, los compuestos fenólicos protegen a la planta de patógenos, parásitos, predadores, radiación UV y contribuyen a su color. Al ser consumidos, los compuestos fenólicos presentan actividad antioxidante con una gran capacidad de neutralizar radicales libres gracias a la estructura de sus anillos.⁴

1.2.3. Los ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos son compuestos fenólicos que presentan ácidos carboxílicos en su estructura. Están ampliamente distribuidos en las plantas y representan aproximadamente un tercio de los compuestos polifenólicos. En la fisiología vegetal, se considera que están involucrados en la absorción de nutrientes, en la síntesis de proteínas, en la actividad enzimática celular y en la fotosíntesis; y su concentración varía según la planta, según la parte de la planta y según los niveles de maduración o de estrés, como con la temperatura. Como ingredientes de alimentos mejoran la calidad de la comida al mejorar el sabor, el color y las propiedades nutricionales y antioxidantes. Los ácidos fenólicos más comunes son el ácido gálico, ácido clorogénico, ácido caféico, ácido p-coumárico, ácido vanílico, ácido ferúlico y el ácido protocatecuico.

1.2.4. Flavonoides

Los flavonoides representan uno de los grupos más grandes de los compuestos fenólicos. Son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas a partir de la vía de los fenilpropanoides. Estructuralmente, los flavonoides presentan el esqueleto básico polifenólico de C6-C3-C6, que consiste en dos anillos aromáticos

C6 (A y B) y un anillo heterocíclico (C) que contiene un átomo de oxígeno. Se han descrito más de 6,000 flavonoides, la mayoría provenientes de plantas.⁵

Los flavonoides presentan propiedades biológicas que los hacen útiles en el manejo de la DM tipo 2, especialmente en la prevención o atenuación de las complicaciones microvasculares como la neuropatía periférica, la retinopatía y la nefropatía.

Con base a los resultados obtenidos de modelos animales y celulares, los flavonoides presentan gran actividad antioxidante, además de tener la capacidad de modular enzimas como la DPP-4 o la α-glucosidasa. Otros efectos antidiabéticos de los flavonoides se dan por la interacción con los receptores del estrógeno. La habilidad para la isoflavona de unirse selectivamente a los receptores α (modulador del metabolismo de glucosa y de lípidos) y ß del estrógeno, asegura la supervivencia de la célula ß pancreática y la regulación de la síntesis de la insulina con su posterior secreción. La rutina es otro flavonoide que tiene el potencial de reducir la absorción de carbohidratos por el intestino delgado, de inhibir la gluconeogénesis, de mejorar la utilización de glucosa periférica, de estimular la secreción de insulina por células ß pancreáticas y de disminuir la producción de citocinas inflamatorias, sorbitol, especies reactivas de oxígeno y de productos avanzados terminales de la glucosilación.⁴

1.3. Proteínas alimentarias

Las proteínas son macromoléculas que desempeñan el mayor número de funciones celulares en los seres vivos. Forman parte de la estructura básica de tejidos como músculos, tendones, uñas o de la piel durante todos los procesos de crecimiento y desarrollo. Además, presentan funciones metabólicas como las enzimas, las hormonas peptídicas o los anticuerpos. También intervienen en la asimilación de nutrientes, trasporte de oxígeno y de lípidos, eliminación de toxinas, regulación de vitaminas liposolubles y de minerales, entre otras funciones.⁶

Se pueden clasificar de forma general en dos grandes grupos, las proteínas globulares y las fibrosas. Las proteínas globulares son de forma esférica y presentan hélices alfa en su composición secundaria, además de estructuras no repetitivas como asas y giros, y son solubles en agua. Las proteínas fibrosas son de forma alargada y su estructura está conformada por una repetición de elementos de estructura secundaria, como hélices y hebras, las cuales le confieren la forma de fibras cilíndricas observables al microscopio. Son de baja solubilidad en agua.⁶

Las proteínas están conformadas por una larga cadena lineal de aminoácidos. Estos se encuentran formados por un grupo amino (NH₂) y un grupo carboxilo (COOH), enlazados al mismo carbono de la molécula. Los aminoácidos se encuentran unidos entre sí por un enlace peptídico entre el grupo amino de un aminoácido con el grupo carboxilo de otro aminoácido. Existen 20 aminoácidos distintos codificados por el material genético de los organismos, los cuales se pueden combinar en cualquier orden y repetirse de cualquier manera para formar estas macromoléculas conocidas como las proteínas.⁷

Las proteínas alimentarias se pueden clasificar como "completas" o "incompletas" según su contenido en aminoácidos. Las proteínas completas son aquellas proteínas alimentarias que contienen los nueve aminoácidos indispensables en concentraciones suficientes para cubrir los requerimientos de los seres humanos. Las proteínas incompletas son proteínas alimentarias deficientes en uno o más aminoácidos de los nueve aminoácidos esenciales que deben ser proporcionados por los alimentos.⁶⁻⁷

Dos o más proteínas incompletas pueden ser combinadas de tal forma que la deficiencia de uno o más aminoácidos esenciales puede ser compensada por otra proteína y a la inversa. Cuando se combinan, estas proteínas complementarias proporcionan todos los aminoácidos esenciales necesarios para el cuerpo humano.⁶

1.4. Carbohidratos alimentarios

Los carbohidratos son un amplio grupo de compuestos cuya característica química común es que se trata de polihidroxialdehídos, cetonas, alcoholes o ácidos, simples o polimerizados por uniones O-glucosídicas. Según el grado de polimerización se pueden catalogar en mono y disacáridos (azúcares), oligosacáridos y polisacáridos. El término azúcares se suele emplear para identificar los cabohidratos monoméricos o monosacáridos y los diméricos o disacáridos. Los carbohidratos complejos o polímeros, a su vez, se subdividen en función del número

de residuos. Aquellos que contienen entre tres a nueve reciben la denominación de oligosacáridos y si tienen una mayor cantidad de monómeros unidos (>9) se denominan polisacáridos.⁸

Los carbohidratos han sido la principal fuente energética de la alimentación en los humanos. Su importancia radica en su valor energético, su poder edulcorante y su contenido en fibra. La cantidad mínima requerida por el organismo para suplir las necesidades de las células nerviosas, los glóbulos rojos y la médula ósea, es de aproximadamente 180 gramos diarios, de los cuales el organismo puede sintetizar 130 gramos por día, por lo que los restantes 50 gramos deben ser suministrados en la dieta. Se recomienda que entre el 50 y el 60 % de las calorías totales de la dieta provengan de la oxidación de los carbohidratos, sin embargo, este porcentaje varía ampliamente entre diferentes poblaciones, según sus patrones de alimentación. Existen diferentes estudios advirtiendo la posible asociación entre un elevado consumo de "azúcares" y un mayor riesgo de padecer obesidad, diabetes y enfermedad cardiovascular, aunque los resultados no son concluyentes.⁸⁻⁹

CAPÍTULO 2

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad se busca el desarrollo de nuevos alimentos funcionales para aumentar el consumo de compuestos bioactivos en la población. Esto con la finalidad de prevenir la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas, para disminuir los signos y síntomas y/o para disminuir dosis de medicamentos y reducir el riesgo de efectos adversos.

Evidencia basada en modelos experimentales de DM han demostrado que una gran variedad de plantas presenta efectos hipoglucemiantes o presentan algún potencial antidiabético. La mayoría de estas plantas pertenecen a las familias *Araliaceae*, *Asteraceae*, *Cucurbitaceae*, *Lamiaceae*, *Leguminoseae*, *Liliaceae*, *Moraceae* y *Rosaceae*.

La familia Leguminoseae abarca diversos géneros de plantas, uno de los cuales es el género *Prosopis spp.* uno de los géneros de plantas más populares dentro de la medicina tradicional alrededor del mundo. El género *Prosopis spp.* (comúnmente conocido como "mezquite") se distribuye alrededor de las regiones desérticas de América (40 especies), Asia (3 especies) y África (1 especie). Es considerada una planta resistente a la sequía y de crecimiento rápido.

A este grupo de plantas se les atribuye actividades antibacterianas, antivirales, antifúngicas, antiparasitaria, antimalárica, antioxidante, antiinflamatoria, antihipertensiva, antidiabética, antitumoral, entre otras, por lo cual se ha utilizado en

14 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL DE LA HARINA DE MEZQUITE (PROSOPIS JULIFLORA, PROSOPIS GRANULOSA) PARA LA FORMULACIÓN DE UN ALIMENTO FUNCIONAL PARA LA DIABETES MELLITUS TIPO 2.

la medicina tradicional para el tratamiento del asma, dolor de parto, conjuntivitis, diabetes, diarrea, expectoraciones, fiebre, resfriado común, infección hepática, otitis, malaria, pediculosis, reumatismo, escabiosis, eritemas, espasmo muscular, dolor abdominal, leucorrea, litos pancreáticos, litos renales, entre otras aplicaciones.

Las especies con mayor evidencia científica de efectos antioxidantes, antimicrobianos, analgésicos, anticancerígenos, antiplasmódicos y cardioprotectores tanto in vitro como in vivo son *P. cineraria, P. juliflora, P. farcta* y *P. granulosa.* Mientras que las especies *P. laevigata, P. flexuosa, P. alba, P. nigra, P. kuntzei, P. ruscifolia* y *P. africana* han sido menos estudiadas y solo han demostrado efectos antioxidantes y antimicrobianos in vitro. Estos efectos se correlacionan con sus componentes bioactivos, tales como flavonoides, taninos, alcaloides, quinonas, antraquinonas, terpenos, triterpenoides y compuestos fenólicos

Específicamente, la especie de *Prosopis juliflora* se distribuye alrededor de los estados Baja California, Baja California Sur, Coahuila, Chihuahua, Guerrero, Michoacán, San Luis Potosí, Sonora y Yucatán. Además, se han aislado compuestos bioactivos de esta especie tales alcaloides (juliflorina, julifloricina, julifloridina, juliprosina, juliprosinene, juliflorinine, 3'-oxojuliprosopine, sceojuliprosopino, 3'-oxojuliprosine y 3'-oxojuliprosine), flavonoides, taninas, compuestos fenólicos y saponinas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La adherencia al consumo de alimentos funcionales como frutas, vegetales, cereales, especias y leguminosas se asocia a una menor incidencia de DM tipo 2, independiente de los cambios en el IMC. Sin embargo, el consumo de estos grupos de alimentos en México está por debajo del 50 % en todo el país, según la ENSANUT 2018-19. En la misma encuesta se reporta un aumento en la incidencia de DM tipo 2, de dislipidemia y de hipertensión arterial sistémica tanto en hombres como mujeres. Se estima que para el año 2025, México se encuentre entre los primeros siete países con mayor incidencia de esta compleja enfermedad.

El incremento en la incidencia y prevalencia de DM tipo 2 representa una alta demanda de servicios médicos que representan una fuerte carga económica para las instituciones de salud de México. De tal forma que la diabetes es un problema de salud que requiere ser manejado desde una perspectiva integral, ya que los esfuerzos desarrollados y recursos económicos asignados para su prevención y tratamiento no han impactado de manera favorable a la calidad de vida de las poblaciones del País.

Diversos estudios clínicos han demostrado el potencial que tienen las intervenciones dietéticas para la prevención y el manejo de la DM tipo 2. Estas intervenciones están relacionadas con el consumo de alimentos funcionales, lo cual se relaciona clínicamente con un mejor estado metabólico tanto en pacientes con

prediabetes y DM tipo 2. Se observa una reducción del 0.3-0.47 % de la hemoglobina glucosilada A1c comparado con pacientes con dietas control. También se observa una reducción del uso de medicamentos hipolipemiantes comparado con pacientes en dietas baja en grasa.

Por lo anterior, se propone a la especie Prosopis juliflora como una buena fuente de compuestos bioactivos para la elaboración de un alimento funcional que tenga propiedades fisiológicas que puedan usarse para el tratamiento coadyuvante de la DM tipo 2.

OBJETIVO GENERAL

Describir las propiedades químicas y nutrimentales de harinas crudas y térmicamente tratadas de vaina de mezquite (*Prosopis juliflora*), semilla de mezquite (*Prosopis juliflora*, *Prosopis granulosa*)

METODOLOGÍA

5.1. Obtención de la muestra

Se obtuvieron tres muestras de harina de mezquite y una muestra de harina de palo verde. Todas las muestras se obtuvieron por parte del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California. La primera muestra fue una harina de vaina de *Prosopis juliflora* (VPj). La segunda muestra fue una harina de semilla de *Prosopis juliflora* (SPj). La tercera muestra fue una harina de semilla de *Parkinsonia spp.*

5.2. Determinación de la humedad

Se realizó mediante el desecado por estufa descrito por Alma Rosa del Angel. ¹⁶ Se tomó el peso de una charola de aluminio previamente desecada por 1 hora a 130 ± 3 °C y enfriada en desecador. Posteriormente, se agregaron 2 gramos de harina de vaina mezquite (VPj), la cual se sometió a una temperatura de 130 ± 3 °C por una hora en un horno de laboratorio "Grieve" modelo LW-201 C, con la charola de aluminio semitapada. Después se tapó completamente la charola y se dejó enfriar en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente. Una vez enfriada, se pesó en balanza analítica y la pérdida de peso se reportó como % de humedad y el residuo de harina como sólidos totales.

5.3. Tratamiento térmico

La harina de vaina de *Prosopis juliflora* (VPj) se sometió a un tratamiento térmico de 50 °C y 70 °C en un horno de laboratorio "Grieve" modelo LW-201 C por 24, 48 y 72 horas. Se determinaron los compuestos bioactivos cada 24 horas.

5.4. Determinación de compuestos bioactivos

5.4.1. Extracción de compuestos bioactivos

Según el método de extracción descrito por Feng 2017¹⁷ y Sultana 2009.¹⁸ A 1 gramo de la muestra de harina de mezquite, se le añadieron 10 mL de metanol al 80 % (p/v). La mezcla se morterizó por 5 minutos a temperatura ambiente en ausencia de luz. Alícuotas de la mezcla se centrifugaron por 10 minutos a 5000 rpm. Se tomó el sobrenadante y se almacenó tubos de falcon en ausencia de luz a temperatura ambiente para la realización de las siguientes reacciones.

5.4.2. Determinación de compuestos fenólicos totales

Se realizó según el protocolo realizado por Ramírez-Rojo; et al. 19 A 1.6 mL de agua destilada, se le añadieron 200 μL del extracto metanólico de la harina de mezquite (1 g muestra / 10 mL metanol 80 % p/v). Después se agregaron 800 µL de reactivo Folin-Ciocalteu (0.25 N). Posteriormente, se añadió 1.2 mL de Na₂CO₃ al 7 % (p/v). La mezcla se dejó incubar por 1 hora a temperatura ambiente en ausencia de luz. La absorbancia se midió mediante espectrofotometría a 750 nm, según la curva de concentración de ácido gálico. El blanco se realizó sustituyendo el volumen de la muestra por metanol al 80 % (p/v).

5.4.3. Determinación de flavonoides

Se realizó según el ensayo descrito por Pękal y Pyrzynska²⁰ Se tomaron 500 μL del extracto metanólico de harina de mezquite (1 g muestra / 10 mL metanol 80 % p/v) y se agregó 250 μ L de AlCl, al 2 % (p/v). A continuación, se agregaron 250 µL de agua destilada. La muestra se agitó y se dejó incubar por 10 minutos a temperatura ambiente en ausencia de luz. La absorbancia se midió mediante espectrofotometría a 425 nm, según la curva de concentración de quercetina. El blanco se preparó sustituyendo el mismo volumen de 250 µL de AlCl₃ por agua destilada.

5.4.4. Determinación de actividad antioxidante mediante reactivo DPPH·

Se realizó según el protocolo realizado por Ramírez-Rojo; et al. ¹⁹ Se tomaron 200 μ L del extracto metanólico de harina de mezquite (1 g muestra / 10 mL metanol 80 % p/v) y se homogenizaron con 200 μ L de reactivo DPPH· (300 μ mol). La mezcla se dejó incubar por 30 minutos a temperatura ambiente, en ausencia de luz. Los resultados fueron expresados en porcentaje de inhibición.

5.5. Cuantificación de proteínas mediante el método descrito por Bradford

5.5.1. Extracción de proteínas

Se realizó según el protocolo descrito por Rosa et al.²¹ A 0.5 gramos de muestra de harina de mezquite se le añadieron 5 mL de buffer fosfato de extracción a 1 00 mM, pH 6.5. La mezcla se morterizó en frío por 5 minutos y posteriormente se centrifugó en tubos Eppendorf a 4 °C por 5 minutos a 17 G. Se tomó el sobrenadante y se almacenó en hielo para su posterior uso.

5.5.2. Cuantificación de proteínas

Se realizó según el protocolo descrito por Bradford. ²² Se tomaron 100 µL del extracto muestra de harina de mezquite y se le añadió 1 mL del reactivo Bradford. La mezcla se incubó por 30 minutos a 37 °C. La absorbancia se midió por espectrofotometría a 595 nm. La concentración de proteínas se calculó según la curva estándar de concentración de la proteína Gammaglobulina Bovina. Para el blanco se utilizó el buffer fosfato de extracción (0 µg/mL)

5.6. Cuantificación de carbohidratos mediante el método ácido-sulfúrico

5.6.1. Extracción de azúcares reductores totales

Se realizó mediante hidrólisis química-física, según el protocolo descrito por Chauca-Espinoza, et al. 23 Un gramo de muestra de harina de mezquite se mezcló con 10 mL de H_2SO_4 a 1.25 % v/v dentro de un sistema de autoclave a $120 \,^{\circ}\text{C}$, $15 \,^{\circ}\text{atm.}$ por $30 \,^{\circ}\text{minutos}$. Alícuotas de la mezcla se centrifugaron a $10 \times 1000 \,^{\circ}\text{rpm}$ por $5 \,^{\circ}\text{minutos}$. El sobrenadante se almacenó para las tomas posteriores.

5.6.2. Determinación de azúcares totales mediante el método ácido sulfúrico – UV

Se realizó según el protocolo descrito por Lopez-Legarda, et al.²⁴ Se tomó 0.3 mL de la solución de extracción de azúcares y se le agregó 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. La solución se enfrió en baño de hielo durante 2 minutos. Posteriormente se realizó la medición de la absorbancia mediante espectrofotometría UV a 315 nm. El blanco se preparó utilizando H₂SO₄ a 1.25 % v/v.

5.7 Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Los resultados se muestran como el promedio con su desviación estándar (DS).

Se utilizó el programa Graphpad Prism 9 para realizar el análisis de datos. Se empleó la prueba T para la comparación del tratamiento térmico y la estadística descriptiva para las demás variables.

RESULTADOS

6.1. % Humedad en harina de vaina de Prosopis juliflora (VPj)

Se obtuvo el porcentaje de humedad según la fórmula:

$$\%$$
 Humedad = $(A - B) \times 100 / C$

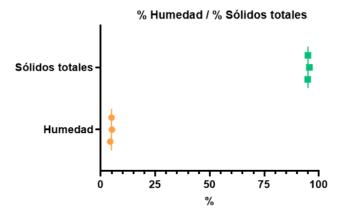


Figura 1. Porcentaje de humedad y de sólidos totales en la harina de vaina de Prosopis juliflora (VPj).

En donde la letra A representa el peso en g de la charola de aluminio más el peso de la muestra fresca, la letra B representa el peso en g de la charola de aluminio junto con la muestra deshidratada y la letra C representa el peso de la muestra fresca en g.

La Harina de Vaina de Prosopis juliflora (VPj) presenta un porcentaje de humedad del 4.8 % y un porcentaje de sólidos totales del 95.2 % (Figura 1).

6.2. Compuestos bioactivos en harina de vaina de Prosopis juliflora (VPj) tratada térmicamente

6.2.1. Compuestos fenólicos totales (CFT)

La harina de vaina de *Prosopis juliflora* (VPj) presentó un aumento aparente en las concentraciones de compuestos fenólicos totales después del tratamiento térmico a 50 °C. A esta temperatura, presentó una concentración de CFT de 17.38 mg EAG / g extracto, 27.64 mg EAG / g extracto y 27.9 mg EAG / g extracto a las 24, 48 y 72 horas, respectivamente. Mientras que el tratamiento térmico a 70 °C disminuyó la concentración aparente de CFT. A esta temperatura, presentó a las 24, 48 y 72 horas una concentración de 19.86 mg EAG / g extracto, 18.88 mg

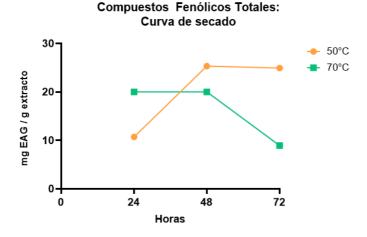


Figura 2. Concentración de compuestos fenólicos totales en harina de vaina de Prosopis juliflora (VPj) tratada térmicamente.

EAG / g extracto y 11.63 mg EAG / g extracto, respectivamente. (Figura 2). Se encontró una diferencia significativa (p=0.035) entre la concentración de CFT tratada a 50 °C en comparación con la que recibió el tratamiento a 70 °C.

6.2.2. Flavonoides

La harina de vaina de *Prosopis juliflora* (VPj) tratada térmicamente a 50 °C presentó una concentración de flavonoides de 1,579 mg EQ / g extracto, 1,508 mg EQ / g extracto y 862 mg EQ / g extracto a las 24, 48 y 72 horas, respectivamente. Mientras que la harina VPj tratada a 70 °C presentó a las 24, 48 y 72 horas una concentración de 1,393 mg EQ / g extracto, 1,521 mg EQ / g extracto y 513 mg EQ / g extracto, respectivamente. En el tratamiento térmico a 70 °C se observó un incremento aparente en la concentración de flavonoides a las 48 horas junto con un decremento en la concentración a las 72 horas. Mientras que con en el tratamiento térmico a 50 °C se observa un decremento ligero a las 48 horas y una disminución mayor a las 72 horas. (Figura 3). Se observó mayor concentración de flavonoides en el tratamiento térmico de 70 °C, sin embargo, esta diferencia no fue significativa (p= 0.47).

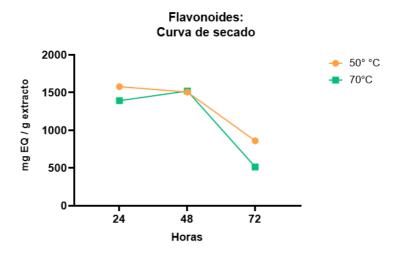


Figura 3. Concentración de flavonoides en en harina de vaina de Prosopis juliflora (VPj) tratada térmicamente.

26

6.3. Compuestos bioactivos en harinas crudas (harina SPj, harina SPg, Harina *Parkinsonia spp.*)

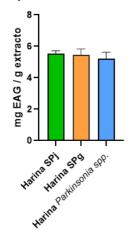
6.3.1. Compuestos fenólicos totales

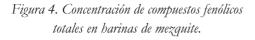
Se observó la presencia de compuestos fenólicos en todas las muestras de harina. La concentración de compuestos fenólicos totales fue de 5.52 mg EAG / g extracto en la harina de SPj, de 5.4 mg EAG / g extracto en la harina SPg y de 5.2 mg EAG / g extracto en la harina de *Parkinsonia spp.* (Figura 4).

6.3.2. Flavonoides

Se observó la presencia de flavonoides en todas las muestras de harina. La concentración de flavonoides fue de 500.3 (DS 86.89) mg EQ / g extracto en la harina SPj, de 296.9 (DS 25.52) mg EQ / g extracto en harina de SPg y de 30.02 (DS 3.89) en la harina de *Parkinsonia spp.* (Figura 5).

Compuestos Fenólicos Totales





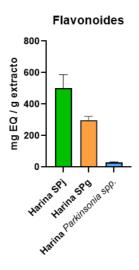


Figura 5. Concentración flavonoides en harinas de mezquite.

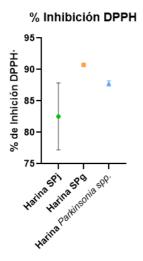
6.3.3. % Inhibición DPPH.

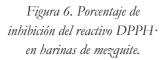
Se observó un porcentaje de inhibición del reactivo DPPH superior al 80 % en todas las muestras. La harina de SPj presentó una inhibición del 85.53 %, la harina de SPg presentó una inhibición del 90.73 % y la harina de *Parkinsonia spp.* presentó una inhibición del 87.77 %. (Figura 6).

6.4. Propiedades nutrimentales en harinas crudas (harina VPj, harina SPj, harina SPg, harina *Parkinsonia spp.*)

6.4.1. Proteínas totales

La harina de VPj presentó una concentración de 3.97 mg proteína / g extracto mientras que la harina de SPj presentó una concentración de 4.95 mg proteína / g extracto. La harina de SPg arrojó una concentración de 4.14 mg proteína / g extracto. Y, por último, la harina de *Parkinsonia spp.* presentó una concentración de 3.95 mg proteína / g extracto. (Figura 7).





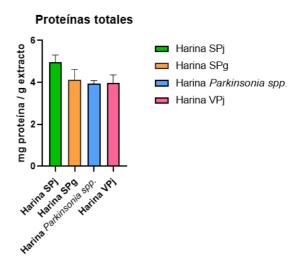


Figura 7. Concentración de proteínas totales en harinas de mezquite.

6.4.2. Azúcares Reductores Totales

La harina de VPj presentó una concentración de 110.9 mg ART / g extracto mientras que la harina de SPj presentó una concentración de azúcares reductores de 50.91 mg ART / g extracto. La harina de SPg arrojó una concentración de 99.77 mg ART / g extracto. Por último, la harina de *Parkinsonia spp.* presentó una concentración de 84.27 mg ART / g extracto. (Figura 8).

Azúcares Reductores Totales

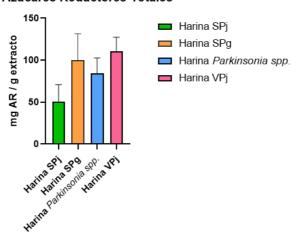


Figura 8. Concentración de azúcares reductores totales en harinas de mezquite.

Capítulo 7

CONCLUSIÓN

Con base a los resultados de las curvas de secado de la harina de VPj, el tratamiento térmico a 50 °C por 48 horas incrementa aparentemente la concentración de compuestos fenólicos totales mientras que no modifica de forma significativa la concentración de flavonoides, por lo que este tratamiento se consideró como el óptimo para la obtención de un producto deshidratado con sus propiedades funcionales conservadas.

Todos los resultados anteriores sustentan a las especies de *Prosopis juliflora y Pro*sopis granulosa como posibles fuentes de compuestos bioactivos para la posterior formulación de alimentos funcionales. También se demuestra la presencia de proteínas y de azúcares reductores en todas las muestras de harina.

Se requieren de estudios adicionales para la determinación de otros compuestos bioactivos que pudieran estar presentes en las harinas de *Prosopis spp* además de otros compuestos nutrimentales también presentes en estas harinas.

Estos resultados asientan las bases para la posterior formulación de un alimento funcional que pueda ser evaluado en ensayos clínicos en modelos con DM tipo 2.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Jameson, J. (2018). *Harrison's principles of internal medicine*. 18th ed. New York, NY: McGraw-Hill Education, pp. 2968-3002.
- 2. Alkhatib, A.; Tsang, C.; Tiss, A.; Bahorun, T.; Arefanian, H.; Barake, R.; et al. (2017). Functional Foods and Lifestyle Approaches for Diabetes Prevention and Management. *Nutrients*, 9, 1310, 1-18.
- 3. Rudkowska, I.; & Jones, P.J.H. (2007). Functional foods for the prevention and treatment of cardiovascular diseases: cholesterol and beyond. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.*, 5(3), 477-490.
- 4. Anaolapo, A.; & Anaolapo, O. (2020). Nutraceuticals and Diet-based Phytochemicals in Type 2 Diabetes Mellitus: From whole Food to Components with Defined Roles and Mechanism. *Current Diabetes Reviews*, 16(1), 12-25.
- Adefegha, S.A. (2018). Functional Foods and Nutraceuticals as Dietary Intervention in Chronic Diseases; Novel Perspectives for Health Promotion and Disease Prevention. *Journal of Dietary Supplements*, 15(6), 977-1009.
- González Torres, L.; Téllez-Valencia, A.; Sampedro, J.; & Nájera, H. (2007).
 Las proteínas en la Nutrición. RESPYN., 8(2).
- Martínez, O.; & Martínez de Victoria, E. (2006). Proteínas y péptidos en nutrición enteral. Nutr. Hosp., 21(2), 1-14.
- 8. Luna, V.; López, J.; Vázquez, M.; & Fernández, M. (2014). Revisión Hidratos de Carbono: actualización en su papel en la diabetes mellitus y la enfermedad metabólica. *Nutr Hosp.*, 30(5), 1020-1031.

- 32 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL DE LA HARINA DE MEZQUITE (PROSOPIS JULIFLORA, PROSOPIS GRANULOSA) PARA LA FORMULACIÓN DE UN ALIMENTO FUNCIONAL PARA LA DIABETES MELLITUS TIPO 2.
- 9. Esquivel Solís, V. (2005). Dietas modificadas en carbohidratos: implicaciones fisiológicas. *Rev. Costarric. Salud Pública*, 14(26), 1-5.
- 10. del Ángel, A.R. (2013). Principios Básicos de Bromatología para Estudiantes de Nutrición. Palibrio.
- 11. Feng, W.; Hao, Z.; & Li, M. (2017). Isolation and structure identification of flavonoids. From book: *Flavonoids: From biosynthesis to human health*. Ago 23 2017.
- 12. Sultana. B,; Anwar, F.; & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14, 2167e80.
- 13. Ramírez-Rojo, M.; Vargas-Sánchez, R.D.; Hernández-Martínez, J.; Martínez-Benavidez, E.; Sánchez-Escalante, J.J.; Torrescano-Urrutia, G.R. et al. (2019). Actividad antioxidante de extractos de hoja de mezquite (*Prosopis velutina*). *Biotecnia*, XXI (1);113-119.
- 14. Pękal, A.; & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Anal. Methods*, 7, 1776-1782.
- 15. Rosa, G.P.; Barreto, M.C.; Pinto, D.; & Seca, A. (2020). A green and Simple Protocol for Extraction and Application of a Peroxidase-Rich Enzymatic Extract. *Methods Protoc.* 3, 25.
- Bradford, M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- 17. Chauca, K.; Grosso, C.; Cabrera, J.; León, C.; Arellano, J.; Rodríguez, C.; & Pretel, O. (2017). Extracción de azúcares reductores totales ART por métodos físicos y químicos de planta Zea mays (Poaceae) "maíz amarillo duro". Arnaldoa, 24(1), 289-300.
- López-Legarda, X.; Taramuel-Gallardo, A.; Arboleda-Echavarría, C.; Segura-Sánchez, F.; & Restrepo-Betancur, F. (2017). Comparación de métodos que utilizan ácido sulfúrico para la determinación de azúcares totales. Rev. Cubana Quím., 29(2), 180-198.



Los alimentos funcionales se definen como alimentos que además de satisfacer las necesidades nutricionales básicas, evidencia de que contienen compuestos bioactivos, que, al ser consumidos de forma habitual como parte de dieta balanceada, son capaces de brindar beneficios fisiológicos y protección contra enfermedades crónicodegenerativas. En este aspecto, el presente estudio realiza una valoración de la harina de las plantas de mezquite (Prosopis juliflora y Prosopis granulosa). Para la determinación de metabolitos secundarios como flavonoides, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante, proteína y azúcares, presentes en harina de las semillas de las especies de mezquite estudiadas. Los resultados indicaron que la harina de semilla presenta contenidos importantes de estos metabolitos secundarios, que podrían ser empleados en la generación de alimentos funcionales con potencial de ser empleados en el control de la diabetes tipo 2.

OmniaScience



