



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA



ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO NUTRACÉUTICO A BASE DE
PITAHAYA (*Selenicereus megalanthus*) Y SU EFECTO SOBRE LA
REGULACIÓN DE HIPERCOLESTEROLEMIA

Tutora: Prof. Zoitza Ostojich Cuevas

Autora:

Co-tutora: Prof. Katusca Villasana

Chicata Ranilla, Ariene Alexandra

C.I.: V-24.559.562

MÉRIDA, JUNIO 2022

ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO NUTRACÉUTICO A BASE DE
PITAHAYA (*Selenicereus megalanthus*) Y SU EFECTO SOBRE LA
REGULACIÓN DE HIPERCOLESTEROLEMIA

Trabajo Especial de Grado presentado por: Ariene Alexandra Chicata Ranilla, C.I: V-24.559.562, como credencial de mérito para la obtención del título de Licenciada en Nutrición y Dietética de la Universidad de Los Andes.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	5
Planteamiento del Problema	5
Formulación del Problema	7
Objetivo de la Investigación	8
Objetivo General	8
Objetivos Específicos	8
Justificación del Problema	8
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	14
Antecedentes de la Investigación	14
Bases Teóricas	25
Bases Legales	37
Definición de Términos Básicos	40
Hipótesis	43
Sistema de Variables	44

CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	45
Tipo y Diseño de Investigación	45
Población y Muestra	45
Técnicas e Instrumentos para la Recolección de Datos	46
Fase I: Ensayos preliminares para la elaboración del nutracéutico	47
Fase II: Análisis Proximal	57
Fase III: Determinación del efecto del producto nutracéutico sobre la regulación de los niveles de colesterol	61
Análisis Bioquímicos	71
Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos	76
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	77
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	101
Conclusiones	101
Recomendaciones	102
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
ANEXOS	118

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Ensayos preliminares para la obtención del extracto de pectina de pitahaya (<i>Selenicereus megalanthus</i>).	48
Tabla 2. Ensayos preliminares para la obtención final del producto nutracéutico.	52
Tabla 3. Resultados del análisis proximal del nutracéutico a base de pitahaya (<i>Selenicereus megalanthus</i>).	78
Tabla 4. Resultados de la prueba piloto con relación al seguimiento de peso, agua y comida.	83
Tabla 5. Resultados del nivel de Colesterol pertenecientes a los ratones (<i>Mus musculus</i> Línea BIOU:NMRI) de la prueba piloto.	85
Tabla 6. Resultados del nivel de Colesterol pertenecientes a los ratones (<i>Mus musculus</i> Línea BIOU:NMRI) del proyecto.	91
Tabla 7. Estadísticos de contraste (a,b).	92
Tabla 8. Pruebas post hoc. Comparaciones múltiples.	92
Tabla 9. Aporte nutricional por ración de producto a base de pitahaya (<i>Selenicereus megalanthus</i>).	96
Tabla 10. Factibilidad económica del producto nutracéutico.	97

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema tecnológico del extracto de pectina de pitahaya (<i>Selenicereus megalanthus</i>).	51
Figura 2. Esquema tecnológico para la elaboración del producto nutracéutico (gomitas).	55
Figura 3. Esquema de la prueba piloto.	67
Figura 4. Esquema del ensayo experimental.	70

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1. Resultados promedio del proyecto con relación al seguimiento del control de peso.	87
Gráfico 2. Resultados promedio del proyecto con relación al seguimiento de consumo de agua.	89
Gráfico 3. Resultados promedio del proyecto con relación al control de ingesta de alimentaria.	90
Gráfico 4. Resultados de los análisis bioquímicos pertenecientes a los ratones (<i>Mus musculus</i> Línea BIOU:NMRI) del proyecto con relación al colesterol.	91

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Pitahaya (<i>Selenicereus megalanthus</i>), separación de la pulpa de la cáscara.	118
Anexo 2. Proceso de extracción de la pectina de pitahaya.	119
Anexo 3. Unificación de los extractos de pectina de pitahaya.	120
Anexo 4. Proceso de elaboración de la gomita.	121
Anexo 5. Ensayos preliminares para la conservación de las gomitas.	122
Anexo 6. Características iniciales de las gomitas.	124
Anexo 7. Ensayo preliminar de conservación: Temperatura ambiente	125
Anexo 8. Ensayo preliminar de conservación: Refrigeración/cubiertas.	126
Anexo 9. Ensayo preliminar de conservación: Refrigeración/sin cubrir.	127
Anexo 10. Ensayo preliminar de conservación: Congelación.	128
Anexo 11. Entrega de ratones (<i>Mus musculus</i>). Prueba piloto.	129
Anexo 12. Perrarina procesada. Harina de perrarina.	130
Anexo 13. Distribución de los grupos estudio. Prueba piloto.	131
Anexo 14. Entrega de ratones (<i>Mus musculus</i>). Proyecto experimental.	132
Anexo 15. Técnica de inmovilización de los ratones (<i>Mus musculus</i>) para la toma de muestra del seno venoso retroorbitario.	134
Anexo 16. Método terminal: Seno venoso retroorbitario.	135
Anexo 17. Método Enzimático Colorimétrico: Colestat.	136
Anexo 18. Espectrofotómetro.	137

Anexo 19. Método terminal: Punción Cardíaca.	139
Anexo 20. Resultados del nivel de Colesterol pertenecientes a los ratones (<i>Mus musculus</i> Línea B10U:NMRI) de la prueba.	140



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA



ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO NUTRACÉUTICO A BASE DE PITAHAYA (*Selenicereus megalanthus*) Y SU EFECTO SOBRE LA REGULACIÓN DE HIPERCOLESTEROLEMIA

Autora: Ariene Alexandra Chicata Ranilla

Tutora: Prof. Zoitza Ostojich Cuevas

Cotutora: Prof. Katusca Villasana

Fecha: Junio 2022

RESUMEN

Los nutraceuticos son compuestos funcionales con actividad fisiológica que ofrecen una excelente oportunidad para mejorar la salud, por lo que se planteó la elaboración de un producto nutraceutico a base de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*), evaluando su efecto sobre la regulaci3n de hipercolesterolemia. El estudio fue de tipo experimental con pre y post-prueba. El proceso metodol3gico se dividi3 en tres fases: Fase I elaboraci3n del producto nutraceutico, utilizando una proporci3n 1:1 de pulpa/extracto de c3scara de pitahaya, adicionando gelatina sin sabor, logrando un postre de textura firme. Fase II: An3lisis proximal obteniendo 86,74% de Humedad, 0,64% de Cenizas, 6,22% para prote3nas, 0,15% de grasa, 6,24% para carbohidratos, para un aporte cal3rico de 51,22 Kcal/100g. Fase III Determinaci3n del efecto del producto nutraceutico sobre la regulaci3n de los niveles de colesterol; utilizando 20 ratones (*Mus musculus*) machos de la l3nea BIOU:NMRI de cuatro semanas de edad, divididos en 4 grupos experimentales de 5 animales c/u. Tuvo una duraci3n de 15 d3as para la inducci3n de la patolog3a por medio de una dieta hiperlip3dica y 15 d3as para la administraci3n del producto nutraceutico en dos grupos experimentales (T1 y T2 con y sin cambio de dieta, respectivamente). Las muestras de sangre se tomaron por medio de la t3cnica del seno venoso retroorbital, para realizar el an3lisis de colesterol total (Colestat Wienes Lab.). Los datos se analizaron mediante SPSS 20.0 aplicando estadística descriptiva, prueba de Kruskal-Wallis y prueba post-hoc. Se concluye que el nutraceutico contiene un efecto hipolipemiente, observando una diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,01$) entre el grupo T2 y el grupo sano.

Palabras Clave: nutraceutico, hipercolesterolemia, pitahaya amarilla.

INTRODUCCIÓN

La presente investigación tuvo como propósito fundamental el elaborar un producto nutracéutico a partir de la pitahaya, el evaluar su efecto sobre la salud específicamente sobre la regulación de los niveles de hipercolesterolemia, así como el analizar su composición proximal. Ante este escenario es importante destacar que los productos nutracéuticos en ocasiones son confundidos con los alimentos funcionales; en el fondo del concepto de nutracéutico, yace la idea de que el alimento que lo contiene es “bueno para la salud”, aunque el responsable directo de ese efecto no sea todo el alimento sino una sustancia determinada.

Al introducir el concepto de dieta mediterránea con Ancel Keys en el Estudio de los Siete Países, o la paradoja francesa, en el ámbito de la medicina, comenzó a observarse un progresivo interés científico por analizar cuales sustancias de nuestra alimentación podrían ser beneficiosas para la salud, más allá de su propia capacidad nutricional. Fue en 1989-90 cuando el Dr. Stephen Defelice define los nutracéuticos como productos elaborados a base de un alimento o de alguna de sus partes, que proporciona beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de enfermedades y que pueden utilizarse como complemento de medicinas (Valenzuela *et al.*, 2014). La industria alimentaria irrumpe en este escenario introduciendo esas sustancias beneficiosas, los nutracéuticos, procedentes de los alimentos que elabora y que frecuentemente se presentan en el mercado con

conservantes, colorantes y otros aditivos que los hacen poco confiables a los ojos del consumidor (Sociedad Española de Cardiología, 2007).

Este término y este tipo de productos en Venezuela no son un concepto vanguardista, aunque si son pocos los artículos de investigaciones al respecto; tanto así, que en la mayoría de publicaciones se reseña que no se dispone de una definición unificada o legal puesto que aún es un tema en estudio. Adicionalmente, muchos de los nutraceuticos o productos similares que se consiguen actualmente en el país son provenientes de materias primas importadas, por lo que se considera importante desarrollar productos a partir de materias primas nacionales ya que Venezuela es un país rico en frutas y hortalizas que pudieran tener potencial uso como nutraceuticos, pero no se conocen bien sus propiedades o posibles aprovechamientos en la industria pues han sido poco estudiados.

Venezuela cuenta con una variedad de frutas que aportan mucho valor nutricional, siendo una de ellas la pitahaya. La pitahaya es un cultivo que está adquiriendo gran importancia en algunos países de occidente, por ser no tradicional y tener gran potencial de exportación. De acuerdo a su coloración, pueden distinguirse dos tipos de pitahaya la roja y la amarilla, entre las rojas están las especies *Hylocereus undatus*, *H. costaricensis*, *H. polyrhizus*, *H. purpussi* e *H. ocamponis*, mientras que, entre las amarillas la más cultivadas es *H. megalanthus* sinónimo de *Selenicereus megalanthus*, la cual tiene una superficie cultivada de 1083 hectáreas a nivel mundial. Siendo originaria de Colombia, Perú, Bolivia, Ecuador y Venezuela, se cultiva principalmente en Colombia, Israel y Ecuador (Lim, 2012).

La pitahaya amarilla es una fruta poco conocida a nivel nacional, sin embargo, a nivel mundial tiene mayor renombre e incluso es catalogada como fruta gourmet o delicatessen (Mosquera *et al.*, 2011). Se le atribuye propiedades nutracéuticas, ya que se ha evidenciado que además de ser rica en minerales, vitaminas y fibra, contiene fitoalbúminas que son muy valorados por sus propiedades antioxidantes y sustancias fitoquímicas que pueden ser utilizadas como colorantes. El origen de esta fruta se atribuye a las regiones boscosas del trópico y subtrópico, era recolectado silvestremente para su alimentación y medicina por las culturas pre-colombinas; sin embargo, toma realce a mediados de la década de 1990 (Verona, Urcia y Paucar, 2020).

Su nombre en lengua antillana significa “fruta escamosa” y pertenece a la familia de las cactáceas (Verona, Urcia y Paucar, 2020). La última clasificación de cactáceas aceptada por la International Cactaceae Systematics Group es la propuesta por Hunt (2006), donde reporta que Bauer en 2003, reviso su taxonomía y la especie *Selenicereus megalanthus* se la reclasificó en el género *Hylocereus* y fue renombrado como *H. megalanthus*. Sin embargo, en las referencias bibliográficas recientes, aun se reseña de ambas formas.

Finalmente, la reciente utilización de la pitahaya amarilla para elaborar una diversidad de productos, incluye su empleo como materia prima para elementos de cosmética, farmacéutica y como alimento funcional gracias a sus características que mejoran la salud. Así mismo, el desarrollo de los productos asociados a la pitahaya amarilla corresponde principalmente a productos alimenticios funcionales. En esta

tendencia se encuentra la mayor diversidad de los productos procesados derivados de la fruta, aunque su principal forma de consumo sigue siendo en fresco (95% según la Corporación Colombia Internacional, CCI, 2006), por sus características organolépticas y sus propiedades fisicoquímicas, nutricionales, terapéuticas, medicinales y funcionales que promueven una buena salud (CCI, 2006).

En consecuencia a lo anteriormente expuesto, se propuso la elaboración de un producto nutracéutico a base de pitahaya (*H. megalanthus* sinónimo *Selenicereus megalanthus*), midiendo su efecto sobre la regulación de los niveles de hipercolesterolemia. Para ello se realizaron varias pruebas hasta lograr la consistencia y textura deseada para la obtención de gomitas (presentación final del producto nutracéutico) a base de pitahaya. En vista de la carencia de información en relación a dicho tema, fue necesario inicialmente realizar una prueba piloto con el fin de considerar las posibilidades del desarrollo posterior del proyecto. Por su parte, para evidenciar la eficacia del producto nutracéutico sobre los niveles de colesterol, fue necesario el uso de animales de laboratorio de la especie *Mus musculus*, los cuales fueron separados por grupos (sano y experimental). En el caso de los grupos experimentales se les indujo la hipercolesterolemia mediante una dieta alta en grasas, elaborada a base de perrarina y manteca de cerdo. Realizando análisis bioquímicos para corroborar los niveles de colesterol inicial, durante y al finalizar la prueba. Al mismo tiempo, se realizó el análisis proximal del producto nutracéutico (gomitas) determinando así su aporte nutricional.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

La nutrición es una parte imprescindible para la salud física y mental de todo ser vivo, e indispensable para su actividad diaria y su productividad; hoy se sabe con certeza que los alimentos en su mayoría pueden prevenir o contribuir en el tratamiento de enfermedades. En años recientes, los nutraceuticos han ido cobrando un papel importante en materia de prevención y tratamiento de enfermedades, ya que son sustancias biológicas activas extraídas de fuentes naturales que mediante procesos biotecnológicos antidesnaturalizantes logran conservar sus propiedades y mantener una vida útil durante un periodo corto de tiempo mediante la manipulación química (Guzmán *et al.*, 2009).

En virtud de sus propiedades biológicas, algunos de estos bioderivados actúan como medicamentos potenciales y pueden prescribirse como coadyuvantes terapéuticos con fines preventivos o curativos. Es bien conocido desde albores del siglo XX, de la necesidad del organismo para ingerir cantidades razonables y proporcionales de macronutrientes (proteínas, hidratos de carbono y lípidos) y de micronutrientes (vitaminas y minerales) para prevenir o recuperar a personar

enfermas por deficiencias específicas de estos nutrientes. Es por ello que, se registra en los últimos años diversos proyectos basados en la elaboración de productos nutraceuticos con la capacidad de prevenir, combatir e incluso darse a conocer en un mercado bajo el nombre de complementos alimenticios (Guzmán *et al.*, 2009).

En la actualidad, países como Japón o Estados Unidos, son pioneros en el tema de los productos nutraceuticos, e incluso ya cuentan con una categoría específica, normativa legal y abarcan hasta el 35% del mercado en el ámbito de los productos para la salud (Pérez, 2006). Ahora bien, en Venezuela este tema aun es de escaso y confuso conocimiento, pues en ausencia de un marco legal vigente, en ocasiones se suele comercializar productos nutraceuticos como “productos naturales” pero con un alto contenido de preservantes y otras sustancias químicas que desvirtúan el principio activo del alimento o su actividad terapéutica, pudiendo tener efectos secundarios típicos de un fármaco habitual o bien ser tóxico para el consumidor (Cóccaro, 2010, p.12).

Es por ello que, se planteó la necesidad de elaborar un producto nutraceutico que fuese capaz de controlar, regular o mantener los niveles normales de colesterol en sangre en pacientes con hipercolesterolemia o niveles altos de LDL, en un periodo relativamente corto de tiempo. Por esta razón, surgió la inquietud de crear el producto nutraceutico a partir de una fruta nacional poco conocida y por lo tanto poco comercializada. Entre las frutas estudiadas, destacó la pitahaya amarilla (*H. megalanthus* sinónimo *Selenicereus megalanthus*), a la cual se le han atribuido propiedades coadyuvantes en la disminución de los niveles de colesterol.

Adicionalmente, se planteó que el producto nutracéutico desarrollado fuese evaluado tanto en términos de macronutrientes, como en su efecto sobre el tratamiento de hipercolesterolemia, para corroborar que el producto contenga la cantidad necesaria de principios activos para reaccionar positivamente a nivel terapéutico y que se logre conservar de manera adecuada las propiedades biológicas activas presentes para que sea considerado un producto funcional, capaz de regular los niveles de colesterol en sangre.

Formulación del Problema

¿Cómo será el esquema tecnológico para elaborar el nutracéutico, partiendo de la fruta fresca?

¿Cuál será la composición proximal del producto nutracéutico elaborado?

¿Se podrá regular los niveles de hipercolesterolemia con una dosis diaria del nutracéutico a base de pitahaya?

¿Tendrá el nutracéutico a base de pitahaya los principios activos suficientes para controlar los niveles de hipercolesterolemia?

Objetivos de la investigación

Objetivo General

Elaborar un producto nutracéutico a base de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*), que sea capaz de incidir sobre los niveles de colesterol en sangre, regulando o controlando sus valores.

Objetivos Específicos

Elaborar el esquema tecnológico de obtención del producto nutracéutico.

Evaluar el aporte de macronutrientes del producto nutracéutico a través del análisis proximal.

Valorar el efecto del producto elaborado sobre los niveles séricos de colesterol a través de análisis bioquímicos.

Justificación del Problema

En vista de los grandes cambios realizados en el procesamiento o preparación de los alimentos, un producto nutracéutico podría ser considerado como el precursor de lo que serán los alimentos más allá del siglo XXI (Boucher, 1999), convirtiendo así a la industria de alimentos en una industria de ensamblaje en donde se busca obtener un suplemento dietético presentado en una matriz no alimenticia (bien sea una capsula, una mezcla en polvo para bebida, una golosina, etc.) a partir de una sustancia

bioactiva concentrada presente en un alimento, y que al ser suministrada en una dosis superior, tendrá un efecto favorable sobre la salud cuyos resultados podría observarse más rápidamente que al consumir el alimento original (Pérez, 2006).

Ahora bien, existe una gran confusión en cuanto al tema o al conocimiento del término “nutracéutico” ya que suele asociarse con el concepto de alimento funcional o alimento fortificado. A pesar de estar fuertemente relacionados entre sí; tanto científica, industrial como económicamente, estos difieren en su composición e implementación; ya que un producto nutracéutico es un suplemento no alimenticio que contiene una sustancia natural bioactiva y se diferencia de un medicamento, en que este último no es de origen biológico natural. Así también, difiere de un extracto; en que este no tiene la capacidad de acción terapéutica que posee un nutracéutico (Pérez, 2006).

Por otra parte, según el Centro de Información Internacional de Alimentos (IFIC por sus siglas en Inglés: International Food Information Council), los alimentos funcionales son aquellos productos a los cuales intencionalmente y en forma controlada se les adiciona un compuesto específico para incrementar sus propiedades saludables (Valenzuela *et al.*, 2014, p. 200). Por ejemplo, el contenido de omega-3 presente en ciertos pescados, es capaz de reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares; este un modelo explícito de un alimento funcional. Mientras que un alimento fortificado es aquel producto al cual se le adiciona intencionalmente uno o algunos componentes beneficiosos para la salud según el requerimiento de una población en específico, bajo el sustento de un estudio previo que determine la

carencia de dicho componente (CODEX, 2015), es el caso, por citar algún ejemplo nacional, el de la avena en hojuelas que es fortificada con vitaminas A y C, Calcio y Zinc.

Así mismo, con el transcurso del tiempo y la evolución de la ciencia basada en la tecnología de alimentos, la atención se fue centrando en los componentes que tenían alguna funcionalidad para la salud; por ejemplo, aquellos que probaron ser efectivos aun en pequeñas cantidades en enfermedades crónicas como osteoporosis, anemia, estreñimiento e incluso aquellos capaces de reducir el riesgo de desarrollar algún tipo de cáncer (Pérez, 2006).

Fue la comunidad científica japonesa interesada en el área de la salud, la precursora en este tema ya que comenzó a realizar estudios basados en el efecto fisiológico de estos componentes en el sistema de liberación de células en animales. Aquellos componentes de alimentos o sus derivados que ocasionaron algún efecto fisiológico en quienes los consumieron fueron refinados y purificados y se convirtieron en medicinas, sin embargo, sus estudios dieron pie al conocimiento sobre alimentos funcionales, más no de los nutraceuticos. De hecho, Japón es el único país que ha formulado un proceso regulatorio específico para la aprobación de alimentos funcionales. Conocidos como Food For Specified Health Use (FOSHU), estos alimentos son elegibles para llevar un sello de aprobación del Ministerio de Salud y Bienestar. Cabe destacar, que para 1993, se aprobó en Japón, el primer producto capaz de solucionar el problema de salud que más incidía en su población; desde entonces se han desarrollado un número importante de productos (Pérez, 2006).

Es de suma relevancia la interacción entre alimento – fármaco – medicina, en donde la elaboración de un producto sea capaz de involucrar los tres aspectos mediante la prevalencia y conservación idónea de sustancias biológicas activas junto con elementos no nutricionales, los cuales puedan contribuir a la prevención o retardo de alguna patología en específico. Es por ello que la finalidad de este proyecto es destacar la oportunidad y la necesidad de elaborar o desarrollar nuevos productos naturales que permitan un futuro más saludable para la humanidad, formulando así productos o alimentos capaces de prevenir enfermedades o mejorar las funciones fisiológicas del organismo beneficiando tanto al consumidor como a las grandes compañías de alimentos.

Por otro lado, el aporte principal estimado para el producto a desarrollar es el proveer un beneficio fisiológico para el control o regulación de los niveles de colesterol en sangre. En Venezuela las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y la diabetes constituyen las principales causas de morbilidad y mortalidad, por lo cual se hace necesario desarrollar planes de acción al respecto (Hernández *et al.*, 2017, p.4). Se estima que en el país, el 30,2% del aporte promedio de energía suministrada por los macronutrientes proviene de la ingesta de grasas (Hernández *et al.*, 2017, p. 16), y aunque este valor apenas supera el establecido en los valores de referencia de energía y nutrientes por el Instituto Nacional de Nutrición (INN, 2012a), es importante considerar que el consumo excesivo de grasas, especialmente si son saturadas, ocasiona dislipidemias, representando un factor de riesgo para trombosis cerebral y cardiopatía isquémica (Dávila Alcalá *et al.*, 2018).

Debido a que la hipercolesterolemia es una patología hereditaria, se puede mutar el gen receptor de LDL en un individuo asegurando así un grupo estudio positivo en su totalidad para dicha patología, aunque son pocos los centros especializados donde se analizan estas células cultivadas o linfocitos de sangre circulante (Bilheimer, 1991). Ahora bien, existe otro método más viable que consta en inducir la alteración del nivel de colesterol a través de la dieta, bien sea combinando colesterol y grasas saturadas o con proteínas como la caseína (González *et al.*, 2010). Considerando lo anterior, el metabolismo de un roedor en especial la especie *Mus musculus*, es muy elevado en comparación con el del ser humano; además de ser un organismo genético excelente, pequeño, prolífico y fácil de mantener, con un tiempo de generación corto y sobre todo, su estrecha relación evolutiva con los seres humanos, lo cual lo convierte desde el punto de vista genético, conductual y fisiológico en un espécimen idóneo a la hora de trabajar en estudios de genética humana y médica (Pierce, 2010).

Finalmente, el aprovechamiento de recursos locales que generen nuevos aportes a la ciencia, a la economía y a la sociedad son los pilares de un empoderamiento económico nacional. Es por ello, que en Venezuela debe estudiarse más las ventajas de este producto local en lugar de solo exportarlo, y debería aprovecharse también para el consumo interno, abriendo espacios para los productores de materia prima, que podrían además identificar y promocionar los elementos de interés de la fruta por sus características nutricionales o medicinales. Tal es el caso de la Pitahaya, fruta cosechada nacionalmente en los estados Falcón y

Nueva Esparta pero que es exportada directamente, por lo que surge la idea de crear un producto innovador para el país y en especial, elaborado con una fruta local que sea capaz de influir en la prevención de enfermedades, o servir como coadyuvante en el tratamiento de una patología en específico.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Antecedentes de la Investigación

Dado que la presente investigación se centró en la elaboración de un producto nutracéutico y su efecto sobre la regulación de la hipercolesterolemia, resultó fundamental dar cuenta de algunas definiciones y procesos necesarios para la obtención final del producto, aportando datos de utilidad para el desarrollo del proyecto; esto mediante trabajos de investigación ya realizados que estuviesen relacionados con los objetivos de estudio presentes en la investigación.

En un estudio de tipo explicativo desarrollado por Valenzuela y Ronco (2004), se analizaron los fitoesteroles y fitoestanoles como aliados naturales para la protección de la salud cardiovascular. Basado en antecedentes recientes del Ministerio de Salud en una muestra representativa en mayores de 17 años, señaló que un 35,4% presenta algún nivel de hipercolesterolemia (200 mg/dL) concentrándose la gran mayoría en el rango de la hipercolesterolemia moderada; por lo cual un manejo racional de la dieta puede disminuir estos niveles e incluso llevarlos a los niveles considerados como deseables (menos de 200 mg/dL). Dentro de los componentes de

la dieta que pueden actuar como aliados en el control del colesterol plasmático están los fitoesteroles y los fitoestanoles.

Estos son esteroides de origen vegetal y cuya estructura química es muy similar a la del colesterol. Sin embargo, los fitoesteroides difieren estructuralmente del colesterol (que posee 27 carbonos) por la presencia de sustituyentes de tipo metilo o etilo en la cadena lateral de la molécula. Los fitoesteroides son particularmente abundantes en el reino vegetal y están presentes en los frutos, semillas, hojas y tallos de prácticamente todos los vegetales conocidos. La literatura científico-médica describe para los fitoesteroides y fitoestanoles una gran variedad de efectos fisiológicos, atribuyéndoles propiedades antiinflamatorias, antitumorales, bactericidas y fungicidas. Sin embargo, el efecto mejor caracterizado y científicamente demostrado, es el efecto hipocolesterolémico, tanto a nivel del colesterol total como del colesterol-LDL

Finalmente el particular efecto hipocolesterolémico observado para los fitoesteroides y sus derivados hidrogenados ha motivado a diferentes empresas el desarrollo de productos enriquecidos con estos esteroides vegetales. En 1995 una empresa finlandesa desarrolló una margarina liviana enriquecida con sitostanol y que fue un impacto primero en Finlandia y posteriormente en toda Europa. El sitostanol se obtiene a partir de la hidrogenación controlada de la oleoresina obtenida de pulpa de pino. En este producto, el sitostanol está esterificado con ácidos grasos con el propósito de aumentar su liposolubilidad y de disminuir su absorción a nivel intestinal. Los diferentes estudios nutricionales realizados con la margarina

adicionada de sitostanol han demostrado su eficacia para disminuir el colesterol sanguíneo en individuos levemente hipercolesterolémicos sin alterar el nivel de colesterol-HDL y de los triglicéridos.

De igual manera, en un estudio de tipo descriptivo, cuyo objetivo principal fue presentar una revisión de algunos estudios epidemiológicos acerca de los beneficios del licopeno en la salud humana. Basándose en la teoría de que el licopeno al ser consumido, es incorporado dentro de las micelas de los lípidos dietarios y sistema linfático para ser transportado al hígado y que debido a su naturaleza lipofílica, también se encuentra en las fracciones de las lipoproteínas LDL y VLDL y no en las HDL en el suero. De los datos descritos de algunos estudios citados se pudo concluir que; en un estudio de cultivo celular se investigaron las propiedades de anti proliferación de licopeno en comparación con α - y β - caroteno, empleando células cancerosas de endometrio, glándula mamaria y de pulmón.

Los resultados mostraron que el licopeno inhibió el crecimiento de las células cancerosas en endometrio, mama y pulmón, y que la α - y β - caroteno fueron menos efectivos como inhibidores de crecimiento de cáncer que el licopeno. Además de este efecto inhibitorio sobre las células cancerosas del endometrio, el licopeno también suprimió el factor de crecimiento de tipo insulina-I. Finalmente algunos investigadores no reconocen la importancia del licopeno en la salud humana debido a la falta de actividad de provitamina A, por lo que actualmente no es considerado un nutriente esencial. Sin embargo, con el reconocimiento del papel que el licopeno desempeña en la salud humana hay un considerable interés por parte de los

nutricionistas y otros profesionales de la salud que sugieren niveles de ingesta diarios basados en conocimientos científicos (Waliszewski y Blasco, 2010).

Por otra parte, es conveniente mencionar que en un estudio de tipo experimental, llevado a cabo en la Universiti Putra Malaysia (UPM) por el departamento de Ingeniería de Procesos y Alimentos de la Facultad de Ingeniería, se analizó las propiedades fisicoquímicas del polvo de fruta de pitahaya entera influenciadas por dos concentraciones diferentes de maltodextrina (20 y 30%) y cuatro temperaturas de entrada diferentes (145, 155, 165 y 175 °C). Las frutas de pitahaya se mantuvieron en el laboratorio dentro de un frigorífico a una temperatura de 10° C antes de iniciar el experimento. Los frutos de pitahaya roja se lavaron, se cortaron en trozos y se extrajo el zumo utilizando un extractor (CL003AP; Jack Lalanne's Power Juicer, Taiwan); el jugo se filtró primero con un tamiz de 500µm seguido de un segundo filtrado usando un filtro de café (para eliminar la pegajosidad y reducir a viscosidad del jugo de fruta para facilitar el proceso de secado). Este proceso se repitió cinco veces.

A medida que aumentaba la temperatura de entrada el contenido de humedad y la actividad del agua disminuían, y este cambio era evidente con una alta concentración de maltodextrina. La mejor condición de secado por pulverización en relación con el contenido de betacianina fue una temperatura de entrada de 155 °C y una concentración de maltodextrina del 20%. Con respecto a la fluidez, todos los factores y sus niveles dieron como resultado un polvo que fluía deficiente. Desde el

punto de vista nutricional la fruta de pitahaya en polvo se encontró rica en proteínas, grasas, cenizas, fibra y antioxidantes (Tze *et al.*, 2012).

Así mismo, otra investigación experimental de tipo Transversal realizada en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH), en el Departamento de Nutrición y Calidad del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) en los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) y financiada por la Secretaria Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT) e INIAP; tuvo el objetivo de evaluar un producto nutracéutico elaborado a base de los extractos lipídicos del chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) y hojuelas de frutas deshidratadas sobre los niveles del perfil lipídico y glicemia en ratones (*Mus musculus*). La metodología experimental, se basó en el empleo de 35 ratones (*Mus musculus*), 5 grupos de 7 animales cada uno bien identificados, a los cuales se les proporcionó un alimento hipercalórico y progesterona (10 mL/Kg) por un periodo de 30 días con el propósito de inducir a los animales a un estado hipoglicémico.

El tratamiento propuesto consistió en agua destilada, aceite de oliva, extracto lipídico de las dos variedades de chocho (450 y criolla) y atorvastatina, los cuales fueron administrados vía oral con un cánula gástrica por un periodo de 30 días, durante este proceso a los animales se les extrajo muestras de sangre en tres periodos; iniciales, intermedios y finales para su respectivo análisis. Una vez procesados los datos y analizados los cuadros de ADEVA se determinó que el mejor tratamiento es

con el chocho 450, existiendo una variación significativa con respecto a los demás tratamientos en la disminución de la glucosa, colesterol y triglicéridos.

Por lo que se obtuvo un alimento nutracéutico elaborado a base de hojuelas de frutas deshidratadas y extracto lipídico de chocho que posee propiedades capaces de modificar favorablemente el perfil lipídico en animales de experimentación gracias al contenido de ácidos grasos que posee el chocho, con porcentaje bajo de ácidos grasos saturados, y un 80% de ácidos grasos insaturados, nivel próximo al aceite de soya (81%). En definitiva el modelo experimental en animales reproduce de una forma u otra los mecanismos patogénicos de la enfermedad humana. Se concluye que la administración del extracto lipídico de chocho 450 y criolla reduce significativamente los niveles de perfil lipídico en los animales de experimentación para lo cual se aplicó el test TUKEY HSD al 95% (Ricafuerte y Lema, 2015).

Por otra parte, en un trabajo publicado por la Revista Cubana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular acerca del papel de la nutrigenómica y los nutracéuticos en la prevención de las enfermedades cardiovasculares llevada a cabo por la Universidad de Las Américas (Puebla, México), se describen algunos nutracéuticos de fácil acceso a la población mexicana, de los cuales se ha demostrado su efectividad en la prevención de complicaciones en las enfermedades cardiovasculares, sobre todo en el control de dislipidemias, tanto para su conocimiento como para la implementación de estos datos en la dieta de cada individuo con el fin de mejorar la calidad de vida del individuo y disminuir el riesgo de presentar la patología cardiovascular.

Dicho trabajo estuvo constituido a partir de la evidencia documental publicada en los últimos 15 años sobre el tema, siguiendo los principios propuestos por la declaración PRISMA y llevada a cabo en dos fases: la primera incluyó el proceso de selección de los estudios mediante la lectura del título, resumen y palabras clave para identificar la pertinencia del tema, el contexto de este y la elegibilidad de los artículos, descalificando estudios de casos clínicos y textos incompletos. La fase dos incluyó la revisión de los textos completos de los artículos preseleccionados y posteriormente se aplicaron los criterios de inclusión y exclusión.

Se recabó información tanto de nutraceuticos mas estudiados conforme a su relación desinflamatoria y los efectos de disminución de dislipidemia tanto en síndrome metabólico como en la enfermedad cardiovascular, así como los genes investigados y relacionados a la obesidad y patología cardiovascular. Es entonces que, gracias a la literatura se puede evidenciar que existen diversos nutraceuticos estudiados que tienen efectos positivos directos en las vías patológicas de la enfermedad cardiovascular. En conclusión, los avances en la nutrigenómica han ayudado a determinar la relación enfermedad-alimentación, considerando la interacción de genes con los nutrimentos y cómo la falta o el exceso de algún nutriente o sustancia puede provocar tanto la predisposición, aceleración de presentación de la enfermedad o, la enfermedad como tal (Vera *et al.*, 2019).

Así mismo, en un trabajo de investigación de tipo transversal se tuvo como objetivo principal determinar si existe diferencia en las propiedades organolépticas (olor, aroma, sabor y apariencia) entre la pulpa de pitahaya sin hierro y la pulpa de

pitahaya con hierro (a concentración de 15 mg y 20 mg). Así mismo determinar los análisis fisicoquímicos (grados brix totales, pH, densidad y acidez expresada en ácido cítrico) y análisis microbiológicos (aerobios mesófilos, coliformes, coliformes fecales, mohos y levaduras) de los tres tratamientos de la pulpa pitahaya amarilla (*Hylocereus triangularis*).

Se diseñó tres tratamientos (Tratamiento 1: grupo control, tratamiento 2 y tratamiento 3, a estos dos últimos fueron fortificados con hierro. Sulfato ferroso en polvo) con la finalidad de evaluar, comparar e identificar el mejor tratamiento en cuanto a sus propiedades organolépticas. La metodología aplicada fue experimental, dividiendo la pulpa de pitahaya en 12 Kg para cada tratamiento, para lo cual se añadió 15 mg de hierro en 100 ml de pulpa de pitahaya para el tratamiento T2 y 20 mg. de hierro en 100 mL de pulpa de pitahaya para el tratamiento T3.

De los resultados obtenidos se determinó que los análisis fisicoquímicos de la pulpa de pitahaya para los tres tratamientos fueron los esperados cumpliendo con los parámetros establecidos por la Norma Técnica de Ecuador. INEN 2003:2005. Con respecto a los análisis microbiológicos de los tratamientos 2 y 3 se cumplieron con los parámetros establecidos por la Norma técnica peruana NTP 203.110. 2009. En relación al grupo control (T1) los aerobios mesófilos resultaron 33×10^2 UFC/g y los mohos 50 estimado de UFC/g no cumpliendo con los parámetros de la Norma técnica peruana NTP 203.110. 2009, debido que fue un tratamiento testigo y no se le adicionó ningún aditivo como conservantes, preservantes, al igual tampoco se le adicionó el hierro para la fortificación. El mejor resultado de análisis sensorial fue el

tratamiento 2 (T2) con respecto al tratamiento 3 (T3) porque con la prueba estadística de U Mann Whitney, se corroboró que existe diferencia significativa en cuanto a las propiedades organolépticas del sabor y apariencia, ya que son los 25 panelistas los que emitieron su veredicto y brindaron mayor puntaje con una escala tipo Likert al tratamiento 2 (T2) (Enciso, 2019).

Por su parte, con referencia a las propiedades nutraceuticas de microencapsulados de jugo de pitahaya (*Stenocereus pruinosus*) durante la vida de anaquel, se realizó un estudio de tipo cuantitativo, en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma “Benito Juárez” de Oaxaca (UABJO) y el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Instituto Politécnico Nacional Unidad Oaxaca. Se evaluó la actividad antioxidante en microencapsulados de jugo de pitahaya, se obtuvo el polvo a partir del jugo utilizando la técnica de secado por aspersión y maltodextrina/pectina (60/40%) como aditivos, se almacenó en bolsas de polietileno y en cápsulas de gelatina dura a temperatura ambiente durante 120 días.

El estudio sobre la estabilidad de los polvos de pitahaya roja (PR) y pitahaya guinda (PG) almacenados en diferentes condiciones ha brindado la oportunidad de medir el comportamiento de sus propiedades nutraceuticas ante distintas variables, como la forma farmacéutica y la exposición a la luz. El tratamiento con cápsulas de color para PG fue el que más protegió la degradación de los compuestos fenólicos totales, al presentar los valores más bajos estadísticamente significativos respecto de los demás tratamientos; el mismo efecto se registró con las bolsas de polietileno con

la PR. Respecto de la cuantificación de betacianinas, el tipo de empaque no produjo efectos significativos para los polvos de PG pero sí para la PR, con la que las bolsas de polietileno presentaron los valores de degradación más bajos estadísticamente significativos. El mismo resultado se observó para las betaxantinas en ambos tipos de pitahaya al término de los 120 días.

Finalmente el tipo de empaque tuvo un efecto considerable al preservar la actividad antioxidante y favorecer a la cápsula transparente; sin embargo, al término de los 120 días en todos los tratamientos realizados se llegó a conservar más de 50% de la capacidad antioxidante inicial, obteniendo mejores resultados con las cápsulas de gelatina dura en comparación con las bolsas de polietileno, lo que confirma la hipótesis de que las cápsulas de gelatina dura son formas farmacéuticas viables para mantener las propiedades nutraceuticas de los microencapsulados de jugo de pitahaya (Sandoval, 2019).

Entre tanto, en un estudio de tipo no experimental llevado a cabo en la Universidad Autónoma Chapingo de México, por el Departamento de Fitotecnia del Instituto de Horticultura y el Departamento de Ingeniería Agroindustrial del Instituto de Alimentos. Se realizó una evaluación de las características físico-químicas, los componentes nutricionales y los antioxidantes de los frutos de *H. ocamponis* (mesocarpio o pulpa roja) y *H. undatus* (pulpa blanca), especies de gran importancia comercial. La pulpa de los frutos presentó diferencias nutricionales y nutraceuticas entre ambas especies. La pulpa roja de *H. ocamponis* presentó el mayor contenido de betalaínas (15,94 mg/100g), ácido ascórbico (10,13 AAE mg/100 g) y

actividad antioxidante (2009,58 $\mu\text{m TE}/ 100 \text{ g}$) en comparación con *H. undatus*. Las semillas de ambas especies tenían un mayor contenido de ácido linoleico (ω -6) en comparación con otros ácidos grasos. La piel infrutilizada (epicarpio) de la pitahaya de pulpa blanca presentó un mayor contenido de betalainas (19,83 mg/ 100 g) que el encontrado en la pulpa y la piel roja de las otras especies (13,21 mg/ 100 g). La pitahaya roja de consumo regional presentó mejor calidad funcional. La piel de ambas especies podría ser fuente de pigmentos en la industria alimentaria (Hernández *et al.*, 2020).

Para concluir, en un estudio de tipo experimental llevado a cabo por la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas en Lima, Perú; tuvo como objetivo evaluar el potencial nutracéutico de la cáscara y pulpa de los ecotipos pitahaya roja (*Hylocereus monacanthus*) y amarilla (*Hylocereus megalanthus*), con fines de formulación nutricional. Se analizaron dichos ecotipos de pitahaya, obteniéndose un extracto metanólico de la cáscara y parte comestible de ambos ecotipos a fin de realizar el análisis químico proximal, la marcha fitoquímica, y determinar actividad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS e IC.

Se identificaron flavonoides, taninos, quinonas, entre otros compuestos bioactivos. La pitahaya amarilla presentó mayor contenido de polifenoles y mayor actividad antioxidante por el método ABTS, mientras que el porcentaje de inhibición promedio para ambos ecotipos fue del 93% por el método DPPH. El IC fue mayor para la pulpa de pitahaya roja con 1,68 mg/mL. Ambos ecotipos presentan un alto contenido de polifenoles y una alta capacidad antioxidante, los cuales concuerdan con

los encontrados en distintos estudios como los de Colombia, Brasil y Corea, siendo tan alta o incluso superior a la de la mayoría de las variedades de cítricos en Perú. Futuros estudios deberían considerar incluir a otros metabolitos y sustancias bioactivas como las betalaínas debido a su actividad antioxidante. Ambos ecotipos de pitahaya son ricos en antioxidantes, compuestos bioactivos, y de bajo aporte calórico, recomendándose su uso en prescripciones alimentarias y en la industria de alimentos como ingrediente funcional (Quispe *et al.*, 2021).

Bases Teóricas

La Nutrición se define como la ingesta de alimentos en relación con las necesidades dietéticas del organismo. Una buena nutrición (una dieta suficiente y equilibrada combinada con el ejercicio físico regular), es un elemento fundamental de la buena salud (OMS, 2017).

Por su parte, como se mencionó anteriormente, los nutraceuticos son sustancias químicas o biológicas activas que pueden encontrarse como componentes naturales de los alimentos o adicionarse a los mismos, y se presentan en una matriz no alimenticia (píldoras, cápsulas, polvo, etc.), y que administradas en dosis superior a la existente en los alimentos, presume un efecto favorable sobre la salud, mayor al que posee el alimento normal (FIM, 2006). Asimismo, Valenzuela *et al.* (2014), explica que los nutraceuticos no son alimentos, sino componentes de estos que se pueden consumir en mayores concentraciones que las encontradas habitualmente en

un alimento, y que tampoco son considerados medicamentos ya que no se les atribuye propiedades terapéuticas pero sí potencialmente preventivas.

Colesterol

El colesterol (3-hidroxi-5,6 colesteno) es una molécula indispensable para la vida, desempeña funciones estructurales y metabólicas que son vitales para el ser humano. Se encuentra anclado estratégicamente en las membranas de cada célula donde modula la fluidez, permeabilidad y en consecuencia su función. Esta regulación implica que el contenido en colesterol de las membranas modifica la actividad de las enzimas ancladas en ellas, así como la de algunas proteínas transportadoras y de receptores de membrana. El colesterol proviene de la dieta o es sintetizado por las células (principalmente en los hepatocitos); es precursor de otras biomoléculas fisiológicamente importantes tales como, las hormonas esteroideas (andrógenos, estrógenos, progestágenos, gluco y mineralcorticoides), ácidos biliares y la vitamina D (Maldonado *et al.*, 2012).

El colesterol presente en el organismo humano, se obtiene principalmente de dos fuentes: de la dieta (colesterol exógeno) y la síntesis endógena (colesterol endógeno). Prácticamente todos los tejidos que contienen células nucleadas son capaces de sintetizar colesterol. La fracción microsómica (retículo endoplásmico) del citosol es responsable de su síntesis. La tasa de síntesis de colesterol es regulada por la HMG-CoA, cuya actividad es controlada por el flujo de colesterol intestinal hacia el hígado. La acetil-CoA proporciona todos los átomos de carbono para la síntesis del colesterol, la cual puede dividirse en cinco etapas:

1. Síntesis de mevalonato, un compuesto de seis carbonos, a partir de acetil-CoA.
2. Formación de unidades isoprenoides por pérdida de CO₂ del mevalonato.
3. Condensación de seis unidades isoprenoides para formar el intermediario, escualeno.
4. Cierre del escualeno para la formación cíclica del esteroideprecursor, conocido como lanosterol.
5. El colesterol se forma del lanosterol después de varios pasos posteriores que incluyen la pérdida de tres grupos metilo (Maldonado *et al.*, 2012).

Hipercolesterolemia

Se define como aquella situación en la que la concentración plasmática de colesterol y triglicéridos transportados por las lipoproteínas exceden los límites de la normalidad (por encima de 200 mg/dL). Los aumentos patológicos de colesterol aumentan el riesgo de enfermedad cardíaca, como la aparición de placas de lípidos (ateromas) que impermeabilizan las paredes de los vasos sanguíneos (Merí, 2005). Por el contrario, la Hipocolesterolemia es el descenso anormal de la concentración de colesterol en la sangre (Clínica Universidad de Navarra, 2015).

Del mismo modo, las lipoproteínas son un grupo concreto de complejos moleculares que se encuentran en el plasma sanguíneo de los mamíferos; están formadas por lípidos asociados de forma no covalente con proteínas (apolipoproteínas o apoproteínas), pero también incluyen moléculas antioxidantes liposolubles. Su función es transportar moléculas lipídicas de unos órganos a otros en el medio acuoso

del plasma. En el estado de ayuno normal, el plasma humano tiene cuatro clases de lipoproteínas y en el periodo post-absortivo aparece una quinta clase, los quilomicrones (Carrero y Herráez, 2016).

En Venezuela, la morbimortalidad por enfermedades cardiovasculares y metabólicas aumenta cada día, haciéndose imperativo continuar los estudios de los factores de riesgo para tales condiciones, pues se ha demostrado una clara relación entre niveles elevados de colesterol LDL, niveles bajos de colesterol HDL y enfermedad cardiovascular (Martínez, 2012). Dávila Alcalá (2018) reporta que sólo en la región capital venezolana el 17,1% de la población padece de hipercolesterolemia y que la quinta parte de la población posee el colesterol LDL elevado.

Y es que al respecto, Hernández *et al.* (2017), determinó que en Venezuela el consumo de ácidos grasos fue en su mayoría del tipo saturados y en consecuencia, el aporte de las grasas saturadas al gasto energético total del día es del 12,6%, siendo superior a la recomendación internacional de 10%. Esta situación pudiera estar determinada por el alto consumo de proteína animal (p. 19). Por su parte, la ingesta estimada de colesterol en el país fue de 250 mg, siendo menor a la recomendación del INN (2012a) de 300 mg/día. Sin embargo, en los hombres se detectaron factores de riesgos asociados en la dieta, tales como, mayor consumo de ácidos grasos saturados y colesterol, que se acentúa entre los 35 y 50 años (Hernández *et al.*, 2017, p. 38).

Pitahaya

La pitahaya, pitaya o Dragon fruit es un fruto de la especie *H. megalanthus*, también clasificada por algunos autores como *Selenicereus megalanthus* y como *Hylocereus undatus*. Es un fruto del género *Hylocereus* y de la familia Cactaceae (Geilfus, 1994), no climatérico, y cuya planta se cultiva en zonas tropicales de climas templados, subtropicales y semiáridos, pues requiere mucho sol y riego frecuente (León, 2000; Chik *et al.*, 2011; Temak *et al.*, 2018). En Venezuela, es cosechada entre los meses de enero y marzo (Castro, 2017). Existen algunas reseñas históricas que relatan que a mediados del siglo XVI, para la llegada de los españoles, la pitahaya ya era conocida por los indígenas (Patiño, 2002), por lo que se puede inferir que estos, sabían que al consumirla con cierta frecuencia generaba una reacción positiva a algún malestar, y que al ser descubierta por los colonizadores comenzó a exportarse, perdiéndose así poco a poco su consumo local. En algunos países es comercializada bajo el nombre de “Fruta del Dragón” o Dragon fruit por la forma de su cáscara. A nivel mundial, se consumen principalmente tres especies de pitaya, fácilmente diferenciables por su forma, color de la cáscara y de la pulpa: *Hylocereus polyrhizus*, *H. undatus* y *H. megalanthus*.

La variedad *H. polyrhizus*, también conocida como la pitahaya roja tiene la pulpa y la cascara de color rojo. Por su parte, la *H. undatus* o pitaya blanca, tiene la cáscara de color rojo y la pulpa es blanca; y finalmente, la variedad utilizada en el presente estudio, la *H. megalanthus* (Pitaya amarilla), con pulpa de color blanco y cáscara amarilla (Choo *et al.*, 2016; Temak *et al.*, 2018). La pitaya tiene alta demanda

en países europeos y asiáticos por ser considerada como un fruto exótico y afrodisíaco, además de sus múltiples aportes nutritivos, su excelente sabor y suave textura.

Pertenciente a la familia Cactaceae, esta planta epífita y trepadora tiene la particularidad de que su antesis o floración ocurra durante la noche; sus flores hermafroditas alcanzan unos 30 a 40 cm para maximizar el atractivo de los polinizadores y permanecen abiertas durante una sola noche, ya que este proceso hace que la planta gaste mucha más energía, por lo cual reduce su tiempo de vida. Esto también tiene que ver con una estrategia para perder menos agua, considerando que los cactus en general provienen de regiones áridas (Borini, 2017).

En cuanto a su propagación esta se puede multiplicar por semillas (sexualmente) o mediante esquejes (asexualmente), siendo este último sistema el más usado por los cultivadores por ser el más sencillo, más económico y porque los resultados de producción son mayores, permitiendo que el área de cultivo se esté expandiendo rápidamente en muchos países debido a su potencial económico y su beneficio nutricional (Borini, 2017).

Todas las variedades de pitahaya son apreciadas por su contenido de compuestos bioactivos presentes, tanto en la pulpa como en la cáscara, entre los cuales resaltan las sustancias antioxidantes como por ejemplo las betalaínas y compuestos polifenólicos como los hidroxicinamatos; de oligosacáridos con funciones prebióticas, y de mucílago (fibra soluble). Los compuestos bioactivos y la

capacidad antioxidante de las diferentes partes del fruto han sido más estudiadas en las variedades de cáscara roja que en la amarilla (Choo *et al.*, 2016). Sin embargo, se ha descubierto recientemente que las semillas de esta variedad, contienen mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA por sus siglas en Inglés), específicamente ácido linoleico (65,4% de los ácidos grasos), en comparación con las variedades de cáscara roja (*H. polyrhizus* y *H. undatus*). La ingesta frecuente de jugo de pitahaya ha sido relacionada con la regulación del azúcar en la sangre y la mejora del metabolismo del colesterol (Choo *et al.*, 2016; Shahidi y Alasalvar, 2016). En lo que respecta a la composición proximal de la fruta, Lim (2012), reporta que la pulpa de pitahaya contiene 1,1 % de proteínas; 11,34 % de fibra; 85,3 % de humedad y 0,57 % de grasa. De igual forma, indica que por cada 100 g de pulpa aporta 10,2 mg de calcio, 38,9 mg de magnesio y 27,5 mg de fósforo (p. 652).

La cáscara de pitahaya ha demostrado propiedades nutracéuticas importantes. Se ha reportado que la cáscara de la fruta del dragón es una fuente ideal de pectina (Chua, Ng Yee & Amena, 2018). El consumo regular de pectina otorga un efecto benéfico a la salud ya que disminuye los niveles séricos de lípidos y glucosa, ayudando a prevenir enfermedades como diabetes y dislipidemias. Estas propiedades hacen a la pectina idónea para enriquecer en fibra soluble a alimentos de alto consumo (Ortiz y Anzola, 2018). En un estudio, la cromatografía líquida de alta resolución reveló que la pectina de la fruta del dragón está constituida predominantemente por ácido galacturónico (39,11%), seguido por concentraciones moderadas de manosa, ramnosa, galactosa, glucosa y cantidades menores de xilosa y

arabinosa (Muhammad *et al.*, 2014). En trabajos posteriores, se demostró que aplicando la extracción asistida por microondas se puede dar lugar a una pectina de cáscara de pitahaya de alta calidad con un rendimiento máximo del 18,53%. La pectina extraída reportó una alta cantidad de propiedades, incluyendo el 67,5% de ácido galacturónico contenido (GA) y 49,84% de grado de esterificación (DE), que fueron comparables a la pectina cítrica (53,62%) (Rahmati *et al.*, 2015).

Con respecto a la pulpa de pitahaya, se le atribuyen propiedades nutracéuticas importantes, además de ser muy versátil; por ejemplo, su extracto se puede usar en la elaboración de bebidas fermentadas (donde la fermentación aumenta los compuestos fenólicos, pero disminuye la actividad antioxidante y la carga microbiana) y la harina de pitahaya para nuevos productos de panificación (Verona, Urcia y Paucar, 2020).

De igual forma, se ha reportado en la pulpa de la fruta la presencia de compuestos fitoquímicos como carotenos y licopenos, así como también de vitamina C (Revista Alimentaria, 2020). Asimismo, de acuerdo a una investigación del World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences en 2018, se determinó que las semillas contienen ácidos grasos, incluidos los ácidos grasos omega-3 y omega-9, coadyuvantes en la reducción de los niveles de colesterol LDL y el aumento del colesterol HDL (Revista Alimentaria, 2020); así como aceites naturales considerados como beneficiosos para la salud cardíaca de un individuo, por lo cual, el consumo regular de pitahaya amarilla puede mejorar la salud humana (Altuna *et al.*, 2018).

Particularmente, en la especie *Hylocereus megalanthus*, se ha encontrado que el aceite de su semilla presenta alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados. Los cinco principales ácidos grasos encontrados fueron: ácido palmítico (11,52%), ácido esteárico (4,26%), ácido oleico (11,09%), ácido vaccénico (3,08%) y ácido linoleico (69,98%) (Altuna *et al.*, 2018). Siendo el más importante el ácido linoleico, ya que este funciona en el organismo como buffer capturando el colesterol generando un efecto cardiotónico. Cada fruta tiene aproximadamente 650 semillas de color negro o café, la longitud de la semilla varía entre 2 a 4 mm (Huachi *et al.*, 2015). Por su composición de ácidos grasos, las semillas de pitahaya amarilla podrían ser utilizadas en la industria de alimentos para diferentes propósitos.

Clasificación de las sustancias pécticas

Protopectina: Llamada pectosa o pectina insoluble, se denomina así porque es la precursora de la pectina. En mayor parte se localizan en las capas intercelulares primarias. En la Protopectina se reúnen todos los compuestos pécticos no solubles que fácilmente se desintegran. Al tratarla por hidrolisis mediante varios procedimientos que son: tratamiento con ácidos, agentes de intercambio de iones o enzimas, se obtiene pectinas o ácidos pécticos. La protopectina insoluble que posee un 100% de grado de esterificación, se transforma en pectina soluble al perder metóxilos, lo que conlleva a la pérdida de firmeza de los frutos; por esto la mayor cantidad de protopectina se halla en los tejidos de frutos no maduros. Todos los carboxilos de las protopectinas están esterificados (León y Riveros, 2014).

Ácidos pécticos o poligalacturónicos: Son cadenas formadas por la unión de ácidos galacturónicos cuyos grupos carboxílicos no se encuentran esterificados por el grupo metilo (COOCH_3); debido a esto, su grado de esterificación es de 0% y contienen alrededor de 100 – 200 unidades de ácido galacturónico (Sista & Qin, 2018).

Ácidos pectínicos o pectinas: Se generan a partir de la protopectina cuando esta ha perdido los grupos metóxilos que están unidos al ácido galacturónico; es decir; son ácidos poligalacturónicos que presentan algún grado de esterificación (León y Riveros, 2014).

Sin embargo, también se puede clasificar a las pectinas de acuerdo a su proceso de extracción de la pared celular en:

Pectinas solubles en agua: Son extraíbles en agua o soluciones salinas. Están conformadas primordialmente por homogalacturano y el ácido galacturónico (Gamboa, 2009).

Pectinas solubles en quelantes: Extraíbles mediante soluciones de agentes quelantes de calcio como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), hexametáfosfato de sodio o ácido ciclohexanodiaminotetraacético (CDTA). Su composición es muy similar a las pectinas solubles en agua, sin embargo; se diferencian en que pueden presentar un 2% de ramnosa, sustituyendo principalmente al ácido galacturónico en la cadena principal y de 10 a 20% de otros azúcares en las cadenas laterales (Gamboa, 2009).

Reacciones de las pectinas

Lo que diferencia a las pectinas entre sí, es su contenido en metóxilos llamados esteres metílicos (COOCH_3) que es definido como el número de residuos de ácido D-galacturónico esterificado o metoxilados por el alcohol, sobre el total de ellos, expresado en tanto por ciento y se divide de acuerdo al grado de esterificación (Hartel, von Elbe & Hofberger, 2017). La función principal del grupo metoxílico, es la formación del gel mediante su interacción con los otros componentes del medio en el cual se encuentre. Si existe carencia de este componente en la estructura del ácido galacturónico difícilmente puede gelificar (León y Riveros, 2014).

Desde el punto de vista de la tecnología alimentaria la propiedad más importante de las pectinas es su aptitud para formar geles. Por lo que el grado de metoxilación, es definido como la relación entre los grupos metóxilos y aquellos ácidos libres presentes en la cadena molecular de la pectina, por lo que el grado de metoxilación influye en las propiedades de la pectina, en particular de la gelatinización (Sosa Ingredientes, 2021). Por otra parte, el ritmo de gelificación disminuye cuando disminuye el grado de esterificación, los geles de pectina de alto metóxilo son más rápidos en alcanzarse que los de bajo metóxilo (Alfonso, 2010). Así, cuando más de la mitad de los grupos carboxilo están en la forma de éster metílico (COOCH_3), las pectinas se clasifican como pectinas con un alto grado de esterificación y las pectinas con menos de la mitad de los grupos carboxilo en la forma de éster metílico se denominan pectinas de bajo grado de esterificación (Hartel, von Elbe & Hofberger, 2017).

Pectinas con alto grado de esterificación: La primera condición para obtener geles de pectina de alto metóxilo, es que el pH sea bajo para que los grupos ácidos, minoritarios, se encuentren fundamentalmente en forma no ionizada, y no exista repulsión entre cargas. A pH 3,5 aproximadamente la mitad de los grupos carboxilo del ácido galacturónico se encuentran ionizados, pero por debajo de pH 2 el porcentaje es muy pequeño (Calvo, 2000). Las pectinas con alto índice de metóxilo, que determinan el grado de esterificación con radicales metílicos, contienen entre el 50 – 80 % de unidades del ácido poligalacturónico esterificadas y por lo tanto no reaccionan con iones de calcio. El poder de gelación depende, entre otros, del contenido de ácido, del tipo de pectina y de la cantidad de sólidos solubles que generalmente es más del 55 %. Tienen la capacidad de formar geles en pH ácido (2,0-4,5) en presencia de sólidos solubles (60 – 65 %) e incluso a temperaturas elevadas; sufren rápidas degradaciones en medios alcalinos. Estas pectinas producen geles más rígidos y sólidos que los de menor esterificación (León y Riveros, 2014).

Pectinas de bajo grado de esterificación: En el caso de las pectinas de bajo metóxilo, el mecanismo de formación de geles es totalmente distinto, ya que la unión entre cadenas se produce a través de iones de calcio, que forman puentes entre las cargas negativas (Calvo, 2000). Las pectinas con bajo índice de metóxilo, son las que tienen menos del 50% de unidades esterificadas del ácido poligalacturónico y por lo tanto forman geles con sólidos solubles que contienen iones calcio (León y Riveros, 2014). La concentración de calcio es importante hasta llegar a una cierta cantidad, que depende de cada tipo concreto de pectina, y que se conoce como saturación de

calcio; suele estar en torno a las 500 ppm (Calvo, 2000). El poder de gelación depende del pH (2,8 - 6,5) y de la concentración de iones calcio, lo cual influye en la estructura básica del gel (León y Riveros, 2014).

Bases Legales

Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN)

La norma venezolana que rige la declaración de propiedades nutricionales y de salud en el rotulado de los alimentos envasados (COVENIN, 1997), no hace alusión alguna a los nutraceuticos. De acuerdo a Caldera (2017), esto es debido a dos razones, la primera es que al ser considerados alimentos, estos deberían regirse a la normativa COVENIN antes mencionada; la segunda es que estas normas e instrumentos legales no están actualizados (p. 13).

En los diferentes instrumentos legales que regulan esta materia en el mercado venezolano no existe uniformidad en la denominación de productos con vitaminas u otros factores esenciales de la nutrición, es decir, pueden ser comercializados bajo el nombre de complemento alimenticio o suplementos dietéticos (Caldera, 2017, p. 13). Sólo se identifica una norma técnica que alude directamente a los complementos y es específica sólo para complementos alimenticios de vitaminas y minerales (Norma COVENIN 10:12-001), aunque también existe la norma 2729-90 que establece los principios para el uso de productos proteínicos vegetales en la suplementación y complementación de alimentos.

Dietary Supplements Health and Education Act (DSHEA)

Reglamenta los suplementos nutricionales y sus ingredientes. Acepta alegaciones generales, estructurales y de función fisiológica. Determina el uso obligatorio de frases alertando que un producto no se destina a tratar, curar o prevenir enfermedades (NIH, 1994a).

FOSHU

En las últimas décadas del siglo pasado, Japón concluyó que para controlar sus crecientes gastos en salud pública, era necesario proporcionar también una mejor calidad de vida a la población, por lo cual dispuso de una legislación específica desde 1991 que permite la comercialización y el etiquetado de lo que denominan “Alimentos para uso específico en la salud” (Food for Specified Health Use, FOSHU por su siglas en inglés). Esta denominación se refiere a aquellos alimentos procesados que contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutritivo (Shimizu, 2003). De acuerdo a Yamada *et al.* cit. en Valenzuela *et al.*, (2014):

Los FOSHU se caracterizan por tener efectos benéficos específicos en la salud del consumidor como resultado de sus ingredientes (prebióticos, probióticos, antioxidantes, ácidos grasos omega-3, ácido fólico, fitoesteroles, fitoestrógenos, entre otros), o porque se le han removido aquellos componentes del alimento que pueden tener un efecto perjudicial en la salud, como por ejemplo la remoción de alérgenos, irritantes, hipercalóricos, entre otros. (p. 200)

Food and Drug Administration (FDA)

La Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en Inglés), anteriormente exigía estudios y pruebas científicas rigurosas que documentaran la eficacia y seguridad del producto antes de su distribución y comercialización al consumidor final. Actualmente solo controla el mercadeo de los productos; evalúa los efectos secundarios de un alimento, ingrediente, aditivo o compuesto, siempre y cuando se reporten reacciones adversas por parte de los consumidores, para lo cual esta entidad tiene determinados protocolos para la realización de dichos reportes (Rojas *et al.*, 2015).

Functional Food Science in Europe (FUFOSE)

Creado por la Unión Europea y coordinado por el International Life Science Institute (ILSI) Europe, su objetivo es desarrollar y establecer un enfoque científico sobre las pruebas que se necesitan para respaldar el desarrollo de productos alimenticios que puedan tener un efecto beneficioso sobre una función fisiológica del cuerpo y mejorar el estado de salud o bienestar de un individuo y/o reducir el riesgo de que desarrolle enfermedades (Ashwell, 2002).

Nutritional Labelling and Education Act (NLEA)

Data del año 1990 y establece criterios para la rotulación de alimentos. Autoriza indicaciones para alimentos solamente en una condición de relación nutriente - disfunción y cuando esté científicamente comprobado. Posee en la actualidad nueve alegaciones aprobadas (NIH, 1994b).

Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Food (PASSCLAIM)

Tiene como objetivo resolver los temas relativos a la validación y verificación científica de alegaciones y la información al consumidor. El PASSCLAIM pretende establecer criterios comunes para evaluar la confirmación científica de las alegaciones de salud y proporcionar la base para la preparación de informes científicos que respalden dichas alegaciones (Sociedad Española de Cardiología, 2007).

Definición de Términos Básicos

Análisis proximal: Determina la calidad de los alimentos por los componentes nutricionales que forman parte de la dieta alimenticia tales como: proteínas, carbohidratos, lípidos, fibra, humedad y cenizas, mediante una evaluación química de la materia que compone a los nutrientes (Quintín, 2012).

Capacidad antioxidante: Es la capacidad que tiene un determinado alimento de reducir significativamente los efectos adversos de los radicales libres tanto oxigenados como nitrogenados, durante el funcionamiento fisiológico normal del cuerpo humano. Se debe a una, o a la sinergia de varias de las sustancias existentes en los alimentos y puede medirse por diferentes técnicas analíticas (Castillo, 2012).

Colesterol: Lípido presente en la sangre y en todos los tejidos del cuerpo humano y de los animales. Está virtualmente ausente en los alimentos de origen vegetal. Es sintetizado en el hígado y en la pared intestinal. Su excreción se hace por la bilis, donde se encuentra en micelas formadas por sales biliares y lecitina y también es oxidado en el hígado a los ácidos biliares primarios (Patiño, 2006).

Compuestos fitoquímicos: Son sustancias químicas presentes de forma natural en las plantas, donde ejercen funciones de protección contra insectos y microorganismos. Si bien no son considerados nutrientes pues no son indispensables para el funcionamiento normal del cuerpo, se ha comprobado que su ingesta ejerce un efecto beneficioso para la salud y juega un papel activo en la mejora y la protección contra ciertas enfermedades. Entre los principales fitoquímicos presentes en los alimentos se encuentran los carotenoides y los compuestos fenólicos como los flavonoides y los taninos (García, 2007, p. 22)

Dislipidemias: Son un conjunto de trastornos causados por alteración del perfil lipídico (Dávila Alcalá *et al.*, 2018, p.124). Las dislipidemias se definen de acuerdo al consenso del Colegio Americano de Endocrinólogos Clínicos y el Colegio Americano de Endocrinología (Jellinger *et al.* cit. en Dávila Alcalá *et al.*, 2018, p. 125), en:

- a) Hipoalfalipoproteinemia: colesterol de lipoproteínas de alta densidad (c-HDLc) < 40 mg/dL.
- b) Hipertrigliceridemia: triglicéridos \geq 150 mg/dL.
- c) Hipercolesterolemia: colesterol total \geq 200 mg/dL.

- d) Colesterol de lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) elevado: c-LDL ≥ 130 mg/dL.
- e) Dislipidemia aterogénica: hipertrigliceridemia más disminución de c-HDL (< 50 mg/dL en hombres y < 40 mg/dL en mujeres).

High Density Lipoproteins (HDL): Sintetizadas por el hígado e intestino, contiene muy pocas grasas, y de ahí que son menos ligeras; en la superficie de estas partículas tiene lugar la esterificación del colesterol con la lecitina por la acción de la enzima LCTA (Lecitin Colesterol Acil Transferasa), y así será conducido hacia el hígado, donde se transformará en ácidos biliares o será expulsado su exceso con la bilis hacia el intestino (Lajusticia, 2002).

Low Density Lipoproteins (LDL): Formadas a partir de las VLDL, están compuestas fundamentalmente por ésteres de colesterol y en su parte externa por β -proteínas y fosfolípidos. Su función es la síntesis de hormonas y membranas celulares (Lajusticia, 2002).

Método terminal Seno venoso retroorbitario: El animal es anestesiado antes de comenzar el procedimiento (falta de reflejos al pinchar la almohadilla plantar, relajación y respiración regular). El animal se dispone en decúbito prono con la cabeza hacia el operador. Se utiliza el índice y pulgar para retraer la piel de la cara y protruir el globo ocular. Posteriormente se inserta un capilar de microhematocrito heparinizado por la parte superior del globo ocular en dirección medial hasta romper el seno orbitario y obtener la muestra deseada (Dyce, Sack & Wensing, 2012).

Pectina: Son polisacáridos estructurales de la pared celular vegetal, compuestos principalmente de unidades de ácido galacturónico con variaciones en su composición, estructura y peso molecular. Este polisacárido se asocia a menudo con otros componentes de la pared celular, como la celulosa, hemicelulosa y lignina (Lara *et al.*, 2018; Calvo, 2000).

Sustancia bioactiva: Estas sustancias intervienen en el metabolismo secundario de los vegetales; son pigmentos, sustancias aromáticas, reguladores del crecimiento, protectores naturales frente a parásitos y otros, que no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no son considerados esenciales para la salud humana, pero que pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad (Palencia, 2011).

Very Low Density Lipoproteins (VLDL): Formadas en el hígado, conducen hacia las células fosfolípidos, colesterol y los triglicéridos sintetizados en el hígado a partir de los hidratos de carbono, para almacenarlos en el tejido adiposo (Lajusticia, 2002).

Hipótesis

El consumo del producto nutracéutico a base de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) actúa efectivamente sobre la regulación de los niveles de colesterol.

Sistema de Variables

Variable independiente: Producto nutraceutico (Dosificación administrada en gramos del producto).

Variable dependiente: Hipercolesterolemia (Niveles de colesterol mg/dL).

Variables intervinientes: Dieta del animal, género del animal, consumo del producto nutraceutico, días de estudio.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo y Diseño de la Investigación

La presente investigación fue de tipo explicativa, ya que se buscó el porqué de los hechos mediante el establecimiento de relaciones causa-efecto (Arias, 2016, p. 26). De acuerdo con el tipo de diseño de la investigación, fue experimental con pre prueba y post prueba, ya que se controló el ambiente del fenómeno a estudiar (Hernández, 2014, p. 143). Según la naturaleza de la información que se recolectó fue un estudio cuantitativo, ya que comprendió el registro, análisis e interpretación del efecto que produjo el producto nutracéutico a base de pitahaya sobre la regulación de los niveles de hipercolesterolemia (Hernández, 2014, p. 4).

Población y Muestra

En este sentido, una investigación puede tener como propósito el estudio de un conjunto numeroso de objetos, individuos, e incluso documentos. A dicho conjunto se le denomina población. La población, o en términos más precisos población objetivo, es un conjunto finito o infinito de elementos con características comunes para los

cuales serán extensivas las conclusiones de la investigación. Ésta queda delimitada por el problema y por los objetivos del estudio (Arias, 2016, p. 81).

Por tanto, para la elaboración del producto nutracéutico, se utilizó pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) y gelatina sin sabor. Para dicho proceso se empleó 5 Kg del fruto (usando tanto la pulpa como la cáscara), la cual fue adquirida por medio de producción local, en la Finca Paraguachoa, en el Caracueyal ubicado en Santa Ana del Norte, municipio Gómez, Isla de Margarita, en el estado Nueva Esparta; así mismo se emplearon 150 g de gelatina sin sabor, marca “Yelight”, de Alfonso Rivas & CIA, siendo adquirida en un mercado local del municipio Libertador, en la ciudad de Mérida, estado Mérida.

Por su parte, para evaluar los efectos del nutracéutico sobre la hipercolesterolemia, se utilizaron en total 26 animales de laboratorio de la especie *Mus musculus*; en función de ello, se distribuyeron de la siguiente manera: 6 animales se emplearon para la realización de la prueba piloto y 20 animales para llevar a cabo el proyecto; finalmente fueron manipulados en el Bioterio de la Universidad de Los Andes, Sector Santa Rosa, de la ciudad de Mérida, estado Mérida.

Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

El desarrollo de la investigación se llevó a cabo en tres fases: fase I ensayos preliminares y elaboración del producto nutracéutico, fase II análisis proximal del producto elaborado, y por último la fase III determinación del efecto del producto

nutracéutico sobre la regulación de los niveles de colesterol. A continuación se describen cada una de las fases:

Fase I: Ensayos preliminares para la elaboración del nutracéutico

Inicialmente se realizaron una serie de ensayos previos para determinar la fórmula final que permitiera obtener un producto con características deseables en relación a consistencia y textura, similar a una gomita. Dichos ensayos son expuestos a continuación:

1.1 Obtención del extracto de pectina

Para la obtención del extracto de pectina a partir de la cáscara de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*), se utilizó un tratamiento de extracción artesanal. De acuerdo con León y Riveros (2014), la extracción se basa en una hidrólisis, separación y recuperación de la pectina; la protopectina se hidroliza, preferiblemente en medio ácido diluido en caliente, removiendo así, no solo la pectina sino también otros productos tales como polisacáridos neutros y gomas. También afirma, que el grado de esterificación final depende de la temperatura, del pH y de la duración del tratamiento, consiguiendo obtener pectinas de alto y bajo metóxilo. Según estudios, la pectina en la fruta del dragón tiene condiciones óptimas de extracción; temperatura: 73 °C, tiempo: 67 min; pH 2,03 (Muhammad *et al.*, 2014).

Los ensayos se realizaron con la finalidad de observar, describir y cuantificar el rendimiento del producto, definiendo el producto permitiendo establecer el esquema tecnológico de la gomita. Dichos resultados son descritos en la Tabla 1.

Tabla 1

Ensayos Preliminares para la Obtención del Extracto de Pectina de Pitahaya (Selenicereus megalanthus).

Ensayo	Ingredientes		Total del volumen del extracto de pectina	Características	Observaciones
	Cáscara de pitahaya	Agua			
1	57 g	300 mL	114 mL	Mezcla homogénea de consistencia líquida y textura tipo almíbar.	Poco rendimiento del producto. Apariencia líquida.
2	262 g	1,3 L	630 mL	Mezcla homogénea de consistencia líquida, textura ligeramente espesa tipo néctar.	Mayor rendimiento. Apariencia ligeramente espesa.

Inicialmente se seleccionaron frutas de pitahaya madura, esto siguiendo las especificaciones de la tabla de color de la Norma Técnica Colombiana (ICONTEC, 1996). Se procedió a cortar la fruta a la mitad (transversalmente) separando la cáscara de la pulpa (Anexo 1).

1- En primer lugar, en una olla se agregó 57 g de cáscara de pitahaya madura, adicionando 100 mL de agua a 20 °C, luego en una cocina eléctrica marca Chambers, fue sometida a calentamiento constante en alta intensidad, hasta

alcanzar el primer hervor donde se incorporó 100 mL de agua, mezclando constantemente hasta el siguiente hervor donde finalmente se adicionó los últimos 100 mL de agua y se mantuvo la agitación hasta alcanzar el siguiente hervor. Luego, se retiró la olla de la hornilla y se procedió a filtrar (colar). De este proceso se obtuvo 114 mL de extracto de pectina como producto final. Se descartó este ensayo ya que el rendimiento del producto era mínimo y la textura muy líquida, por lo que se decide realizar una segunda prueba buscando mayor concentración y rendimiento.

- 2- Considerando aumentar el rendimiento del extracto, se realizó ajustes en la distribución del volumen total del agua, concretando su adición en cuatro partes, iniciando con el 60 % del volumen total. Luego, fueron incorporados progresivamente durante el proceso de cocción el 20 %, el 10 % y finalmente el volumen restante (10 %). Así también, se decidió incrementar el número de extracciones utilizando el residuo.

Entonces, utilizando una proporción de 60 g de cascara por cada 100 mL de agua, se empleó 276 g de cáscara de pitahaya madura y 460 mL de agua. Mediante un proceso de cocción (Anexo 2), con agitación continua fueron incorporándose los porcentajes antes mencionados de agua, en el momento que iniciaba el hervor de la mezcla. Al alcanzar el último hervor se retiró de la hornilla y se procedió a filtrar el líquido. Obteniendo un total de 253 mL de extracto de pectina, de color oscuro y de consistencia espesa.

Extracción de pectina a partir del residuo de cáscara

- a.** El residuo de la cáscara remanente de la extracción de la pectina (240 g) fue sometido nuevamente a una extracción junto con 400 mL de agua como volumen total, manteniendo la proporción y el protocolo anterior. Obteniendo un total de 197 mL de extracto de pectina. Este segundo extracto fue un poco más fluido y de aspecto turbio.
- b.** Por último, se realizó un tercer extracto; usando el residuo de la extracción anterior (237 g) junto con 395 mL de agua, conservando la proporción y el protocolo establecido. De este modo, se obtuvo un total de 180 mL de extracto de pectina. Este extracto fue menos concentrado, más claro y mucho más fluido.

Finalmente cumpliendo con las normas de higiene y manipulación de alimentos, se procedió a unificar los tres últimos extractos de pectina (Anexo 2), obteniendo un volumen total de 630 mL (Anexo 3); en un envase de plástico (previamente rotulado) para su posterior refrigeración. A partir de ello se describe el esquema tecnológico del extracto de pectina a partir de la cáscara de pitahaya en la Figura 1.

1.2 Obtención del producto nutracéutico

Para la obtención del producto nutracéutico, se realizaron múltiples ensayos preliminares con la finalidad de buscar las características deseadas en base a consistencia y textura. Los resultados de estas pruebas preliminares son expuestos en la Tabla 2.

El ensayo para la obtención del producto nutracéutico, inició con el propósito de obtenerlo a expensas netamente de la fruta de pitahaya (Sin aditivos), partiendo con una proporción mayor de pulpa en relación al extracto de pectina, ya que la evidencia científica reporta que la pulpa posee más efectos beneficiosos para la salud.

Figura 1

Esquema Tecnológico del Extracto de Pectina de Pitahaya (Selenicereus megalanthus).

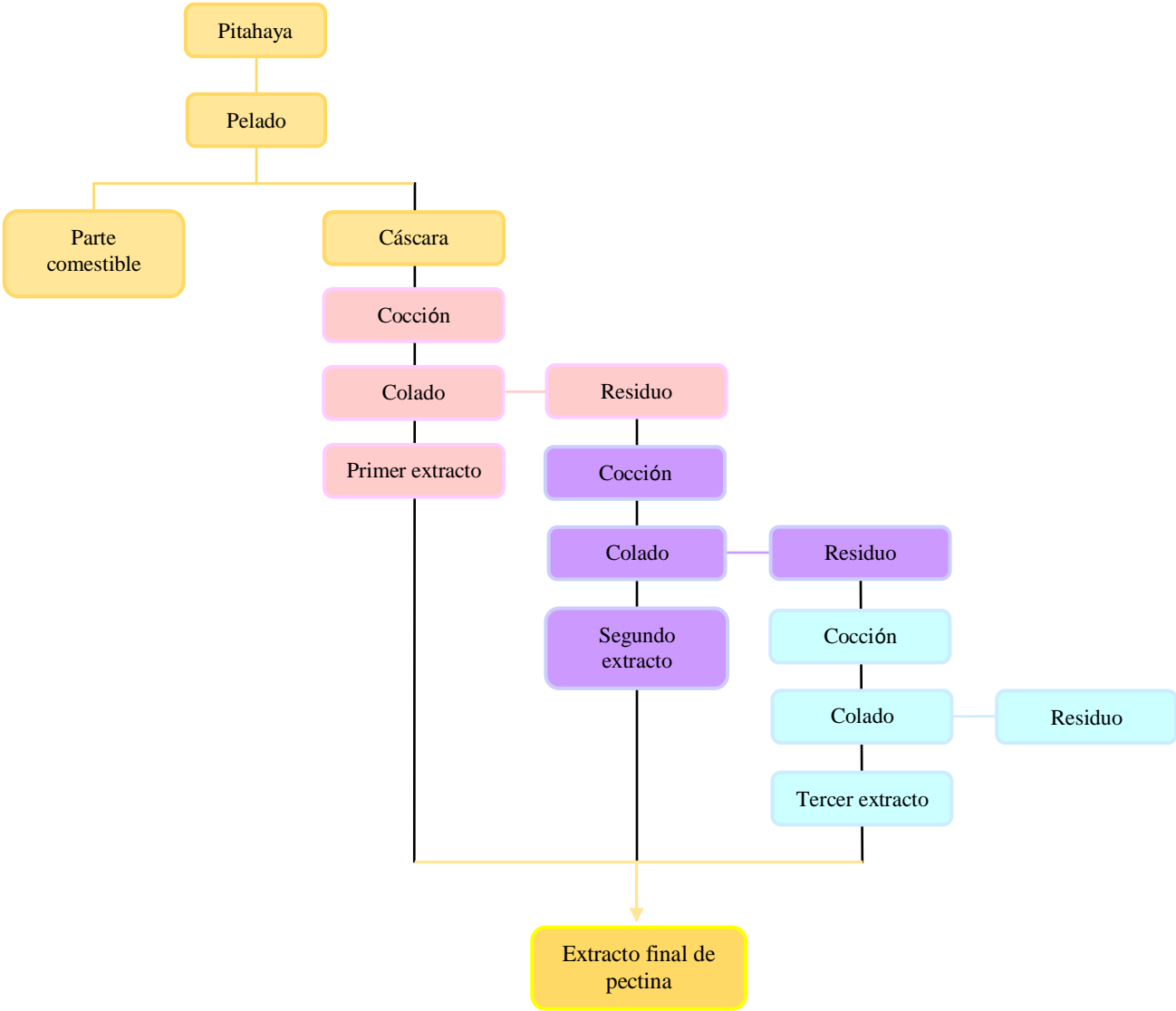


Tabla 2*Ensayos Preliminares para la Obtención Final del Producto Nutracéutico.*

	Ingredientes			Características	Observaciones
	Pulpa de pitahaya	Extracto de Pectina	Gelatina sin sabor		
1	219 g	50 mL	---	Mezcla homogénea de textura tipo puré.	No se logró la gelificación del producto.
2	34,5 g	57 mL	---	Mezcla homogénea de consistencia líquida, textura moderadamente espesa tipo miel.	Buen sabor, ligeramente más dulce. No logró gelificar por completo.
3	69 g	50 mL	---	Mezcla homogénea de consistencia líquida, ligeramente espesa.	No logró gelificar por completo.
4	34,5 g	40 mL	2 g	Mezcla homogénea de consistencia líquida y textura muy espesa (tipo miel).	Sabor desagradable. Textura aglutinada en el producto final (gomita).
5	69 g	50 mL	2,5 g	Mezcla homogénea de consistencia líquida textura moderadamente espesa (tipo miel).	Buen sabor. Consistencia (gomosa) y textura (elástica) deseada de la gomita.

1. Para el primer ensayo, se utilizó una proporción de 4,38:1 es decir, por cada 4,38 g de la pulpa se añadió 1 mL de extracto de pectina de pitahaya. Estos

ingredientes (219 g de pulpa y 50 mL de pectina) fueron procesados en una licuadora Oster® modelo 0465 de dos velocidades, a 12.000 rpm, por noventa (90) segundos; con el fin de conservar algunas semillas enteras, que puedan ser visibles en el producto final. Se obtuvo un total de 230 mL de esta preparación. Sin embargo; la fórmula fue rechazada ya que el producto luego de la refrigeración no logró gelificar, manteniendo la textura inicial tipo puré.

2. Se realizó un segundo ensayo manteniendo el proceso de elaboración, pero utilizando una proporción 0,60:1 es decir, por cada 0,60 g de pulpa de pitahaya se agregó 1 mL de extracto de pectina de pitahaya. Se usó 34,5 g de pulpa de pitahaya y 57 mL de pectina, se produjo un total de 70 mL de esta preparación. Sin embargo, el producto final tampoco logró gelificar por completo luego de la refrigeración, aunque la consistencia era más firme que la anterior y el sabor mejoró considerablemente.
3. En el tercer ensayo se mantuvo el proceso de elaboración; no obstante, se realizó un ajuste en la proporción usando una relación 1,38:1. Es decir por cada 1,38 g de la parte comestible de pitahaya se añadió un mL de extracto de pectina. Se utilizó 69 g de la parte comestible y 50 mL de extracto de pectina, generando un volumen final 100 mL de esta mezcla. El producto, luego de la refrigeración, no logró gelificar por completo, pero la textura final se acercaba a la deseada. Por lo que se decide realizar más ensayos incorporando un aditivo gelificante hasta conseguir la consistencia deseada.
4. Se realizó una cuarta prueba, empleando una proporción 0,86:1 es decir, por cada 0,86 g de pulpa de pitahaya se agregó 1 mL de extracto de pectina, además se

agregó un agente gelificante de origen animal (Gelatina sin sabor). Se usaron 34,5 g de pulpa, 40 mL de extracto de pectina de pitahaya y se añadió 2 g de gelatina sin sabor en polvo; la cual fue diluida en baño de María en una parte (15 mL) del extracto de pectina que iba a ser utilizado (37,5 % del volumen total), para evitar adicionar mayor cantidad de agua al proceso. El extracto de pectina con la gelatina se agregó a los 50 mL de mezcla (pulpa + pectina) y se licuó nuevamente a una velocidad de 19.000 rpm. Esta fórmula fue descartada por presentar una consistencia muy dura, similar a un caramelo de regaliz, y un sabor desagradable.

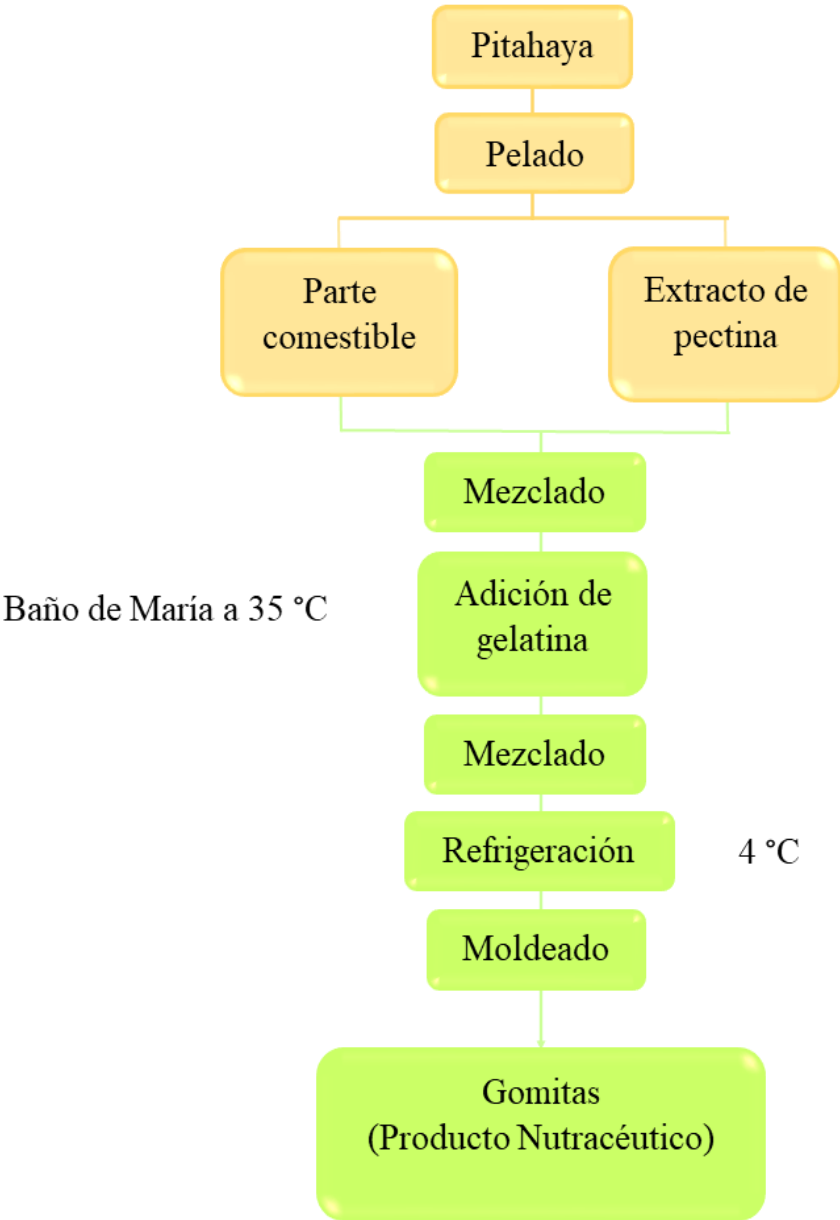
5. Por último, se decidió establecer una proporción 1:1 para evitar un posible sesgo de alguno de los componentes de la pitahaya. Se aumentó la cantidad de gelatina, diluyéndola en la mitad de la porción de la mezcla (2,5 g de gelatina sin sabor en 25 mL) manteniendo el mismo método de preparación. Una vez diluida la gelatina, esta fue incorporada a formar parte del total y se procedió a licuar una vez más para alcanzar una mezcla de aspecto uniforme. Después, se vertió la mezcla en un molde rectangular de acero inoxidable de 2 cm de alto x 50 cm de largo x 30 cm de ancho y se llevó a refrigeración por 15 horas. Una vez gelificado el producto, éste se cortó en pequeñas porciones cuadradas de dos gramos cada una (forma deseada del producto final) (Anexo 4).

En consecuencia a lo anteriormente expuesto, se decidió que con las proporciones del ensayo número 5 se obtenía un producto con las características anheladas y acordes a la de una gomita, con propiedades organolépticas agradables.

Una vez determinada la fórmula final, se describe a continuación el esquema tecnológico de la elaboración del producto nutracéutico en la Figura 2.

Figura 2

Esquema Tecnológico para la Elaboración del Producto Nutracéutico (Gomitas).



Evaluación de las condiciones óptimas de almacenamiento

Una vez establecido el esquema tecnológico, se buscó identificar, de manera informal, el método de conservación que permitiera alcanzar la mayor durabilidad del producto, sin la necesidad de incorporar aditivos, mediante diversos ensayos a temperatura ambiente, refrigeración y congelación. Los resultados obtenidos pueden observarse en el Anexo 5. Para ello, las gomitas fueron distribuidas en cuatro grupos (Refrigeración/cubiertas con film plástico, Refrigeración/sin cubrir, Congelación/cubiertas con film plástico y Temperatura ambiente/sin cubrir), y observadas por un periodo de catorce días. Todas las gomitas presentaron las mismas características iniciales: Brillo, color ocre, consistencia y textura gomosa (Anexo 6).

Las gomitas almacenadas a temperatura ambiente (25°C), sin ser cubiertas comenzaron a presentar cambios físicos al segundo día, como deshidratación, cambio de color, presencia de partículas blancas inodoras presumiblemente mohos, las cuales tuvieron un aumento progresivo hasta el noveno día, reducción a $\frac{3}{4}$ del volumen total, dureza y curvatura (Anexo 7).

Por su parte, las gomitas almacenadas en el refrigerador a temperatura controlada (4 °C) tuvieron comportamientos diferentes a pesar de compartir el mismo ambiente y estar elaboradas con la misma fórmula, debido a la protección al daño por frío que proporciona la envoltura con film plástico (Envoplast)(Espinosa *et al.*, 2010):

- Refrigeración / gomitas cubiertas con papel film: Pasado los trece días este grupo de gomitas mantuvo el mismo volumen y color inicial e incluso mantuvo el brillo,

aunque presentó en su superficie una fina capa de color blanco crema y de apariencia cremosa, presumiblemente mohos (Anexo 8).

- Refrigeración / gomitas sin cubrir: pasado los trece días este grupo de gomitas se tornó más oscura, se deshidrató, por lo que se redujo a 2/3 de su volumen inicial. Sin embargo, no presentó mal olor, cambios en su consistencia ni presencia aparente de partículas mohosas (Anexo 9).

Por el contrario, las gomitas almacenadas en el congelador (-18 °C) mantuvieron las mismas características iniciales pasado los trece días. Es conveniente mencionar que luego de este tiempo las gomitas permanecieron por dos meses en las mismas condiciones de temperatura, observando que aún mantenía las características iniciales e incluso no presentó cristalización (Anexo 10). Es por ello que, se realiza la selección del método de conservación por congelación, cubiertas por papel film.

Fase II: Análisis Proximal

Mediante el análisis proximal se determinó el porcentaje de macronutrientes (proteínas, grasas, carbohidratos, humedad y cenizas) del nutracéutico; luego se logró estimar el aporte calórico del mismo mediante el uso del método propuesto por el químico Wilbur Clin Atwater (Carbohidratos y proteínas 4 Kcal/g, y lípidos 9 Kcal/g respectivamente) (INN, 2012b).

Determinación de Humedad

De acuerdo a lo indicado en la norma COVENIN 2951 (1992) para este tipo de alimentos con elevado porcentaje de carbohidratos, se determinó el porcentaje de humedad en estufa de convección a presión normal a 100 °C por un periodo de ocho (8) horas, según la norma COVENIN 238 (1994), previa evaporación del agua contenida en el alimento utilizando un baño de María.

Determinación de Cenizas

Debido a la naturaleza del producto, se determinó mediante vía húmeda con ácido sulfúrico, de acuerdo a lo indicado en la norma CODEX OENO 18/2003 COEI-2-CENDRE (CODEX Alimentarius, 2003). Para calcular el porcentaje de cenizas se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de cenizas} = (\text{masa de las cenizas} / \text{masa de muestra húmeda}) * 100$$

Determinación de Proteínas

Se realizó a través de la determinación de nitrógeno mediante el método de Kjeldahl, el cual se basa en la digestión de la materia orgánica de la muestra por acción del ácido sulfúrico concentrado y calor; el análisis se realizó en tres etapas: la mineralización, la destilación y la titulación (COVENIN, 1980).

El contenido de nitrógeno de la muestra se determinó mediante la siguiente relación:

$$\% \text{ N (en base húmeda)} = \frac{(V_{\text{HCl muestra}} - V_{\text{HCl blanco}}) * N_{\text{HCl}} * 14}{\text{miligramos de la muestra húmeda}} * 100$$

Donde:

%N = porcentaje de nitrógeno expresado en términos de masa en base húmeda.

V = Volumen de HCl gastados en la titulación (mL).

N_{HCl} = Normalidad del HCl

Luego:

$$\% \text{ de proteínas}_{(BH)} = \%N_{(BH)} \times \text{factor de conversión.}$$

Siendo el Factor de conversión utilizado de 6,25 que es el factor utilizado para alimentos en general.

Determinación de Grasa

A través del método de Soxhlet, el cual consiste en extraer la grasa de la muestra con hexano (COVENIN, 1996). La cantidad de grasa se expresó en términos de porcentaje utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de grasa} = (\text{peso de la grasa} / \text{peso de la muestra}) * 100$$

Determinación de Carbohidratos

Se obtuvo por diferencia al restar los valores porcentuales de humedad, proteínas, lípidos y cenizas del 100 % (INN, 2012b).

Determinación de Calorías

Como se mencionó anteriormente, el aporte calórico se determinó mediante la sumatoria del aporte energético que contiene cada macronutriente por gramo de

alimento, empleando los factores (4, 9 y 4) Kcal/ g para proteínas, lípidos y carbohidratos respectivamente (INN, 2012b).

Determinación de Sólidos Solubles (° Brix)

Se determinó por medio del refractómetro de Abbe, instrumento óptico que se emplea para medir la velocidad de propagación de la luz en un medio, la cual se relaciona directamente con la densidad de dicho medio, indicando los índices de refracción de los fluidos estándar. Las mediciones del índice de refracción se usan ampliamente para aproximar la concentración de azúcar en los alimentos, aunque los valores solo son precisos para las soluciones de sacarosa pura. El hecho de que el índice de refracción de una solución aumente con la concentración, se ha aprovechado en el análisis de sólidos solubles totales de alimentos a base de carbohidratos. Debido a este uso, estos refractómetros se calibran en °Brix (g de sacarosa/ 100 g de muestra), lo que equivale al porcentaje de sacarosa en peso/peso (Nielsen, 2010, p. 224).

Determinación de pH

Se realizó por medio de un pH-metro, el cual es un instrumento electroquímico que tiene como principio básico la potenciometría. Implica el uso de una célula electrolítica compuesta por dos electrodos sumergidos en una solución de prueba, diseñados para producir un potencial de electrodo constante y reproducible, el cual es fácil de convertir en lecturas de pH (Nielsen, 2010, p. 102).

Fase III: Determinación del efecto del producto nutracéutico sobre la regulación de los niveles de colesterol

Para poder validar el estudio, fue necesario realizar una prueba piloto, ya que no se consiguió evidencia científica que respaldara el proyecto propuesto; con el objetivo de considerar las posibilidades de su desarrollo posterior, detectando tanto los posibles fallos o problemas como sus elementos positivos, funcionando así como un primer paso para conseguir información pertinente. De esta manera, también se ensaya la eficacia y pertinencia de los instrumentos y protocolos diseñados. Es importante mencionar, que para esta fase del proyecto fue necesario realizar un curso previo sobre la Manipulación de Animales de Laboratorio en el Bioterio de la Universidad de Los Andes y posterior a ello presentar una propuesta ante el Comité de Ética del Bioterio de la ULA.

Se decidió trabajar con la especie *Mus musculus* Línea BIOU:NMRI (ratones) ya que es el más utilizado en experimentos de laboratorio, debido a que existen multitud de variantes transgénicas que simulan enfermedades humanas y por su alta tasa metabólica. Otra de las características a considerar es que pertenecen a colonias no consanguíneas - heterocigotos, es decir; que no presentan un vínculo de sangre a diferencia de las colonias consanguíneas y han heredado dos formas diferentes de un gen en particular, una de cada progenitor; respectivamente. Además estas colonias suelen tener un mayor número de crías por camada; sin embargo, debían ser destetadas a los 21 días, esto por la posibilidad de que el macho aproveche el post parto y deje preñada nuevamente a la hembra. Finalmente en esta especie no se

presenta el reflejo de vómito, ya que su sistema digestivo presenta una barrera gastroesofágica que prácticamente hace que sea imposible el reflujo, factor importante a considerar al momento de suministrar el producto nutracéutico.

En cuanto al momento de definir al sexar de los grupos, se decidió trabajar con el género masculino ya que al trabajar con hembras, su carga hormonal podría influir en los resultados, además de ser más vulnerables frente al estrés y a desarrollar comportamientos defensivos asociados a la ansiedad, e incluso al momento de extrapolar la dosis, los machos son los más idóneos. Posterior a ello, debían cumplir con un periodo de adaptación de cinco o seis días luego del destete, por lo que fueron entregados con cuatro semanas y cuatro días (Anexo 11). Luego de este periodo de adaptación se decidió esperar unos días más para iniciar el estudio, en vista de que los ratones aun eran muy pequeños y no tendrían el volumen sanguíneo suficiente para realizar la primera toma de muestra sanguínea. Esta adaptación consiste en el cambio de ambiente ya que pasan del bioterio de producción a un bioterio de experimentación.

En cuanto a las características del macroambiente o el ambiente físico y/o espacio secundario, este comprende todo el contenido dentro del cubículo de resguardo; de acuerdo a ello, factores como temperatura, humedad, ventilación e iluminación (fotoperiodo controlado 12:12 h claro/oscurο) no fueron controlados, debido a la falta de los instrumentos y equipos necesarios en el bioterio; es decir, dichos factores dependían exclusivamente del medio externo, mientras que factores como el ruido debían evitarse y los olores no debían ser irritantes ni se debía

enmascarar los olores naturales (es decir, no usar perfumes, desodorantes, cremas, entre otros). Por el contrario, en cuanto al microambiente o ambiente físico inmediato que rodea al animal, está limitado por el perímetro de la jaula. En base a ello, el lecho (cáscara de trigo) hacía posible que los animales permanezcan limpios y secos, a su vez que permite una fácil higiene y una jaula que permitía una ventilación adecuada, fácil acceso al alimento, al agua (previamente esterilizada en autoclave), y a la manipulación del animal, así como también a su observación.

Se estableció que el tiempo de duración del estudio sería de treinta días. Quince días destinados a la inducción de la patología y quince días para administrar el producto nutracéutico, tiempo mínimo necesario para observar cambios en los niveles de colesterol. En relación a la población se decidió trabajar con número de seis ratones machos pertenecientes a la especie *Mus musculus* Línea BIOU:NMRI, de cuatro semanas y cuatro días de edad.

En relación al inicio de la parte experimental de la prueba piloto, se usó el protocolo establecido por Ricafuerte y Lema (2015) para la inducción de la patología, aplicando ciertas variaciones en su metodología:

Antes de la inducción se procedió a la evaluación del nivel de colesterol de los ratones, para lo cual se deja ayunar al animal durante un periodo de 12 a 15 horas dejándoles solamente agua. Transcurrido el tiempo se les extrae sangre, las muestras fueron tomadas mediante la técnica del seno venoso retroorbital, la cual consiste en introducir un capilar de microhematocrito azul, por el seno venoso retroorbital (por

medio de esta vía se puede extraer entre 100 μ L a 200 μ L); y analizada mediante el método enzimático colorimétrico, ya que es un método directo, rápido y específico, basándose en una hidrólisis química (lipasas combinadas con proteasas) para remover ácidos grasos. Estas muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Bioquímica Adaptativa, en la Facultad de Medicina de la Universidad de Los Andes.

Del total de animales se seleccionó un grupo sano con el objetivo de establecer un rango de colesterol para individuos sanos y poder comparar estos niveles con el resto de los grupos a los cuales se les indujo la hipercolesterolemia; por lo cual, el grupo no fue sometido a la fase de inducción de la patología y por tanto no recibió el producto nutracéutico, de modo que su alimentación estuvo basada en una dieta normal (perrarina).

Una vez extraídas las muestras de sangre se procede con la inducción de la patología por medio de una dieta hipercalórica a expensas de grasas, la cual consistió en suministrar *ad libitum* una mezcla de perrarina de la marca TOP DOG (procesada hasta obtener la textura de harina) (Anexo 12) con grasa (manteca de cerdo, calculada en base al 45% del total de gramos de perrarina), que se moldeó en forma de pellets. Esta dieta hipercalórica se mantuvo por un periodo de quince días. La fórmula empleada en cuanto a la cantidad en gramos que debía ser suministrada, fue la siguiente:

6 animales x 5g de comida al día x n° de días transcurridos hasta el siguiente cambio de comida

Transcurridos los quince días de la dieta hipercalórica a expensas de grasa, se realizó la segunda toma de muestras para establecer el nivel de colesterol, reportando

valores que, al compararse con la primera muestra tomada y con el grupo sano, permitieron confirmar la hipercolesterolemia en los ratones de grupos experimentales.

Una vez extraídas las muestras de sangre y establecido el nivel de colesterol de los animales en experimentación, se procedió con la formación de cinco grupos experimentales (Anexo 13), clasificándose en:

- Control: estos grupos serían sometidos a la fase de inducción de la patología pero no recibirían el tratamiento (producto nutracéutico).
 - Control 1: luego de inducida la patología, este animal siguió siendo alimentado con la dieta hiperlipídica.
 - Control 2: luego de inducida la patología, este animal fue sometido a un cambio en la dieta, reemplazando la dieta hiperlipídica por perrarina.
- Tratamiento: luego de inducida la patología estos grupos recibirían el tratamiento (producto nutracéutico), además de modificar la dieta en algunos grupos.
 - Tratamiento 1 (T1): luego de la inducción, su alimentación se modificó, sustituyendo la dieta hiperlipídica por perrarina, además de recibir el producto nutracéutico.
 - Tratamiento 2 (T2): mantuvo las mismas características descritas para T1, con el fin de asegurar la continuidad del estudio en caso de que alguno de los sujetos de estudio de T1 llegara a fallecer durante la primera toma de muestra.
 - Tratamiento 3 (T3): luego de la inducción, mantuvo la dieta inicial de perrarina más grasa y recibió el tratamiento (producto nutracéutico).

A estos grupos de animales en experimentación, una vez inducida la hipercolesterolemia y establecido el nivel de colesterol, se procedió con la administración del tratamiento de manera *ad libitum* y la modificación de la alimentación, por un periodo de quince días.

Se realizó una tercera toma de muestras sanguíneas a los siete días de iniciada la fase de administración del tratamiento y el cambio de dieta, manteniendo la técnica de extracción de sangre y el método de determinación de colesterol en plasma; con el propósito de mantener un seguimiento de los niveles de colesterol durante esta fase.

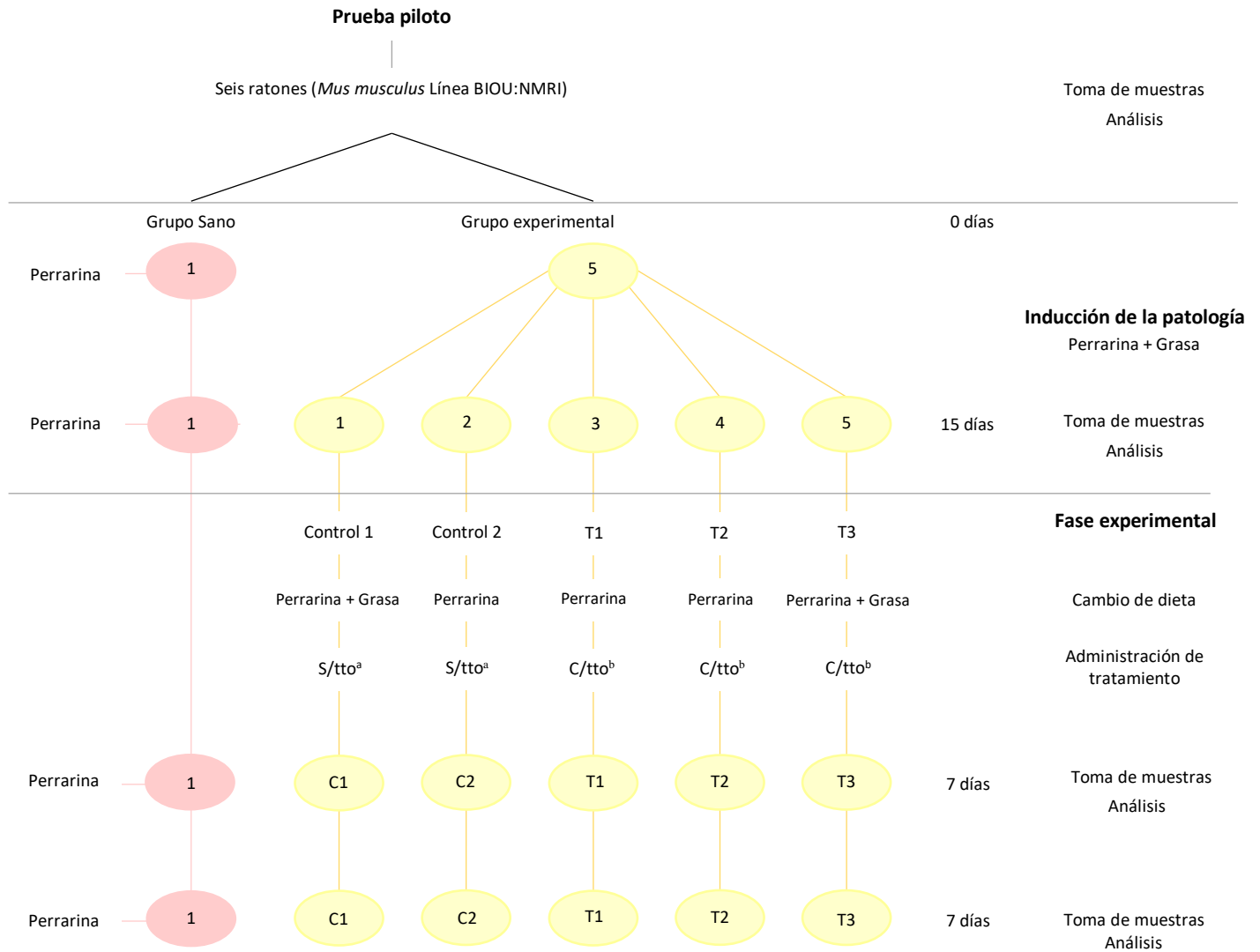
Luego, de siete días para un total de quince días de tratamiento y cambio de dieta, se tomó una cuarta muestra de sangre con el objetivo de evaluar el nivel de colesterol al finalizar el estudio, y validar así la metodología de inducción y el procedimiento experimental para la medición del efecto nutracéutico.

Por último, también fueron consideradas las variables agua, peso y comida durante el proceso. El suministro de agua fue estandarizado por medio de botellas de vidrio de hombros redondos y de tapón con un dispensador de acero inoxidable, con una capacidad para 500 mL de agua (Previamente esterilizada en autoclave), la cual era cambiada cada 6 días. En cuanto al peso del animal este era controlado cada 6 días, para evitar alterar a los ratones y causarles el menor estrés posible; usando una balanza digital marca Dynamics. En lo que respecta a la comida (dieta hiperlipídica o dieta normal), esta se reemplazaba cada 4 días, pues el bioterio no labora los fines de semana.

Finalmente, este proceso experimental se resume de forma esquematizada a continuación en la Figura 3:

Figura 3

Esquema de la Prueba Piloto.



Nota

^a S/tto: Sin Tratamiento.

^b C/tto: Con Tratamiento del producto nutracéutico.

Una vez finalizada la prueba piloto, destacando los elementos positivos y realizadas las correcciones en base a los fallos o problemas detectados; se dio inicio a la experimentación, manteniendo el mismo protocolo antes señalado en la prueba piloto para la inducción de la patología y la administración del tratamiento.

El proyecto tuvo una duración de un mes. Se utilizaron 20 ratones (*Mus musculus* Línea BIOU:NMRI) del género masculino, y de 4 semanas de edad (Anexo 14). Inicialmente, se separaron a los animales en cuatro grupos diferentes de estudio; de cinco animales cada uno, explicados a continuación:

- Grupo Sano: los animales de este grupo no fueron sometidos a la inducción de la patología, por lo que sus valores bioquímicos sirvieron para ser comparados con el resto de los grupos experimentales. Durante todo el estudio, su alimentación fue a base de perrarina y no recibió el producto nutracéutico.
- Grupo Control: luego de quince días tras la inducción de la patología, a este grupo se le cambió la dieta hiperlipídica por perrarina. De este grupo se esperaba un cambio en sus niveles de colesterol en relación con la modificación de la dieta.
- Grupo Tratamiento: luego de dos semanas tras la inducción de la patología estos grupos comenzaron a recibir el tratamiento (producto nutracéutico), y en uno de ellos se aplicó una modificación en la dieta:
 - Tratamiento 1 (T1): este grupo recibió el tratamiento y su dieta fue cambiada por perrarina.
 - Tratamiento 2 (T2): este grupo recibió el tratamiento, pero mantuvo la dieta inicial (perrarina más grasa).

En este sentido, se mantuvo las fases de experimentación establecidas en la prueba piloto. Sin embargo, la toma de muestras sanguíneas se realizó en dos etapas, la primera a los quince días de iniciado el proyecto y la segunda a los treinta días, cuando finalizó el proyecto; manteniendo el método de determinación de colesterol en plasma. En cuanto a la toma de muestras, se utilizaron dos técnicas:

En la primera etapa de toma de muestras se realizó la técnica del seno venoso retroorbital en los animales; exceptuando a cuatro animales pertenecientes a los grupos tratamiento (T1.3, T1.4, T2.3 y T2.4) con el fin de mantener el volumen sanguíneo total hasta el final del proyecto.

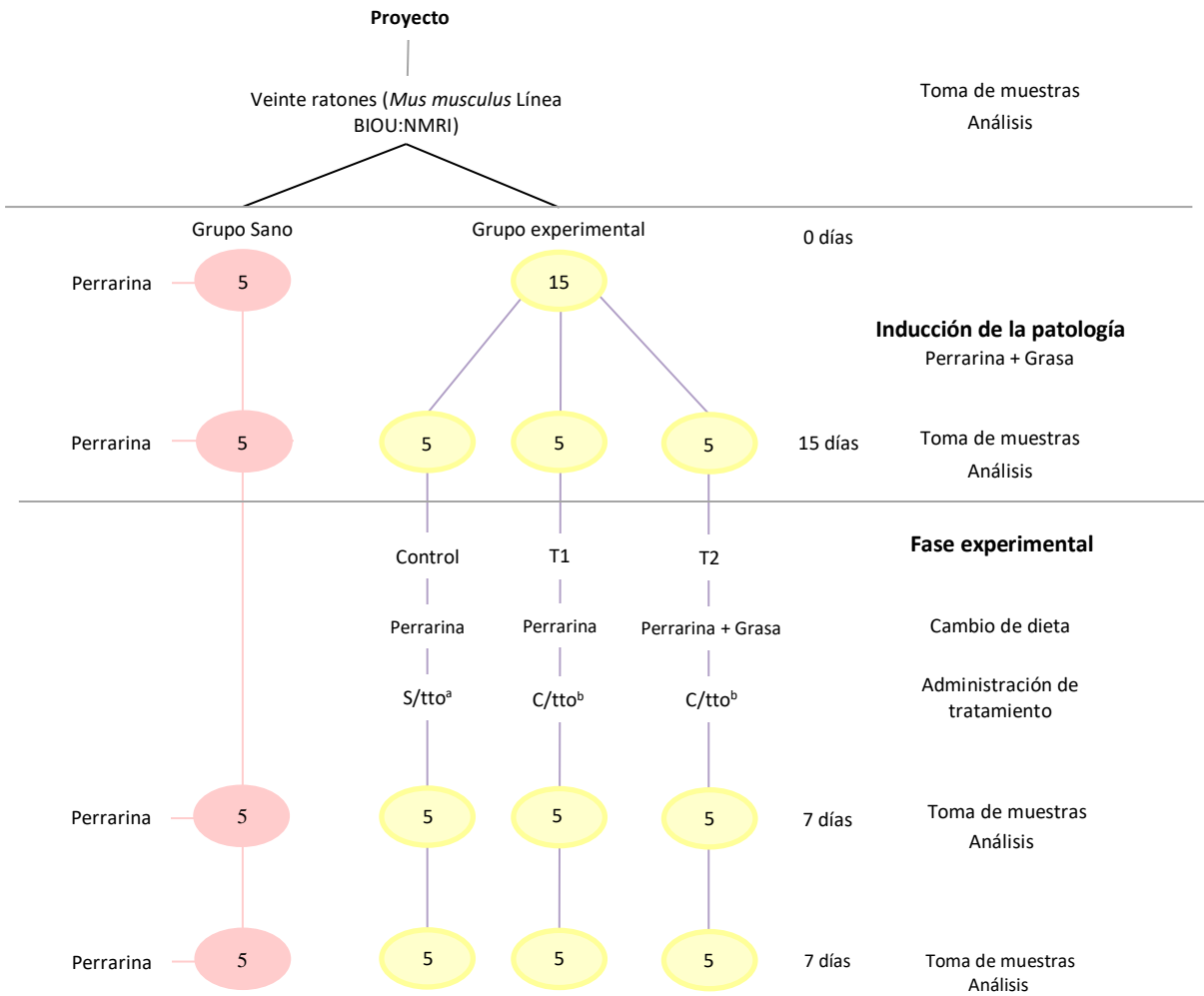
Por su parte, en la segunda toma de muestras se mantuvo la técnica del seno venoso retroorbital y también se aplicó la técnica de extracción de sangre por punción cardiaca mediante el método abierto; a los cuatro animales exentos de cada uno de los grupos, durante la primera toma de muestra. Esta técnica es un procedimiento terminal (Es decir, los animales son sacrificados inmediatamente al final de una punción cardiaca), y requiere anestesia. Por medio de esta técnica se puede obtener un volumen sanguíneo de entre 0,8 - 1,5 mL.

La recolección de los datos se llevó a cabo mediante la observación progresiva de los cambios presentados por los cuatro grupos de estudio, en una hoja de registro, por lo que se puede decir; que fue una percepción activa, en donde se seleccionó, se organizaron grupos modelo (Grupo Sano) y experimental, y finalmente se compararon los resultados entre grupos mediante un muestreo probabilístico

aleatorio. Finalmente, este proceso experimental se resume a continuación en la Figura 4.

Figura 4

Esquema del Ensayo Experimental.



Nota

^a S/tto: Sin Tratamiento.

^b C/tto: Con Tratamiento del producto nutracéutico.

Análisis Bioquímicos

Método terminal: Seno venoso retroorbitario

Esta técnica de venopunción se emplea en este tipo de especie (*Mus musculus*) por el volumen máximo de extracción sanguínea (por medio de esta vía se puede extraer entre 100 μL a 200 μL) en relación con otro punto anatómico, por ejemplo la vena de la cola. Esto se debe a que el tamaño de la muestra requerida debe ser predeterminado, calculado en base al peso y el volumen total de sangre del animal sin reposición de líquidos, donde el volumen máximo de sangre que se puede extraer es del 10% de la volemia total. Por lo que para un ratón promedio de 25 g con un volumen total de sangre de 1,8 mL el 10% de su volumen de sangre es 193 - 200 μL (Stewart & Schroeder, 2018).

Por esta razón, es de considerar el efecto combinado del tamaño de la muestra y de la frecuencia de la extracción de sangre, esto en vista de que si se extrae la muestra muy rápido, se supera el volumen recomendado o es muy frecuente la toma de muestra, el animal puede entrar en un shock hipovolémico. El volumen de sangre máxima que puede obtenerse por semana es no más de 7,5% del volumen total de sangre, por lo que para un ratón de 25 g esto equivale a 145 - 150 μL por semana, no obstante; si el muestreo se produce cada dos semanas se puede extraer hasta el 10% del volumen total de sangre lo que equivaldría a 200 μL , o mínimo 10 días para un ratón promedio, tiempo necesario para permitir que los tejidos de la zona se recuperen y se repongan las células de la sangre (Stewart & Schroeder, 2018).

En consecuencia, primeramente es necesario inmovilizar al ratón, para ello se sujeta por la parte proximal de la cola y se coloca sobre una superficie rugosa donde se pueda sujetar con sus patas delanteras, este proceso se debe realizar con la mano diestra, mientras que con la otra mano se toma la piel del dorso inmediatamente detrás de las orejas con los dedos índice y pulgar, sin ejercer demasiada presión, pero firme, tomando suficiente piel (Anexo 15) (Mourelle, Herrero y Ricca, 2013).

Posteriormente, se debe utilizar el índice y el pulgar para retraer la piel de la cara y protruir el globo ocular, mientras que la técnica consiste en introducir un capilar de microhematocrito azul, por el seno venoso retroorbital en un ángulo óculo nasal o lo que es igual se coloca en el canto medial del ojo y es dirigido caudalmente en un ángulo de 30 – 45 ° del plano de la nariz; por detrás del globo ocular (el ratón tiene la retroorbital del seno, una colección de vasos que crean un seno en la zona orbital), aplicando presión y girando suavemente el capilar de microhematocrito se permite el corte a través de las membranas conjuntivales y la ruptura del plexo ocular, de este modo la sangre fluye por capilaridad y es recolectada en tubos Eppendorf (200 µL), para ello es necesario mantener la presión para mantener el prolapso ocular (Anexo 16). Una vez finalizada la toma de muestra, al retirar el capilar se debe soltar la piel y permitir que el globo ocular regrese a la cavidad ocular, seguidamente se debe aplicar un poco de presión en la órbita para asegurar la hemostasia.

Método Enzimático Colorimétrico para la Determinación de Colesterol

La determinación de colesterol en suero se realizó por medio del Método Enzimático Colorimétrico, usando el reactivo de la marca Wiener Laboratorios SAIC línea líquida Colestat enzimático AA (Anexo 17).

En primer lugar, las muestras deben centrifugarse 10 minutos a 3500 r.p.m en una microcentrifugadora para tubos Eppendorf de esta manera se logra separar el suero de las células sanguíneas. Una vez separado el suero, este se extrae por succión por medio de una micropipeta automática (en este caso se extrae un volumen de 10 μ L de muestra) evitando extraer el coágulo. Seguidamente se coloca en un tubo Eppendorf junto con 1cc del reactivo y se coloca en la “incubadora al seco” modelo Stat Fax 137 plus millennium III (Este equipo de química semi automatizado utiliza un sistema óptico bicromático con seis longitudes de onda de 340 - 640 nm) (Anexo 18) por 5 minutos a 37 °C para dar inicio a las reacciones enzimáticas. Las absorbancias fueron medidas en espectrofotómetro y las concentraciones se determinaron en función de una relación lineal. Ahora bien, este método utiliza una mezcla de enzimas: lipasa, colesterol oxidasa y peroxidasa, para formar colesterol-ona y H_2O_2 que reacciona con la 4-aminofenazona y el fenol para dar una quinonimina que se mide a 505 nm.

Análisis de Colesterol Total

El colesterol total es un analito claramente definido y que existe en el plasma de forma de forma libre y esterificada; sin embargo, para su análisis las formas

esterificadas son previamente hidrolizadas, de tal manera que la medición del colesterol total, así como moléculas de colesterol libre, puede ser definida sin ambigüedades (Vella *et al.*, 2019).

Para el colesterol, el método de referencia es una modificación del método Abell-Kendall, aunque ha sido propuesto otro tipo de ensayo por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-MS) con dilución isotópica. El método utilizado en el laboratorio clínico fue el método enzimático, basado en la utilización de las enzimas, colesterol-esterasa, colesterol-oxidasa y peroxidasa, con lectura final de absorbancias en longitudes de onda de 500 nm, y aplicación de la ley de Lambert-Beer (Vella *et al.*, 2019).

Método terminal: Punción Cardíaca

Esta técnica es un procedimiento terminal y requiere anestesia, por lo que los animales son sacrificados inmediatamente al final de una punción cardíaca. Primeramente se debe anestesiarse al ratón (para ello se utilizó un algodón impregnado con cloroformo y se introdujo junto con el animal en una caja cerrada, por al menos 2 minutos) y verificar la anestesia de manera objetiva en relación a la falta de movimiento espontánea, respiración lenta y la falta de respuesta a los estímulos, como por ejemplo el reflejo podal (al pinchar con una aguja la superficie palmar de las patas tanto anterior como posterior).

Con relación a este procedimiento es importante resaltar que existen dos métodos, el método cerrado que puede ser realizado con el animal restringido

manualmente una vez que está anestesiado y el método abierto, donde el corazón está expuesto quirúrgicamente. En el método cerrado la técnica consiste en sostener con firmeza al animal por el cuello con el cuerpo colgando verticalmente, evitando así la torsión del pecho y del corazón. Seguidamente se debe desinfectar la zona con alcohol y ubicar la apófisis xifoides del esternón e introducir la aguja lateralmente a esta en dirección craneoventral, para ello la aguja debe estar paralela a la columna vertebral; una vez introducida se ejerce una pequeña presión negativa en la jeringa hasta que la sangre fluya en ella. Otro punto de anatómico de referencia es que el corazón está situado aproximadamente a la altura del codo del animal.

El método abierto consiste en colocar al ratón en posición decúbito supino, fijándolo a una placa o base de disección a través de sus extremidades con ayuda de agujas, se debe desinfectar la zona con alcohol y posteriormente se levanta la piel y se hace una pequeña incisión transversal a través de la piel, logrando realizar la apertura del tórax siguiendo la línea medioclavicular utilizando para ello un escalpelo con hoja n° 23, seccionando las costillas hasta la entrada del cuello. El objetivo es lograr tener un acceso completo del corazón; sosteniendo la jeringa en un ángulo de 45° e insertando la aguja en el corazón, extrayendo finalmente el volumen total de sangre (0,8 - 1,5 mL) (Anexo 19).

Técnicas de Procesamientos y Análisis de Datos

Los resultados del Análisis Físico-Químico fueron tratados mediante estadística descriptiva, para lo cual se calcularon los promedios de las tres repeticiones efectuadas para cada análisis.

El método utilizado para la selección de los ratones que conformarían los grupos establecidos, fue el muestreo probabilístico aleatorio mediante la tabla de número aleatorios. Una vez recolectada la información aportada por la sangre de los animales de experimentación, se realizó una base de datos para el análisis con el programa Statistics Package for Social Sciences (SPSS) de IBM, versión 20.0. Se utilizó como técnica de procesamiento la prueba de Kruskal-Wallis, la cual permite comparar muestras en números menores a 30 y se estableció diferencias entre las medias de las muestras por medio de la prueba post-hoc de Bonferroni. De igual forma, se usó el programa Microsoft Excel para la construcción de tablas y cuadros. Durante este procesamiento se mantuvo un margen de error del 1%.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se describen los resultados obtenidos a lo largo de las diferentes etapas llevadas a cabo para la obtención del producto nutracéutico y evaluar su efecto sobre la hipercolesterolemia.

Resultados del Análisis Proximal

La ciencia y tecnología de alimentos es un área multidisciplinaria que posee un amplio alcance, que se extiende desde el estudio de la selección del alimento hasta el o los efectos de un componente específico sobre la salud o ingrediente funcional (Ferrari, Maresca & Ciccarone, 2010). En la actualidad, se están desarrollando productos y alimentos con modificaciones en su composición, bien sea con eliminación, disminución o adición de algún nutriente a fin de contribuir en evitar las deficiencias nutritivas del individuo y prevenir excesos perjudiciales para la salud. La visión de los alimentos como medicina preventiva continua creciendo, orientándose a los consumidores con factores de riesgo y en condiciones crónicas de las principales enfermedades (Pérez, 2010).

El desarrollo de esta investigación estuvo basado en elaborar un producto nutracéutico a base de pitahaya y evaluar su capacidad para regular los niveles de hipercolesterolemia; para conocer la composición de macronutrientes del producto elaborado, se realizó el análisis proximal. Estos resultados permitieron establecer su contenido de humedad, cenizas, proteína, grasa y carbohidratos, con el objetivo de evaluar el potencial nutricional del producto nutracéutico para el consumo humano y la industria de alimentos.

Los datos recolectados a partir del análisis proximal del producto nutracéutico a base de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*), fueron analizados mediante estadística descriptiva y los resultados obtenidos en porcentaje, se muestran a detalle en la Tabla 3.

Tabla 3

Resultados del Análisis Proximal del Nutracéutico a Base de Pitahaya (Selenicereus megalanthus).

	Por cada 100 g
Humedad (g)	86,74
Cenizas (g)	0,64
Proteínas (g)	6,22
Grasas (g)	0,15
Carbohidratos totales (g)	6,24
Energía (kcal)	51,22

Respecto a su composición nutricional, se presentaron ciertas similitudes con otros estudios realizados previamente. La humedad es un valor analítico de gran importancia, pues permite establecer a largo plazo la estabilidad del producto. Por lo que, en cuanto al porcentaje de humedad el valor obtenido fue de 86,74 %, resultado similar al reportado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en Inglés: Food and Agriculture Organization of the United Nations), en 2006. Por su parte, el porcentaje de cenizas obtenido es similar a los valores encontrados en la bibliografía, donde se reportan valores de 0,4% (Rodríguez *et al.*, 2018) y 0,6% (INCMNSZ cit. en Morales de León, Bourges y Camacho, 2015). Al respecto Chik *et al.* (2011), menciona que el contenido mineral es mayor en la cáscara de pitaya amarilla que en la pulpa.

En cuanto al contenido de proteínas, se obtuvo un promedio de 6,22 % valor que supera al encontrado por Torres en 2007, quien reporta un valor de 0,5 g/ 100 g de la parte comestible, e incluso al valor reportado por la FAO en 2006 de 0,4 g/ 100 g de pulpa de pitahaya sin semillas; sin embargo, se puede establecer que la diferencia con respecto a los otros estudios en el elevado valor obtenido para el contenido proteico, es debido a que el producto elaborado contiene gelatina y un extracto obtenido de la cáscara. En cambio, en las otras investigaciones reportadas solo se analizó la pulpa de pitahaya. En este sentido, Arriaga *et al.* (2015), reportó que el contenido de proteína en la cáscara osciló de 0,2 a 0,8 mg/g y en la pulpa de 1,5 a 3,7 mg/g.

Por el contrario, Santarrosa (2013), obtuvo un valor de 9,15 % de proteínas para la parte comestible de la pitahaya roja (*Hylocereus triangularis*), incluidas las semillas. Al respecto, es importante destacar la observación realizada por Arriaga *et al.* (2015), quien describe que los valores reportados cambian en cuanto a la localidad del cultivo y la variedad analizada, encontrando valores superiores en Autlán y Santa Rosa (México), en la variedad amarilla y menor en la variedad morada de Zacoalco de Torres (México); concluyendo que el contenido de proteínas en la pulpa de pitahayas silvestres es superior al de las cultivadas.

En lo que se refiere al porcentaje de grasa obtenido (0,1540 %), este confirma que, al igual que la mayoría de los derivados de frutas, el producto nutracéutico tiene un bajo contenido graso. En este sentido, Santarrosa (2013) obtuvo un 0,53 % de grasa para la pulpa de pitaya roja, contrario a lo reportado por Báez y Pablo (2020), para la pitahaya amarilla cultivada en la región Amazonas de Perú, donde se alcanza un valor del 9,87 %. Estos resultados, se corresponden con la hipótesis planteada por Arriaga *et al.* (2015), mencionada anteriormente.

Finalmente, otro de los macronutrientes determinados en el análisis del producto nutracéutico, son los carbohidratos. Este análisis reveló un 6,2396 %, cifra similar a la reportada por el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ cit. en Morales de León, Bourges y Camacho, 2015), de 9,8 g de carbohidratos por cada 100 g de fruta, destacándolo así como un fruto de bajo aporte calórico, ya que cuenta con pequeñas cantidades de hidratos de carbono (9,20 g por cada 100 g de pulpa) (Rodríguez *et al.*, 2005).

Con respecto a los carbohidratos complejos, Tze *et al.* (2012), menciona que el contenido de fibra cruda en el polvo de pitahaya es del 38% de los carbohidratos, además de reportar la presencia de pigmentos naturales como por ejemplo la betacianina. Se ha reportado en diversos estudios que este tipo de compuestos fitoquímicos como los pigmentos y los polifenoles, podrían poseer efectos beneficiosos para la salud. Por su parte, Rahmati *et al.* (2015), reporta que la cáscara de pitahaya contiene 70,1% de fibra dietaria total, de la cuál 14,4% es fibra soluble, pudiéndosele atribuir completamente a la pectina.

El rendimiento de la pitahaya amarilla indica que su procesamiento es comercialmente viable en comparación con otras frutas, por su relación cáscara/pulpa (37,42 % / 61,35 %). Sin embargo, en su contenido nutricional también destacan otros micronutrientes, como por ejemplo las vitaminas B, C y E, además de la presencia de otras sustancias fitoquímicas como los polifenoles (Beltrán *et al.*, 2009). Es necesario mencionar, que en el presente estudio no se logró evaluar el contenido de estos elementos por no contar con los reactivos y equipos necesarios.

Resultado de la determinación de Sólidos Solubles (°Brix)

El resultado obtenido para el contenido de sólidos solubles del nutraceutico fue de 13 °Brix. Vásquez *et al.* (2016), reporta un valor de 20,1 °Brix en la fruta madura para el ecotipo Palora (pitahaya amarilla, frutos de hasta 350 g), y de 17,9 °Brix para el ecotipo Nacional (pitahaya amarilla, frutos de hasta 150 g). Por su parte Chik *et al.* (2011), reporta para la pulpa de pitahaya amarilla un valor de 15 °Brix. El

contenido de sólidos solubles es una característica muy apreciada en los frutos de pitahaya debido a que este parámetro determina el dulzor de la fruta (Vásquez *et al.*, 2016). Nuevamente se evidencia, que los valores varían con la procedencia, incluso dentro de una misma especie. En consecuencia, se puede establecer que existe una relación atribuida al valor obtenido y a los factores externos que lo alteran.

Resultados de la determinación de pH

En cuanto al pH del producto, se obtuvo un valor de 4,70; mismo resultado reportado en la investigación de García y Robayo (2008), donde se evidenció que la fruta inmadura (estado 0 de acuerdo a las especificaciones del ICONTEC, 1996) obtuvo un pH de 4,05 mientras que la fruta madura presentó un valor de 4,7. Esta propiedad permite clasificar a la pitahaya como un fruto medianamente ácido; sin embargo, se han reportado valores más bajos entre 4,02 - 4,28 característicos de los frutos de las especies de la familia de las cactáceas (Ospina, 2004). Finalmente, en base a lo mencionado por León y Riveros (2014) y los resultados obtenidos, se podría deducir que el producto nutracéutico contiene pectinas de bajo grado de esterificación, ya que el pH obtenido fue de 4,70.

Resultados de la Fase III de la Investigación: Evaluación del efecto del producto nutracéutico sobre la regulación de los niveles de colesterol

En cuanto a los resultados obtenidos en la prueba piloto, las variables peso de los ratones, cantidad de agua y comida ingerida se logró observar un comportamiento

propio de la etapa de desarrollo y crecimiento de los animales, reflejado en el aumento en las mencionadas variables; dichos resultados se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4

Resultados de la Prueba Piloto con Relación al Seguimiento de Peso, Agua y Comida.

		0 días	15 días	30 días
Grupo		S/I	C/I	Post tto.
PESO (g)	SANO	12	18	25
	CONTROL 1	16	24	34
	CONTROL 2	16	21	30
	T 1	15	22	30
	T 2	15	21	30
	T 3	14	21	27
	PROMEDIOS	14,67	21,17	29,33
AGUA (mL)	SANO	4	4	9,38
	CONTROL 1	9	6	8,75
	CONTROL 2	6	4	10
	T 1	5	4	8,13
	T 2	4	5	6,75
	T 3	8	3	2,85
	PROMEDIOS	6,00	4,33	7,64
COMIDA (g)	SANO	4,6	4,2	4,4
	CONTROL 1	6,4	5	16
	CONTROL 2	7,2	4,2	5,4
	T 1	4,8	4,2	5,4
	T 2	4,2	4	4,8
	T 3	4,6	3,2	6,42
	PROMEDIOS	5,30	4,13	7,07

S/I: Sin Inducción. **C/I:** Con Inducción. **Post tto:** Post tratamiento.

En ese sentido, el peso corporal inició con un promedio de 14,67 g y finalizó con un promedio de 29,33 g., rangos que se mantienen entre los valores normales para un ratón juvenil y un ratón adulto respectivamente, de acuerdo a lo reportado por Nieves (2016), donde menciona que un ratón luego del destete pesa entre 11 - 14 g,

mientras que un ratón adulto en promedio pesa unos 30 g. En relación a las cantidades ingeridas de agua, se obtuvo un promedio inicial de 6 mL y a los treinta días 7,64 mL; valores similares a los reportados por Nieves (2016), donde se menciona que el consumo de agua promedio de un roedor es de 7 mL, haciendo la salvedad que esto varía con respecto a los requerimientos del animal.

Por otra parte, en cuanto a los gramos de comida ingeridos, al inicio se registró un promedio de 5,30 g y finalizó con un promedio de 7,07 g. Al respecto, Nieves (2016), menciona que esto varía de acuerdo al requerimiento por edad y el tipo de alimento suministrado. Finalmente, los resultados de estas variables permiten demostrar que no son factores influyentes en relación a la fase de inducción y la fase de tratamiento.

En referencia a la Tabla 5, los análisis bioquímicos de la prueba piloto permitieron corroborar que a través de la dieta hiperlipídica se logró inducir la patología (Elevación del colesterol total en sangre), dentro del tiempo estimado (quince días). El grupo sano, inició con valores de 169,3 mg/dL (rango establecido como referencia para determinar el colesterol; es decir, todo valor por encima de este a los quince días de iniciada la inducción de la patología, sería indicativo de hipercolesterolemia en el animal), y finalizó con 174 mg/dL.

De igual forma, en los grupos experimentales se observó una diferencia positiva. Ambos grupos control al no recibir tratamiento y a pesar de que en uno de ellos se cambió la dieta (Control 2), presentaron un aumento en los niveles de colesterol al finalizar la prueba. El grupo Control 1 partió con valores de 167,1 mg/dL

y finalizó con 258 mg/dL; mientras que el Control 2 (grupo al cual se le modificó la dieta luego de la inducción), pasó de un valor inicial de 178,5 mg/dL a 195 mg/dL al culminar la prueba piloto.

Tabla 5

Resultados del Nivel de Colesterol Pertencientes a los Ratones (Mus musculus Línea BIOU:NMRI) de la Prueba Piloto.

Fase de Inducción			Inicio del Tratamiento	
Grupo	0 días	15 días	21 días	30 días
	Col. (mg/dL)	Col. (mg/dL)	Col. (mg/dL)	Col. (mg/dL)
Sano	169,3	169,3	203,7	174
Grupo	0 días	15 días	21 días	30 días
	Col. (mg/dL)	Col. (mg/dL)	Col. (mg/dL)	Col. (mg/dL)
Control 1	160,1	167,1	319,5	258
Control 2	168,5	178,5	246,3	195
T 1	169,4	210,5	259,5	146,29
T 2	171,5	219,5	261	196,3
T 3	176,7	231,3	122,2	215,5

Por su parte, los grupos tratamiento presentaron un comportamiento diferente al recibir el producto nutracéutico y modificar su dieta. El grupo T1 comenzó con un valor de 210,5 mg/dL y culminó con un valor de 146,29 mg/dL, mientras que T2 quien mantenía los mismos criterios, partió con un valor de 219,5 mg/dL y terminó

con un valor de 196,3 mg/dL; respecto al grupo T3, al principio reportó un valor de 231,3 mg/dL y finalizó con un valor de 215,5 mg/dL.

Ahora bien, si se comparan los resultados obtenidos con otros estudios preliminares en base al colesterol de ratones, se puede hacer referencia que estos valores varían considerablemente de una línea a otra, entre géneros e incluso si son o no consanguíneos. En este sentido, Ojeda *et al.* (2016), resalta que en un estudio realizado en la Universidad de Carabobo (UC) ese mismo año, se reportaron niveles de colesterol total en ratones NMRI similares a los obtenidos durante la prueba piloto. Sin embargo, es importante mencionar que en dicho estudio se utilizó ratones hembras no consanguíneas de la raza NMRI de ocho semanas de edad; es decir, se utilizó la misma raza, misma línea y edades similares. No obstante, el factor diferencial está en el género, que demuestra que los niveles son mucho más elevados en comparación con los del macho (Ojeda *et al.*, 2016). Este mismo fenómeno se encuentra reportado en los registros del Bioterio de la Universidad de Los Andes.

Como se mencionó en la metodología, la prueba piloto se realizó para ensayar las técnicas, instrumentos y el protocolo seleccionado, y así poder valorar su eficacia y pertinencia o hacer los correctivos que fuesen necesarios. Posteriormente, una vez finalizada la prueba piloto, se dio inicio al proyecto.

Los resultados obtenidos en relación al seguimiento del peso del ratón y cantidad ingerida tanto de alimento como de agua, son descritos a continuación. En cuanto al Gráfico 1 en relación al peso, se logra observar que el comportamiento de

los cuatro grupos fue homogéneo, con una clara tendencia a incrementar el peso a lo largo del periodo de tiempo en que fue realizado el proyecto. Observando valores promedio de peso en el grupo sano al día cero, registró 12 g, a los quince días el promedio fue de 18 g y concluido el estudio reportaron valores de 25 g. Por su parte, el grupo control inició con un promedio de 18,4 g, a los quince días se obtuvo un promedio de 21,8 g y finalmente a los treinta días, el peso promedio fue de 30 g. Dicha tendencia coincide además, con el aumento esperado al ingerir una dieta alta en grasas.

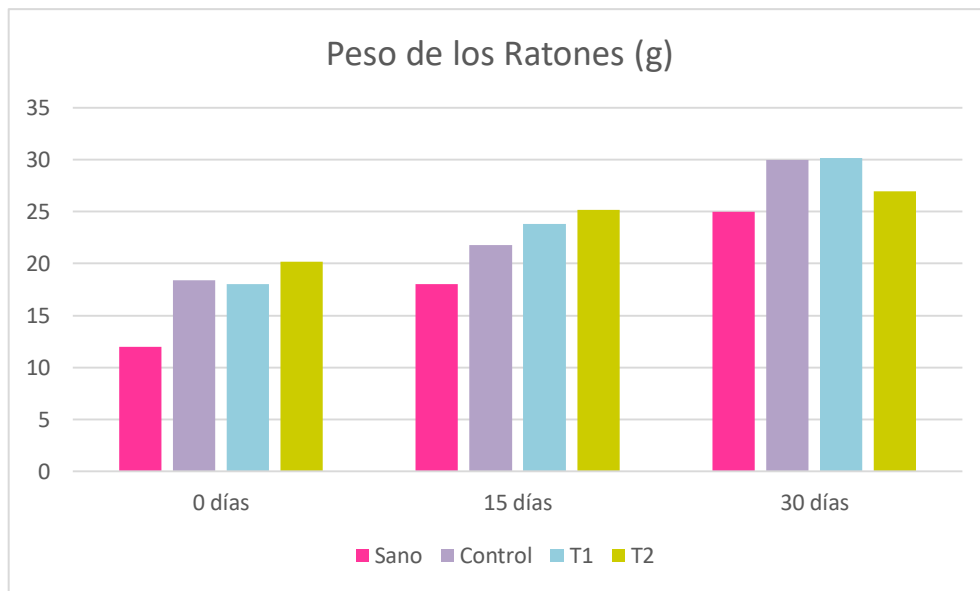


Gráfico 1. Resultados promedio del proyecto con relación al seguimiento en el control de peso.

De modo similar, el grupo T1 reflejó un peso promedio inicial de 18 g, a los quince días un peso promedio de 23,8 g y finalmente reportó un promedio de 30,2 g.

Finalmente el grupo T2 obtuvo un promedio inicial de 20,2 g, a los quince días un promedio de 25,2 g y a los treinta días el promedio alcanzado fue de 27 g. Cabe destacar, que los ratones al inicio del estudio presentaban cuatro semanas de edad; por lo tanto, un incremento de peso es un comportamiento propio de la etapa de crecimiento, coincidiendo con lo reportado por los resultados obtenidos en la prueba piloto. Adicionalmente, el aumento de peso en los grupos tratamiento es indicativo que los animales de estudio no rechazaron el producto y/o dejaron de comer.

De igual forma, también es notable que el incremento de peso en el grupo T2 es menor, en comparación con el del T1, sugiriendo que el nutracéutico influye de algún modo sobre el metabolismo de los ratones, controlando el aumento de masa corporal a pesar de la dieta alta en grasas. Al respecto, Ilic (2021), plantea que el alto contenido de fibra de la pitahaya (7 g por ración), es la responsable de mantener el control de peso.

Con referencia al Gráfico 2, resultados promedio en relación al agua ingerida, el grupo sano registró un volumen inicial de 4 mL, manteniéndose igual a los quince días; sin embargo, el reporte a los treinta días reveló un valor promedio de 9,38 mL, valor que se encuentra entre lo reportado por el Centre Utrecht Life Sciences (2016), donde se menciona que el consumo de agua es de 15 mL para un ratón adulto.

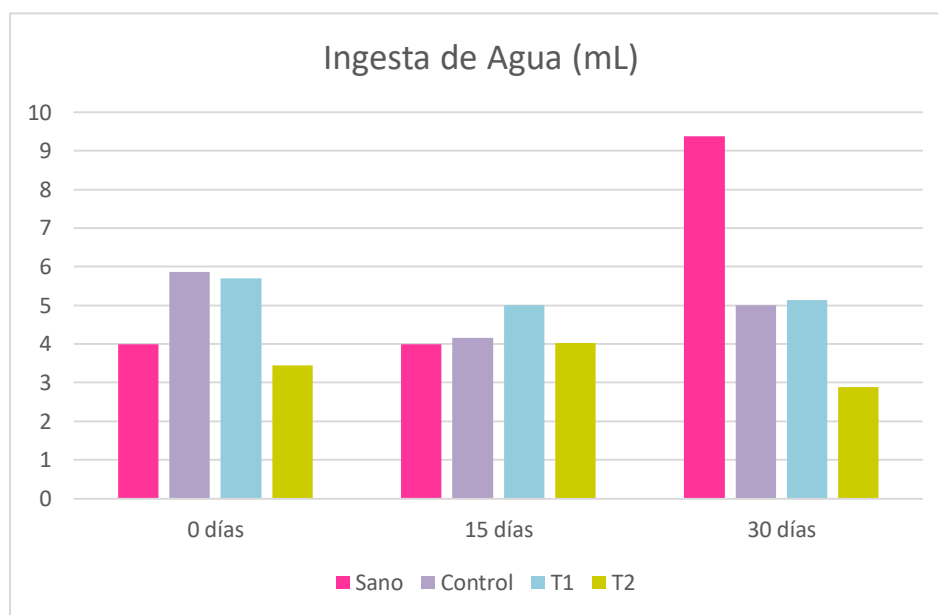


Gráfico 2. Resultados promedio del proyecto en relación al consumo de agua.

En cuanto a la interpretación con los grupos experimentales, se mantuvo un comportamiento similar en los periodos de tiempo estudiados observándose, al contrario que ocurrió con el grupo sano, una disminución de su demanda hídrica; aun así, son valores que permanecen dentro de los rangos obtenidos durante la prueba piloto.

En base a los resultados obtenidos mediante el control de la ingesta alimentaria, y que están expuestos en el Gráfico 3, se logró observar en el grupo sano una ligera disminución en la demanda de consumo en relación al inicio y al final del estudio, reportando valores de 4,60 g y 4,40 g respectivamente; mientras que, por el contrario se observó un comportamiento muy similar de incremento en la ingesta de alimento en los grupos control, T1 y T2 en los tres periodos de tiempo estudiados. Sin

embargo, son valores que permanecen dentro de los rangos obtenidos en la prueba piloto y se corresponden con el patrón de crecimiento del ratón y sus requerimientos.

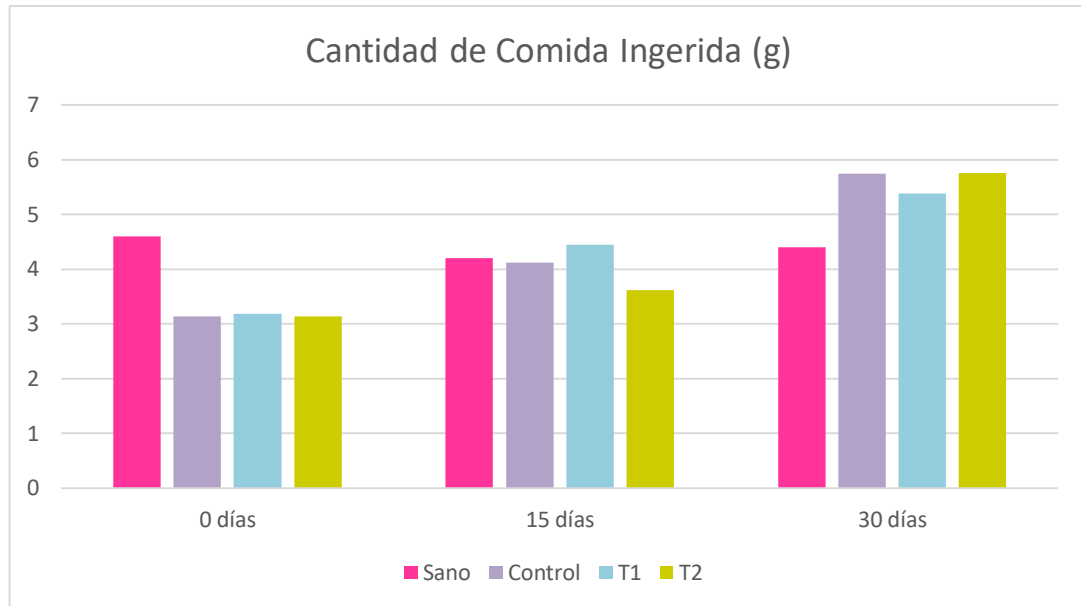


Gráfico 3. Resultados promedio del proyecto con relación al control de ingesta de alimentaria.

Por su parte, en cuanto a los resultados obtenidos para el análisis de colesterol (Tabla 6), se logró observar que a los 30 días, el grupo sano mantenía niveles finales (174 mg/dL), similares a los reportados a los quince días (164 mg/dL). Mientras que el grupo control presentó a los quince días un valor de 281,94 mg/dL, reportando una disminución en los niveles de colesterol al finalizar el estudio (216,61 mg/dL), tras modificar su alimentación en el día 15 (Anexo 20). En referencia a la administración del nutraceutico a base de pitahaya como tratamiento, el grupo T1 reportó un valor de 201,62 mg/dL a los quince días y al finalizar reportó un valor de 213,99 mg/dL; es

decir, pese a la modificación en la dieta y recibir el tratamiento se observó un aumento en los valores bioquímicos (Gráfico 4).

Tabla 6

Resultados del Nivel de Colesterol Pertenecientes a los Ratonos (Mus musculus Línea BIOU:NMRI) del Proyecto.

Grupo	Fase de Inducción	Fase de Tratamiento
	Día 15 Col (mg/dL)	Día 30 Col (mg/dL)
Sano	169	174
Control	281,94	216,61
Tratamiento 1	197,88	220,49
Tratamiento 2	293,14	195,28

Finalmente el grupo T2 presentó una disminución de los valores a los treinta días (195,28 mg/dL) en relación a los valores reportados a los quince días (293,14 mg/dL).

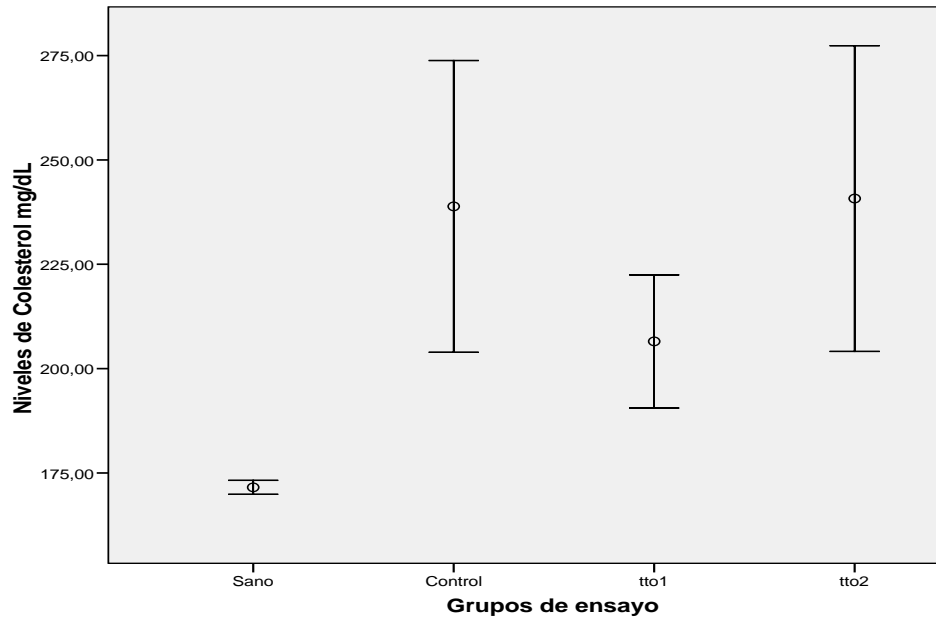


Gráfico 4. Resultados de los análisis bioquímicos pertenecientes a los ratones (*Mus musculus* Línea BIOU:NMRI) del proyecto con relación al colesterol.

Al respecto, en los resultados la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis (Tablas 7 y 8) para un nivel de confianza del 99% con un valor de $p \leq 0,01$, se observó que existen diferencias estadísticamente significativas entre las mediciones tomadas a los 15 y 30 días para el grupo T2 con respecto al grupo de individuos Sanos; sin embargo, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas para dichas mediciones en el grupo Control y T1 con relación al grupo Sano.

Tabla 7*Estadísticos de Contraste (a,b).*

	mg/dL ^b
Chi-cuadrado^a	17,677
GI	3
Sig. asintót.	,001

Nota.

^a Prueba de Kruskal-Wallis^b Variable de agrupación: Grupos de ensayo**Tabla 8***Pruebas post hoc. Comparaciones Múltiples.*

	(I) Grupos de Ensayo	(J) Grupos de Ensayo	Diferencia de Medias (I-J)	Error Típico	Sig.	Intervalo de Confianza al 99%	
			Límite Inferior	Límite Superior	Límite Inferior	Límite Superior	Límite Inferior
Bonferroni	Sano	Control	-67,30750(*)	17,06311	,002	-114,4497	-20,1653
		T 1	-34,96750	17,06311	,279	-82,1097	12,1747
		T 2	-69,19250(*)	17,06311	,001*	-116,3347	-22,0503
	Control	Sano	67,30750(*)	17,06311	,002	20,1653	114,4497
		T 1	32,34000	17,06311	,388	-14,8022	79,4822
		T 2	-1,88500	17,06311	1,000	-49,0272	45,2572
	T 1	Sano	34,96750	17,06311	,279	-12,1747	82,1097
		Control	-32,34000	17,06311	,388	-79,4822	14,8022
		T 2	-34,22500	17,06311	,306	-81,3672	12,9172
	T 2	Sano	69,19250(*)	17,06311	,001	22,0503	116,3347
		Control	1,88500	17,06311	1,000	-45,2572	49,0272
		T 1	34,22500	17,06311	,306	-12,9172	81,3672

No obstante es de resaltar que, en relación a los resultados obtenidos del grupo de ratones pertenecientes al grupo T1, se puede inferir que sería necesario dejar actuar el producto nutracéutico por un periodo de tiempo superior al propuesto (quince días para la fase del tratamiento), para lograr observar una disminución en los valores de colesterol; en este sentido cabe mencionar que, generalmente un fármaco con efecto hipolipemiente se deja actuar por un tiempo mínimo de 30 días (Hernawati *et al.*, 2018) antes de evaluar sus efectos.

Sin embargo, en cuanto a la modificación de la alimentación como factor interviniente para la regulación de los niveles de colesterol, se conoce que cambiar la alimentación es una opción de control importante para reducir los niveles de colesterol, ya sea por si solo utilizando varias estrategias para modificar la alimentación o en combinación con la terapia farmacológica (Malhotra *et al.*, 2014).

Respuesta similar ante el efecto hipocolesterolémico, fue expuesto en la investigación de Hernawati *et al.* (2018), reportando que luego de la inducción de la patología (hipercolesterolemia), mediante una alimentación con un alto contenido de grasas durante un mes y después de administrar polvo de cascara de pitahaya por un periodo de treinta días, los niveles de lípidos en sangre de los ratones macho (*Mus musculus* cepa Balb-C) cambiaron, reduciendo los niveles de colesterol total en comparación con el control negativo.

De igual forma, Choo *et al.* (2016), reporta una reducción del nivel de colesterol en ratas hipercolesterolémicas que fueron alimentadas por 5 semanas con

diluciones de cáscara liofilizada de pitaya roja (*H. polyrhizus*) en diferentes concentraciones. También reporta la reducción de los triglicéridos y del nivel de colesterol LDL. En dicho estudio, de entre las concentraciones estudiadas, la que mayor reducción del colesterol reportó fue la que contenía 1,17% de cáscara de pitaya liofilizada.

Otros estudios han reportado la relación entre el contenido de polifenoles totales y otros compuestos antioxidantes presentes en la cáscara y la pulpa de pitahaya roja (*H. polyrhizus*), con la reducción de los niveles de colesterol. Al respecto, Choo *et al.* (2016) reporta que, al procesar la pulpa de pitahaya roja (*H. polyrhizus*), por encima de 95°C y más de 30 minutos, se reduce significativamente su contenido de polifenoles totales, su capacidad antioxidante y la habilidad de regular el perfil lipídico en ratas, en comparación con la pulpa fresca. No así la habilidad de controlar el nivel de triglicéridos, la cual permanece igual. De igual forma, se reporta que mientras mayor sea la temperatura y tiempo del procesamiento térmico, menor es el efecto hipocolesterolémico en ratas, confirmando la hipótesis de que la eficiencia cardioprotectora de la pitahaya roja (*H. polyrhizus*) está asociada a los compuestos antioxidantes presentes en el fruto (Choo *et al.*, 2016, p. 73), incluidas la cáscara y las semillas.

Estas últimas, poseen un perfil de ácidos grasos que revela un importante contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA por sus siglas en inglés), cuya ingesta, según se ha demostrado en numerosas investigaciones, posee un efecto regulador sobre el nivel de colesterol y las enfermedades cardíacas. Sin embargo, la

mayoría de los estudios se han enfocado en las variedades de pitahaya de cáscara roja (*H. polyrhizus* y *H. undatus*). Los reportes con respecto a los beneficios medicinales de la pitahaya amarilla (*H. megalanthus*) son escasos (Choo *et al.*, 2016, p. 74).

Referente a la extrapolación de la dosis diaria requerida para los humanos, en función de la dosis suministrada a los ratones, primeramente fue necesario determinar cuánto representó en porcentaje la dosis del nutraceutico administrado en función del peso corporal del animal adulto:

$$\frac{2 \text{ g suministrados del producto nutraceutico} \times 100 \%}{25 \text{ g de peso corporal del animal adulto}} = 8\%$$

Seguidamente en función del peso corporal para un Hombre Tipo Biológico (HTB) y del aporte determinado anteriormente, se obtuvo la dosificación del producto nutraceutico:

$$70 \text{ kg HTB} \times 8\% \text{ de dosificación del nutraceutico} = 560 \text{ g de dosificación del nutraceutico}$$

Por tanto, 560 g del producto nutraceutico equivale en medida práctica, a dos tazas al día, las cuales pueden ser integradas perfectamente a un plan de alimentación como colación o meriendas a lo largo del día.

Por otra parte, la fórmula para calcular la dosificación en función del peso del individuo sería la siguiente:

$$0,008 \frac{\text{g}}{\text{Kg}} \times \text{peso Kg del individuo}$$

En consecuencia, el aporte del Requerimiento de Ingesta Diaria (RID) por ración de alimento (560 g), se muestra a detalle en la Tabla 9.

Tabla 9

Aporte Nutricional por Ración de Producto a Base de Pitahaya (Selenicereus megalanthus).

	Por Ración (560 g)	% RID^a
Energía (kcal)	290	15
Grasas (g)	1	0
Carbohidratos Totales (g)	35	15
Proteínas (g)	35	50

^a Los porcentajes de los Requerimientos de Ingesta Diaria (% RID) fueron calculados con base a una dieta de 2000 Kcal. (COVENIN, 1997).

Calorías por gramo: Proteínas 4*, Grasas 9*, Hidratos de Carbono 4*

Al respecto, según la normativa vigente (COVENIN, 1997), el postre gelatinoso podría declararse como “Excelente fuente de” Proteínas, pues la ración contiene más del 20% del RID de dicho nutriente.

Factibilidad Económica

Es importante resaltar que al elaborar un producto de manera industrializada, se utilizan métodos de extracción más eficientes, operaciones unitarias más complejas, conservantes e incluso materias primas más específicas que mejoren la vida útil, calidad nutricional y las características organolépticas, por lo que los costos del producto final pueden verse incrementados. Sin embargo, el método utilizado en

este trabajo constituye una buena alternativa al ser más económica y factible, obtenida de materias primas disponibles a nivel local, con el mismo aporte nutricional y funciones nutraceuticas. La relación de gastos puede verse reflejada en la Tabla 10.

Tabla 10

Factibilidad Económica del Producto Nutraceutico.

Insumo	Bs.^a	Equivalente (\$)
Pitahaya	32,2	7
Gelatina sin sabor	8,1	2
TOTAL	40,3	9

Nota

^a De la cantidad de insumo utilizado para la elaboración de 104 gomitas de 2 g c/u (208g).

Se maneja un costo aproximado por ración de producto terminado que equivale a \$0,09. Ahora bien, considerando que el precio de un producto nutraceutico (Generalmente el envase contiene 100 unidades independientemente de su presentación), de marcas comerciales nacionales oscila entre \$13 y \$30, mientras que un producto nutraceutico a nivel internacional está alrededor de los 35€ a 46€ o bien \$39 - \$52 respectivamente, y, comparándolo con el costo de un medicamento hipolipemiente de marca comercial nacional, que oscila entre \$15 y \$30, se evidencia que el producto nutraceutico a base de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*), al ser

elaborada con materia prima local, constituiría una alternativa más accesible a la población.

En efecto, el mercado global de nutracéuticos se incrementa anualmente, y se estima crecerá casi un 50 % en los próximos años. No obstante, muchas organizaciones académicas, científicas y regulatorias han trabajado activamente sobre las formas de establecer la base científica para apoyar las declaraciones acerca de los componentes funcionales o los alimentos que los contienen, sobre la base de cualquier marco de reglamentación, tendrá necesariamente que proteger a los consumidores de afirmaciones falsas y/o engañosas al tiempo de satisfacer las necesidades de la industria para la innovación en el desarrollo de productos, marketing y promoción (Calvo *et al.*, 2011).

Uno de los retos de la industria de nutracéuticos es la mezcla compleja de sistemas químicos, físico y biológicos que interactúan entre si y la complejidad se incrementa por la presencia de microorganismos en el caso de los probióticos, en las que etapas críticas deben asegurar la bioactividad sin modificar la estructura de los compuestos. La adición de nutracéuticos a los alimentos ofrece a los consumidores una variedad de opciones de alimentos que ayudaran a satisfacer algunas de sus necesidades de salud y bienestar. Aunque el proceso de producción es complejo es una industria creciente en la actualidad por los beneficios que aporta a la salud (García, 2018).

En Venezuela, la Norma sobre directrices para declaración de propiedades nutricionales y de salud en el rotulado de los alimentos envasados COVENIN 2952-1:1997 “establece las directrices que deben cumplirse para la declaración de propiedades nutricionales y de salud de los alimentos envasados, tanto nacionales como importados” (p.1). Este instrumento legal establece unos principios generales que rigen la orientación de sus requisitos de calidad, tendientes a garantizar la calidad de la información específicamente nutricional y de salud, a fin de que ésta no sea presentada de forma equívoca, engañosa o se omita información importante para los consumidores. Es preciso aclarar que esta Norma es de cumplimiento voluntario de acuerdo a la legislación venezolana, no obstante, es común que la industria de alimentos la use como referencia.

De esta manera, se puede establecer un propósito como plan de negocio donde el fin esté en promulgar el conocimiento y crear conciencia sobre aquellos alimentos autóctonos poco reconocidos y de gran valor, resaltando sus características, beneficios y aportes nutricionales para la salud, de tal manera que se logre generar cambios en la población creando nuevos hábitos alimenticios, innovando en la producción y a su vez generando empleo.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En relación a los objetivos planteados, se concluye:

Se estableció el esquema tecnológico para la elaboración de un producto nutracéutico a base de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*), obteniéndose un postre gelatinoso que también pudiera dosificarse en forma de “gomitas”.

Se realizó el análisis proximal para conocer el aporte nutricional del producto nutracéutico a base de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*), resaltando el contenido de proteínas en 6,22%, 0,15% de grasas, y 6,24% de carbohidratos totales, para un aporte de energía de 51,22 kcal/100 g. El producto puede declararse como Excelente fuente de proteínas, según la normativa vigente.

Se comprobó el efecto del producto nutracéutico elaborado a base de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) sobre los niveles séricos de colesterol a través del análisis bioquímico, observando una diferencia entre el grupo T2 y el grupo sano, siendo estadísticamente significativa ($p \leq 0,01$) con un intervalo de confianza del 99% según el análisis estadístico Kruskal-Wallis. En base a estos resultados, se concluye la ración del producto nutracéutico suministrado contiene un efecto hipolipemiante.

Recomendaciones

Completar el análisis proximal del producto nutracéutico con el análisis de Fibra Dietaria (Soluble e Insoluble), ya que es ampliamente conocido que la ingesta de fibra soluble ejerce un efecto benéfico sobre el control del colesterol; adicionalmente, se recomienda realizar el análisis de micronutrientes, con el fin de conocer exactamente su contenido de minerales y vitaminas; así como también identificar la presencia de sustancias fitoquímicas, y saber con exactitud el aporte individual de estos elementos.

Realizar el análisis proximal y de micronutrientes, tanto de la pulpa como de la cáscara de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*), a fin de determinar su contenido nutricional y el aporte individual de elementos y sustancias fitoquímicas, y así conocer mejor su composición a nivel de micronutrientes y sustancias bioactivas.

Promover el uso tecnológico de la cáscara de pitahaya para obtener subproductos como pigmentos, pectina, sobres para infusiones, entre otros, e incluso a nivel casero, utilizándola junto a la pulpa para hacer batidos, debido a la gran variedad de nutrientes y compuestos bioactivos que se reportan para otras variedades de pitahaya.

Determinar los efectos que, sobre los niveles de colesterol, pudieran tener otros métodos de extracción de la pectina diferentes al método de extracción artesanal utilizado, que no requieran el uso de altas temperaturas.

Determinar la concentración de gelificación crítica de la pectina para establecer la capacidad de gelificar de la pectina.

Evaluar la actividad antioxidante de la cáscara de pitahaya.

Realizar el análisis microbiológico (Principalmente Mohos y Levaduras), al producto nutracéutico, para conocer a causa de cuáles microorganismos llega al fin de su vida útil.

Finalizar el desarrollo del producto con la evaluación formal de su vida útil y realizar una evaluación de aceptabilidad sensorial del producto nutracéutico.

Evaluar el efecto del producto elaborado a nivel clínico y realizar otros análisis bioquímicos como HDL, LDL y VLDL, para completar el perfil lipídico del nutracéutico, los cuales no pudieron realizarse por falta de reactivos y los elevados costos que implicarían dichos ensayos.

Aumentar el tiempo de administración del producto nutracéutico, ya que regularmente a un paciente con dislipidemias sin fallas renales o cardíacas, se suele recetar un fármaco por un tiempo mínimo de treinta días, antes de evaluar nuevamente la eficacia del tratamiento farmacológico.

Realizar estudio histopatológico de los órganos principales (riñón, hígado e incluso se sugiere incluir el corazón y el cerebro por su relación con la función biológica del colesterol), con el fin de determinar posibles alteraciones estructurales y su posible mejoría, mediante el uso del producto nutracéutico.

Divulgar la información obtenida para que la población conozca el potencial nutracéutico de la fruta de pitahaya y, promover su inclusión como un alimento de consumo masivo, del cual se cuenta con disponibilidad nacional en los estados Falcón y Nueva Esparta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfonso, E. (2010). *Estudio del comportamiento reológico de las pectinas con diferente grado galacturónico obtenida a partir de Citrus paradisi (Gray fruit)*. Tesis para optar al grado de Licenciatura en Química y Farmacia, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador. [Documento en línea]. Extraído el 24 de marzo, 2022, de <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/471/1/10136186.pdf>
- Altuna J.; Silva, M.; Quinteros, M.; Morales, D. y Carrillo, W. (2018). Yellow Pitaya (*Hylocereus megalanthus*) fatty acids composition from ecuadorian amazonia. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 11(11): 218–221.
- Arias F. (2016). *El Proyecto de Investigación. Introducción a la metodología científica*. Caracas, Venezuela: Editorial EPISTEME, C.A.
- Arriaga, Ma. C.; Neri, C.; Pimenta, E. y Sánchez, J. (2015, junio 25). El fruto del pitayo silvestre (*Stenocereus queretaroensis* (Weber) Buxbaum), una alternativa alimenticia, nutricional y socioeconómica en época de estiaje. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias* 2:3 362–367. [Documento en línea]. Extraído el 19 noviembre, 2021, de https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_Naturales_y_Agropecuarias/vol2num3/Ciencias%20Naturales%20y%20Agropecuarias%20Vol%202%20Num%203%20Final.pdf
- Ashwell, M. (2002). *Concepts of functional foods* ILSI (International Life Sciences Institute) Europe concise monograph series [Libro en línea]. Consultado el 4 de abril de 2017 en: http://ils.eu/wp-content/uploads/sites/3/2016/06/C2002Con_Food.pdf
- Báez, C. y Pablo, R. (2020). *Valor nutritivo, valor calórico y valoración de vitamina C en el fruto de Selenicereus megalanthus “Pitahaya amarilla” procedente de la región Amazonas*. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, Cajamarca, Perú.
- Beltrán, Ma. C.; Tzatzil, O.; Gallardo, T. y Osorio, G. (2009). Ácido ascórbico, contenido fenólico y capacidad antioxidante de las variedades roja, cereza,

- amarilla y blanca del fruto del cactus de la pitaya (*Stenocereus stellatus* Riccobono). *Agrociencia* 43(2): 153-162. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-31952009000200007&script=sci_abstract
- Bilheimer, D. (1991). Clinical considerations regarding treatment of hypercholesterolemia in the elderly. *Atherosclerosis* 91 S35–S57. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/002191509190205H>
- Borini Lone, A. (2017). *Influência dos diferentes tipos de pólen sobre a qualidade do fruto de pitaya*. Biólogo e Engenheiro Agrônomo (Magister Doctorado PhD). Universidade Estadual de Londrina – Centro Universitário Filadélfia. No momento Investigador Pesquisador Científico – Epagri. Itajaí, Santa Catarina – Brasil.
- Boucher F. (1999). Los productos nutraceuticos: Oportunidad para los recursos naturales autóctonos. El papel de los investigadores. *5º Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Santafé de Bogotá, D.C, Colombia: Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos.
- Caldera, Y. (2017). *Legislación de los Complementos Alimenticios en América Latina*. Madrid, España: JUSTE Consumer Health.
- Calvo, M. (2000). *Pectinas. Química y Bioquímica de los Alimentos, Ciencia y Tecnología de los Alimentos*. España: Universidad de Zaragoza. Disponible en <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/pectinas.html#:~:text=En%20particular%2C%20a%20mayor%20grado,se%20llaman%20%22pectinas%20r%2C%203%20Alpidas%22>.
- Calvo, S.; Gómez, C.; López, C. y Royo, M. (2011). *Nutrición, Salud y Alimentos Funcionales*. En J. Morán y M. Hernández (Eds.), *Regulación de las condiciones de uso de los alimentos funcionales* (pp. 309–334). Madrid, España.
- Carrero, I. y Herráez, A. (2016). *El mundo de los lípidos*. Extraído el 12 de abril de 2017 de: <http://biomodel.uah.es/model2/lip/lipoproteinas.htm>
- Castillo, J., (2012). Antioxidantes en la salud, en la enfermedad y en la alimentación. Capacidad antioxidante de los alimentos [Documento en línea] España: Universidad de Murcia. Consultado el 27/11/2017 en: <http://www.um.es/lafem/Actividades/OtrasActividades/CursoAntioxidantes/MaterialAuxiliar/2012-02-28-CapacidadAntioxidanteAlimentos.pdf>

- Castro, L. (2017) Flores. Frutales: Pitahaya. Extraído el 2 de mayo de 2017 de: <https://www.flores.ninja/pitahaya/>
- CCI (Corporación Colombia Internacional). (2006). *Perfil de Producto, Pitaya Amarilla*. Inteligencia de mercados. Publicación No. 33, ISSN 0123-1338. Bogotá, Colombia, 16p.
- Centre Utrecht Life Sciences. (2016). *Conducta y Fisiología normal del ratón*. Disponible en <https://www.humane-endpoints.info/es/raton/parametros-fisiologicos#>
- Chik CT, Bachok S, Baba N, Abdullah A & Abdullah N. (2011.) Quality Characteristics and Acceptability of Three Types of Pitaya Fruits in a Consumer Acceptance Test. *Journal of Tourism, Hospitality & Culinary Arts* 3(1): 89-98.
- Choo J.C., Koh R.Y, and Kiong Ling A.P. (2016) Medicinal properties of Pitaya: a review. *Spatula DD* 6(2):69-76. DOI 10.5455/spatula.20160413015353
- Chua, L.; Ng Yee, K. & Amena, A. (2018, julio). Ultrasound assisted extraction of pectin from dragon fruit peels. *Journal of Engineering Science and Technology* 13 65–81. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/326912112_PDFUltrasound_assisted_extraction_of_pectin_from_dragon_fruit_Peels
- Clínica Universidad de Navarra (2015). *Diccionario Medico*. [2017, 26 de Noviembre]. Disponible en: <https://www.cun.es/diccionario-medico>
- Cóccaro, G. (2010). *Desarrollo de Nuevos Productos. Alimentos Funcionales y Novel Food. Alternativas para el diseño de alimentos y su marco legal*. p.12. [Documento en línea] Consultado el 24 de octubre de 2017 en: http://www.piaschile.cl/wp-content/uploads/2015/04/Desarrollo-de-Nuevos-Productos_Alimentos-funcionales-y-Novel-Food.pdf
- CODEX Alimentarius. (2003). *Cendres Sulfuriques*. Extraído el 26 de Noviembre de 2017 de: <http://www.oiv.int/public/medias/4409/f-coei-2-cendre.pdf>
- CODEX Alimentarius. (2015). *Principios generales para la adición de nutrientes esenciales a los alimentos*. Extraído el 14 de agosto de 2017 de https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXG%2B9-1987%252FCXG_009s_2015.pdf

- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). (1980). *Norma 1195:1980. Alimentos. Determinación de nitrógeno. Método Kjeldahl*. Caracas: Fondonorma. Disponible en <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1195-80.pdf>
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). (1992). *Norma Venezolana 2951-92: Mezcla para hacer gelatina y gelatina preparada*. Caracas, Venezuela: Fondonorma
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). (1994). *Norma Venezolana 238-94: Azúcar. Determinación del contenido de humedad*. Caracas, Venezuela: Fondonorma.
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). (1996). *Norma 3218:1996. Alimentos. Determinación de grasa libre*. Caracas: Fondonorma. Disponible en <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/3218-96.pdf>
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). (1997). *Norma 2952-1:1997. Directrices para la declaración de propiedades nutricionales y de salud en el rotulado de los alimentos envasados*. Caracas: Fondonorma. Disponible en <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/2952-1-97.pdf>
- Dávila Alcalá, E.L., Iglesias Fortes, R., Piñero Gutiérrez, F.K., Rosales Pereira, K.A, de Jesús Henriques, L.C., De Oliveira Gomes, D.C., Durán, M., González-Rivas, J.P., Marulanda M.I. y Nieto-Martínez R. (2018). Prevalencia de dislipidemias en la Región Capital. Resultados Preliminares del Estudio EVESCAM. *Med Interna (Caracas)*. 34(2): 123-127.
- Dyce, K.; Sack, W. & Wensing, C. (2012). *Anatomía Veterinaria* (4ta ed.). México: Editorial El Manual Moderno.
- Enciso, M. (2019). Elaboración de pulpa de pitahaya fortificada con hierro y usos en la industria alimentaria. Tesis de Magister, Universidad Peruana de Las Américas, Lima, Perú. Disponible en <http://repositorio.ulasamericas.edu.pe/bitstream/handle/upa/810/INFORME%20FINAL%20DE%20TRABAJO%20DE%20INVEST-%20PITAHAYA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Espinosa, L.; Pérez, M.; Martínez, M.; Castro, R. y Barrios, G. (2010). Efecto de empaques y temperaturas en el almacenamiento de chile manzano (*Capsicum pubescens* Ruíz y Pabón). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 16(2): 115-121. [Documento en línea]. Disponible en

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1027-152X2010000200007&script=sci_abstract

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2006). *Pitahaya. Productos frescos de frutas*. [Documento en línea] Disponible en <https://www.fao.org/3/au173s/au173s.pdf>

Ferrari, G; Maresca, R. & Ciccarone, R. (2010, setiembre). The application of high hydrostatic pressure for the stabilization of functional foods: Pomegranate juice. *Journal of Food Engineering* 100(2): 245-253. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877410001871>

FIM (Foundation for Innovation in Medicine). (2006). *Nutracéuticos*. Cranford. New Jersey. Consultado el 25 de mayo, 2007 en: <http://www.fimdefelice.org/p2504.html>

Gamboa, M. (2009). *Aprovechamiento de los residuos obtenidos del proceso de despulpado del mango (Mangifera indica L.), de las variedades Smith, Tommy atkins, Haden y Bocado como materias primas para la obtención de pectinas*. Tesis de grado para optar al título de *Magister Scientiarum* en Ciencias de los Alimentos, Postgrado en Ciencias e Ingeniería de Los Alimentos, Nucleo Anzoátegui, Universidad De Oriente, Puerto la Cruz, Venezuela. Extraído el 10 de enero de 2022 de <https://www.yumpu.com/es/document/read/14333252/tesis-udo-ribibudoeduve-universidad-de-oriente>

García, E. (2018, enero – abril). Nutracéuticos una opción para la salud en el siglo XXI. *Revista Científica “Conecta Libertad”* 2(1): 1–10. [Documento en línea]. Extraído el 16 de marzo de 2022, de <https://revistaitsl.itslibertad.edu.ec/index.php/ITSL/article/view/50>

García, J. (2007). *Espicias Delicias Exóticas*. Barcelona, España: Intermón Oxfam Ediciones.

García, Ma. C. y Robayo, P. (2008, enero – junio). Evaluación del uso de atmósferas modificadas pasivas y temperaturas bajas en la conservación de pitaya amarilla (*Selinicereus megalanthus Shuman*). *Revista Corpoica- Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 9(1): 30–39. [Documento en línea]. Extraído el 10 de marzo de 2022, de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=449945024004>

Geilfus, F. (1994). *Manual de agroforestería para el desarrollo rural* (Vol. 2). Costa Rica: Enda – Caribe.

- González, Y.; Sánchez, C.; Castillo, O.; Tamayo, M. y Verdecía, B. (2010). Modelo experimental de hiperlipidemia con el empleo de caseína y grasas saturadas. *Medicentro* 14(4): 269–275. Disponible en <http://www.medicentro.sld.cu/index.php/medicentro/article/viewFile/156/185>
- Guzmán, B.; Hernández, J.; Ortega, S.; Viruegas, R. y Barrita, S. (2009, mayo – junio). Los nutraceuticos. Lo que es conveniente saber. *Revista Mexicana de Pediatría*, 76(3): 136–145. Disponible en <https://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2009/sp093h.pdf>
- Hartel, R. W.; von Elbe, J. H.; & Hofberger, R. (2017). *Confectionery Science and Technology* (pp. 144–150). Switzerland: Springer. [Documento en Línea]. Extraído el 15 de diciembre, 2021, de <https://www.pdfdrive.com/confectionery-science-and-technology-d182632500.html>
- Hernández, L., García, Ma. del R.; Castillo, A.; Ybarra, C. y Nieto, R. (2020). Fruits of the pitahaya *Hylocereus undatus* and *H. ocamponis*: nutritional components and antioxidants. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 93: 197–203. Extraído el 21 de noviembre, 2021 de <https://ojs.openagrar.de/index.php/JABFQ/article/view/15168>
- Hernández, P., Landaeta-Jiménez, M., Herrera-Cuenca, M., Meza, C.R., Rivas, O., Ramírez, G., Vásquez, M., Méndez-Pérez, B. y el grupo del estudio ELANS (2017). Estudio Venezolano de Nutrición y Salud: Consumo de energía y nutrientes. Grupo del Estudio Latinoamericano de Nutrición y Salud. *An Venez Nutr.* 30(1): 17-37.
- Hernández, R. (2014). *Metodología de la Investigación* (6ta ed.). Ciudad de México: McGraw Hill. Disponible en <https://www.uca.ac.cr/wp-content/uploads/2017/10/Investigacion.pdf>
- Hernawati, N.; Setiawan, A.; Shintawati, R. & Priyandoko, D. (2018). The role of red dragon fruit peel (*Hylocereus polyrhizus*) to improvement blood lipid levels of hyperlipidaemia male mice. *Journal of Physics: Conference Series* 1013. [Documento en línea]. Extraído el 20 de mayo de 2022 de <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1013/1/012167/pdf>
- Huachi L., Yugsi, E., Paredes, Ma. F., Coronel, D., Verdugo, K. y Coba, P. (2015). Desarrollo de la pitahaya (*Cereus Sp.*) en Ecuador. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, 22(2): 50–58.

- Hunt D. (2006). *The new cactus lexicon*. DH Books, Milborne Port, England: 373, 526 pp.
- Ilic M. (2021). *All About Dragon Fruit: 3 Health Benefits + How to Eat It. Learn the nutritional benefits of this colorful food*. Cleveland Clinic [Documento en línea] Recuperado de <https://health.clevelandclinic.org/get-to-know-the-incredible-edible-dragon-fruit/>
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). (1996). *Norma Técnica Colombiana. NTC 3554. Frutas frescas. Pitahaya amarilla*. Bogotá: ICONTEC: 1-14. Disponible en <https://qdoc.tips/50157334-ntc3554-pitahaya-pdf-free.html>
- Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ). (2015). *Tablas de composición de alimentos y productos alimenticios (versión condensada 2015)*. En J. Morales de León, H. Bourges y Ma. E. Camacho (Eds.), *FRUTAS Pitahaya Amarilla* (p. 250). México.
- INN (Instituto Nacional de Nutrición). (2012a). *Valores de referencia de energía y nutrientes para la población venezolana*. Caracas, Venezuela: Fondo Editorial Gente de Maíz.
- INN (Instituto Nacional de Nutrición). (2012b). *Tabla de Composición de los Alimentos. Revisión 2012*. Caracas, Venezuela: Fondo Editorial Gente de Maíz.
- Lajusticia, A. (2002). *Colesterol, triglicéridos y su control*. Madrid: Editorial EDAF, S.L.
- Lara, C.; Carvajal, E.; Balandrán, R.; López, Y. y Rascón, A. (2018, abril 18). Pectin and Pectin-Based Composite Materials: Beyond Food Texture. *Molecules* 23:4 942. Extraído el 14 de marzo, 2022, de <https://www.mdpi.com/1420-3049/23/4/942>
- León, J. (2000). *Botánica de los cultivos tropicales* (3ª ed.). Costa Rica: Editorial Agroamérica.
- León, D. y Riveros, J. (2014). *Extracción y caracterización química de las pectinas de las cáscaras del Maracuyá amarillo (Passiflora edulis, Var Flavicarpa degener), Granadilla (Passiflora ligularis Juss) y Tumbo serrano (Passiflora mollissima H.B.K. Bailey)*. Tesis para optar al título profesional de Ingeniero Químico, Escuela Profesional de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Callao, Callao, Perú. [Documento en línea].

Extraído el 14 de marzo, 2022, de http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/3606/Leon%20Mejia%20y%20Riveros%20Nones_titulo%20quimica_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Lim, T. (2012). *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 1, Fruits*. London: Springer.
- Maldonado, O.; Ramírez, I.; García, J.; Ceballos, G. y Méndez, E. (2012). Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas* 43(2): 7 – 22.
- Malhotra A, Shafiq N, Arora A, Singh M, Kumar R, Malhotra S. (2014). Dietary interventions (plant sterols, stanols, omega-3 fatty acids, soy protein and dietary fibers) for familial hypercholesterolaemia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* Issue 6. DOI: 10.1002/14651858.CD001918.pub3
- Martínez, E. (2012). *Factores de riesgo para enfermedad arterial coronaria y dislipidemia en profesionales de la salud*. Trabajo de grado para optar al título de *Magister Scientiarum* en Administración del Sector Salud, Mención Epidemiología. Facultad de Medicina, Odontología y Ciencias Económicas y Sociales. La Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.
- Merí, A. (2005). *Fundamentos de fisiología de la actividad física y el deporte*. Madrid: Editorial Panamericana.
- Mosquera, H.; Betancourt, B.; Castellanos, J. y Perdomo, L. (2011). Vigilancia comercial de la cadena productiva de la Pitaya Amarilla. *Cuadernos de Administración. Universidad del Valle* 27:45 75–93.
- Mourelle, A.; Herrero, E. y Ricca, M. (2013). Recomendaciones para manipulación y sujeción de ratas y ratones de laboratorio. *Spei Domus* 9(19): 39–47. Disponible en <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/708>
- Muhammad, K.; Mohd, N.; Gannasin, S.; Mohd, N. & Bakar, J. (2014). High methoxyl pectin from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel. *Food Hydrocolloids* 42:2 289–297. Extraído el 16 de marzo, 2022, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X14000940>
- Nielsen, S. (2010). *Food Analysis* (4th ed.). New York: Springer (pp. 102, 224).

- Nieves, A. (2016). *Evaluación de diferencias productivas de ratón (Mus musculus) alimentados con tres productos concentrados en el bioterio Fundación Zoológico Santacruz*. Disponible en <https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/55>
- NIH (National Institutes of Health). (1994a). *Dietary supplement Health and education act of 1994*. Publiclaw 103 – 417. 103rd Congress.
- NIH (National Institutes of Health). (1994b). Guide to nutrition labeling and education act requirements FDA. *Nutritional Labeling and Education Act Requirements (8/94 – 2/95)*.
- Ojeda, L.; Noguera, N.; Claramonte, M.; Pérez, L.; Hernández, D.; Balda, I.; González, M. y Hernández, G. (2016, Mayo). Efecto de L-carnitina sobre el peso, niveles de triglicéridos y colesterol de ratones sometidos a dietas normo e hipercalóricas. *SABER Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente* 5(4): 744–749. Extraído el 17 de noviembre de 2021, de <https://www.redalyc.org/journal/4277/427751143008/html/>
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2017). Temas de Salud. Nutrición. [2017, 26 de Noviembre]. Disponible en: <http://www.who.int/topics/nutrition/es/>
- Ortiz, B. y Anzola, C. (2018, mayo). Estudio del efecto fisiológico del consumo de arepas enriquecidas con pectina extraída de la cáscara de curuba (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*). *Revista Colombiana de Química* 47:2 5–11. Extraído el 16 de marzo, 2022, de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/65812>
- Ospina, H. (2004). Pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw). En Peñuela, A. (Ed.). Caracterización de los productos hortifrutícolas colombianos y establecimiento de las normas técnicas de calidad. pp. 110–115. Disponible en <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/828/11/Pitahaya%20amarilla.pdf>
- Palencia, Y. (2011). *Sustancias bioactivas en los alimentos*. Aragón, España: Universidad de Zaragoza [Documento en línea] Consultado el 27 de noviembre de 2017 en: http://www.unizar.es/med_naturista/bioactivos%20en%20alimentos.pdf
- Patiño, J. (2006). *Metabolismo, Nutrición y Shock* (4ª ed.). Bogotá: Editorial Panamericana.
- Patiño, M. (2002). *Historia y dispersión de los frutales nativos del neotrópico*. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical.

- Pérez, E. (2010). ¿Tecnología de Alimentos en Medicina? Perspectivas en Venezuela en la Elaboración de Productos de Regímenes Especiales. *Tribuna del Investigador* 11(2). Extraído el 9 de marzo 2022, de <http://www.tribunadelinvestigador.com/ediciones/2010/1-2/art-3/>
- Pérez, H. (2006). Nutraceuticos: componente emergente para el beneficio de la salud. *Revista ICIDCA Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar* XL(3): 20–28. (Septiembre-Diciembre). Extraído el 23 de Noviembre de 2017 de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120665003>
- Pierce, B. (2010). *Genética. Un enfoque conceptual*. Madrid, España: Editorial Panamericana.
- Quintín, J. (2012). *Dietética. Bromatología de los alimentos industrializados* (5ª ed.). México: Editorial Méndez.
- Quispe, E.; Chávez, J.; Medina, Ma. L.; Gutiérrez, L. y Apumayta, E. (2021, julio). Caracterización química, contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de dos ecotipos de pitahaya (*Hylovereus spp.*). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 74(3): 9723 – 9734. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v74n3/2248-7026-rfnam-74-03-9723.pdf>
- Rahmati, S.; Abdullah, A.; Momeny, E. & Kang, O. (2015). Optimization studies on microwave assisted extraction of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel pectin using response surface methodology. *International Food Research Journal* 22:1 233–239. Disponible en [http://ifrrj.upm.edu.my/22%20\(01\)%202015/\(33\).pdf](http://ifrrj.upm.edu.my/22%20(01)%202015/(33).pdf)
- Revista Alimentaria (2020, septiembre). *Pitaya, una fruta que llena tus platos de color y salud*. [Documento en línea] Disponible en: <https://revistaalimentaria.es/opinion/entrevistas/pitaya-una-fruta-que-llena-tus-platos-de-color-y-salud>
- Ricafuerte, P. y Lema, L. (2015). *Evaluación de un producto nutraceutico elaborado a base de los extractos lipídicos de chocho (Lupinus mutabilis sweet) y hojuelas de frutas deshidratadas, sobre los niveles de perfil lipídico y glicemia de ratones (Mus musculus)*. [Documento en línea] Tesis de Grado previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba – Ecuador. Consultado el: 26/11/2017 en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/436>
- Rodríguez, S.; Silva, E. y Brito, E. (2018). Pitaya - *Hylocereus undatus* (Haw). En Mercado – Silva, E. (Ed.). *Exotic Fruits Reference Guide* (pp. 339 - 349). United

Kingdom: Elsevier. [Documento en línea]. Extraído el 8 de marzo de 2022 de https://www.researchgate.net/profile/Saichol-Ketsa/publication/323618353_Durian-Durio_zibethinus/links/5e8c66aa92851c2f5286bfa9/Durian-Durio-zibethinus.pdf

Rodríguez, D.; Patiño, Ma. Del P.; Miranda, D.; Fischer, G. y Galvis, J. (2005, julio – diciembre). Efecto de dos índices de madurez y dos temperaturas de almacenamiento sobre el comportamiento en poscosecha de la pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín* 58(2): 2837–2857. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179914237004>

Rojas, S.; Lopera, J.; Uribe, A.; Correa, S.; Perilla, N. y Marín, J. (2015). Consumo de nutraceuticos, una alternativa en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. *Revista Biosalud* 14:2 91–103. (p. 98) DOI: 10.17151/biosa.2015.14.2.9

Sandoval, E. (2019, mayo–agosto). Propiedades nutraceuticas de microencapsulados de jugo de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) durante la vida de anaquel. En Ruiz E; Sánchez G; Zapién A; Cueva J; Reyes L. y Méndez L. (Eds.), *Elaboración de formas farmacéuticas* 2:6 (pp. 35–45), Oaxaca, México. Disponible en: <http://www.uabjo.mx/media/1/2019/06/TequioVol2No6.pdf>

Santarrosa, V. (2013). *Evaluación nutricional comparativa de pitahaya (Hylocereus triangularis) deshidratada en deshidratador de bandejas con la liofilizada*. Tesis de grado para optar al título de Bioquímico Farmacéutico, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba. Ecuador. [Documento en línea]. Extraído el 9 de marzo de 2022 de <http://dspace.espace.edu.ec/handle/123456789/3087?mode=full>

Shahidi, F. & Alasalvar, C. (2016). *Handbook of Functional Beverages and Human Health*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. p.p.: 231–236

Shimizu, T. (2003). Health claims on functional foods: the Japanese regulations and an international comparison. *Nutrition Research Reviews* 16:2 241–252. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19087392/>

Sista, A. & Qin, W. (2018). Structural and functional properties of pectin and lignin–carbohydrate complexes de-esterases: a review. *Bioresources and Bioprocessing*, 5:1 1-16. [Documento en Línea]. Extraído el 14 de marzo, 2022, de

<https://bioresourcesbioprocessing.springeropen.com/articles/10.1186/s40643-018-0230-8>

Sociedad Española de Cardiología. (2007). *Alimentos funcionales y nutraceuticos*. Madrid, España. Disponible en <https://secardiologia.es/images/publicaciones/libros/2007-sec-monografia-nutraceuticos.pdf>

Sosa Ingredients. (2021). *Pectinas*. Barcelona, España. [Documento en Línea]. Extraído el 24 de marzo, 2022, de https://www.sosa.cat/wp/wp-content/uploads/Pectines_CAST.pdf

Stewart, K. & Schroeder, V. (2018). *Blood Withdrawal I*. JoVE Science Education Database. Lab. Animal Research, Rodent Identification II. Disponible en: <https://www.jove.com/es/v/10246/blood-withdrawal-i>

Temak Y., Cholke P., Mule A., Shingade A., Narote S., Kagde A., Lagad R. & Sake V. (2018). In vivo and In vitro Evaluation of Antimicrobial Activity of Peel Extracts of Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(5): 24-26

Torres, E. (2007). Pitahaya (*Cereus undatus*). *Revista Vinculando*. [Documento en línea] Disponible en: https://vinculando.org/mercado/pitahaya_cereus_undatus.html

Tze, N.; Hank, C.; Yusof, Y.; Ling, C.; Talib, R.; Taip, F. & Aziz, M. (2012, junio 30). Physicochemical and nutritional properties of spray-dried pitaya fruit powder as natural colorant. *Food Science Biotechnol* 21:3 675–682. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/257474149_Physicochemical_and_nutritional_properties_of_spray-dried_pitaya_fruit_powder_as_natural_colorant

Valenzuela, A. y Ronco, A. (2004, noviembre). Fitoesteroles y fitoestanoles: aliados naturales para la protección de la salud cardiovascular. *Revista Chilena de Nutrición*. 31 suppl.1 161–169. Disponible en: <https://revistaschilenas.uchile.cl/handle/2250/149205>

Valenzuela, A., Valenzuela, R., Sanhueza, J. y Morales, G. (2014). Alimentos funcionales, nutraceuticos y FOSHU: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? *Rev Chil Nutr*. 41(2 Junio): 198-204.

Vásquez, W.; Aguilar, K.; Vilaplana, R.; Viteri, P.; Viera, W. y Valencia, S. (2016, noviembre). Calidad del fruto y pérdidas poscosecha de pitahaya amarilla

- (*Selenicereus megalanthus* Haw.) en Ecuador. *Agronomía Colombiana*, 34:1 S1081 – S1083. [Documento en línea]. Extraído el 9 de marzo de 2022 de https://www.researchgate.net/profile/William-Viera/publication/312283554_Calidad_del_fruto_y_perdidas_poscosecha_de_pitahaya_amarilla_Selenicereus_megalanthus_Haw_en_Ecuador/links/58bb21f445851591c5e0da32/Calidad-del-fruto-y-perdidas-poscosecha-de-pitahaya-amarilla-Selenicereus-megalanthus-Haw-en-Ecuador.pdf
- Vella, J.; García, E.; Romero, C.; Candás, B.; Castro, Ma. J.; Arrobas, T.; Calmarza, P.; Esteban, M.; Pocoví, M. y Puzo, J. (2019, julio – septiembre). Recomendaciones para la estandarización de la medida de lípidos y lipoproteínas. *Revista de Laboratorio Clínico* 12(3): e57 –e66.
- Vera, L.; Villarreal, D.; Wesche-Ebeling, P.; Toxqui, L. y Ortega, A. (2019). El papel de la nutrigenómica y los nutraceuticos en la prevención de las enfermedades cardiovasculares; revisión de la literatura. *Revista Cubana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular* 25:3. Disponible en <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=90770>
- Verona, A.; Urcia, J. y Paucar, L. (2020). Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Cultivo, características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos. *Scientia Agropecuaria* 11:3 439-453.
- Waliszewski, K. y Blasco, G. (2010, mayo – junio). Nutraceutical properties of lycopene. *Salud Pública México*, 52:3 254–265. Extraído el 15 de mayo, 2019 de <https://www.redalyc.org/pdf/106/10616167010.pdf>
- World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. (2018). *Dragon Fruit as a Nutraceuticals*. En S. Mayuri, A. Smita, & R. Saudagar (Eds.). 7:4 958–972. Disponible en https://www.wjpps.com/wjpps_controller/abstract_id/8769

ANEXOS

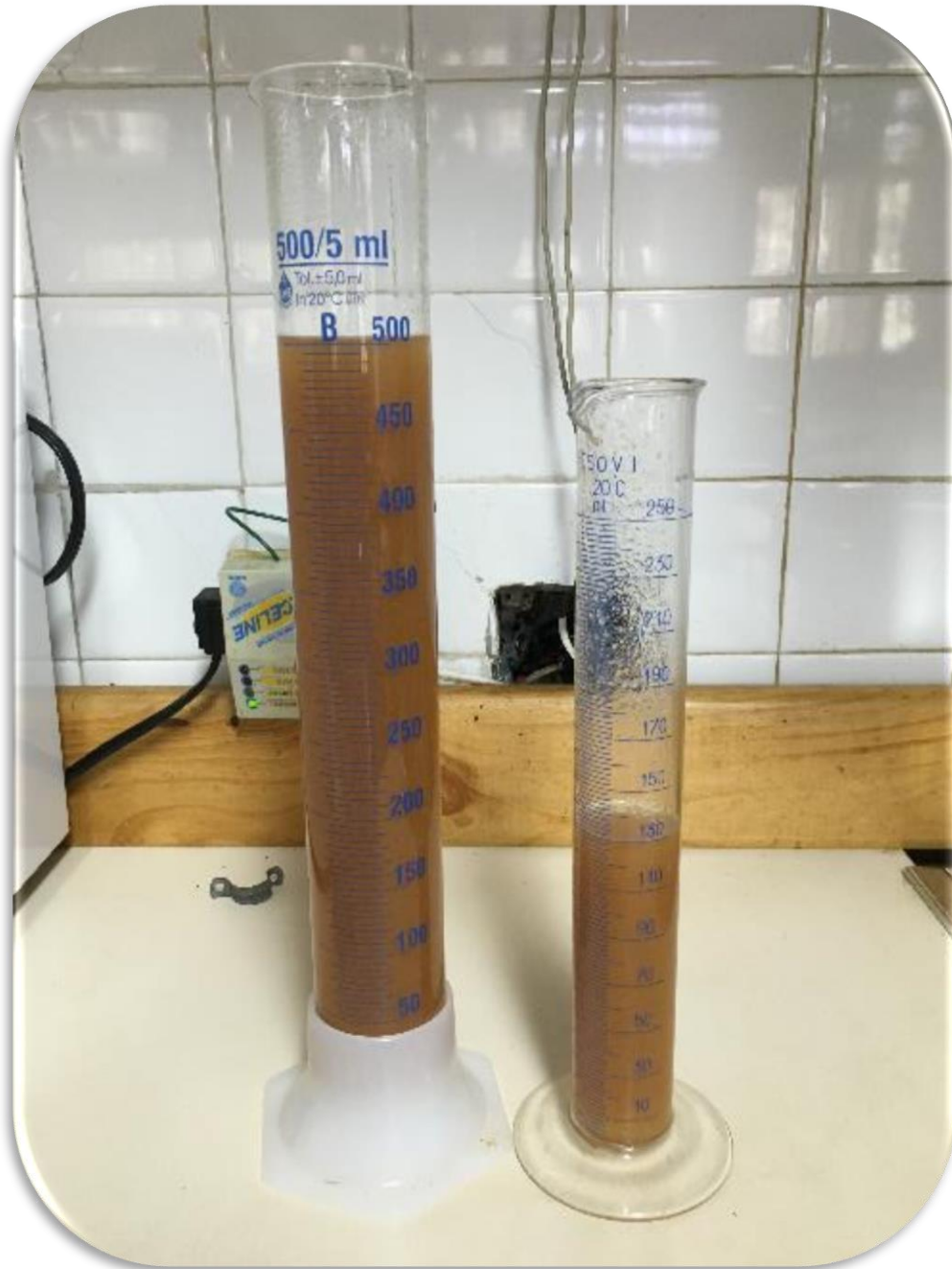
Anexo 1. Pitahaya (*Selenicereus megalanthus*), separación de la pulpa de la cáscara.



Anexo 2. Proceso de extracción de la pectina de pitahaya.



Anexo 3. Unificación de los extractos de pectina de pitahaya.



Anexo 4. Proceso de elaboración de la gomita.



Anexo 5. Ensayos preliminares para la conservación de las gomitas.

Día	Características			
	Refrigeración/ cubiertas	Refrigeración/ sin cubrir	Congelador/ cubiertas	T° ambiente/ sin cubrir
1	Brillo, color ocre, consistencia y textura gomosa.	Brillo, color ocre, consistencia y textura gomosa.	Brillo, color ocre, consistencia y textura gomosa.	Brillo, color ocre, consistencia y textura gomosa.
2	---	---	---	Deshidratación del producto. Color albero*. Aparición de partículas blancas.
3	---	---	---	Aumento de las partículas blancas sobre la superficie.
4	---	---	---	Reducción a 2/3 del tamaño inicial.
5	---	---	---	Mayor endurecimiento, adquirió forma curva y presentó reducción del grosor.
6	---	---	---	Partículas blancas cubren parcialmente los bordes de la gomita.
8	---	---	---	3/4 de la superficie cubierta por partículas blancas, ensanchamiento de las colonias y hoyos más pronunciados.
9	---	---	---	Partículas blancas cubren casi en su totalidad los bordes.

10	---	---	---	Curvatura más pronunciada.
11	---	---	---	Forma convexa.
14	Mismo volumen y color. Formación de una fina capa de color blanco crema y de consistencia espesa sobre la superficie de la gomita.	Cambio de color a sepia. Reducción a 2/3 del volumen inicial por deshidratación. Mantuvo la consistencia gomosa.	Mantuvo las mismas características organolépticas y físicas.	Color albero maestranza*. Mayor endurecimiento, forma convexa más acentuada. Reducción por deshidratación de 3/4 del volumen inicial.

* De acuerdo a la escala PANTONE de tonalidades Ocre.

Anexo 6. Características iniciales de las gomitas.



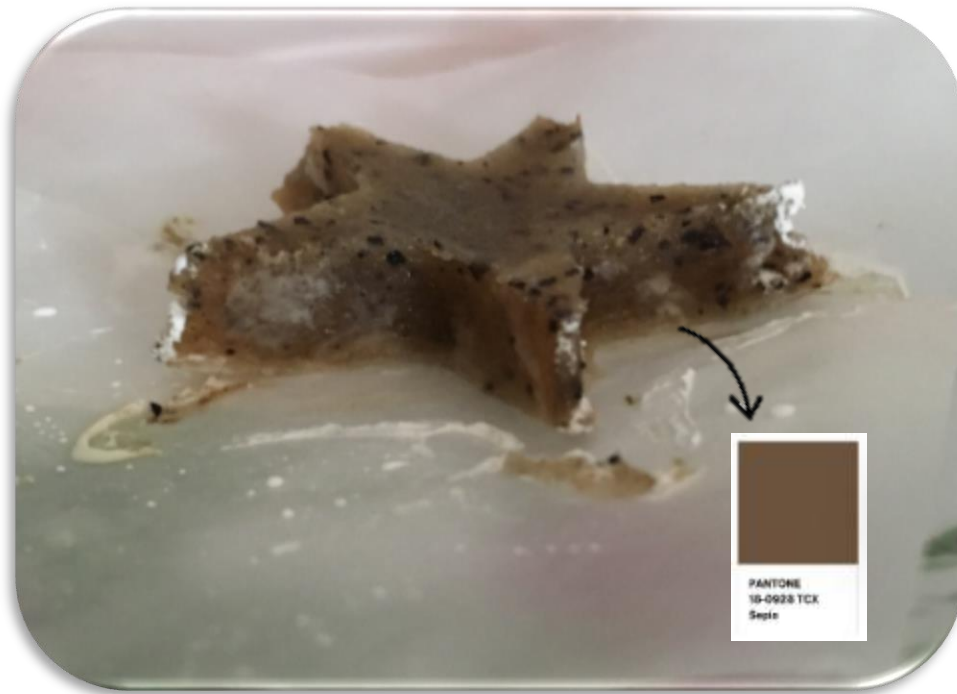
Anexo 7. Ensayo de conservación: Temperatura ambiente.



Anexo 8. Ensayo preliminar de conservación: Refrigeración/cubiertas.



Anexo 9. Ensayo preliminar de conservación: Refrigeración/sin cubrir.



Anexo 10. Ensayo preliminar de conservación: Congelación.



Anexo 11. Entrega de ratones (*Mus musculus*). Prueba piloto.



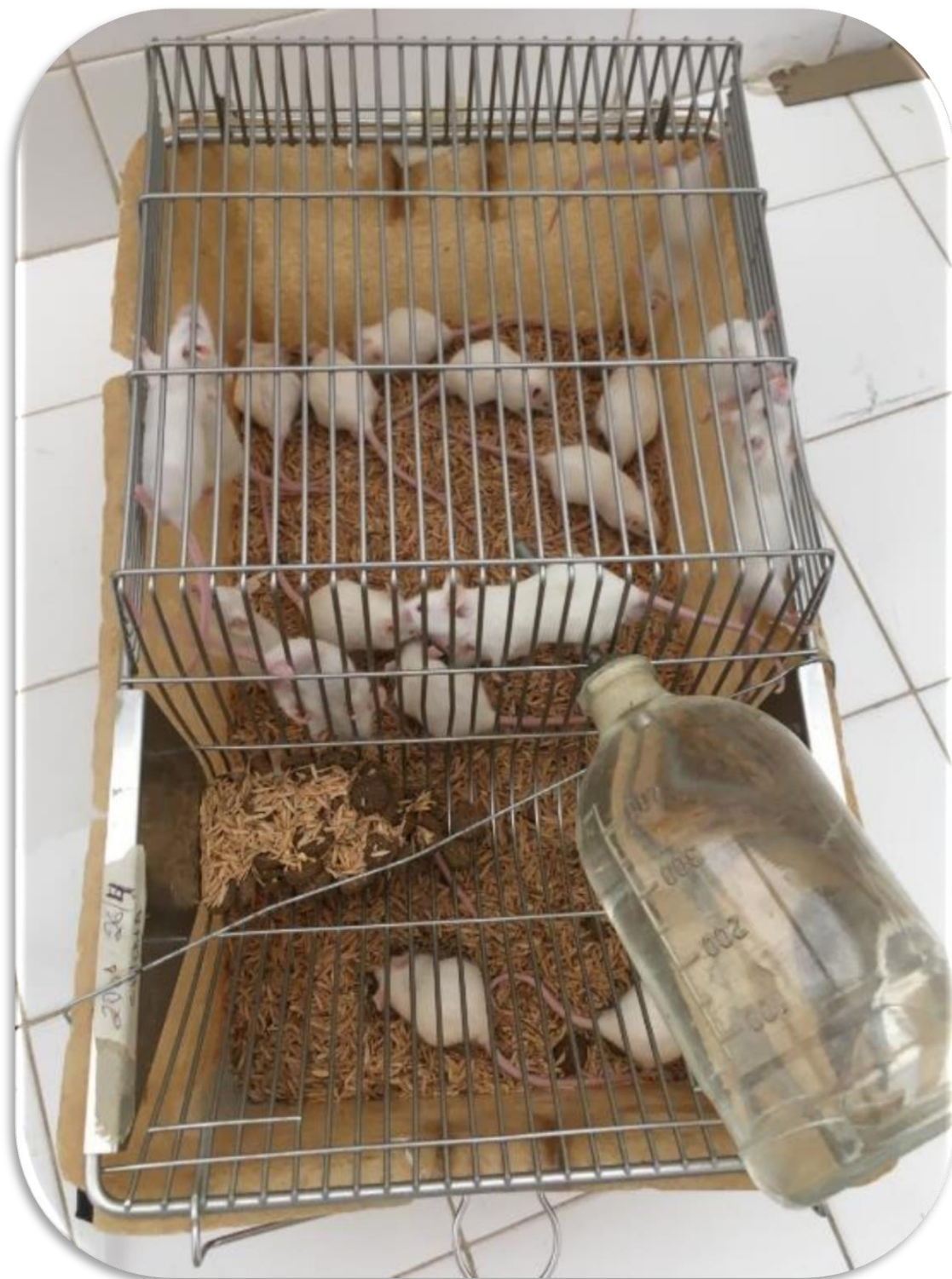
Anexo 12. Perrarina procesada. Harina de perrarina.



Anexo 13. Distribución de los grupos estudio. Prueba piloto



Anexo 14. Entrega de ratones (*Mus musculus*). Proyecto experimental.

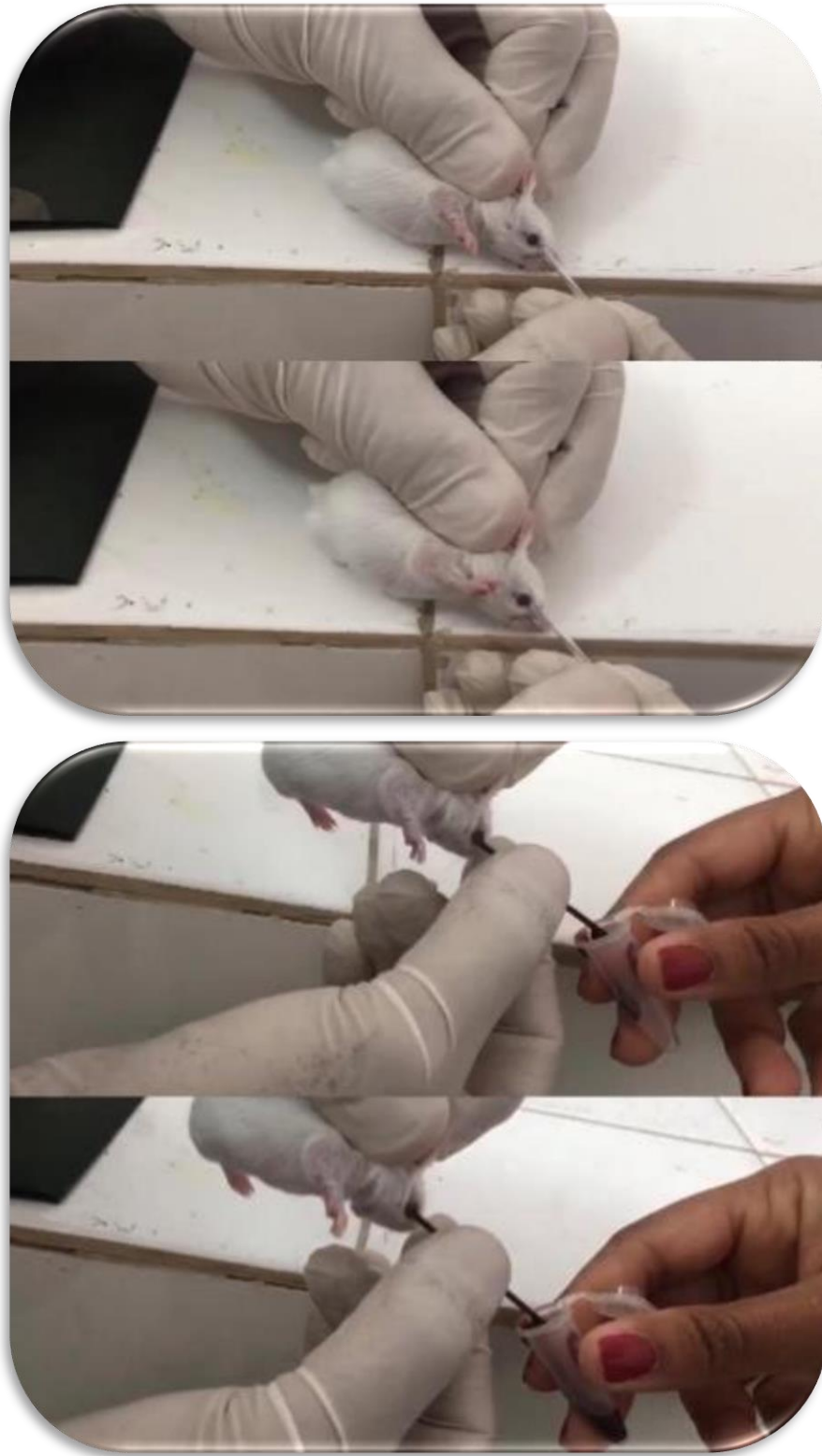




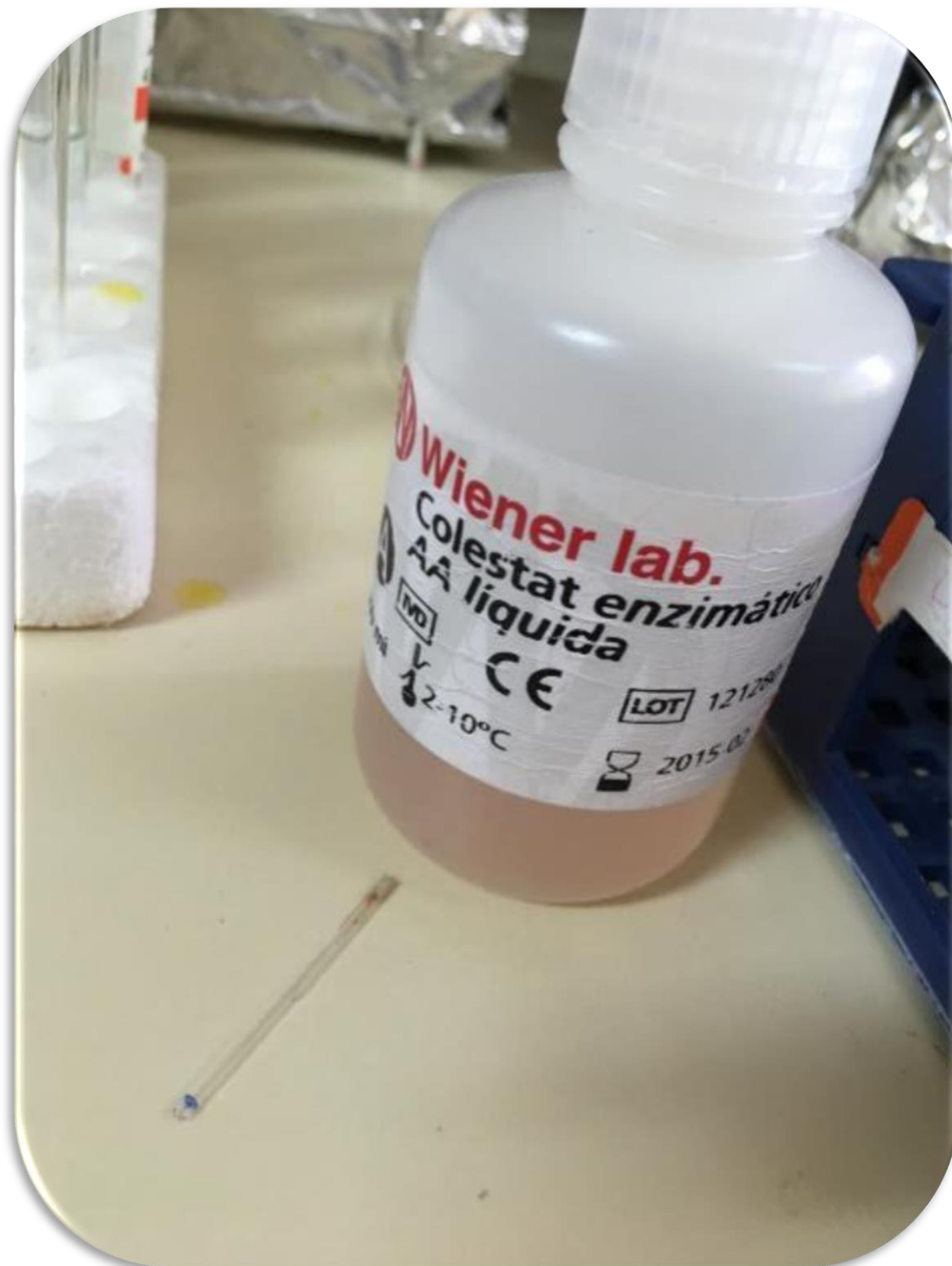
Anexo 15. Técnica de inmovilización de los ratones (*Mus musculus*) para la toma de muestra del seno venoso retroorbitario.



Anexo 16. Método terminal: Seno venoso retroorbitario.



Anexo 17. Método Enzimático Colorimétrico: Colestat.



Anexo 18. Espectrofotómetro.





Anexo 19. Método terminal: Punción Cardíaca.



Anexo 20. Resultados del nivel de Colesterol pertenecientes a los ratones (*Mus musculus* Línea BIOU:NMRI) de la prueba.

Grupo	Fase de inducción	Fase de tratamiento
	Día 15	Día 30
	Col (mg/dL)	Col (mg/dL)
S1	169	174
S2	170,03	173,49
S3	168,31	174,49
S4	168,74	173,86
S5	169	174,36
C1	329,26	223,58
C2	287,80	252,30
C3	278,04	237,94
C4	229,26	125,13
C5	285,36	244,10
T1	224,38	227,69
T1.1	173,16	207,79
T1.2	207,31	237,94
T1.3	182,96	182,56
T1.4	201,61	246,49
T2	307,31	223,58
T2.1	248,70	180,51
T2.2	321,94	256,41
T2.3	292,65	182,56
T2.4	295,10	133,33

