



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN

**Propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y antioxidantes
de un yogurt líquido adicionado con un liofilizado de jugo de
tuna púrpura (*Opuntia ficus indica*) ultrasonificado.**

TESIS

Que para obtener el título de
Licenciada en Nutrición

P R E S E N T A

P.L. Nutric. Liliana Lugo Zarate

No. cuenta: 279379

Bajo la Dirección de:

Mtra. Zuli Guadalupe Calderón Ramos

Codirectores

Dra. Nelly del Socorro Cruz Cansino

Dra. Esther Ramírez Moreno

Profesores investigadores del Área Académica de Nutrición



Pachuca, Hgo. Noviembre 2018



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**



De acuerdo con el artículo 134 del Reglamento de Control Escolar vigente, el jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión la Tesis titulada

"Propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y antioxidantes de un yogurt líquido adicionado con un liofilizado de jugo de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) ultrasonificado."

Que para obtener el Título de Licenciada de Nutrición sustenta la Pasante

C. Liliana Lugo Zarate

ATENTAMENTE
Pachuca, Hidalgo, 19 de octubre del 2018
"Amor, Orden y Progreso"

PRESIDENTE:	MTRA. ARIANNA OMAÑA COVARRUBIAS
SECRETARIO:	DRA. ESTHER RAMÍREZ MORENO
PRIMER VOCAL:	MTRO. TEODORO SUÁREZ DIÉGUEZ
SEGUNDO VOCAL:	DRA. NELLY DEL SOCORRO CRUZ CANSINO
TERCER VOCAL:	MTRA. ZULI GPE. CALDERÓN RAMOS
PRIMER SUPLENTE:	DR. ERNESTO ALANÍS GARCÍA
SEGUNDO SUPLENTE:	DRA. DIANA PATRICIA OLIVO RAMÍREZ

Dedicatorias y agradecimientos

Primero que nada quiero agradecer a Dios por haber permitido que este trabajo llegara a su término, asimismo le doy las gracias por haber mandado a mi vida a mi pequeña Yeimy, quien día con día es la motivación que me mantiene de pie, me llena de energía e impulsa a no detenerme. También quiero agradecer a mi esposo por su paciencia, a mis hermanos por su amistad incondicional, a mis papás por su gran fortaleza y dedicación, pero sobre todo el amor que cada uno de ellos me ha dado durante este tiempo. Por todo esto, el presente trabajo está dedicado a cada uno de ustedes: *Mi Familia*.

Gracias maestra Zuli y Doctora Nelly por haber confiado en mí y permitirme trabajar con ustedes en un área de la nutrición importante y bonita. De la misma manera, quedo muy agradecida por el apoyo de Bere, Alejandra y Salvador que en todo momento me ayudaron con su experiencia.

Gracias Quina por motivarme en cada etapa del proceso, a continuar sin desistir, que con tu experiencia y humildad siempre me diste apoyo incondicional; a Eli mi compañera y amiga en este camino, gracias por estar a mi lado y ayudarme a cumplir un importante objetivo en mi vida, porque con tu compañía este trabajo no solo fue una tesis, si no una experiencia de vida que no cualquiera tiene la dicha de disfrutar.

No puedo decir que el desarrollo del presente trabajo fue fácil, pero sí puedo afirmar que durante todo este tiempo pude disfrutar cada momento, desde la parte experimental hasta la investigación; resultado que logre con la ayuda de mis compañeros, doctores, maestros, entre otros.

Finalmente, agradezco a las personas que leen esta tesis, por permitir que mis experiencias, investigaciones y conocimiento les sean de ayuda en sus proyectos.

“Una actitud positiva te da poder sobre tus circunstancias, en lugar de que tus circunstancias tengan poder sobre ti” Joyce Meyer

Índice

Índice de figuras	5
Índice de tablas	5
Índice de abreviaturas y siglas	0
Índice de unidades de medida.....	1
1. Resumen.....	1
2. Abstract.....	2
3. Marco teórico.....	3
3.1 Características del nopal.....	3
3.2 Tuna <i>Opuntia ficus-indica</i>	3
3.2.1 Producción.....	5
3.2.2 Composición química.....	6
3.2.3 Propiedades nutricionales.....	7
3.2.4 Antioxidantes de la tuna púrpura	8
3.2.4.1 Compuestos fenólicos.....	10
3.2.4.2 Ácido ascórbico.....	11
3.3 Efecto de los antioxidantes en la salud	11
3.4 Bioaccesibilidad y biodisponibilidad	13
3.5 El yogurt y sus características.....	14
3.5.1 Características de los microorganismos presentes en el yogurt.....	17
3.5.2 Estudios previos sobre el yogurt adicionado	18
3.6 Alimentos funcionales	19
3.7 Procesamiento industrial de los alimentos	20
3.7.1 Colorantes y aditivos antioxidantes.....	21
3.7.2 Ultrasonido.....	22

4. Problema de investigación	24
5. Justificación.....	25
6. Objetivos	26
6.1 Objetivo general.....	26
6.2 Objetivos específicos	27
7. Materiales y métodos	27
7.1 Obtención del jugo de tuna púrpura.....	30
7.1.1 Extracción de antioxidantes del jugo de tuna púrpura por ultrasonido.....	30
7.1.2 Liofilización	30
7.2 Elaboración de yogurt	31
7.3 Análisis fisicoquímico.....	32
7.3.1 pH.....	32
7.3.2 Acidez titulable.....	32
7.3.3 Color	33
7.3.4 Viscosidad	33
7.3.5 Capacidad de retención de agua	33
7.4 Análisis microbiológico.....	34
7.5 Contenido antioxidante	34
7.5.1 Extracción de antioxidantes	34
7.5.2 Bioaccesibilidad <i>in vitro</i> del yogurt.....	35
7.5.3 Ácido ascórbico.....	36
7.5.4 Contenido de fenoles totales	36
7.6 Capacidad antioxidante.....	¡Error! Marcador no definido.
7.6.1 ABTS	37
7.6.2 DPPH.....	38

7.6.3 FRAP	38
7.7 Análisis estadístico.....	39
8. Resultados y discusión.....	40
8.1 Análisis fisicoquímico	40
8.1.1 Color	41
8.1.2 Viscosidad	44
8.1.3 Capacidad de retención de agua	46
8.2 Análisis microbiológico	47
8.3 Contenido antioxidante	50
8.3.1 Ácido ascórbico.....	50
8.3.2 Contenido de fenoles totales	53
8.4 Actividad antioxidante	57
9. Conclusiones.....	63
10. Bibliografía	65

Índice de figuras

Figura 1. <i>Opuntia ficus-indica</i>	3
Figura 2. Tuna (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	4
Figura 3. Valorización del fruto <i>Opuntia</i> : recuperación de compuestos de valor de varias partes de la fruta.	9
Figura 4. Creación de burbujas durante la cavitación y su colapso.....	23
Figura 5. Diagrama metodológico.....	29
Figura 6. Diagrama de las coordenadas de color de 4 formulaciones distintas de yogurt.	43
Figura 7. Viscosidad de 4 formulaciones distintas de yogurt.....	45
Figura 8. Capacidad de retención de agua de 4 formulaciones distintas de yogurt..	47
Figura 9. Contenido de ácido ascórbico de la muestra original y fracción bioaccesible de 4 formulaciones distintas de yogurt.	51
Figura 10. Contenido de fenoles totales dela muestra original y fracción bioaccesible de 4 formulaciones distintas de yogurt.	53
Figura 11. Actividad antioxidante de la muestra original y fracción bioaccesible de 4 formulaciones distintas de yogurt.	58

Índice de tablas

Tabla 1. Componentes del fruto de <i>Opuntia ficus-indica</i>	5
Tabla 2. Composición química de pulpa de tuna púrpura	6
Tabla 3. Contenido antioxidante de diferentes variedades de tuna púrpura.	10
Tabla 4. Características fisicoquímicos del yogur con fruta y aromatizado.....	16
Tabla 5. Especificaciones microbiológicas.....	17
Tabla 6. Muestras de estudio.....	31
Tabla 7. pH y acidez titulable de 4 formulaciones distintas de yogurt.....	41
Tabla 8. Características colorimétricas de 4 formulaciones distintas de yogurt	44
Tabla 9. Cuantificación microbiológica de 4 formulaciones distintas de yogurt	48

□

Índice de abreviaturas y siglas

AA: ácido ascórbico

ABTS: ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)

ADA: *American Diabetes Association*

AG: Ácido gálico

AOAC: *Association of Official Analytical Chemists*

BAL: Bacterias ácido lácticas

BHA: Butilhidroxianisol

BHT: Butilhidroxitolueno

CANILEC: Cámara Nacional de Industriales de la Leche

COFEPRIS: Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios

CRA: Capacidad de retención de agua

DCPI: 2,6- diclorofenolindofenol

DPPH: 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil

EB: Enterobacterias

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

FOSHU: *Food for Specified Health Uses*

FDA: *Food and Drug Administration*

IFI: *Instituto de fermentaciones industriales*

IG: intestino grueso

ILSI: *International Life Sciences Institute*

JHNFA: *Japan Health and Nutrition Food Association*

L: luminosidad

NMX: Norma Mexicana

NOM: Norma Oficial Mexicana

rpm: revoluciones por minuto

SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

VRBG: Violet Red Bile Glucose

YCL: yogurt / colorante

YCO: yogurt comercial

YJC: yogurt / jugo control

YJU: yogurt / jugo ultrasonicado

Índice de unidades de medida

C: *Croma*

°C: Grados celsius

cP: Centipoises

EAA: Equivalentes de ácido ascórbico

EAG: Equivalentes de ácido gálico

EFSA: *European Food Safety Authority*

E Fe (II): Equivalentes de hierro ferroso

ET: Equivalentes de trolox

g: gramos

°h: grados hue

KDa: kilodalton

KHz: kilohertz

L: litro

Log10: logaritmo base diez

M: molaridad

mg: miligramo

μM: micromoles

μL: microlitro

mL: mililitro

nm: nanómetros

p: peso

UFC: Unidades Formadoras de Colonia

v: volumen

1. Resumen

La tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) tiene compuestos antioxidantes importantes en la dieta, estos compuestos disminuyen el daño celular ocasionado por los radicales libres. En México se consumen 8 kg per cápita de yogurt los cuales contienen compuestos no saludables como los colorantes, este producto lácteo se ha utilizado como vehículo para la adición de otro alimento. El ultrasonido es una tecnología de conservación que preserva las características nutricionales y promueve la liberación de compuestos bioactivos aumentando su biodisponibilidad. El objetivo del proyecto fue evaluar las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y antioxidantes de un yogurt líquido adicionado con un liofilizado de jugo de tuna púrpura ultrasonificado (80% de amplitud por 12.5 min) (YJU) en comparación con un control (YJC) y productos comerciales (YCL e YCO). Los yogures con jugo de tuna púrpura presentaron mayor viscosidad, un color violeta intenso, con buena calidad microbiológica reportada en los recuentos de mesófilos aerobios, de enterobacterias y de bacterias ácido lácticas. El yogurt control fue mayor ($p < 0.05$) en el contenido de ácido ascórbico y de fenoles totales (129.83 mg EAA/100mL, 26.64 mg EAG/100mL, respectivamente). La mayor actividad antioxidante determinada por los métodos de ABTS y DPPH fue el YJU (6.41 y 38.37 $\mu\text{M ET}/100\text{mL}$, respectivamente), y en FRAP el YJC (7.20 $\mu\text{M Fe(II)}/100\text{mL}$). En la fracción bioaccesible de ácido ascórbico fue mayor el YJC (172.59 mg EAG/100mL) y en fenoles totales el YCL (22.42 mg EAG/100mL). El yogurt con jugo ultrasonificado (YJU) presentó una mayor bioaccesibilidad de los compuestos antioxidantes en comparación con el control. La actividad antioxidante de los compuestos bioaccesibles fue mayor en el YCL (23.49 mg EAA/100mL) por ABTS, por DPPH el YJC e YJU (139.62 y 145.21 $\mu\text{M ET}/100\text{mL}$, respectivamente) y por FRAP el YJC (5.51 $\mu\text{M Fe(II)}/100\text{mL}$). La adición del jugo de tuna al yogurt aportó buenas características de viscosidad, color y antioxidantes sin afectar su calidad.

Palabras clave: ultrasonido, tuna púrpura, yogurt líquido, bioaccesibilidad *in vitro*, antioxidantes.

2. Abstract

The purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) has important antioxidant compounds in the diet, these compounds decrease cell damage caused by free radicals. In Mexico, is consume around 8 kg per capita of yogurt which contain unhealthy compounds such as colorants, this dairy product has been used as a vehicle for the addition in another food. Ultrasound is a preservation technology that preserves the nutritional characteristics and promotes the release of bioactive compounds increasing their bioavailability. The aim of the project was to evaluate the physicochemical, microbiological and antioxidant properties of a liquid yogurt with a lyophilized ultrasound purple cactus pear juice (80% amplitude for 12.5 min) (YJU) added compared with a control (YJC) and two commercial products (YCL and YCO). The yoghurts with purple cactus pear juice presented higher viscosity, an intense violet color, with good microbiological quality reported in counts of aerobic mesophiles, enterobacteria and lactic acid bacteria. The control yogurt was higher ($p < 0.05$) in the content of ascorbic acid and total phenols (129.83 mg AAE/100mL and 26.64 mg AGE/100mL, respectively). The highest antioxidant activity determined by the ABTS and DPPH methods was YJU (6.41 and 38.37 $\mu\text{M TE}/100\text{mL}$, respectively), in FRAP the YJC (7.20 $\mu\text{M Fe (II)}/100\text{mL}$). In the bioaccessible fraction, the ascorbic acid in the YJC (172.59 mg AGE/100mL) and YCL in total phenols (22.42 mg AGE/100mL) were higher. The yogurt with ultrasonic juice (YJU) had a higher bioavailability of the antioxidant compounds compared to the control. The antioxidant activity of the bioaccessible compounds was higher in the YCL (23.49 mg AAE/100mL) by ABTS, by DPPH the YJC and YJU (139.62 and 145.21 $\mu\text{M TE}/100\text{mL}$, respectively) and by FRAP the YJC (5.51 $\mu\text{M Fe (II)}/100\text{mL}$). The addition of cactus pear juice to yogurt provided good viscosity, color and antioxidant characteristics without affecting its quality.

Key words: ultrasound, purple cactus pear, liquid yogurt, *in vitro* bioaccessibility, antioxidants.

3. Marco teórico

3.1 Características del nopal

El nopal (*Opuntia ficus-indica*) es una cactácea que se encuentra presente en zonas áridas y semiáridas, con gran diversidad de especies y amplia distribución geográfica en México (Torres-Ponce *et al.*, 2015), esta verdura es originaria de América y se ha difundido a Europa, África, Asia y Oceanía donde se cultiva o encuentra de forma silvestre (Reyes-Agüero *et al.*, 2005; Peña-Valdivia *et al.*, 2012).

Es una planta arbustiva a arborescente de 1.7 metros con un tallo primario lignificado bien definido, cladodios elípticos u ovalados, circulares y rómbicos de 32-44 centímetros de largo, presentan areolas que contienen espinas finas y producen flores de 7-10 cm de largo, su fruto suele ser esférico, cilíndrico o elíptico frecuentemente amarillo brillante, amarillo pálido a rojo púrpura de 7-9 cm de largo y 5-6 cm de ancho con un peso de 86-146 gramos.

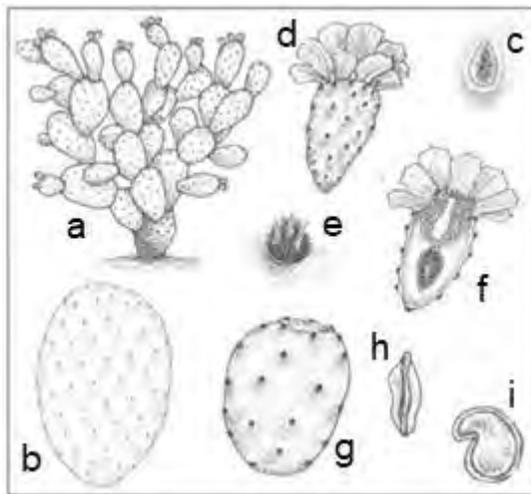


Figura 1. *Opuntia ficus-indica*

A: hábito; B: cladodio; C: aréola del cladodio; D: flor; E: areola de la flor; F: sección longitudinal de la fruta; G: fruta; H: vista dorsal de la semilla; I: vista ventral de la semilla. Fuente: Reyes-Agüero *et al.*, 2005

3.2 Tuna *Opuntia ficus-indica*

La tuna es el fruto del nopal, es una baya polysperma que forma parte de la familia de las *Cactaceas* de forma ovoide esférica de color verde y toma diferentes colores cuando maduran como se muestra en la figura 2 varían según la especie, presentan

espinas finas y frágiles de 2 a 3 mm de longitud; la especie *Opuntia ficus indica* se desarrolla en zonas áridas y muy áridas con lluvias de verano (Castro *et al.*, 2009).



Figura 2. Tuna (*Opuntia ficus-indica*)

Se le conoce por diferentes nombres como: *nochtli* de la lengua náhuatl; higo de las Indias en España; *prickly pear*, *Cactus fruti* o *Cactus pear* en Estados Unidos; *Chumbo* en Francia, etc. (Bazán y Curbina, 2016). Existen casi 300 especies pero solo 10 ó 12 son utilizadas por el hombre, ya sea para consumo humano como fruto, forraje o cochinilla para la obtención de colorante; en México se utiliza principalmente como forraje (Scheinvar, 1999; Mondragón-Jacobo y Pérez-González, 2001). La especie más cultivada es la *Opuntia ficus-indica*, fruto que se caracteriza por ser dulce, jugoso, de color amarillo, anaranjado, rojo o púrpura con mucha pulpa y cáscara de grosor variable (Scheinvar, 1999; Jiménez-Aguilar *et al.*, 2015), en la tabla 1 se muestra la proporción en la que se encuentra cada una de sus fracciones. La pulpa del fruto es del mismo color que el de la cáscara, es pulposa y jugosa, ligeramente dulce (12.4-15.5 °Brix), sus semillas son lenticuladas, contiene de 188-335 semillas por fruto (Figura 1) (Reyes-Agüero *et al.*, 2005; Bensadón *et al.*, 2010).

El color de su cáscara y pulpa es definido por la combinación de los pigmentos provenientes de las betalaínas, el rojo-púrpura de las betaninas y el amarillo-naranja por las indicaxantinas (Butera *et al.*, 2002). Las tunas de pulpa blanca y cáscara

verde son las de mayor consumo, su producción en el ámbito nacional corresponde a casi el 95% de la producción total (Sumaya-Martínez *et al.*, 2010).

Tabla 1. Componentes del fruto de *Opuntia ficus-indica*

Fracción	Porcentaje (%)
Cáscara	24.5 - 58.2
Pulpa	37.3 - 69.2
Semillas	4.3 - 7.3

Fuente: Jiménez-Aguilar *et al.*, 2015.

Como se mencionó anteriormente la tuna tiene especificaciones de suelo y clima para su crecimiento, por lo tanto su producción en los diferentes estados de México es muy variada, por estacionalidad (clima) y tipo de suelo.

3.2.1 Producción

En México la producción de tuna es importante y actualmente es el principal productor de esta fruta en el mundo, su superficie de cultivo se encuentra con cerca de 50 000 hectáreas para la producción de fruta (Flores-Valdez, 2003) y actualmente habría 72 000 mil hectáreas (Sáenz *et al.*, 2006). Las tres principales regiones productoras son: 1) región sur, por el estado de Puebla y Oaxaca; 2) región centro por el estado de México e Hidalgo; 3) región centro-norte por los estados de Guanajuato, Jalisco, Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas (Flores-Valdez, 2010). Por estados el principal productor es el Estado de México seguido de Zacatecas, Puebla e Hidalgo (Fideicomiso de riesgo compartido, 2017).

Hidalgo ocupa el 5° lugar nacional con el 4.61% de producción (SAGARPA, 2017), es uno de los principales estados productores dividido en dos regiones cosechadoras, el Valle del Mezquital (Actopan, El Arenal, Ajacuba, Ixmiquilpan, Huichapan y Francisco I Madero) y Altiplano Hidalguense (Zempoala, Epazoyucan, Vila de Tezontepec, San Agustín Tlaxiaca, Singuilucan, Apan y Tlanalapa) (Jolalpa *et al.*, 2011), estas regiones generan una producción media anual de 21,337 toneladas (SAGARPA, 2017).

La producción anual de tuna en México es superior a las 400 mil toneladas (Boletín, Cámara de diputados, 2017), a pesar de ser el principal productor no es el primordial exportador (SAGARPA, 2016), solo se exporta el 1.5%, lo que lleva a una alta pérdida por problemas de exportación. Otro de los problemas de la tuna en la comercialización son la saturación de producto en un corto periodo de tiempo, ya que es un fruto de temporada que concentra el 90% de la producción en los meses de julio, agosto y septiembre compitiendo con algunos otros frutos como durazno, manzana, guayaba etc. (Flores, 2002). Por la información anterior, nace la necesidad de elevar la competitividad de la tuna mexicana a nivel internacional con la creación de nuevos productos de alto valor agregado (Sumaya-Martínez *et al.*, 2010).

3.2.2 Composición química

La composición química del fruto del nopal varía según la madurez, la pulpa ocupa del 37.3-69.2% del fruto la cual está compuesta en su mayoría por agua con el 83%, proteína 0.2-1.6%, grasa 0.09-0.7%, fibra 0.02-3.1% y azúcares totales 10-17% (Piga, 2004). Existen diversas variaciones de la composición química del fruto debido a que depende de la procedencia o factores agronómicos, su consumo también aporta, vitamina C, compuestos fenólicos y pigmentos betalainicos, en la tabla 2 se describe la composición química de la tuna púrpura.

La composición de la pulpa de tuna destaca principalmente por sus antioxidantes, que han sido de interés para la población por sus funciones contra los radicales libres y por las propiedades que pueda generar el contenido de fibra.

Tabla 2. Composición química de pulpa de tuna púrpura

Parámetros	Unidad	Contenido por 100 g
Energía	kcal	41
Agua	g	87.55

Proteína	g	0.73
Lípidos totales	g	0.51
Fibra	g	3.60
Cenizas	g	1.64
Carbohidratos	g	9.57
Minerales		
Calcio	mg	56
Magnesio	mg	85
Hierro	mg	0.30
Sodio	mg	5
Potasio	mg	220
Fósforo	mg	24
Zinc	mg	0.12
Cobre	mg	0.08
Selenio	µg	0.60
Vitaminas		
Vitamina C	mg	14
Tiamina	mg	0.014
Riboflavina	mg	0.06
Niacina	mg	0.46
Vitamina B6	mg	0.06
Folato	µg	6
Vitamina A	µg	2
Beta Carotenos	µg	2.5
Lípidos		
Saturados	g	0.067
Monoinsaturados	g	0.075
Polinsaturados	g	0.213
Betaninas	mg	100

Fuente: Barba *et al.*, 2017; Ramírez-Moreno *et al.*, 2011; Sáenz y Sepúlveda 2001.

3.2.3 Propiedades nutricionales

La tuna es un fruto que ha llamado la atención por su valor nutritivo, lo que la hace destacar de las demás frutas; principalmente entre la comunidad científica, su contenido de fibra soluble (pectina) (Maki-Díaz *et al.*, 2015) otorga beneficios a la salud, ya que es capaz de retener agua produciendo un aumento de la masa fecal

que acelera el tránsito intestinal (King, 2000), contribuye a la fermentación proteolítica y sacarolítica, así como ejercer un efecto prebiótico (Escudero *et al.*, 2006).

A la tuna se le confieren características de un alimento funcional, por su composición tiene ventajas alimenticias que promueven la salud, principalmente por sus pigmentos llamados betaninas, mismos que han demostrado poseer un gran efecto antioxidante, entre otros bioactivos como los fenoles, flavonoides y ácido ascórbico; así como altas concentraciones de compuestos como: calcio, magnesio, prolina y taurina (Vergara, 2013; Galati *et al.*, 2003). El contenido y cantidad de antioxidantes que tiene la tuna es de interés, por lo que ha sido muy estudiada, para poder generar competitividad con otros productos agrícolas debido a los beneficios que estos imparten a la salud y la prevención de enfermedades crónico no transmisibles (Guevara, 2009), se ha demostrado que reducen los procesos de oxidación de colesterol y triglicéridos, e incrementa la neutralización de radicales libres, efecto que es principalmente atribuido a los antioxidantes (Tesoriere *et al.*, 2004).

3.2.4 Antioxidantes de la tuna púrpura

Un antioxidante es una molécula que previene la formación de radicales libres o inhiben sus reacciones en estructuras celulares (proteínas, carbohidratos, lípidos y ADN) (Venereo, 2002; Zamora, 2007). En los alimentos los antioxidantes han sido definidos como sustancias que en pequeñas cantidades pueden prevenir o retardar la oxidación de materiales fácilmente oxidables como las grasas (Becker *et al.*, 2004).

Los antioxidantes de la tuna han demostrado su actividad contra los radicales libres promoviendo la salud (Figuroa *et al.*, 2010; Sumaya-Martínez *et al.*, 2011), en la figura 3 se pueden observar los compuestos más importantes de la cáscara y pulpa entre los que destacan los fenólicos y los pigmentos betalaínicos, además de la vitamina C (Sumaya-Martínez *et al.*, 2011; Ramírez-Ramos *et al.*, 2015), estudios previos han demostrado el contenido de estos compuestos bioactivos.



Figura 3. Valorización del fruto *Opuntia*: recuperación de compuestos de valor de varias partes de la fruta. Fuente: Barba *et al.*, 2017

Sumaya-Martínez *et al.* (2011) evaluaron 18 cultivares de tunas púrpura, roja, amarilla y blanca de diferentes estados de la república, reportaron que la tuna púrpura contiene más betacianinas y betaxantinas que las de la variedad rojo, amarilla y blanca, lo mismo sucede con las concentraciones de ácido ascórbico siendo menores las tunas amarillas y blancas; en cuanto al contenido total de fenoles, los cultivares púrpura San Martín de Puebla e Hidalgo tienen la misma concentración de estos antioxidantes; se demostró que las tunas púrpura y rojas tienen una alta capacidad antioxidante a diferencia de las amarillas y blancas, esta actividad fue determinada por el método de DPPH.

Ramírez-Ramos *et al.* (2015) evaluó el contenido antioxidante de diferentes variedades de tuna, en la tabla 3 se observan los valores reportados en las variedades púrpura.

Tabla 3. Contenido antioxidante de diferentes variedades de tuna púrpura

Variedad/Especie	Betacianinas mg/100g pf	Betaxantinas mg/100g pf	Fenoles totales mg EAG/100g pf	Flavonoides mg EQ/100g pf
<i>O. ficus-indica</i> (L). <i>Mill</i> (jade)	30.13	11.79	122.52	6.69
<i>O. ficus-indica</i> (L). <i>Mill</i> (Copena CEII)	29.04	11.32	106.60	8.34
<i>O. ficus-indica</i> (L). <i>Mill</i> (Copena VI)	30.91	12.82	143.74	8.23

pf: Peso en fresco; EAG: Equivalentes de ácido gálico; EQ: Equivalentes de quercetina.
Fuente: Ramírez-Ramos *et al.* (2015).

Las tunas son una excelente alternativa para ser incorporadas en la dieta por sus propiedades impartidas de los compuestos bioactivos contenidos en el fruto (Monrroy-Gutiérrez *et al.*, 2017), se puede utilizar como un potente antioxidante natural o como un aditivo en alimentos (Sumaya-Martínez *et al.*, 2011). Se ha reportado que su consumo en fresco mejora la función plaquetaria y reduce la concentración de lípidos en sangre (Ochoa y Gerrero, 2010).

3.2.4.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son un grupo heterogéneo de moléculas que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático, están involucrados en múltiples acciones como la defensa contra patógenos en las plantas, igualmente se consideran importantes en la dieta por su capacidad de captar radicales libres, estos compuestos se pueden encontrar en mayor proporción en frutas, hortalizas, raíces y cereales (Chi-Tang, 1992; Crozier *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2014). Sin embargo, no todos se encuentran disponibles para su utilización debido a que varios factores interfieren con la biodisponibilidad de los antioxidantes, como la fuente de alimentos y las interacciones químicas con otros fitoquímicos y biomoléculas (Parada y Aguilera, 2007). Los antioxidantes de frutas se mezclan comúnmente con diferentes macromoléculas como carbohidratos, lípidos y proteínas para formar la matriz de los

alimentos. En el tejido vegetal, los carbohidratos son los compuestos más encontrados, principalmente en formas libres y conjugadas (Manach *et al.*, 2004).

La absorción de los fenoles depende de su estructura espacial, peso molecular, solubilidad, configuración de los isómeros (Appeldoorn *et al.*, 2009), algunos compuestos son de gran tamaño como los polimerizados y glicosilados por lo cual existe una hidrólisis enzimática en la células epiteliales del intestino delgado para hacerlos más pequeños, por este proceso muy pocos son absorbidos en esta porción del tracto digestivo pasando al intestino grueso (IG) (Hollman *et al.*, 1999; Rein *et al.*, 2013), cuando vienen acompañados de una molécula de azúcar deben llegar hasta el IG para ser hidrolizada y sean absorbidos (Erlund *et al.*, 2000; Rein *et al.*, 2013).

3.2.4.2 Ácido ascórbico

El ácido ascórbico o vitamina C es una vitamina hidrosoluble y esencial para la dieta, es un importante agente antioxidante. Es un compuesto lábil e inestable, se puede degradar a través de muchas vías: oxidación y térmica siendo las más importantes (Nahan, 2001). La mayoría de sus reacciones metabólicas se deben a su fuerte potencial reductor, se encuentra en muchas frutas y vegetales particularmente las cítricas (Naidu, 2003; Rusell, 2005).

Su absorción varía según su concentración de consumo, se absorbe por un mecanismo de transporte dependiente Na^+ (Flores, 1999), no se une a proteínas plasmáticas y su exceso se regula mediante excreción renal (Padayatty y Levine, 2001). Como ya se mencionó anteriormente esta vitamina contribuye como agente antioxidante ante la presencia de radicales libres ocasionados por el estrés oxidativo.

3.3 Efecto de los antioxidantes en la salud

La nutrición de las células supone una serie de procesos químicos complejos catalizados por enzimas que tienen como finalidad la obtención de materiales, energía y algunos otros como los antioxidantes, este conjunto de procesos recibe el nombre de metabolismo (Coronado *et al.*, 2015; Reyes *et al.*, 2011). En condiciones

normales existe un equilibrio entre la producción de radicales libres u otras especies reactivas con el mecanismo antioxidante, éste permite que la toxicidad por oxidación sea menor en las células. Cuando este equilibrio se rompe se asocia a un déficit del sistema antioxidante o por una proliferación descontrolada de radicales libres (Quintanar y Calderón, 2009). Cada vez hay más pruebas de que el estrés oxidativo, especialmente las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno están implicadas en varias enfermedades inflamatorias degenerativas y el daño oxidativo puede ser promotor de la enfermedad (MacDonald-Wicks *et al.*, 2006).

Un radical libre es un átomo al que le hace falta un electrón, son muy reactivos, ya que tienden a captar un electrón de otros átomos para alcanzar su estabilidad electroquímica, cuando lo ha logrado la otra molécula se convierte en un radical libre, iniciándose una reacción en cadena (Maldonado *et al.*, 2010). Estos constituyen un riesgo para las células y las biomoléculas, como los ácidos nucleicos, proteínas, polisacáridos y lípidos; la oxidación de estas moléculas pueden ocasionar un daño estructural irreversible, causando la pérdida o modificación de su función biológica (Céspedes y Sánchez, 2000; Stadtman y Levine, 2003).

Mientras que los antioxidantes se clasifican en dos principales grupos, enzimático o endógeno y no enzimático o exógeno, actuando en el sistema intracelular y extracelular; el primer sistema de defensa corresponde al endógeno basado en un complejo enzimático que puede incluir la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (Clarkson y Thompson, 2000; Combs, 2001); el segundo corresponde al exógeno, actúa en paralelo al primero siendo útil para cuando se satura el endógeno, está compuesto por depuradores de radicales libres como los flavonoides, vitamina E, vitamina C, vitamina A, carotenoides y algunos minerales como: selenio, cobre, zinc etc. los cuales retrasan la producción de radicales libres (Zamora, 2007).

Las especies reactivas generadas en situación de estrés oxidante, ocasionan un daño oxidativo produciendo en las células consecuencias críticas para su función,

iniciando procesos patológicos graves o favoreciendo su progreso (Halliwell y Whiteman, 2004; Levine y Stadtman, 2001), a los radicales libres se le asocia con el desarrollo de numerosas patologías no transmisibles como el cáncer y la diabetes (Prior, 2003; Choi *et al.*, 2004; Kuti, 2004; Maldonado *et al.*, 2010; Coronado *et al.*, 2015). Por lo anterior existe un creciente interés en la eficacia de la actividad antioxidante de las moléculas presentes en los alimentos, así como su disponibilidad ya que previenen las reacciones de los radicales libres, la mayor parte de los antioxidantes provienen de la dieta, principalmente de frutas y verduras, también se encuentran en productos lácteos como el yogurt.

3.4 Bioaccesibilidad y biodisponibilidad

La bioaccesibilidad se define como la cantidad de un componente que se libera de la matriz de los alimentos en el tracto gastrointestinal y por lo tanto estén disponibles para su absorción (Heaney, 2001; Parada y Aguilera, 2007), este proceso trata de modelos estáticos que simulan el tránsito a través del tracto digestivo humano, son simples, fáciles de aplicar y permiten estimar el efecto de las condiciones de digestión y de factores ligados a la matriz alimentaria de un nutriente (Fernández, 2010).

La bioaccesibilidad comprueba la cantidad de compuestos bioactivos que pueden ser potencialmente absorbidos, de estos métodos se obtiene información más rápida, son económicos frente a métodos *in vivo* (animales y humanos) y se cuenta con una mayor reproducibilidad (ainia, 2015), posteriormente se lleva a cabo la biodisponibilidad que principalmente se realiza mediante métodos *in vivo*.

La biodisponibilidad es la integración de diversos procesos que indica la eficacia con la que los nutrientes son utilizados, depende de los procesos de digestión, absorción de los nutrientes, disponibilidad de los mismos, absorción, transporte, utilización para las funciones metabólicas y eliminación (Haro-Vincente *et al.*, 2006; Hurrell y Egli, 2010; Caussy *et al.*, 2003).

Estos procesos actualmente se utilizan con mayor frecuencia por la industria alimentaria ya que como se mencionó anteriormente, tienen ventajas por su rapidez y bajo costo. Son utilizados para el desarrollo de alimentos funcionales los cuales contienen compuestos bioactivos de interés.

3.5 El yogurt y sus características

Se conoce que los productos lácteos son cultivados durante al menos 8000 años, y los primeros yogures probablemente fueron fermentados espontáneamente por medio silvestre con las bacterias que vivían en las bolsas de piel de cabra, donde las personas nómadas transportaban sus alimentos (Aranceta y Serra, 2004). El yogurt es el producto obtenido de la fermentación de la leche, estandarizada o no, por medio de la acción de los microorganismos *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, que requieren de glucosa y lactosa para que se lleve a cabo la fermentación teniendo como resultado la formación de ácido láctico y la reducción del pH (NOM-181_SCFI- 2010; Ramírez *et al.*, 2011).

Es un producto se consume en la mayoría de las partes del mundo, en México para el 2017 se produjeron 714,964 mil litros y su consumo per cápita es de 53 litros por persona al año (CANILEC, 2018), aunque su consistencia y aroma pueden variar según la región, los ingredientes básicos son los mismos y se conocen diferentes variaciones de este producto (Cortés *et al.*, 2005). El consumo del yogurt ha generado cambios estructurales en los humanos, como el aumento de la altura adulta, densidad ósea, masa corporal y longevidad (Cueva y Aryana, 2008).

La fuente primaria para la elaboración del yogurt es la leche, la cual cuenta con nutrientes esenciales como las proteínas, vitaminas (A, B6, B12, tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantoténico) y minerales (calcio, potasio, zinc, selenio fósforo y magnesio) (Cabana *et al.*, 2006). El proceso de fermentación de la leche, tiene aportaciones nutricionales como: 1) fuente de calcio, vitaminas; 2) los cultivos lácticos vivos facilitan la digestión de la leche mediante la degradación de la lactosa, las proteínas lácteas (lactoalbúminas, lactoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidasa,

inmunoglobulina, glicomacropéptido y factores de crecimiento); 3) los minerales promueven y mantienen el crecimiento músculo esquelético; 4) las bacterias ácido lácticas (BAL) generan sabor y textura en el yogurt, mantienen el sistema digestivo humano sano y dan plenitud (Fedorak y Madsen, 2004; Yildiz, 2016).

Desde la antigüedad el yogurt es conocido por los efectos de las BAL probióticas como *Bifidobacterias*, *Streptococcus* y principalmente *Lactobacillus* (Parra, 2012; Vera, 2011), sus aportaciones consisten en la disminución de la absorción del colesterol (Gibson y Roberfroid, 1995), sus metabolitos ejercen un efecto antimicrobiano en la digestión mejorando la microbiota gastrointestinal (Guandalini, 2006). Investigaciones científicas indican que el consumo de productos lácteos fermentados puede contribuir a reducir el riesgo de enfermedades gastrointestinales, cardiovasculares, del sistema inmune, alergias, cognitivas, control de peso, del sistema nervioso etc. (Yildiz 2016). Los compuestos bioactivos en el yogurt han ganado importancia teniendo muchas modificaciones industriales y sean más atractivos, otorgando beneficios extras a la salud humana, como las leches fortificadas, los cereales, jugos, entre otros. Por esta situación se conocen diversas clasificaciones del yogurt entre las más comunes se encuentran:

- a) Por sus componentes: simple o natural y saborizado o con fruta; los dos últimos pueden contener hasta un 50% de ingredientes no lácteos como: edulcorantes, frutas y verduras, jugos, purés, pastas, cereales, miel, chocolate, frutos secos, café, especias y otros alimentos aromatizantes naturales e inocuos y/o sabores (NOM-181_SCFI-2010).
- b) Por su contenido de grasa: de leche entera (mínimo 2.5%), leche parcialmente descremada (mínimo 1%) y de leche descremada (máximo 0.5%) (NMX-F-444-1983).
- c) Por su proceso de elaboración: rígido y semirrígido, batido y líquido. Los yogurt rígido y batido tienen alto contenido de sólidos (14 a 16%), varían en su proceso de elaboración (Navarrete *et al.*, 2004).

La Norma Oficial Mexicana 181-SCFI-2010 menciona que todo yogurt debe cumplir con ciertas especificaciones: de proteína láctea 2.9% como mínimo, de la relación caseína-proteína láctea en el producto final al menos 70%, y de grasa butírica un mínimo de 15%.

Una de las presentaciones del yogurt descritas por la norma Mexicana F-444-1983 es el adicionado con fruta y aromatizado. Lo clasifica por el contenido de grasa de la leche utilizada, en entera, parcialmente descremada y descremada. Teniendo como diferencias el contenido de grasa, sólidos no grasos y la proteína (tabla 4).

Tabla 4. Características fisicoquímicos del yogurt con fruta y aromatizado

Especificaciones	Leche entera		Leche parcialmente descremada		Leche descremada	
	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.
Grasa %	2	-	0.8	-	-	0.40
Sólidos no grasos de leche %	8.4	-	9.6	-	10	-
Acidez en ácido láctico %	0.8	1.8	0.8	1.8	0.8	1.8
Proteína %	2.5	-	2.7	-	2.8	-
Humedad %	-	78	-	78	-	78
pH menor de	4.5		4.5		4.5	

Fuente: NMX-F-444-1983

En cuanto a las características sensoriales y microbiológicas del yogurt se menciona lo siguiente:

a) Sensoriales:

- Color: uniforme y característico del producto.
- Olor: debe ser agradable y característico del producto.
- Sabor: ácido, agradable y característico del producto.
- Consistencia: debe ser firme o batido y con la viscosidad característica del producto.

b) Microbiológicas: el yogurt de cualquier tipo debe cumplir con las siguientes especificaciones descritas en la tabla 5.

Tabla 5. Especificaciones microbiológicas

Bacterias lácticas vivas (Mínimo)	2*10 ⁶ UFC/g
Organismos coliformes (Máximo)	10 UFC/g
Hongos (Máximo)	10 UFC/g
Levaduras (Máximo)	10 UFC/g

UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

Fuente: NMX-F-444-1983

El yogurt es un alimento que a nivel industrial se realiza en grandes cantidades, y que para su elaboración se hace uso de cultivos lácticos, que como se mencionó anteriormente le confieren propiedades al producto y por ende su consumo beneficios al cuerpo humano.

3.5.1 Características de los microorganismos presentes en el yogurt

Los dos principales microorganismos presentes en el yogurt son *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* los cuales componen un cultivo láctico (Devlieghere *et al.*, 2004). El conocimiento de los cultivos lácticos se originó en el siglo XVIII cuando agricultores de África, Asia y Europa observaron el comportamiento de la leche cruda en los meses cálidos, se comenzaron a seleccionar las mejores condiciones para la inoculación (Bedolla *et al.*, 2000). Las BAL vivas pueden estar contenidas en los cultivos lácticos e iniciadores; se conocen tres clases de cultivos: el iniciador, el cultivo madre y el cultivo usual, este último es mayormente empleado en los procesos fermentativos (Castro y De Rovetto, 2006). Comercialmente se pueden encontrar en diferentes presentaciones como: líquidos frescos, liofilizado y congelados (Romero y Mestres, 2004).

De acuerdo con el fin específico de los cultivos se encuentran de dos formas: homofermentativas (se produce ácido láctico) y heterofermentativas (se produce de ácido láctico y alcohol) (Carr *et al.*, 2002). También hay cultivos de acuerdo a su temperatura de crecimiento: mesófilas (20 - 30°C) y termófilas (37 – 45°C); y por el tipo de cultivo, como simple (1 cepa), múltiple (2 – 4 cepas) y mixto (mezcla de cepas y especies).

Los cultivos iniciadores tienen como funciones: la producción de ácido láctico por la fermentación de la lactosa, inhibir el desarrollo de microbiota contaminante y patógena, gelificación de la leche, producción de compuestos como diacetilo y acetaldehído, que dan aroma, contribución a la uniformidad en el producto final y han sido utilizados como probióticos (Hernández-Mendoza *et al.*, 2007), muchos de los cultivos han sido aislados del cuerpo humano principalmente del tracto digestivo (Guarner *et al.*, 2011). Son capaces de dar valor nutricional en los alimentos fermentados por la producción de exopolisacáridos e hidrólisis de péptidos en la leche (Moreno-Arribas y Polo, 2008).

3.5.2 Estudios previos sobre el yogurt adicionado

Debido a la demanda de la población por productos con un origen más natural, la población científica se ha dedicado a la formulación de nuevos alimentos con propiedades funcionales, un ejemplo de ellos son los productos lácteos. El yogurt es uno de los que más variedad tiene en cuanto a su contenido nutrimental, ya que como se mencionó anteriormente es muy estable para la adición de un sustrato generando su enriquecimiento, principalmente se hace uso de los frutos ya que es el grupo de alimentos más ricos en compuestos bioactivos y de gran sabor (Santillán-Urquiza *et al.*, 2014).

Se ha hecho uso de arándanos, palmira, mango, zanahoria, uva y su residuo, papaya, avena entre otros (Ju *et al.*, 2013; Pagthinathan *et al.*, 2016; Singh y Muthukumarappan, 2007; Shin *et al.*, 2015; Araújo *et al.*, 2017; Amal *et al.*, 2016; Nionelli, 2014), siendo su objetivo enriquecer el producto mediante la adición de

fibras prebióticas, antioxidantes, aminoácidos, entre otros bioactivos propios del sustrato y así aumentar el consumo de estos componentes en la dieta, los cuales se caracterizan por ofrecer beneficios a la salud (Santillán-Urquiza *et al.*, 2014).

3.6 Alimentos funcionales

El concepto de alimento funcional se conoció por primera vez en Japón en los años 80s, debido a la necesidad de disminuir los crecientes gastos en salud pública, generados por la mayor expectativa de vida de la población (Salinas, 2002). Existe un gran número de alimentos que debido a su contenido nutrimental por sus compuestos bioactivos que otorguen beneficios a la salud ya cuentan con el sustento científico para categorizarlo como funcional. Hay definiciones que dan un panorama sobre un alimento funcional, también conocidos como FOSHU abreviatura del inglés "*Food with Specific Health Uses*" (alimentos con usos específicos en salud) (Saito, 2007).

El Consejo de Alimentación y Nutrición de la Academia de Ciencias de los Estados Unidos los define como "alimentos modificados o que contengan ingredientes que demuestren acciones para incrementar el bienestar del individuo o disminuya los riesgos de enfermedades, más allá de la función tradicional de su contenido" (ADA, 2009). Para Europa, de acuerdo al Instituto de Fermentaciones (IFI), un alimento funcional es "aquel que ha demostrado satisfactoriamente afectar benéficamente una o más funciones específicas en el cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados, en una forma relevante para el estado de bienestar, salud o la reducción de riesgo de una enfermedad" (Flores *et al.*, 2017).

Para el 2013 en Japón existían 1076 productos certificados y aprobados como FOSHU por la JHNFA (Asociación de Alimentos de Salud y Nutrición de Japón) (ProChile, 2013), internacionalmente son escasos debido a que cada país tiene diferentes corporaciones para su regulación, como: la FDA (Administración de Comida y Drogas) en Estados Unidos (FDA, 2018); la COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios) en México (COFEPRIS, 2018).

Estos alimentos se caracterizan por conferir efectos específicos en la salud del consumidor, por sus ingredientes propios o añadidos (prebióticos, probióticos, antioxidantes, ácidos grasos omega-3, ácido fólico, fitoesteroles, fitoestrógenos, aminoácidos, fibra, etc.) o por que se le han quitado componentes perjudiciales para la salud (Yamada *et al.*, 2008; Durán y Valenzuela, 2010). Actualmente hay muchos alimentos que se consideran funcionales, pero no todos cuentan con el sustento científico haciéndose publicidad de sus supuestas virtudes (Valenzuela *et al.*, 2014). Los componentes que han causado una mayor producción de alimentos funcionales son los antioxidantes, ya que en numerosos estudios se ha dado a conocer su efecto que tiene sobre el estrés oxidativo. Se han elaborado productos como queso con fitoesteroles y antioxidantes, leche de cabra alimentada con chía, leches enriquecidas con ácidos grasos omega-3, yogurt con probióticos y antioxidantes (Aranceta y Serra, 2003), debido a que aún no hay una reglamentaria bien establecida, las industrias alimentarias han hecho uso de esto para poder comercializar productos funcionales.

3.7 Procesamiento industrial de los alimentos

La industria alimentaria se encarga del tratamiento, transformación, preparación, conservación y envasado de productos alimenticios que serán comercializados y distribuidos entre la población; la producción de alimentos se está incrementado y gran parte se le atribuye a bebidas y alimentos elaborados (Berkowitz, 2001).

En las últimas décadas, los consumidores se han vuelto más exigentes en lo que consumen y el costo de adquisición, mostrando preocupación por la seguridad de sus alimentos; mientras que las constantes presiones económicas y comerciales llevan al sector a ofrecer productos nuevos y diferentes al mercado así como productos de calidad nutricional (Polledo *et al.*, 2011); por consiguiente un objetivo de los ingenieros, científicos, nutriólogos ha sido encontrar procesos alternativos y tecnologías de conservación de bajo costo, amigables con el ambiente y que preserven los atributos de calidad del producto (Solomón, 2005). Los antioxidantes actualmente han llamado la atención por sus propiedades, sin embargo son

compuestos muy inestables ante procesos de conservación generando su disminución (Pokorný y Schmidt, 2004), ocasionando la utilización de conservadores y colorantes de origen sintético.

3.7.1 Colorantes y aditivos antioxidantes

Los aditivos alimentarios son cualquier ingrediente agregado a los alimentos, sin el propósito de nutrir, con el objeto de modificar características físicas, químicas, biológicas o sensoriales, durante su manufactura, y que se convertirán en compuestos propios del mismo (Reglamento Bromatológico Nacional, 2012).

Actualmente los colorantes y aditivos se utilizan con mayor frecuencia por la industria alimentaria, como consecuencia de la pérdida de las propiedades de los alimentos debido a los tratamientos de conservación utilizados (Ibáñez *et al.*, 2003), o para hacer más atractivo el producto, devolviendo o intensificando el color perdido.

Los colorantes se pueden clasificar de la siguiente manera:

- Naturales: son aislados de materias primas de origen vegetal.
- Artificiales: compuestos químicos obtenidos por síntesis, no identificados en productos vegetales, por ejemplo: azul tartrazina o rojo allura. (Reglamento bromatológico nacional, 2012).

Los colorantes sintéticos están en constante evaluación para confirmar su toxicidad y efectos a la salud, de los más y utilizados son el azul n°1, rojo cítrico n°2, rojo n°4, rojo n°5, entre otros. El azul n°1 es un derivado del ácido trifenilmetano, insoluble en grasa, estable en ácidos y a la luz; el rojo n°5 es un colorante azoico, soluble en agua, puede provocar intolerancia en personas afectadas por los salicilatos y además es un liberador de histamina, no es recomendado el consumo de este colorante en niños ya que puede causar hiperactividad (Mendoza y Calvo, 2010).

Entre otros aditivos existen los antioxidantes, se dividen en dos categorías los sintéticos y los naturales; los sintéticos son compuestos de estructuras fenólicas con varios grados de sustitución alquílica, mientras que los naturales pueden ser:

compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminos) o carotenoides, así como el ácido ascórbico (Shahidi, 2000; Wildman, 2007). Los antioxidantes sintéticos como el Butil – hidroxianisol (BHA) y Butil - hidroxitolueno (BHT) han sido utilizados desde principios del siglo pasado; sin embargo, se han impuesto medidas de precaución y restringiendo su uso por su carcinogenicidad (González *et al.*, 2007).

Por lo tanto se ha promovido el uso de nuevas tecnologías que ayuden a reducir el uso de conservadores, como la radiación, el microencapsulado, el ultrasonido entre otros (Barbosa-Cánovas y Bermúdez-Aguirre, 2010; Gharsallaoui *et al.*, 2007).

3.7.2 Ultrasonido

El ultrasonido data desde 1957 (Eberhard y Walter, 1957) y se define como las ondas acústicas inaudibles u ondas de presión de una frecuencia igual o superior a 20 kHz, se denomina ultrasonido de alta potencia ya que tiene la propiedad de causar cavitación permitiendo la inactivación de microorganismos en el procesamiento de alimentos (Hoover, 2000), la atracción de este método es que a corto tiempo y a temperaturas bajas permite una extracción de compuestos más específica en el producto (Mason y Vinatoru, 2017).

Durante la cavitación de un líquido la propagación del ultrasonido genera microburbujas dando lugar a su colapso, resultando en puntos calientes de hasta 5000°C (Yasui, 2010; Newman *et al.*, 1997) (figura 4), cuando la burbuja colapsa cerca de una superficie incide daño sobre la pared de partículas del líquido, esta es una de las principales razones por las cuales el ultrasonido es efectivo como método de extracción (Yasui, 2010).

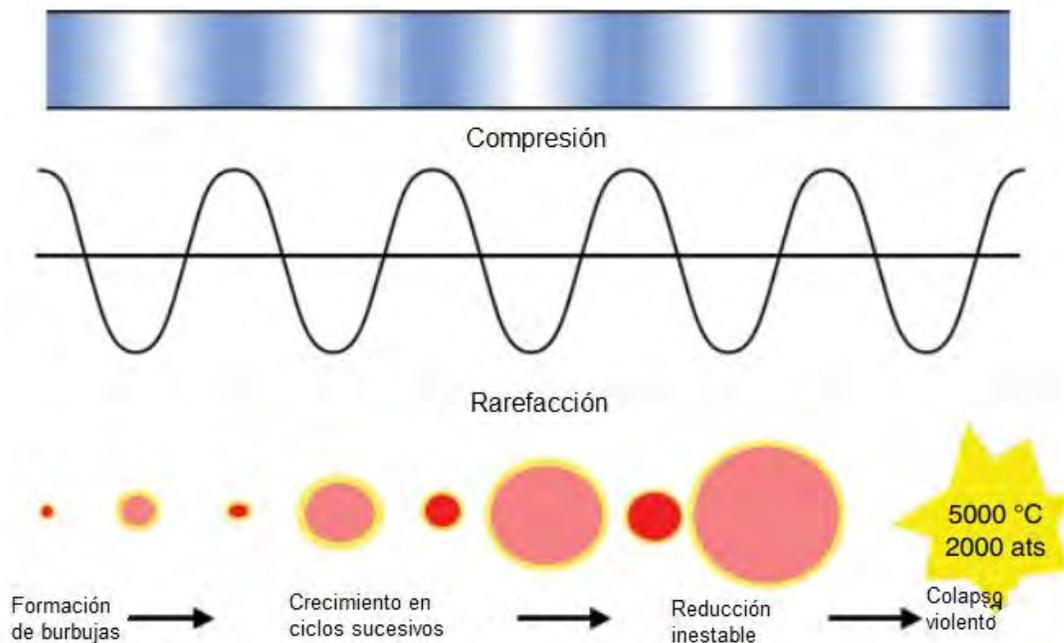


Figura 4. Creación de burbujas durante la cavitación y su colapso.

Fuente: Mason y Vinatoru, 2017

Una de las funciones es la extracción de compuestos asistida por ultrasonido, ha sido utilizado por la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos (Vinatoru, 2001), tiene más eficiencia que otros métodos (Azuola y Aguilar, 2017), consiste en utilizar sonidos de alta frecuencia con el fin de desprender el compuesto buscado del vegetal, al reducir el tamaño de la partícula se aumenta el área de exposición al solvente y a la cavitación producida (Vinatoru, 2001; Gao y Liu, 2005).

Con esta tecnología se ha logrado la extracción de aceite de semilla de tuna verde, aunque mostró menor rendimiento en comparación con otros métodos convencionales (soxhlet y maceración), podría obtenerse mayor extracción si se realizan varias extracciones por el mismo tiempo requerido en el que se realizan los métodos convencionales, por otro lado su actividad antioxidante (ABTS y DPPH) fue menor a los métodos de soxhlet y de maceración (Ortega-Ortega *et al.*, 2007). En otro estudio sobre la optimización del residuo de zarzamora, se logró la extracción de

compuestos fenólicos en un menor tiempo en comparación con las extracciones mediante agua y etanol, mientras que la capacidad antioxidante de las muestras por ultrasonido fue mayor por los métodos de ABTS y DPPH, estos resultados fueron atribuidos principalmente a los compuestos fenólicos seguido de las antocianinas (Zafra-Rojas *et al.*, 2016).

El ultrasonido como técnica de preservación es económico, inocuo, no afecta las características sensoriales, ayuda a preservar o mejorar las propiedades funcionales de algunos alimentos, contribuyendo a su conservación (Parada *et al.*, 2012; Morata, 2008). Con este proceso se ha logrado potenciar la actividad antioxidante, conservar propiedades fisicoquímicas, disminuir la carga microbiana y aumentar la bioaccesibilidad de compuestos antioxidantes en pulpa de tuna púrpura y jugo de zarzamora (Zafra-Rojas *et al.*, 2013; Zafra-Rojas *et al.*, 2016), es una tecnología que presenta gran versatilidad.

El ultrasonido ha demostrado ser una alternativa para mejorar el rendimiento de extracción de antioxidantes y potenciar algunas propiedades funcionales de los alimentos, y consecuentemente aumentar la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos como la vitamina C (Fonteles *et al.*, 2002), ya que hay evidencia de una baja disponibilidad de ciertos antioxidantes como los fenoles generando un efecto limitado sobre la salud (Kamiloglu *et al.*, 2014).

4. Problema de investigación

La tuna púrpura es un fruto con propiedades nutricionales importantes por su composición fisicoquímica y compuestos bioactivos como los antioxidantes de alto

valor biológico. A pesar de tener mejores propiedades que la tuna verde, su consumo y utilización es menor, aunado a esto es un alimento de temporada generando pérdida post cosecha, además no existe promoción para elevar su consumo. Por otro lado, se consumen aproximadamente 8 kg de yogurt per cápita en México y es un producto de alto consumo por su practicidad y estabilidad a la adición de un alimento para enriquecerlo. Actualmente la industria láctea lo utiliza como vehículo de alimentos funcionales, sin embargo, no se reporta en su información nutricional la cantidad de antioxidantes lo cual sería importante conocer; además, algunos de los ingredientes que le adicionan a los yogures, son sometidos previamente a procesos térmicos de conservación lo cual ocasiona la disminución de los antioxidantes de origen natural, importantes para la salud humana. Por lo anterior, es importante conocer el contenido de antioxidantes del jugo de tuna púrpura adicionado al yogurt y asimismo, elevar la bioaccesibilidad de estos compuestos para su utilización en el organismo humano, mediante técnicas de conservación menos radicales.

5. Justificación

En comparación con otros países, España tiene un consumo mayor de yogurt principalmente sin aditivos, mientras que en México el producto lácteo que se adquiere es de mala calidad por sus aditivos. Actualmente no existe en el mercado un yogurt adicionado con jugo de tuna púrpura, la cual tiene importantes compuestos bioactivos como los antioxidantes, que en cantidades adecuadas son benéficos para

la salud humana ya que contribuyen a la disminución del estrés oxidativo ocasionado por los radicales libres. Por otro lado, en la industria alimentaria el ultrasonido es considerado una tecnología emergente que logra la liberación de compuestos bioactivos, mejora las propiedades reológicas y contribuye a la inocuidad de los alimentos ya que disminuye la carga microbiana. Utilizar este método en el jugo de tuna púrpura podrá favorecer la disponibilidad de sus compuestos antioxidantes, mientras que una posterior liofilización facilitará la adición de este a un yogurt líquido, contribuyendo a enriquecer sus propiedades nutricionales del producto. A partir de un producto consumido habitualmente por la población en general, se promueve la ingesta de antioxidantes en la dieta, la disminución del consumo de aditivos, se permite el consumo y aprovechamiento del fruto, lo cual genera efectos benéficos sobre la salud, como preventivo y coadyuvante en el tratamiento de patologías con presencia de estrés oxidativo.

6. Objetivos

6.1 Objetivo general

Evaluar las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y antioxidantes de un yogurt líquido adicionado con un liofilizado de jugo de tuna púrpura (*Opuntia ficus indica*) ultrasonicado, para compararlo con un yogurt control y productos comerciales.

6.2 Objetivos específicos

- Determinar las propiedades fisicoquímicas (pH, acidez titulable, color, viscosidad y capacidad de retención de agua) de un yogurt adicionado con un liofilizado de jugo de tuna púrpura ultrasonicado, para compararlo con un yogurt control y productos comerciales.
- Evaluar la calidad microbiológica (mesófilos aerobios, enterobacterias y bacterias ácido lácticas) de un yogurt adicionado con un liofilizado de jugo de tuna púrpura ultrasonicado para compararlo con un yogurt control y productos comerciales.
- Analizar el contenido de ácido ascórbico y de fenoles totales de un yogurt adicionado con un liofilizado de jugo de tuna púrpura ultrasonicado para compararlo con un yogurt control y productos comerciales.
- Calcular la capacidad antioxidante mediante los métodos de ABTS, DPPH Y FRAP de un yogurt adicionado con un liofilizado de jugo de tuna púrpura ultrasonicado para compararlo con un yogurt control y productos comerciales.
- Determinar la bioaccesibilidad *in vitro* del ácido ascórbico, del contenido de fenoles totales y actividad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP) de un yogurt adicionado con un liofilizado de jugo de tuna púrpura ultrasonicado para compararlo con un yogurt control y productos comerciales.

7. Materiales y métodos

El diseño metodológico se compone por diversas etapas, desde la obtención del liofilizado de tuna púrpura en dos diferentes fracciones uno ultrasonicado y uno control sin sonicar, posteriormente la selección del yogurt con colorantes comerciales y el comercial, seguido de la determinación de las propiedades fisicoquímicas de

importancia, el análisis microbiológico, el contenido antioxidante, la capacidad antioxidante y su bioaccesibilidad *in vitro*. A continuación se describen las técnicas de los diferentes parámetros a evaluar (Figura 5).

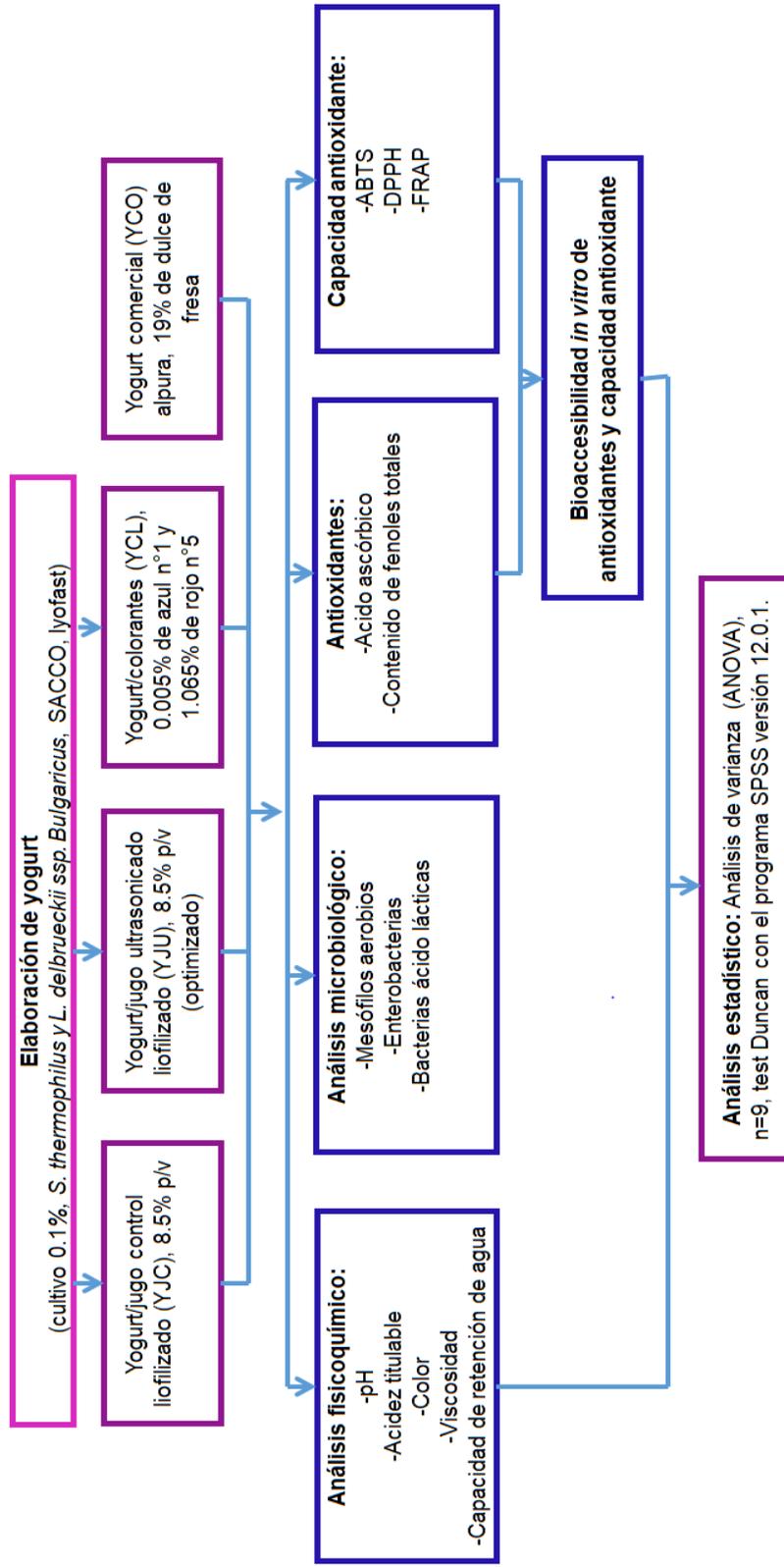


Figura 5. Diagrama metodológico.

7.1 Obtención del jugo de tuna púrpura

Las tunas púrpura (*Opuntia ficus indica*) se obtuvieron de forma local en el mes de septiembre en un mercado de Actopan, Hidalgo, México, con un grado de madurez completo, se necesitó de aproximadamente 30 kg. Se sometieron a un proceso de limpieza y desinfección con plata coloidal (microdin) y congelaron a -33°C. Para la obtención del jugo se retiró la cáscara y la pulpa se licuó evitando el rompimiento de las semillas, se pasó por un colador para después someterlo al proceso de ultrasonido y posteriormente se liofilizó. Para el yogurt control el jugo de tuna se pasó por un colador y liofilizó.

7.1.1 Extracción de antioxidantes del jugo de tuna púrpura por ultrasonido

El jugo anteriormente elaborado se sometió a un proceso de ultrasonido (*VCX-1500, Sonics and Materials Inc., Newtown, CT, USA*) a 1500 W. Se utilizó una frecuencia constante de 20 kHz con las siguientes condiciones obtenidas de la optimización del jugo de tuna púrpura: 80% de amplitud con tiempo de 12.5 min y temperatura de salida de 39°C, las duraciones del pulso fueron de 4 segundos encendido y 2 apagado. Este proceso optimizado fue obtenido de un estudio previo realizado por la línea de Investigación del Área Académica de Nutrición (Tecnofuncionalidad y Nutrición Molecular de Compuestos Bioactivos) llevado a cabo en el laboratorio de Tecnofuncionalidad de Alimentos en el Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Posteriormente la muestra se vertió en bolsas con cierre hermético y congelo en forma de láminas a -33°C para ser liofilizada, el proceso se realizó por triplicado.

7.1.2 Liofilización

El proceso de liofilización elimina la mayor cantidad de agua mediante un proceso de sublimación del hielo bajo presión, mientras que el agua ligada e incongelable se elimina por desorción **referencia**. Posteriormente al tratamiento por ultrasonido, las

muestras de jugo de tuna púrpura se liofilizaron (*liofilizadora VWR26671-581 Labconco, USA*) en las siguientes condiciones: -55°C con vacío de 0.045 mBar por 7 días y guardo en un congelador a -33°C hasta su uso.

7.2 Elaboración de yogurt

Se utilizó leche semidescremada pasteurizada (1000 mL), la cual fue calentada a una temperatura de 45°C, posteriormente se añadió 1.87g/L de un edulcorante comercial (Stevia), se mezcló perfectamente hasta la incorporación. Por otra parte se revivificó el cultivo láctico en 0.01% (Raff, Lyofast Guadalajara; liofilizado de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecies *bulgaricus*) tomando 20 mL de la leche pasteurizada y se dejó reposar por 30 min e inmediatamente se añadió al resto de la leche. Se dividió en 3 partes iguales para los diferentes tipos de yogurt a elaborar. Cada parte fue incubada por 5 horas a una temperatura de 43 a 45°C y se sometió a refrigeración para detener el proceso de fermentación (Walstra *et al.*, 2001).

Ya obtenido el yogurt, se formularon 3 muestras una muestra control, una ultrasonicada, una con colorantes comerciales y una comercial fue adquirida, como se observa en la tabla 6.

Tabla 6. Muestras de estudio

	Tipo de yogurt	Sustrato
YJC	Yogurt / jugo control	Yogurt + 8.5% p/v de jugo de tuna púrpura liofilizado.
YJU	Yogurt / jugo ultrasonicado	Yogurt + 8.5% p/v de liofilizado de jugo de tuna púrpura ultrasonicado.
YCL	Yogurt / colorante	Yogurt + 0.005% p/v de azul y 1.056% p/v de fresa cremosa (Deiman)
YCO	Yogurt comercial	Yogurt bebible de fresa con 19% de dulce de fresa (alpura)

7.3 Análisis fisicoquímico

7.3.1 pH

EL pH se entiende corresponde al logaritmo negativo (base 10) de la concentración de iones hidronio (H_3O^+) presentes en la muestra, sus valores varían de 0 a 14, **referencia** para su medición en las muestras de yogurt se utilizó un potenciómetro *Hanna Instruments, modelo 210*, EUA (AOAC, 1999), después de su calibración con soluciones buffer de pH 4.0 y 7.0 estandarizadas.

7.3.2 Acidez titulable

La acidez titulable es representada por los ácidos orgánicos libres y se mide con su neutralización a partir de una solución base. Se utilizó el método de la AOAC (1999), mediante la titulación de la muestra con una solución de NaOH al 0.1 N (hidróxido de sodio). En un matraz Erlenmeyer se procedió a medir 1 mL de la muestra y 9 mL de agua desionizada (AD), se utilizaron 3 gotas del indicador fenolftaleína y se homogeneizó; se comenzó a titular hasta observar un cambio de color a rosa intenso. Se registraron los mililitros gastados de NaOH para neutralizar cada muestra. La acidez titulable se reportó como porcentaje de ácido láctico, con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ácido lactico} = \frac{V * N * P. eq}{mL \text{ de muestra}} * 100$$

Dónde:

V= mL de NaOH gastados.

N= Normalidad del NaOH (0.1).

Peq= Peso equivalente del ácido láctico (0.09).

7.3.3 Color

Para realizar la evaluación de color se colocaron alícuotas de las muestras en recipientes con 3 mL cada uno, se utilizó un colorímetro portátil Minolta CM-80 (500 SM-508D, Japón) que dirige un haz de luz paralela monocromática a través de una muestra líquida y mide la intensidad del haz luminoso emergente. Se registraron tres coordenadas de color: L define la intensidad lumínica es decir que tan claro u oscuro es (100=blanco y 0=negro), la coordenada a^* que representa rojo ($+a^*$) y verde ($-a^*$), la coordenada b^* que indica la diferencia de amarillo ($+b^*$) y azul ($-b^*$), (Francis, 1980). Se realizó el cálculo de *croma* que indica la saturación es decir que tan llamativo o apagado es su color y hue que define el matiz-tonalidad. Para determinar cromaticidad (C) y tonalidad (h°) se utilizaron los valores de los ejes a^* y b^* , y se calculó con las siguientes ecuaciones:

$$C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \qquad h^\circ = \text{tg}^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

7.3.4 Viscosidad

La viscosidad se basa en el principio de la viscosimetría rotacional; se mide captando el par de torsión necesario para hacer girar a velocidad constante un husillo inmerso en la muestra **referencia**. Para medirla se utilizó el método empleado por Díaz-Jiménez *et al.*, (2004) con un viscosímetro *Broockfield DV3T*, aguja LV-4 a 60 rpm, se procedió a medir 35 mL de los yogures en tubos de centrifuga por triplicado a temperatura ambiente, se realizó la prueba y los valores fueron expresados en centipoises (cP).

7.3.5 Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua (CRA) se realizó mediante el método establecido por Remeuf *et al.* (2003). Se procedió a pesar 10 g de cada muestra en tubos de

centrifuga previamente pesados, se centrifugaron a 3500 rpm (*Hamilton Beach HealthSmart, modelo V65000, EUA*) por 30 min, se decantó y peso el tubo con el precipitado. El peso del sobrenadante se determinó por diferencia del peso de la muestra con el precipitado. El cálculo se realizó mediante la siguiente ecuación y expreso como porcentaje de retención de agua.

$$CRA = \frac{PM - SB}{PM} * 100$$

Dónde:

PM: Peso de la muestra

SB: Peso del sobrenadante

7.4 Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realizó mediante la técnica de micro gota descrita por Strahsburger *et al.*, 2016. Se obtuvieron 7 diluciones decimales por triplicado, en una solución de agua peptona para la enumeración microbiana, se utilizaron las diluciones -5, -6, -7 e inoculación directa; y se inocularon 20 µL de cada dilución. El recuento de microorganismos aerobios mesófilos se hizo en agar para métodos estándar (PCA) con una incubación de 48 horas a 30°C (*LSI-3016^a, Labtech, Korea*). El recuento de enterobacterias (EB) fue en agar bilis rojo violeta glucosado (VRBG) con una incubación de 24 horas a 37°C y las bacterias ácido lácticas (BAL) en agar MRS con una incubación a 30°C durante 48 horas. Se realizó un conteo en placa y los resultados fueron expresados como logaritmo base 10 de unidades formadoras de colonias por mililitro de muestra (\log^{10} UFC/mL).

7.5 Contenido antioxidante

7.5.1 Extracción de antioxidantes

Se pesaron 10 g de las muestras de yogurt en tubos de centrifuga y se procedió a añadir 2.5 mL de agua destilada y homogeneizó, posteriormente se acidificaron a un pH de 4 usando HCl 0.1 M. Después se incubaron a 45° C por 10 min en baño de agua (*Thermo electron corporation precisión, modelo 2837, EUA*), posteriormente se centrifugaron a 10,000 rpm por 30 min a 4° C (*Allegra 25R, Beckman Coulter Inc, California, EUA*) se decantó y el sobrenadante se ajustó a pH de 7 usando NaOH 0.1 M y se centrifugó (10,000 rpm, 10 min a 4° C) (*Allegra 25R, Beckman Coulter Inc, California, EUA*) (Zainoldin y Baba, 2009), el sobrenadante fue almacenado en congelación a -35° C para determinar el contenido antioxidante y capacidad antioxidante.

7.5.2 Bioaccesibilidad *in vitro* del yogurt

Los modelos *in vitro*, consisten en una simulación de la fase inicial de la digestión intraluminal, seguido de una absorción intestinal utilizando un modelo de diálisis (Bosscher *et al.*, 2000). Se utilizó un modelo de digestión *in vitro*, siguiendo el método descrito por Miller *et al.* (1981).

Se tomaron 20 mL de cada muestra de yogurt y se colocaron en tubos de centrifuga para ajustar su pH a 2 con ácido clorhídrico (HCl) 6 M, después se adicionaron 120 µL de solución pepsina (40 mg en 1 mL de HCl 0.1 M), los tubos se llevaron a incubar a 37°C en agitación de 60 rpm durante 2 horas (LSI-3016^a, Labtech, Korea). Después de transcurrido el tiempo se adicionaron 1.5 mL de la solución bilis-pancreatina (12.5 mg hidrato de colato de sodio, 12.5 mg de dioxicolato de sodio y 5 mg de pancreatina en 1 mL de NaHCO₃ 0.1 M) y homogeneizó. Las muestras digeridas se colocaron en membranas de celulosa de bolsas de diálisis de 15 cm con tamaño de poro de 12 KDa (se lavó con 3 mL de agua destilada para arrastrar todo el material del tubo de centrifuga), posteriormente se sometió a diálisis en una solución de NaHCO₃ pH 7.5 por 16 horas en incubación y agitación (37°C / 60 rpm). Finalmente, la fracción bioaccesible se subdividió y reservó en congelación a -35°C para determinar el contenido antioxidante y capacidad antioxidante.

7.5.3 Ácido ascórbico

Se determinó la cantidad de ácido ascórbico de acuerdo con Dürüst *et al.* (1997), el cual utiliza el reactivo 2,6-diclorofenolindofenol (DCPI) que tiene una coloración azul-violeta y al entrar en contacto con el ácido ascórbico cambia de color, a rosa o incoloro.

Se inició con la preparación de DCPI con 3 mg diluido en 250 mL de agua destilada; solución de ácido oxálico 1 g en 250 mL de agua destilada; solución de 5 mg de ácido ascórbico (AA) diluido en 100 mL de la solución de ácido oxálico antes preparada y con una solución amortiguadora (3 g de acetato de sodio aforado con 10 mL de ácido acético glacial y 7 mL de agua destilada). Se construyó una curva estándar de ácido ascórbico usando concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40 y 50 mg/l (ácido ascórbico/agua destilada), la absorbancia se midió en un lector de microplacas (*Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA*) a una longitud de onda de 520 nm, utilizando como blanco ácido oxálico.

Las muestras analizadas fueron las extracciones con agua y la fracción bioaccesible, se tomaron 100 μ L de las muestras, se les adicionó 100 μ L de amortiguador y 800 μ L de DCPI se mezclaron perfectamente y se hizo la lectura. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido ascórbico por 100 mL (mg EAA/100 mL).

7.5.4 Contenido de fenoles totales

Se utilizó la metodología descrita por Stintzing *et al.* (2005), la cual utiliza el reactivo Folin-Ciocalteu, una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, con carácter reductor (óxidos azules de tungsteno y molibdeno) al encontrarse en un medio con compuestos fenólicos, visualizándose como azules de wolframico y cuantificables mediante un espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm, su coloración azul refleja la cantidad total de polifenoles.

Se preparó una solución de Folin-Ciocalteu en una concentración de 1:10 (10 mL en 90 mL de agua destilada), una solución de carbonato de sodio (7.5 mg en 100 mL de agua destilada) y la solución de ácido gálico (AG) (15 mg en 50 mL de agua destilada). Se realizó una curva estándar de AG de 0, 100, 200 y 300 mg/L (AG/agua destilada) y se llevó a un lector de microplacas (*Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA*), utilizando como blanco agua destilada.

Las muestras analizadas fueron las extracciones con agua y la fracción bioaccesible; se tomaron 100 μ L de la muestra de cada uno se adicionó 500 μ L de folin y 400 μ L de carbonato de sodio, se homogenizaron y dejaron reposar por 30 min y se realizó la lectura. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 mililitros (mg EAG/100 mL).

7.5 Capacidad antioxidante por ABTS

El ABTS es un radical libre que reacciona con compuestos hidrófilos y lipófilos, su actividad está fundamentada en su decoloración ante un agente antioxidante (Quintanar y Calderón, 2009). La determinación se realizó de acuerdo con Kuskoski *et al.* (2005). El ABTS es un radical que presenta un color azul-verde, cuando este catión es reducido por un antioxidante presenta una pérdida de color.

Se preparó la solución de ABTS al 7 mM (76.8 mg en 20 mL de agua destilada), se agregó persulfato de potasio al 2.45 mM (6.6 mg en 10 mL de agua destilada), y se dejó reposar por 16 horas, se realizó una dilución en agua destilada hasta obtener una lectura de absorbancia de 0.7 ± 0.1 a 754 nm. Se elaboró una curva estándar en concentraciones 0, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 μ mol/l con una solución de ácido ascórbico (3 mg en 10 mL de agua destilada). Para su lectura espectrofotométrica se utilizará un lector de microplacas (*Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA*) utilizando como blanco agua destilada.

Las muestras analizadas fueron las extracciones con agua y la fracción bioaccesible; se tomaron 20 mL de la muestra y 980 μ L de ABTS, se dejó reposar por 7 min, se realizó la lectura en el lector de microplacas a una longitud de onda de 754 nm y se expresó como miligramos equivalentes de ácido ascórbico por 100 mililitros (mg EAA/100 mL).

7.6 Capacidad antioxidante por DPPH

Se evaluó la capacidad antioxidante con el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo conocido como DPPH, es un método caracterizado por la cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante, esta técnica principalmente reacciona con antioxidantes liposolubles del fruto (Londoño, 2012). Se realizó según la metodología reportada por Morales y Jiménez-Pérez (2001). El reactivo DPPH en solución etanólica presenta una coloración violeta y después de su reducción presenta una decoloración que puede ir hasta amarillo.

Se preparó una solución con 7.4 mg de DPPH aforando a 100 mL de etanol y se elaboró una curva estándar con Trolox (3.75 mg en 50 mL de etanol) con las concentraciones 0, 50, 100, 200 y 300 μ mol ET/L, se realizó la lectura en un lector de microplacas (*Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA*).

Las muestras analizadas fueron las extracciones con agua y la fracción bioaccesible, se colocaron 100 μ L de las muestras y 500 μ L de la solución DPPH, se dejó reposar por 60 min y midió a una longitud de onda de 520 nm. La actividad antioxidante se expresó en micromoles equivalentes de trolox en 100 mL (μ mol ET/100 mL).

7.7 Capacidad antioxidante por FRAP

El poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) mide la habilidad de un compuesto antioxidante para reducir el ion férrico (ferric²⁺, 4, 6-tripiryridyl-s-triazine [Fe (III)-(TPTZ)₂]³⁺) a complejo ferroso [Fe (III)-(TPTZ)₂]²⁺) a un pH de 3.6, desarrollando un

color azul intenso (García *et al.*, 2011; Benzie y Strain, 1996; Mesa-Vanegas *et al.*, 2010) se realizó mediante la metodología descrita por Thaipong *et al.* (2006).

El procedimiento se inició preparando el reactivo de FRAP en una concentración 10:1:1 con 100 mL de solución de amortiguador (0.3 M a pH 3.6), 10 mL de TPTZ (10 Mm en HCl) y 10 mL de FeCl₃ (20 mM en agua destilada). Se elaboró una curva estándar de sulfato ferroso con las siguientes concentraciones de Fe (II): 0, 20, 30, 40 y 50 µM Fe (II)/l.

Las muestras analizadas fueron las extracciones con agua y la fracción bioaccesible; para realizar la técnica se colocaron en viales 30 µL de las muestras y 90 µL de agua destilada y 900 µL de FRAP, las muestras se pasaron por un vortex y se dejaron en un baño de agua (*Thermo electron corporation precision, modelo 2837, EUA*) a 37°C durante 10 min, transcurrido el tiempo se leyeron las absorbancias en un lector de microplacas (*Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA*) a una longitud de onda de 593 nm. La actividad antioxidante se expresó en milimoles de Fe (II) equivalentes en 100 mL (mM E Fe (II) /100 mL).

7.8 Análisis estadístico

Se elaboraron tres lotes de cada yogurt y a cada uno se le realizaron las determinaciones por triplicado (n=9). Los valores de las variables (pH, acidez titulable, viscosidad, CRA, color, análisis microbiológico, antioxidantes y capacidad antioxidante) entre las muestras se compararon y se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) de una vía con el paquete estadístico SPSS versión 12.0.1, para Windows (SPSS Inc. Chicago, Illinois) y se aplicó el test de Duncan con un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$) para identificar la diferencia significativa.

8. Resultados y discusión

8.1 Análisis fisicoquímico

El yogurt es el resultado de la fermentación de la leche por medio de la acción de microorganismos, que dan como resultado la disminución del pH debido a la formación de ácido láctico (Ramírez *et al.*, 2011) asimismo este parámetro se ve modificado por los productos que se le puedan agregar, mientras que la acidez titulable se comporta inversamente al pH, ambos parámetros son importantes porque la acidez favorece la hidratación de las proteínas y un pH mayor influye desfavorablemente en la consistencia, mientras que un pH menor favorece la sinéresis del producto (Parra-Huertas y Medina-Vargas, 2012). Los promedios obtenidos de estas propiedades fisicoquímicas en el presente estudio se observan en la tabla 7, las muestras tuvieron valores de pH entre 4.16 a 4.44, comparando las muestras el yogurt comercial (YCO) fue significativamente menor (4.16), estos resultados coinciden con lo establecido en la NMX-F-444-1983, la cual menciona que el yogurt debe tener un pH menor a 4.5, mientras que en un estudio con yogurt adicionado con pulpa de palmira a diferentes concentraciones sus resultados fueron de 4.01 a 4.45 (Pagthinathan *et al.*, 2016), iguales a los observados en este estudio y en unos adicionados con extracto de arándanos se reportaron valores mayores (4.93 a 5.15) (Ju *et al.*, 2013).

La NOM-181-SCFI-2010 indica que el porcentaje de acidez titulable debe ser de mínimo 0.5%, en el presente estudio los yogures mostraron resultados de 0.60 a 0.84% cumpliendo con lo establecido por la normativa correspondiente, cabe mencionar que el YCL fue menor ($p < 0.05$) con 0.60%, respecto a las demás muestras. Los valores de acidez titulable del presente estudio fueron iguales que un yogurt adicionado con mango (Singh y Muthukumarappan, 2007), y mayores a los reportados en un yogurt bebible con fibra de avena (0.50-0.57%) (Güler-Akin *et al.*, 2016). La acidez titulable se atribuye a la actividad de las bacterias ácido lácticas que producen ácido láctico durante la fermentación (Díaz-Jiménez *et al.*, 2004).

Tabla 7. pH y acidez titulable de 4 formulaciones distintas de yogurt

Determinación	YJC	YJU	YCL	YCO
pH	4.40±0.10 ^a	4.44±0.09 ^a	4.34±0.16 ^a	4.16±0.08 ^b
% Acidez titulable	0.82±0.08 ^a	0.84±0.08 ^a	0.60±0.04 ^b	0.81±0.07 ^a

YJC: Yogurt/jugo control liofilizado; YJU: Yogurt/jugo ultrasonificado liofilizado; YCL: Yogurt/colorante; YCO: Yogurt comercial. ^{a-b} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

8.1.1 Color

Cada alimento tiene un color que es único y lo define distinguiéndolo de cualquier otro, siendo un atributo importante de calidad que determina la aceptabilidad de un producto alimenticio por el consumidor de acuerdo con la impresión que este genera en él (Sahin y Gülüm, 2006; Bayarri *et al.*, 2001) y sea más o menos atractivo a la vista.

En la figura 6B se muestra el color de las muestras de forma física y percepción del ojo humano, los yogures adicionados con tuna púrpura presentaron colores violeta debido al color característico del fruto atribuido a sus betalaínas presentes, mientras que el yogurt con colorantes presentó un color violeta con menor intensidad definido por los colorantes añadidos, sin embargo el color de las anteriores muestras no reflejaron similitud con el producto comercial el cual tiene una tonalidad rosa poco intensa.

Los parámetros que se analizaron en el presente estudio fueron las coordenadas L, a*, b*, *chroma* y hue, cada uno de ellos indica las características colorimétricas del yogurt, en la tabla 8 se observan los valores de las coordenadas que definen el color de las muestras con respecto a los resultados del colorímetro digital

Los resultados obtenidos de luminosidad (L) indican que el valor más alto significativamente fue el YCO (63.26) con respecto a las demás, mientras que las

muestras el YJC fue menor (30.56). En lo que respecta a los resultados de la coordenada a^* (verde-rojo) el YJC y el YJU fueron significativamente mayores en comparación con las demás, por el contrario en el eje b^* (azul-amarillo) el YCO fue mayor ($p < 0.05$). En la figura 6A se localizaron los yogurt de acuerdo a los valores de los ejes a^* y b^* , donde las muestras del YJC y del YJU se encontraron en el cuadrante rojo (a^+) azul (b^-), el YCO y el YCL están en el rojo (a^+) amarillo (b^+)

La disminución en la luminosidad y los parámetros de a^* y b^* , en los yogurt con jugo (YJC e YJU) se vieron modificados otorgándole un color más oscuro propio del fruto, este mismo comportamiento se observó en un yogurt con uva Isabel donde estas coordenadas fueron menores por la adición del fruto (Araújo *et al.*, 2017). Por otro lado, los cambios que se observaron en el YJU en L , a^* y b^* se atribuyen a que el ultrasonido por medio de la cavitación contribuye a cambios en el color, así como las reacciones de oxidación que ocurren en la interacción de los radicales libres con los compuestos del jugo (Tiwari *et al.*, 2008; Cheng *et al.*, 2007).

De acuerdo al parámetro de *Croma* comparando las muestras, el YJC y el YJU fueron significativamente mayores, con respecto a hue todos los yogures mostraron diferencia ($p < 0.05$) entre ellos, siendo el mayor el YCO y el YJU el menor.

En un estudio realizado por Tseng y Zhao (2013) en un yogurt control fortificado con residuo de uva para vino se encontró un valor de hue de -1.26 similares a lo encontrado en el presente estudio en las muestras del YJC, del YJU y del YCL.

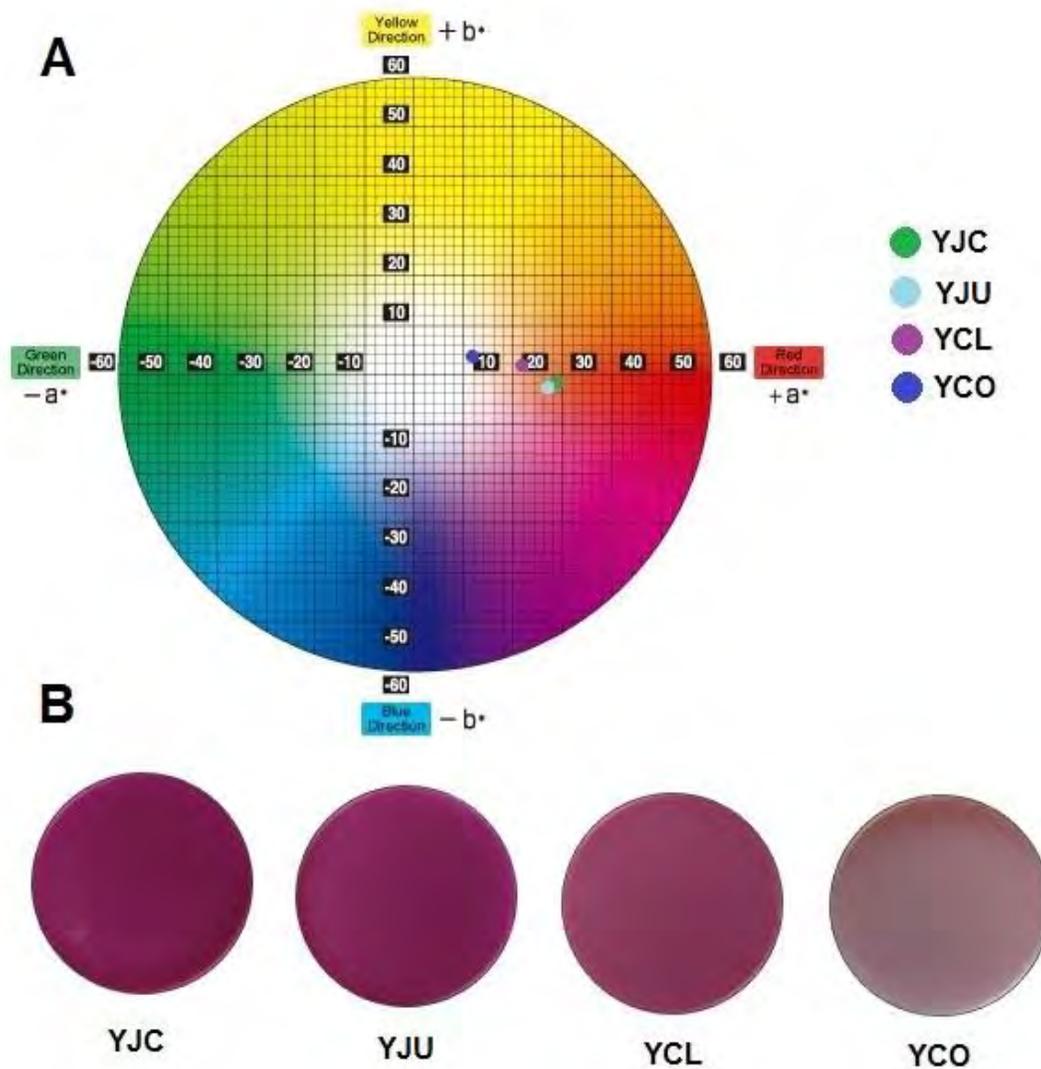


Figura 6. Diagrama de las coordenadas de color de 4 formulaciones distintas de yogurt. YJC: Yogurt/jugo control liofilizado; YJU: Yogurt/jugo ultrasonificado liofilizado; YCL: Yogurt/colorante; YCO: Yogurt comercial. A) Diagrama espectral con la ubicación de los ejes a^* y b^* . B) Color visual de las muestras de yogurt.

Tabla 8. Características colorimétricas de 4 formulaciones distintas de yogurt

Coordenadas	YJC	YJU	YCL	YCO
<i>L</i>	30.56±1.08 ^d	38.52±0.89 ^c	41.68±3.34 ^b	63.26±3.29 ^a
<i>a</i> *	29.55±2.26 ^a	28.42±0.57 ^a	20.89±1.63 ^b	10.07±0.34 ^c
<i>b</i> *	-1.76±0.03 ^c	-3.91±0.32 ^d	1.36±0.09 ^b	3.38±0.12 ^a
<i>Croma</i>	29.61±2.25 ^a	28.68±0.55 ^a	20.93±1.63 ^b	10.63±0.32 ^c
<i>Hue</i>	-3.42±0.21 ^c	-7.84±0.72 ^d	-3.75±0.37 ^b	18.56±0.95 ^a

YJC: Yogurt/jugo control liofilizado; YJU: Yogurt/jugo ultrasonificado liofilizado; YCL: Yogurt/colorante; YCO: Yogurt comercial; *L*: luminosidad, *a**: rojo-verde y *b**: amarillo-azul. ^{a-d} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

8.1.2 Viscosidad

La viscosidad es un atributo fundamental para determinar la calidad de un producto ya que define la aceptación del consumidor (Bourne, 2002), esta propiedad está relacionada con la composición del alimento, en el caso del yogurt depende de los estabilizantes que se usan en la industria como las pectinas (Castillo *et al.*, 2004) y las características del fruto añadido al producto lácteo como sus polisacáridos presentes, principalmente fibras solubles como pectinas, hemicelulosas y gomas (Dongowski *et al.*, 2005). En el presente estudio el YJC y el YJU tuvieron mayor viscosidad (340.55 y 327.22 cP) sin presentar diferencia entre ellos, siendo significativamente mayores al YCL (47.88 cP) y el YCO (259 cP) (figura 7).

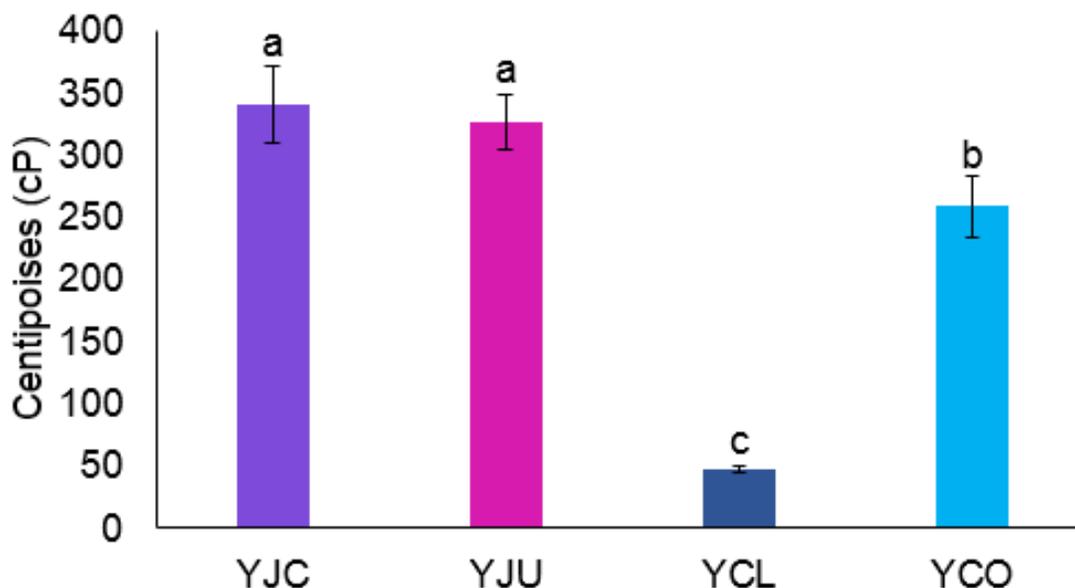


Figura 7. Viscosidad de 4 formulaciones distintas de yogurt. YJC: Yogurt/jugo control liofilizado; YJU: Yogurt/jugo ultrasonificado liofilizado; YCL: Yogurt/colorante; YCO: Yogurt comercial. ^{a-c} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

El YCL fue el menos viscoso debido a que el sustrato añadido en esta muestra consistió en colorante comercial, Isanga y Zhang (2008) reportaron que la viscosidad se comporta en relación al contenido de sólidos totales añadidos al yogurt, cuando estos son más altos la viscosidad será mayor, de igual manera la composición del sustrato modifica este parámetro como lo reportado en un yogurt adicionado con zanahoria, que debido a la fibra dietética soluble es mayor su viscosidad (Shin *et al.*, 2015), ese comportamiento se observó en los yogures evaluados en este estudio.

La viscosidad del YJC, fue ligeramente mayor al YJU, este jugo de tuna púrpura fue ultrasonificado el cual provoca cambios estructurales que generan la cavitación y cizallamiento por medio de las microburbujas de las ondas que rompen el tejido vegetativo (Delgado y Sun, 2011; Zinoviadou *et al.*, 2015), lo que resultó en un producto menos viscoso.

Los resultados analizados en el presente estudio tuvieron el mismo comportamiento en un estudio por Sun-Young *et al.* (2011) en unos yogures adicionados con extracto

en polvo de ñame (*Dioscorea opposita* Thunb.) a diferentes concentraciones (0, 1, 3, 5 y 7%) refiriendo que los resultados de viscosidad se comportaron de acuerdo a la cantidad de polvo añadido, de igual manera en un yogurt liquido-semi-descremado con goma de *Enterolobium cyclocarpum* donde se observó que a mayor concentración de la planta su viscosidad incremento (Rincón *et al.*, 2005), por lo anterior reportado y lo observado en el presente estudio se dice que la viscosidad es un parámetro que se ve modificado como consecuencia del sustrato añadido a la matriz del yogur.

8.1.3 Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua (CRA) en el yogurt, según Gunasekaran *et al.* (2007) está relacionada con la capacidad que tienen las proteínas de mantener el agua en su estructura, asimismo los glóbulos de grasa contribuyen con esta propiedad, otros de los compuestos son los carbohidratos presentes en el fruto principalmente la fibra soluble como la pectina (Maki-Díaz *et al.*, 2015). En la figura 8, se aprecian los resultados de las muestras analizadas en el presente estudio, mostrando valores de 44.98% a 17.27%, cabe destacar que el YCO fue significativamente mayor (44.98%), y el YCL menor (17.27%) en relación a las demás muestras. Por otro lado, las muestras de YJC y de YJU no mostraron diferencia ($\approx 37.57\%$) indicando que el proceso de ultrasonido en el jugo de tuna púrpura no afecta esta propiedad en la matriz del yogurt. Ranadheera *et al.* (2012) establece que los yogures naturales tiene mayor CRA en comparación con los de fruta, debido a la disminución de proteína disponible ocasionado por la adición del compuesto, lo cual coincide con las muestras de YJC y de YJU en este trabajo.

En unos yogures elaborados con vegetales, otros con copos fermentados de avena y de tuna amarilla la CRA (81-95.6%, 48-67% y 60.02-64.22% respectivamente) (Coda *et al.*, 2012; Nionelli, 2014; Amal *et al.*, 2016) fueron mayores a lo encontrado en este estudio.

Se observó una relación de CRA con la viscosidad donde los dos parámetros aumentaron como consecuencia del mayor contenido de sólidos, este mismo comportamiento se reportó en un yogurt adicionado con fibra de avena (Güler-Akin *et al.*, 2016) y con harina de maracuyá (Vieira *et al.*, 2014) a diferentes porcentajes.

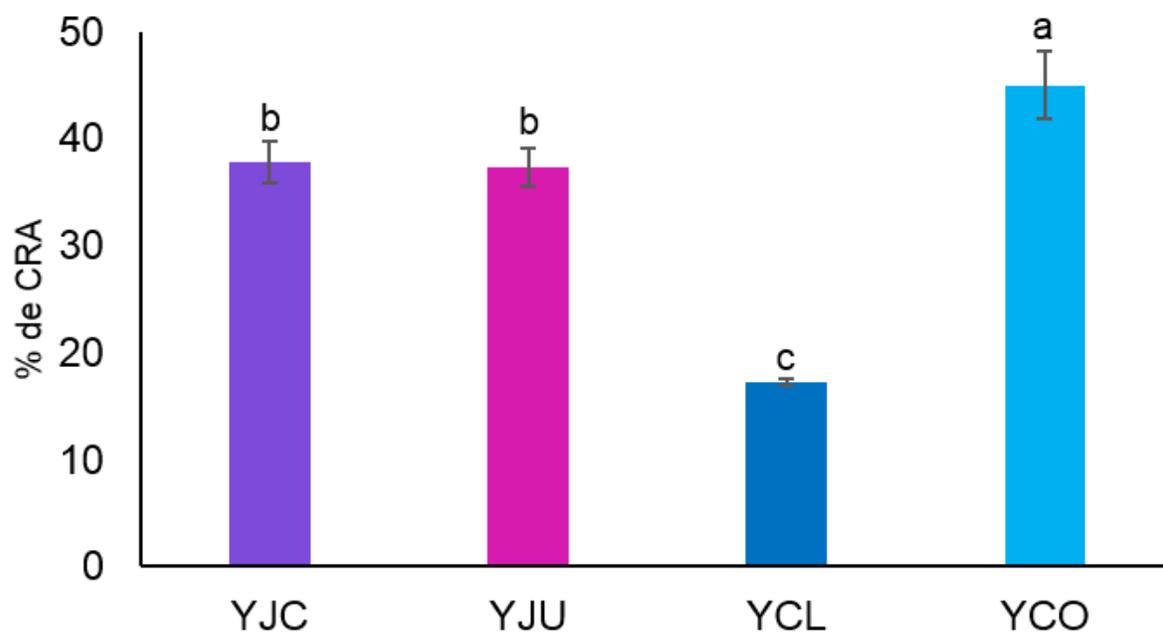


Figura 8. Capacidad de retención de agua de 4 formulaciones distintas de yogurt. YJC: Yogurt/jugo control liofilizado; YJU: Yogurt/jugo ultrasonicado liofilizado; YCL: Yogurt/colorante; YCO: Yogurt comercial. ^{a-c} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

8.2 Contenido microbiológico

Las características microbiológicas son importantes en un yogurt, ya que define su calidad e inocuidad con la que se elaboró, en este trabajo se determinó recuento de mesófilos aerobios, enterobacterias, y la sobrevivencia de las bacterias ácido lácticas, los cuales se observan en la tabla 9.

Tabla 9. Cuantificación microbiológica de 4 formulaciones distintas de yogurt

Determinación/Muestra	YJC	YJU	YCL	YCO
Mesófilos aerobios Log ¹⁰ UFC/mL	6.08±0.36 ^a	6.35±0.31 ^a	6.34±0.14 ^a	6.22±0.15 ^a
Bacterias ácido lácticas Log ¹⁰ UFC/mL	7.77±0.21 ^a	8.18±0.63 ^a	8.11±0.74 ^a	6.85±0.49 ^b

YJC: Yogurt / jugo control liofilizado; YJU: Yogurt / jugo ultrasonificado liofilizado; YCL: Yogurt / colorante; YCO: Yogurt comercial; UFC: Unidad formadora de colonia. ^{a-b} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

8.2.1 Mesófilos aerobios

El conteo de mesófilos aerobios corresponde al crecimiento de bacterias, mohos y levaduras, como las inoculadas en este estudio las cuales crecen en estas condiciones y agar. Los resultados no mostraron diferencia significativa entre las muestras presentando en promedio 6.24 log¹⁰ UFC/mL, lo cual demuestra que el YJC, el YJU y el YCL cuentan con la misma calidad microbiológica a nivel comercial. Los resultados en este estudio fueron menores a lo reportado por Gündogdu *et al.* (2009), en un yogurt adicionado con ajo (7.57 a 7.88 log UFC/g) y otro con vegetales (9 a 9.4 log UFC/g) (Coda, 2012).

8.2.2 Enterobacterias

La técnica de enterobacterias se utiliza como indicador de contaminación fecal y como uno de los indicadores de buenas prácticas de fabricación, en el presente estudio estas bacterias no se detectaron en los yogures analizados, cumpliendo con los estándares de calidad que indican máximo 10 UFC/mL (NMX-F-444-1983). Estos resultados coinciden con lo encontrado por Coda (2012) en un yogurt de cereales.

Los resultados encontrados en el presente estudio se atribuyen a que en la elaboración de los yogures se hizo uso de buenas prácticas de higiene y almacenamiento durante todo el proceso, de igual manera el pH del producto lácteo no es el óptimo para el crecimiento de estos microorganismos (Parra, 2010).

Bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son un grupo de microorganismos utilizados principalmente para la fermentación de alimentos como la leche, carne etc., para obtener productos como yogurt, además de contribuir en la biopreservación de los alimentos mejorando las características sensoriales (Ramírez *et al.*, 2011). Para su reproducción las BAL requieren de carbohidratos como glucosa y lactosa, además de aminoácidos, vitaminas y otros factores para su crecimiento como la temperatura. (Vázquez *et al.*, 2009). Las BAL utilizadas para elaborar un yogurt proveen sabor, gusto suave y delicado, promueven la cuajada y mejoran la digestión (Ramírez *et al.*, 2011). A continuación se describen los resultados de las BAL del presente estudio, el YCO fue significativamente menor ($6.85 \text{ Log}^{10} \text{ UFC/mL}$) con respecto a las demás muestras; el YJC, el YJU y el YCL tuvieron de 7.77 a $8.18 \text{ Log}^{10} \text{ UFC/mL}$, estos datos son mayores a los encontrados en un yogurt con aronia a distintas cantidades (6.45 a 6.46 log UFC/mL) (Linh y Eun-Sun, 2016) y menores en un yogurt adicionado con ñame en polvo a diferentes concentraciones ($\approx 9.48 \text{ log UFC/g}$) (Sun-Young *et al.*, 2011).

Por otro lado el contenido de BAL en el yogurt con jugo ultrasonificado fue ligeramente mayor que en el YJC debido a una mayor cantidad de glucosa y fructuosa libre del fruto (Zenteno-Ramírez *et al.*, 2018) siendo los azúcares más accesibles para ser utilizados como alimento por las BAL encargadas de la fermentación del yogurt, (Pescuma *et al.*, 2008; Parra-Huertas, 2009), esta liberación es ocasionada por los movimientos que genera el ultrasonido en la pulpa, Delgado (2011) menciona que esta tecnología genera la disminución del grosor de las paredes vegetativas provocando el rompimiento y liberación de compuestos, en unos estudios realizados en jugo de zarzamora y zumo de fruta de la pasión se observó que los sólidos

solubles totales (°Brix) aumentaron por el proceso de ultrasonido (Cervantes-Elizarrarás *et al.*, 2017; Gómez-López *et al.*, 2018 respectivamente).

El yogurt es una alternativa más fácil de digerir que la leche, porque contienen menos lactosa debido a la presencia de BAL productoras de lactasa, este efecto es ocasionado por la actividad de la enzima β -galactosidasa (Sanders *et al.*, 1996). La acción de la lactasa producida por las BAL no solo es durante la fermentación, si no que en el tracto digestivo mediante la acción de las sales biliares sobre el rompimiento de la pared celular aumenta la interacción β -gactosidasa / lactosa (Labayen *et al.*, 2001). Otro de los beneficios al consumir BAL es que con su digestión se forman bacteriocinas, polisacáridos y algunos péptidos; una de las bacteriocinas más conocidas es la nisina, por lo anterior, el consumo de yogurt es muy beneficioso para la salud principalmente gastrointestinal debido a su contenido de BAL contenidas en las muestras evaluadas en el presente estudio.

8.3 Contenido antioxidante

8.3.1 Ácido ascórbico

El ácido ascórbico es una vitamina hidrosoluble presente principalmente en las frutas de forma natural y es un nutrimento esencial en la dieta (Block *et al.*, 2001; John *et al.*, 2002; Gutiérrez *et al.*, 2007) una de sus funciones es la fijación de radicales libres y control de pardeamiento en los alimentos (Roig *et al.*, 1993). En la figura 9 se observan los resultados obtenidos sobre el contenido de ácido ascórbico de las muestras de yogurt evaluadas en el presente estudio.

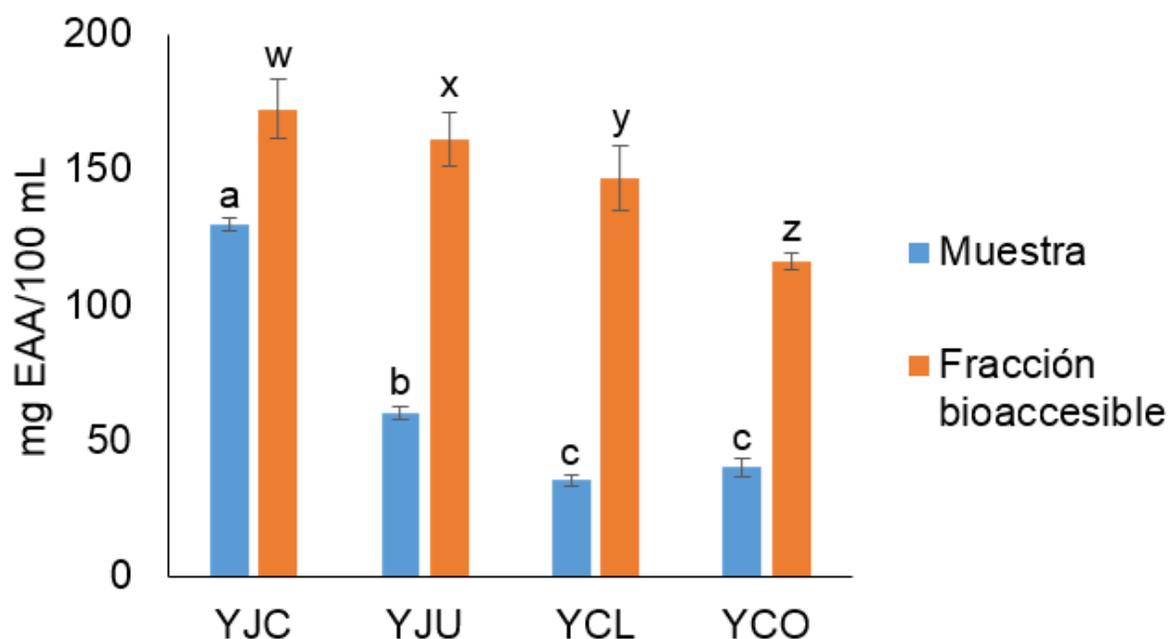


Figura 9. Contenido de ácido ascórbico de la muestra original y fracción bioaccessible de 4 formulaciones distintas de yogurt. YJC: Yogurt/jugo control liofilizado; YJU: Yogurt/jugo ultrasonicado liofilizado; YCL: Yogurt/colorante; YCO: Yogurt comercial. ^{a-c} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras originales. ^{w-z} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las fracciones bioaccessibles.

Los valores obtenidos de las muestras de yogurt fueron de entre 36.46 a 129.83 mg EAA/100 mL, donde el mayor contenido significativamente fue el YJC con 129.83 mg EAA/100 mL. Estudios han reportado que la adición de pulpa de fruta en un yogurt adicionado con mora (Sigdel *et al.*, 2018), otro con pulpa de tuna amarilla y otro con papaya (Amal *et al.*, 2016) aumenta la concentración de ácido ascórbico, además en otro estudio presentaron que la adición del jarabe de espinillo (*Hippophae rhamnoides*) tuvo concentraciones mayores de ácido ascórbico que en unos comerciales de uva y de piña (Selvamuthukumaran y Farhath, 2014), este comportamiento coincide con lo encontrado en las muestras adicionadas con pulpa de tuna (YJC e YJU) en comparación con el yogurt comercial (YCO).

Estudios han indicado que la adición de la vitamina C en productos lácteos conducen a la mejora en su calidad nutritiva y aumenta la aceptabilidad (Gahruie *et al.*, 2015), igualmente su adición mejoraría la actividad antioxidante del yogurt (Coïsson *et al.*, 2005) debido a su eficacia y menor toxicidad (Gironés-Vilaplana *et al.*, 2014), por lo anterior es importante conocer su fracción bioaccesible para hacer una recomendación sobre la ingesta diaria de este nutrimento con más exactitud (De Ancos *et al.*, 2017).

Después las muestras fueron sometidas al proceso de bioaccesibilidad *in vitro* para conocer la porción del ácido ascórbico que puede ser potencialmente absorbido por el sistema digestivo, hubo un aumento en la concentración de ácido ascórbico en la fracción dializada para todos los yogures, sin embargo el YJC y el YJU tuvieron los resultados más altos mientras que el YCL y el YCO fueron los menores; el YJC presentó concentraciones mayores ($p < 0.05$) con un valor de 172.59 mg EAA/100 mL con respecto a las demás muestras. En la porción bioaccesible de las muestras con respecto a la muestra original se observó que el YJU fue mayor 2.8 veces más que el YJC (1.4 veces más) y menor que el YCL con 4.1 veces más.

Actualmente no se han encontrado estudios sobre la bioaccesibilidad de ácido ascórbico en un yogurt, pero en un estudio sobre la adición de un jugo a base de cítricos en leche y leche de soya, reportan que la concentración de ácido ascórbico después de la bioaccesibilidad *in vitro* fue menor con respecto a antes de ella (Rodríguez-Roque *et al.*, 2013), lo anterior indica que los yogures del presente estudio adicionados con pulpa de tuna púrpura (YJC e YJU) presentaron mayor bioaccesibilidad de ácido ascórbico, siendo el yogurt una mejor alternativa que en leche y leche de soya.

Los resultados anteriores muestran que el YJC e YJU tienen mayor contenido de ácido ascórbico en la muestra original y fracción bioaccesible, esto es importante ya que podría ser utilizado como un aditivo natural en beneficio del consumidor debido a que ácido ascórbico participa en actividades biológicas importantes como síntesis de

colágeno, neurotransmisores, es responsable de la conversión de colesterol en ácidos biliares, además su ingesta se ha relacionado con la reducción de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Gironés-Vilaplana, *et al.*, 2014; González-Molina *et al.*, 2010).

8.3.2 Contenido de fenoles totales

Los fenoles son un grupo de compuestos orgánicos que representan un grupo numeroso en la naturaleza, se encuentran principalmente en frutos y vegetales, estos poseen una estructura química que ejerce acción antioxidante captando radicales libres y especies reactivas de oxígeno e iones metálicos quelantes (Nava, 2007). Los resultados del contenido de fenoles totales antes y después de bioaccesibilidad se observan en la figura 10.

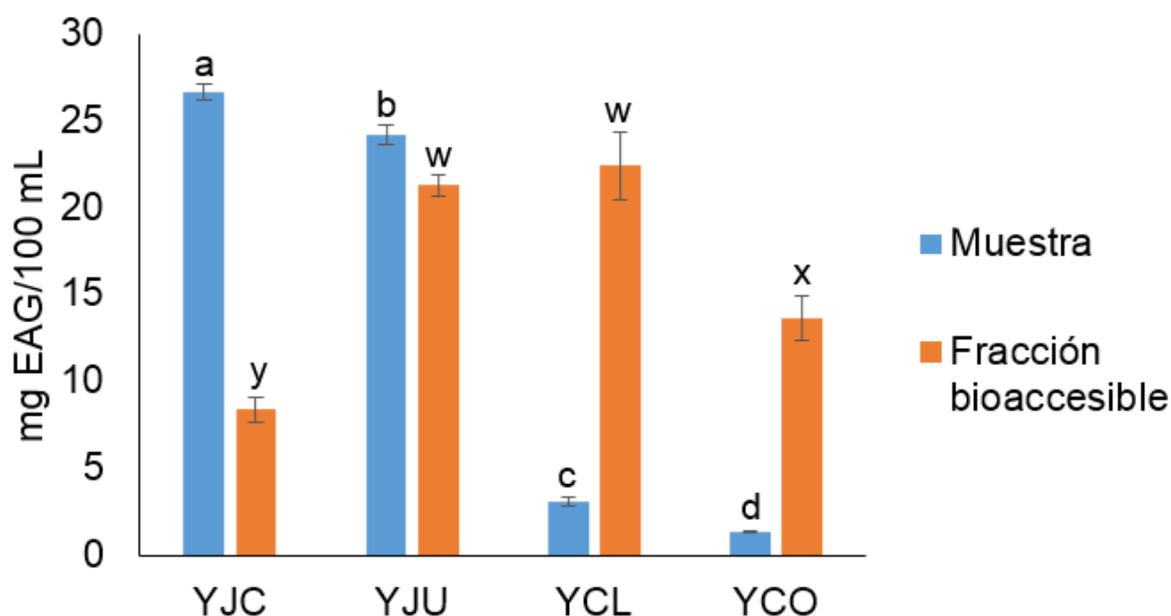


Figura 10. Contenido de fenoles totales de la muestra original y fracción bioaccesible de 4 formulaciones distintas de yogurt. YJC: Yogurt/jugo control liofilizado; YJU: Yogurt/jugo ultrasonicado liofilizado; YCL: Yogurt/colorante; YCO: Yogurt comercial. ^{a-d} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras originales. ^{w-y} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las fracciones bioaccesibles.

El YJC y el YJU tuvieron alto contenido de fenoles mientras que el YCL y el YCO presentaron valores menores en las muestras originales. La muestra de YJC fue mayor significativamente (26.64 mg EAG/100 mL) con respecto a las demás muestras.

Los valores obtenidos en el presente estudio en el YJC fueron similares a lo reportado en un yogurt adicionado con jugo de granada (24.14 mg EAG/100 mL) (Trigueros *et al.*, 2014) y mayores a los encontrados por Karaaslan *et al.* (2011) en yogures con extractos de diferentes clases de uva (≈ 7.47 mg EAG/100 mL), en piña-naranja, ciruela y albaricoque (≈ 18.5 mg EAG/100 mL), con herbal de tulsí (*Ocimum sanctum*) (≈ 6.95 mg EAG/100 mL) (Anand *et al.*, 2018) y con jengibre (*Zingiber officinalis*) (16.53 mg EAG/100 mL) (Felfoul *et al.*, 2017); mientras que fue menor comparado con un yogurt elaborado con cerezas el cual presentó 28 mg EAG/100 mL (Citta *et al.*, 2017) y otro adicionado con diferentes concentraciones de jugo de pimienta verde (≈ 59 mg EAG/100 mL) (Halah y Mehanna, 2011). Selvamuthukumaran y Farhath (2014) reportaron mayor contenido de fenoles en un yogurt elaborado con jarabe de espinillo amarillo (*Hippophae rhamnoides*) en comparación con dos comerciales de piña y uva, un comportamiento similar se observó en el presente estudio.

Es conocido que el ultrasonido genera la liberación de ácidos fenólicos, esto se ha reportado en diferentes estudios como en un jugo de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) (Zafra-Rojas *et al.*, 2013), en un jugo de manzana (*Malus domestica*) (Abid *et al.*, 2013) y en un jugo de uva (Ordoñez-Santos *et al.*, 2017), mientras que en otros estudios reportan lo contrario como en un jugo de pera (*Pyrus bretschneideri* Read.) (Saeeduddin *et al.*, 2015) y en jugo de melón cantalupo (*Cucumis melo*) (Fonteles *et al.*, 2012). Los reportes anteriores cuantifican este contenido de fenoles posterior al tratamiento de ultrasonido, sin embargo en el presente trabajo, el jugo ultrasonificado y liofilizado fue adicionado a un yogurt, y este fue posteriormente cuantificado, los resultados obtenidos presentaron que éste tuvo menor contenido que la muestra control, este comportamiento fue similar en un yogurt adicionado con residuo de uva

para vino tinto ultrasonificado (Tseng y Zhao, 2013). Los estudios anteriores se atribuyen a que el ultrasonido genera la reducción de la partículas haciéndolas más pequeñas y liberando sus compuestos (Pasquel *et al.*, 2014), estos se encuentran de forma libre y al adicionarlo a una matriz como el yogurt se crea una red de proteínas que se puede unir a ellos (Xiao *et al.*, 2011), ya que las proteínas son vehículos naturales afines para bioactivos pequeños (Livney, 2010), ocasionando una disminución de la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos del jugo de tuna púrpura.

La fracción bioaccesible, del YJU y del YCL, fueron mayores ($p < 0.05$) (21.24 y 22.42 mg EAG/100 mL, respectivamente) en relación a los demás (Fig. 10). Si se compara el contenido de fenoles en la muestra original y posterior a su bioaccesibilidad, la fracción bioaccesible del contenido total de fenoles estuvo aumentado 10 veces más en el YCO, y 7 más en el YCL.

Los altos valores obtenidos en el YCL y del YCO, fueron debido a que la industria hace uso de colorantes y conservadores antioxidantes que principalmente son compuestos de estructuras fenólicas (Velioglu *et al.*, 1998), y que algunos son absorbidos durante la digestión como lo reportado por Abbruzzese *et al.* (2005) indicando que el colorante indigotina sufre una modificación al haber ingresado al hígado, se convierte en una molécula altamente soluble en solventes orgánicos, modificación que resulta de su probable conjugación con los fosfolípidos del tejido hepático. Se sabe que los colorantes son aditivos importantes en la industria para mejorar el atractivo del producto, sin embargo algunas sustancias y sus metabolitos plantean riesgos potenciales para la salud, ya que pueden ser cancerígenos (Robens *et al.*, 1980), por ejemplo las aminas aromáticas (Xu *et al.*, 2007), también pueden ser alérgenos desencadenando una reacción asmática (Zou *et al.*, 2013), ya que llegan a dañar el ADN mediante roturas monocatenarias, sitios alcalinos-lábiles, enlaces cruzados y sitios incompletos de reparación por escisión (Sasaki *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 1988; Fairbairn *et al.*, 1995), la información anterior indica que las

muestras de YCL y de YCO no presentan la seguridad alimentaria necesaria para garantizar un estado de salud bueno.

En lo que respecta a las muestras adicionadas con tuna púrpura (YJC e YJU), el YJU tuvo mayor concentración de fenoles totales después de la digestión *in vitro* con respecto a el YJC, el incremento se atribuye a que al ser sometidos al proceso de bioaccesibilidad *in vitro* la red de proteínas es hidrolizada con ayuda de las enzimas digestivas (León, 2005), ya que las proteínas del yogurt actúan como vehículos y tienen la facilidad de formar complejos con otras moléculas generando la capacidad de blindaje, protegiendo compuestos sensibles como los fenoles, y así poder controlar la bioaccesibilidad del compuesto bioactivo para promover su biodisponibilidad (Livney, 2010).

A pesar de que los yogures con tuna presentaron menor bioaccesibilidad que los otros, se ha reportado que la fracción que no se absorbe en intestino delgado, pasa al intestino grueso (Sengul *et al.*, 2014), y esto es importante ya que en el intestino grueso con ayuda de la microbiota intestinal, los fenoles podrían ser absorbidos, donde sus metabolitos y compuestos generados darán protección al colon (Rein *et al.*, 2013; Williamson y Clifford, 2010). Un estudio realizado en ratas demostró que el consumo de diferentes clases de frijol reportó una disminución de tumores cancerígenos en el colon, indicando que este alimento contiene compuestos fenólicos (Reynoso *et al.*, 2007), mismos que fueron encontrados en las muestras de yogurt principalmente el YJC y el YJU los cuales tienen un origen más natural.

El consumo del jugo de tuna púrpura en el yogurt aumentaría el consumo de compuestos fenólicos, los cuales han tenido una utilización por la industria alimentaria, no solo por las características organolépticas que le confieren a las frutas y verduras, sino que retardan la oxidación de los lípidos y mejoran la calidad nutricional de los alimentos (Muñoz y Ramos, 2007). Los compuestos fenólicos naturales presentan propiedades antioxidantes y una amplia gama de actividades biológicas; dentro de los antioxidantes y encontrándose a bajas concentraciones en

los alimentos pueden prevenir procesos implicados en el desarrollo de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Brusselmans *et al.*, 2005; Quirós *et al.*, 2011), de igual manera actúan protegiendo la oxidación de ADN e inhibiendo el daño oxidativo del colesterol LDL (Denny y Buttriss, 2007); en lo que respecta a las actividades biológicas tiene efectos antiinflamatorios, antihipertensivos, antivirales, antibacterianos, antitrombóticos y acciones vasodilatadoras, generando un menor riesgo de desarrollar enfermedades crónicas (Muñoz y Ramos, 2007; Kris-Etherton *et al.*, 2004; Di Carlo *et al.*, 1999); y algunos de los beneficios adicionales al consumo de estos compuestos son una reducción del riesgo de obesidad y mejor control de diabetes mellitus (Vincent *et al.*, 2010). Debido a su complejidad y que aún no se conoce detalladamente su mecanismo de acción no existe con exactitud una ingesta diaria recomendada (Yao *et al.*, 2004).

8.4 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante está medida por la capacidad que tienen los antioxidantes de inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas, deteniendo la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres (Muñoz y Gutiérrez, 2009). En las muestras de yogurt, está protagonizada por los antioxidantes endógenos principalmente del fruto y los propios del yogurt. El yogurt posee potencial antioxidante ya que contiene péptidos bioactivos derivados de la actividad proteolítica de las caseínas y de las proteínas del suero, sistemas enzimáticos (superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa) entre otros (lactoferrina, urato, coenzima Q10, vitamina C, vitamina E, β -carotenos) (Chen *et al.*, 2003; Lindmark-Manson y Akesson, 2000; Pihlanto, 2006; Won-Young *et al.*, 2017; Trigueros *et al.*, 2014). Sin embargo, estudios han informado que la interacción proteína-fenoles afecta la capacidad antioxidante, ya que la proteína bloquea el grupo 3-hidroxilo del anillo B del flavonoide (Heijnen *et al.*, 2001; López *et al.*, 2003), este fenómeno disminuye la actividad antioxidante del fruto al ser añadido al yogurt (Villaño *et al.*, 2005), posteriormente durante la digestión hay una liberación de péptidos antioxidantes y aminoácidos encriptados en las secuencias de proteínas de la leche (Tagliazucchi *et*

al., 2016) al mismo tiempo quedando de forma libre los compuestos bioactivos del fruto, estos quedarán biodisponibles para ser utilizados por el organismo

Existen diversos métodos para medir la capacidad antioxidante entre los más utilizados están el método por ABTS y DPPH, los cuales se emplearon en el presente estudio junto con el método de FRAP, a continuación se describen los resultados obtenidos de estas pruebas (figura 11).

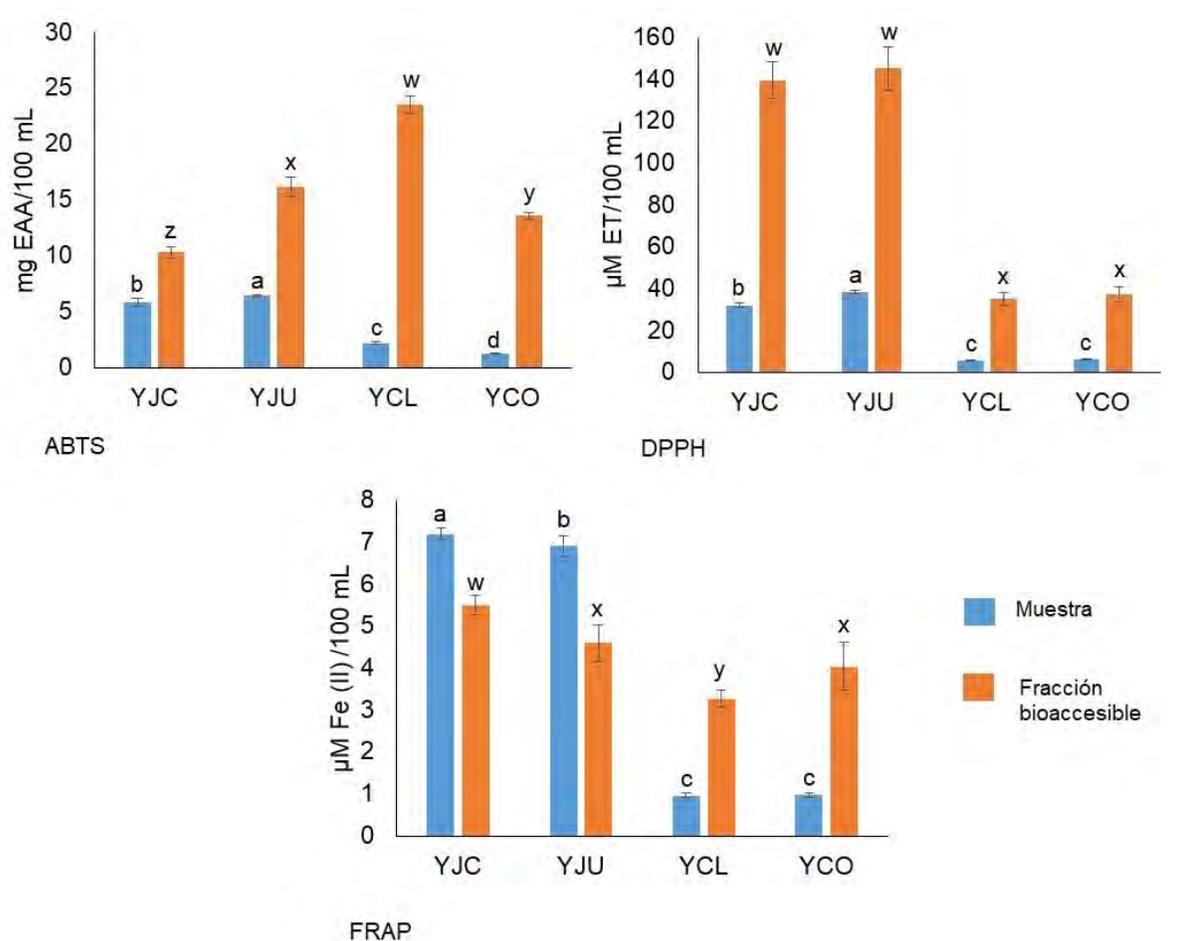


Figura 11. Actividad antioxidante de la muestra original y fracción bioaccesible de 4 formulaciones distintas de yogurt. YJC: Yogurt/jugo control; YJU: Yogurt/jugo ultrasonificado; YCL: Yogurt/colorante; YCO: Yogurt comercial.^{a-d} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras originales.^{w-z} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las fracciones bioaccesibles.

Los valores obtenidos de la capacidad antioxidante de las muestras fueron de 1.24 – 6.41 mg EAA/100 mL para ABTS, siendo el YJU mayor significativamente con 6.41 mg EAA/100 mL en relación con los demás yogures. La actividad antioxidante de los compuestos bioactivos medida por el método DPPH presentó rangos de 5.59 μmol – 38.37 μmol ET/100 mL, y el yogurt que fue mayor significativamente fue el YJU con 38.37 μmol ET/100 mL. Mientras que para el método de FRAP los valores encontrados fueron de 0.96 a 7.20 μmol Fe (II)/100 mL, comparando las muestras el YJC fue mayor significativamente en su actividad para reducir hierro (7.20 μmol Fe (II)/100 mL).

En un estudio sobre un yogurt adicionado con puré de bayas se encontraron valores de ABTS de 185.38 μmol ET/100 mL en su muestra original (Citta *et al.*, 2017) mayores a los reportados en el presente trabajo. Las muestras de YJC y de YJU presentaron comportamientos similares para ABTS a un yogurt simbiótico adicionado con aceite de tulsí (*Ocimum sanctum*) (Anand *et al.*, 2018) y para DPPH en yogures adicionados a diferentes concentraciones con pulpa de cereza amarga, con diferentes clases de uva y uno bebible con jugo de granada (Sengül *et al.*, 2012; Karaaslan *et al.*, 2011; y Nikmaran *et al.*, 2015; respectivamente), los anteriores autores mencionan que la capacidad antioxidante aumenta sobre la adición de un fruto o compuesto al yogurt en comparación a los no adicionados.

Coisson *et al.*, (2005) reportó una menor actividad antioxidante por DPPH en un yogurt adicionado con acaí al compararlo con uno comercial, comportamiento que difiere con el presente estudio, estos resultados lo atribuyen al tipo de método utilizado, menciona que la comparación con otra prueba como ABTS podría ser valiosa debido a que algunos ensayos son mejores para matrices con alto contenido de grasa.

Los valores de FRAP en el YJC y el YJU del presente estudio presentaron valores mayores que los reportados por Muniandy *et al.* (2016) en yogures adicionados con extractos de té verde (2.7 μmol Fe (II)/100 mL), té blanco (2.2 μmol Fe (II)/100 mL) y

té negro (1.8 $\mu\text{mol Fe (II) /100 mL}$). En un yogurt adicionado con zanahoria se encontraron valores de 173.3 $\mu\text{mol Fe (II) /100 mL}$ (Najgebauer-Lejko *et al.*, 2014) los cuales fueron mayores a los de este estudio.

Las muestras de YJC y de YJU fueron las que presentaron los valores más altos en los tres métodos debido a la adición de tuna púrpura, la cual contiene antioxidantes naturales de buena calidad, como: fenoles, ácido ascórbico, betalaínas, entre otros. Así mismo el ultrasonido logró la liberación de estos compuestos bioactivos en el jugo de tuna ocasionando una mejor actividad antioxidante en el yogurt, en comparación con las muestras comerciales que contienen compuestos de colorantes con origen artificial los cuales presentan estructuras fenólicas.

Las células están constantemente expuestas a una variedad de agentes oxidantes, algunos de los cuales son necesarios para la vida, estos agentes están en el aire, en los alimentos o pueden ser producidos por las actividades metabólicas de las células (Figuera *et al.*, 2013). El factor clave es mantener el equilibrio entre oxidantes y antioxidantes para mantener condiciones fisiológicas óptimas del cuerpo (Liu y Hotchkiss, 1995). El contenido antioxidante de las frutas y verduras pueden ayudar a proteger los sistemas celulares contra el daño oxidativo y reducir el riesgo de enfermedades crónicas (Liu, 2003).

Por otro lado, después del proceso de digestión *in vitro* se encontró una mayor actividad antioxidante en todas las muestras para los tres métodos analizados, los valores de ABTS más altos significativamente se encontraron en el YCL con 23.49 mg EAA/100 mL con respecto a las demás muestras y la bioaccesibilidad fue diferente en cada una, siendo el YJU 2.66 veces mayor que el YJC (1.85) y menores que el YCO con 11.57 veces más. Con respecto a DPPH los valores fueron de 35.01 – 145.21 $\mu\text{mol ET/100 mL}$, siendo las muestras de YJC y de YJU las que presentaron los valores más altos ($p < 0.05$) con 139.62 y 145.21 $\mu\text{mol ET/100 mL}$, respectivamente. La fracción bioaccesible de la muestra de YJC fue 4.6 veces más que el YJU (3.3 veces más) y menores que el YCO (6.4 veces mayor) respecto a la

muestra original. Para el método de FRAP comparando las muestras el YJC fue el que mayor capacidad ($p < 0.05$) tuvo (5.51 $\mu\text{mol Fe (II) / 100 mL}$) en la porción bioaccesible, las muestras del YCL y del YCO presentaron una fracción bioaccesible considerable que conlleva a una actividad antioxidante mayor siendo 3.40 y 4.16 veces más su actividad para reducir hierro, respectivamente.

En la fracción bioaccesible de un yogurt adicionado con un extracto de canela Helal y Tagliacruzchi (2018) reportaron un aumento sobre la actividad antioxidante (ABTS y DPPH), este mismo comportamiento fue encontrado en el presente estudio en todas las muestras debido a la actividad enzimática de la digestión *in vitro*; mientras que en otro elaborado con un extracto de algas (*Ascophyllum nodosum*) (O'Sullivan *et al.*, 2016) se reportó una disminución de la capacidad de eliminación de radicales por DPPH, siendo mayores los valores de esta actividad antioxidante de la fracción bioaccesible en las muestras adicionadas con jugo de tuna del presente trabajo, debido a que los fenoles de la tuna se encontraron más disponibles para su absorción.

Se puede observar que la actividad antioxidante de las muestras del YJC y del YJU en el presente estudio por los métodos ABTS y DPPH aumentaron después de la bioaccesibilidad *in vitro* en comparación con FRAP que disminuyeron, este mismo comportamiento se reportó en un yogurt adicionado con un extracto de canela (Helal y Tagliacruzchi, 2018) mientras que en otro adicionado con un extracto de algas (*Ascophyllum nodosum*) se observó una disminución de la capacidad de eliminación de radicales por DPPH (O'Sullivan *et al.*, 2016).

Las determinaciones de actividad antioxidante por ABTS y DPPH son las técnicas más óptimas para evaluar la fracción digerida de una muestra debido a su pH neutro, el método empleado para determinar la actividad antioxidante de una muestra digerida podría afectar la evaluación, ya que las modificaciones del pH pueden alterar la estructura de los compuestos fenólicos que están relacionados con la actividad antioxidante (Arenas y Trinidad, 2017; Bouayed *et al.*, 2011; Guldiken *et al.*,

2016). Además, la reducción o el aumento observado de la actividad antioxidante podría significar la presencia de otras sustancias no analizadas, como los péptidos, que podrían estar implicados (Pavan *et al.*, 2014), por el contrario el método FRAP se ve disminuido en las digestiones intestinales ya que este tiene una mejor función en digestiones gástricas, debido a su tapón de acetato a un pH de 3.6 (Bouayed *et al.*, 2011; Guldiken *et al.*, 2016). Mientras que la actividad antioxidante se comporta diferente en cada método utilizado y en la fracción del procedimiento analizada, la actividad antioxidante reportada esta medida por los metabolitos presentes en las muestras.

Una parte de los componentes antioxidantes tienen funciones protectoras potenciales para combatir a los radicales libres formados durante el proceso digestivo (Arenas y Trinidad, 2017), cada vez hay más pruebas de que el consumo de una variedad de compuestos fenólicos presentes en los alimentos naturales puede reducir el riesgo de trastornos de salud graves debido a su actividad antioxidante (Shahidi y Ambigaipalan, 2015).

9. Conclusiones

- Las muestras de yogurt analizadas en el presente estudio presentan en promedio un pH de 4.33 y una acidez de 0.76% los cuales cumplen con la normativa actual, mientras que el fruto les confiere un color violeta intenso, el cual lo aleja de la similitud al producto comercial que presenta tonalidades claras. La viscosidad en los yogures con jugo de tuna púrpura liofilizado es mayor, teniendo una relación con la capacidad de retención de agua, donde el YCO tiene mejores resultados.
- El conteo microbiológico realizado en las muestras de yogurt, no se detectaron enterobacterias, el recuento de mesófilos es igual en todas las muestras (6.24 Log₁₀ UFC/mL) cumpliendo con la normas y en lo que respecta a las BAL el yogurt YJU tiene los valores más altos (8.18 Log₁₀ UFC/mL).
- Los yogures YJC e YJU presentaron mayor cantidad de ácido ascórbico y fenoles totales, debido a la adición del jugo de una púrpura, mientras que las muestras comerciales tuvieron menor contenido de estos antioxidantes.
- En el YJC y el YJU se observa una alta actividad antioxidante por los métodos de ABTS, DPPH y FRAP, debido a los compuestos bioactivos agregados por el fruto.
- En la fracción bioaccesible se observa un aumento sobre la concentración de ácido ascórbico y fenoles totales en todas las muestras, siendo el YJC y el YJU los que presentan más cantidad de ácido ascórbico. En cuanto al contenido total de fenoles, el YJU y el YCL son mayores significativamente. La actividad antioxidante medida por el método de ABTS se observa un aumento en todas las muestras, donde el YCL es el que mayor actividad presenta. Para los métodos

por DPPH y FRAP, el YJC y el YJU son los que mayor capacidad antioxidante presentan.

- El contenido de compuestos bioactivos resultante en la muestra de yogurt adicionado con pulpa de tuna púrpura ultrasonificada y liofilizada, no es la mejor en todos los casos, sin embargo muestra una alta bioaccesibilidad, siendo el YCL y el YCO las que presentaron la fracción bioaccesible más alta, debido a que hay más liberación y biodisponibilidad de estos compuestos durante la digestión, pero cabe destacar que el uso de colorantes o conservadores pueden generar consecuencias a largo plazo como el cáncer.
- La utilización del jugo de tuna púrpura como aditivo al yogurt permite obtener un alimento de alto valor biológico, con propiedades en beneficio a la salud, debido a los compuestos antioxidantes del fruto principalmente vitaminas y polifenoles. Asimismo el uso del ultrasonido como método de extracción permite mayor disponibilidad de los compuestos bioactivos y la liofilización como técnica de conservación ayuda a una mejor incorporación del jugo al yogurt. La alta actividad antioxidante es una característica deseable que puede mejorar el valor terapéutico del yogurt y podrá contribuir a disminuir el riesgo de algunas enfermedades no transmisibles, además el origen natural del fruto permite evitar el consumo de aditivos.

10. Bibliografía

- Abbruzzese, D. V., González, C. B., Pérez, M., Coll, C. S., de Schroeder, F. A., y Teresa, M. (2005). Un nuevo aporte a la toxicología de colorantes alimentarios: conjugación hepática de la indigotina con fosfolípidos. *Revista Chilena de Nutrición*, 32(1), 42-47.
- Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Hu, B., Lei, S., Zhang, X. and Zeng, X. (2013). Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20 (5), 1182-1187.
- ainia, R. (2015). *ainia centro tecnologico*. Recuperado el 25 de Julio de 2018, de ainia centro tecnologico: <https://www.ainia.es/tecnoalimentalia/tecnologia/food-digest-beneficios-de-modelos-in-vitro-que-simulan-la-digestion-gastrointestinal/>
- Amal, A., Eman, A., and Nahla, S. Z. (2016). Fruit Flavored Yoghurt: Chemical, Functional and Rheological Properties. *International Journal of Environmental & Agriculture Research* , 2, 57-66.
- American Dietetic Association. Position of the American Dietetic Association: Functional foods. (2009) *Journal American Dietetic Assoc*, 109, 735-46.
- Anand, S., Gaare, M., Saini, P., Beniwal, A., and Grover, C. R. (2018). Synbiotic Yogurt Supplemented with Ocimum sanctum Essential Oil. *International Journal Of Current Microbiology And Applied Sciences*, 7(3), 1250-1262.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International”; 920.151 (Solids Total in fruits and fruits products); 940.26 (Ash of fruits and fruits products); 9.42.15 (Acidity Titratable of fruits products). 16 ed. 1999.
- Appeldoorn, M. M., Vincken, J.-P., Aura, A.-M., Hollman, P. C. H., and Gruppen, H. (2009). Procyanidin dimers are metabolized by human microbiota with 2-(3,4-dihydroxyphenyl)acetic acid and 5-(3,4-dihydroxyphenyl)- γ - valerolactone as the major metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(3), 1084–1092
- Aranceta, J., y Serra, L. (2003). *Guía de alimentos funcionales*. Madrid: Instituto Omega, 1-9.

- Aranceta, J. y Serra, L. (2004) *Leche, lácteos y salud*. Madrid: editorial médica panamericana., 31-35
- Araújo, S., F., de Gomes O. M. E., de Feitosa, F. R. M., Brito S., K., Leite S, E., Vasconcelos, O. C. E., Etevez, P. M. M. and Ramos, E. Q. R. C. (2017). The effect of Isabel grape addition on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic goat milk yogurt. *Food & function*, 8(6), 2121-2132.
- Arenas, E. H., and Trinidad, T. P. (2017). Fate of polyphenols in pili (*Canarium ovatum* Engl.) pomace after *in vitro* simulated digestion. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(1), 53-58.
- Azuola, R. y Aguilar, P. V. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). *Tecnología en marcha*, 20(4), 1.
- Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., Poojary, M. M., Roohinejad, S., Lorenzo, J. M. and Koubaa, M. (2017). Impact of conventional and non-conventional processing on prickly pear (*Opuntia spp.*) and their derived products: From preservation of beverages to valorization of by-products. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 260-270.
- Barbosa- Cánovas, G. V. y Bermúdez-Aguirre, D. (2010). Procesamiento no térmico de alimentos. *Scientia Agropecuaria*, 1 (1), 81-93.
- Bayarri, S., Calvo, C., Costell, E., and Durán, L. (2001). Influence of color on perception of sweetness and fruit flavor of fruit drinks. *Food Science and Technology International*, 7(5), 399-404.
- Bazán, J., y Curbina, C. (2016). La siembra de tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) en un desierto nor costeño, caso CIPTT _ UAP, Mucupe, Chiclayo. *Ciencia y Desarrollo*, 17(2), 35-38.
- Bedolla, B., S., Duenas, G., Esquivel I. C., Favela T. I., Guerrero H. T., Mendoza, E. R., Navarrete, L. E., Olguín, M. A., Ortiz, G. L. E., Pacheco, P. J., Quiroz, B. O., Ramírez, S. M. y Trujillo, C. (2000). *Introducción a la Tecnología de Alimentos*. Academia del Área de Plantas Piloto de Alimentos. México, D.F. Editorial Limusa, 148.

- Becker, E. M., Nissen, L. R., and Skibsted, L. H., (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology*, 219(6), 561-571.
- Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S. G., and Goñi, I., (2010). By-products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3), 210-216.
- Benzie, I. F. F., and Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Berkowitz, D. E. Industria alimentaria, (2001) En: *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo 3ª ed.*, España: Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, p.67.2-67.33
- Block, G., Norkus, E., Hudes, M., Mandel, S., and Helzlsouer, K. (2001). Which plasma antioxidants are most related to fruit and vegetable consumption?. *American Journal of Epidemiology*, 154(12), 1113-1118.
- Boletín Informativo, Cámara de Diputados. Dirección: <http://www5.diputados.gob.mx/index.php/esl/Comunicacion/Boletines/2017/Marzo/30/3372-Mexico-lider-mundial-en-produccion-de-nopal-tuna-y-maguey>. Actualización: 30/03/2017. Acceso: 25/09/2017.
- Bosscher, D., Van Caillie-Bertrand, M., Van Dyck, K., Robberecht, H., Van Cauwenbergh, R., and Deelstra, H., (2000). Thickening infant formula with digestible and indigestible carbohydrate: availability of calcium, iron, and zinc *in vitro*. *Journal Pediatric Gastroenterol Nutrition*, 30(4), 373-378.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., and Bohn, T., (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128(1), 14-21.
- Bourne, M. (2002). *Food texture and viscosity: concept and measurement*. Elsevier, 1-32

- Brusselmans, K., Vrolix, R., Verhoeven, G., and Swinnen, J. V., (2005). Induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inhibit fatty acid synthase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 280(7), 5636-5645.
- Butera, D., Tesoriere, L., Di Gaudio, F., Bongiorno, A., Allegra, M., Pintaudi, A. M., Kohen, R. and Livrea, M. A., (2002). Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6895-6901.
- Cabana, M. D., Shane, A. L., Chao, C., and Oliva-Hemker, M. (2006). Probiotics in primary care pediatrics. *Clinical Pediatrics*, 45(5), 405-410.
- CANILEC (2018), Estadísticas del sector lácteo 2010 – 2017. 1-38
- Carr, F.J., Chill, D. and Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*. 28 (4), 281-370.
- Castro, L. A., y De Rovetto, C. (2006). Probióticos: utilidad clínica. *Colombia Médica*, 37(4), 308-314.
- Castillo, M., Borregales, C. y Sánchez, M. (2004). Influencia de la pectina sobre las propiedades reológicas del yogur. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 46 (2), 33-37.
- Castro, M. J. J., Paredes, R. C. y Muñoz, A. C. (2009). Cultivo de tuna (*Opuntia ficus indica*). *Gerencia Regional Agraria la Libertad*, 1-35.
- Caussy, D., Gochfeld, M., Gurzau, E., Neagu, C., and Ruedel, H. (2003). Lessons from case studies of metals: investigating exposure, bioavailability, and risk. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56(1), 45-51.
- Cervantes-Elizarrarás, A., Piloni-Martini, J., Ramírez-Moreno, E., Alanís-García, E., Güemes-Vera, N., Gómez-Aldapa, C. A., Zafra-Rojas, Q. Y., and Cruz-Cansino, N. S. (2017). Enzymatic inactivation and antioxidant properties of blackberry juice after thermoultrasound: Optimization using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 371-379.

- Chen J., Lindmark-Månsson H., Gorton L. and Åkesson B. (2003). Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods, *International Dairy Journal*, 13, 927-935.
- Chi-Tang H. (1992). Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health: Volume I: Analysis, Occurrence, and Chemistry (Vol. 1). *American Chemical Society*.
- Choi, S-H., Song, H. S., Ukeda, H. and Sawamura, M. (2004). Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4156-416.
- Citta, A., Folda, A., Scalcon, V., Scutari, G., Bindoli, A., Bellamio, M., Feller, E. and Rigobello, M. P. (2017). Oxidative changes in lipids, proteins, and antioxidants in yogurt during the shelf life. *Food Science and Nutrition*, 5(6), 1079-1087.
- Clarkson, P. M., and Thompson, H. S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2), 637S-646S.
- COFEPRIS (2018). Gob.mx. Recuperado el 16 de agosto del 2018, de Gob. mx: <https://www.gob.mx/cofepris/>.
- Coronado, H. M., Vega, L. S., Gutiérrez, T. R., Vásquez, F. M. y Radilla, V. C. (2015) Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2), 206-212.
- Coda, R., Lanera, A., Trani, A., Gobbetti, M. and Di Cagno, R. (2012). Yogurt-like beverages made of a mixture of cereals, soy and grape must: Microbiology, texture, nutritional and sensory properties. *International Journal of Food Microbiology*. 155, 120–127.
- Coïsson, J. D., Travaglia, F., Piana, G., Capasso, M., and Arlorio, M. (2005). Euterpe oleracea juice as a functional pigment for yogurt. *Food Research International*, 38(8-9), 893-897.

- Combs, G. (2001); *Vitaminas. En Nutrición y Dietoterapia de Krause*. (Décima Edición). México D.F., Mc. Graw-Hill, 73-88.
- Cortés, M., Chiralt, A., and Puente, L. (2005). Functional foods: a history with a lot of present and future. *Vitae*, 12(1), 5-14.
- Crozier, A., Jaganath, I. B., and Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26(8), 1001-1043.
- Cueva, O., and Aryana, K. J. (2008). Quality attributes of a heart healthy yogurt. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3), 537-544.
- Cheng, L.H., Soh, C.Y., Liew, S.C. and The, F.F., (2007) Effects of sonication and carbonation on guava juice quality, *Food Chemistry*, 104, 1396–1401.
- De Ancos, B., Cilla, A., Barberá, R., Sánchez-Moreno, C., and Cano, M. P. (2017). Influence of orange cultivar and mandarin postharvest storage on polyphenols, ascorbic acid and antioxidant activity during gastrointestinal digestion, *Food Chemistry*, 225, 114-124.
- Delgado, A. E., and Sun, D. W. (2011). Ultrasound-assisted freezing. In *Ultrasound technologies for food and bioprocessing*. Springer, 495-509.
- Denny, A., and Buttriss, J. (2007). Plant foods and health: focus on plant bioactives. *Synthesis report*, 4, 1-64.
- Devlieghere, F., Vermeiren, L., and Debevere, J. (2004). New preservation technologies: possibilities and limitations. *International Dairy Journal*, 14(4), 273-285.
- Díaz-Jiménez, B., Sosa-Morales, M. E., y Vélez-Ruiz, J. F. (2004). Efecto de la adición de fibra y la disminución de grasa en las propiedades fisicoquímicas del yogur. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 3(3), 287-305.
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., and Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*, 65(4), 337-353.

- Dongowski, G., Drzikova, B., Senge, B., Blochwitz, R., Gebhardt, E., and Habel, A. (2005). Rheological behaviour of β -glucan preparations from oat products. *Food Chemistry*, 93(2), 279-291.
- Durán, R., y Valenzuela, A. (2010). La experiencia japonesa con los alimentos foshu: ¿los verdaderos alimentos funcionales?, *Revista Chilena de Nutrición*, 37(2), 224-233.
- Dürüst, N., Sümengen, D., and Dürüst, Y. (1997). Ascorbic acid and element contents of foods of Trabzon (Turkey). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6), 2085-2087.
- Eberhard, S.W. and Walter, S. (1957) Beer brewing process. US Patent 2816031 A.
- Escudero, A. E. y González S. P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*. 21, 61-72.
- Erlund, I., Kosonen, T., Alfthan, G., Mäenpää, J., Perttunen, K., Kenraali, J., Parantainen, J, and Aro, A. (2000). Pharmacokinetics of quercetin from quercetin aglycone and rutin in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 56(8), 545–553.
- Fairbairn, D. W., Olive, P. L., and O'Neill, K. L. (1995). The comet assay: a comprehensive review. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 339 (1), 37-59.
- FDA. (2018). USA. FDA & DRUG. Recuperado el 16 de agosto de 2018, de USA. FDA & DRUG: <https://www.fda.gov/>.
- Fedorak, R. N., and Madsen, K. L. (2004). Probiotics and prebiotics in gastrointestinal disorders. *Current Opinion in Gastroenterology*, 20 (2), 146-155.
- Felfoul, I., Borchani, M., Samet-Bali, O., Attia, H., and Ayadi, M. A. (2017). Effect of ginger (*Zingiber officinalis*) addition on fermented bovine milk: rheological properties, sensory attributes and antioxidant potential. *Journal of New Sciences*, 44, 2400-2409.

- Fernández, G. E. (2010). Bioaccesibilidad *in vitro* de carotenoides desde matrices lipofílicas e hidrofílicas. Competitividad y sinergias. (Tesis Doctoral Inédita). Universidad de Sevilla, Sevilla.
- Fideicomiso de Riesgo Compartido (2017). *La tuna una fruta muy mexicana*. Fuente: <https://www.gob.mx/firco/articulos/la-tuna-una-fruta-muy-mexicana?idiom=es>. Fecha de publicación: 6 de septiembre del 2017. Fecha de consulta: 15 de julio del 2018.
- Figuera, C. Y. J., Malavé, A. A. C., Cordero, M. J., y Méndez, N. J. R. (2013). Constituyentes químicos de las hierbas y especias: Efectos sobre la salud humana, *Revista Científica UDO Agrícola*, 13(1), 1-16.
- Figueroa C. I., D. T. Martínez M., E. Rodríguez P., T. Colinas L., S. Valle G., S. Ramírez R. y C. Gallegos V. (2010) Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de tuna (*Opuntia spp.*) de México, *Agrociencia* 44, 763-771
- Flores, J. G. P., Ordaz, J. J., y López, E. C. (2017). ¿Qué es un alimento funcional? PÄDI Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI, 5(8).
- Flórez, J. (1999) Vitaminas liposolubles e hidrosolubles, En: Farmacología humana. 3rd ed. Barcelona: Editorial Masson, S.A. 991-1005.
- Flores, V. C. (2002). *Producción y comercialización de tuna*. Serie: Reporte de Investigación 67. CIESTAAM. Universidad Autónoma Chapingo, 55-61.
- Flores-Valdez, C. (2003). *Importancia del nopal*. En: C. A. Flores Valdez, ed. Nopalitos y tunas, producción, comercialización, poscosecha e industrialización. 1ª Ed. Universidad Autónoma Chapingo, CIESTAAM. México, 1-18.
- Flores-Valdez (2010). Producción y comercialización de la tuna y el nopalito en México. *Centro*, 7(17.50), 75-000.
- Fonteles, T. V., Costa, M. G. M., de Jesús, A. L. T., de Miranda, M. R. A., Fernández, F. A. N., and Rodríguez, S. (2012). Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: effects on quality parameters. *Food Research International*, 48(1), 41-48.

- Fonteles, T. V., Leite, A. K. F., Silva, A. R. A., Carneiro, A. P. G., de Castro Miguel, E., Cavada, B. S. y Rodrigues, S. (2016). Ultrasound processing to enhance drying of cashew apple bagasse puree: Influence on antioxidant properties and *in vitro* bioaccessibility of bioactive compounds. *Ultrasonics sonochemistry*, 31, 237-249.
- Francis, F. J. (1980). Color quality evaluation of horticultural crops. *Hort Science*, 15, 58-59.
- Galati, E. M., Mondello, M. R., Giuffrida, D., Dugo, G., Miceli, N., Pergolizzi, S., and Taviano, M. F. (2003). Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(17), 4903-4908.
- Gahruie, H. H., Eskandari, M. H., Mesbahi, G., and Hanifpour, M. A. (2015). Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. *Food Science and Human Wellness*, 4(1), 1-8.
- Gao, M. and Liu, C. Z. (2005). Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of *Saussurea medusa* Maxim. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(8-9), 1461-1463.
- García, J. R., De la Rosa, L. A., Herrera, D. G., González, B. A. G., López, D. J. A., González, A. G. A., Ruiz, C. S. y Álvarez, P. E. (2011). Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en la ciudad de Juárez, México. *Tecnociencia*, 5(2), 67-75.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., and Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107-1121.
- Gibson, G. R., and Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6), 1401-1412.
- Gironés-Vilaplana, A., Moreno, D. A., and García-Viguera, C. (2014). Phytochemistry and biological activity of Spanish Citrus fruits. *Food & Function*, 5(4), 764-772.

- Gómez-López, V. M., Buitrago, M. E., and Martínez-Yepe, A. (2018). Effect of ultrasonication on sensory and chemical stability of passion fruit juice during refrigerated storage. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 85-89.
- González Güereca, M. C., Soto Hernández, M., Kite, G., y Martínez Vázquez, M. (2007). Actividad antioxidante de flavonoides del tallo de orégano mexicano (*Lippia graveolens* HBK var. *berlandieri* Schauer). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(1). 43-49.
- González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D. A., and García-Viguera, C. (2010). Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), 327-345.
- Guandalini, S. (2006). Probiotics for children: use in diarrhea. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 40(3), 244-248.
- Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A. y Fedorak, R. (2011). Probióticos y prebióticos. *Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos*, 1-29.
- Guevara, A. J. C. (2009). Efectos biofuncionales del nopal y de la tuna. *Horticultura Internacional*. 1-9.
- Guldiken, B., Toydemir, G., Nur Memis, K., Okur, S., Boyacioglu, D., and Capanoglu, E. (2016). Home-processed red beetroot (*Beta vulgaris* L.) products: changes in antioxidant properties and bioaccessibility. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6), 858.
- Güler-Akın, M. B., Ferliarslan, I. and Serdar, A. M. (2016). Apricot Probiotic Drinking Yoghurt Supplied with Inulin and Oat Fiber. *Advances in Microbiology*, 6, 999-1009.
- Gunasekaran, S., Ko, S., and Xiao, L. (2007). Use of whey proteins for encapsulation and controlled delivery applications. *Journal of Food Engineering*, 83(1), 31-40.

- Gündođdu, E., Cakmakci, S. and Dagdemir, E. (2009). The efect of galic (*Allium sativum* L.) on some quality properties and shelft-life and stirred yogurt. *Turkish Journal of Vetarinary & Animal Sciences*. 33 (1), 27.35.
- Gutierrez, T., Hoyos, O., y Páez, M. (2007). Determinación del contenido de Ácido Ascórbico en uchuva (*Physalis peruviana* L.), por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 5(1), 70-79.
- Halah, M. F., and Mehanna, N. S. (2011). Use of natural plant antioxidant and probiotic in the production of novel yogurt. *Journal of Evolutionary Biology Research*, 3(2), 12-18.
- Halliwell, B. and Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal Pharmacology*. 142(2), 231–255.
- Haro-Vicente, J. F., Martínez-Gracia, C., and Ros, G. (2006). Optimisation of *in vitro* measurement of available iron from different fortificants in citric fruit juices. *Food Chemistry*, 98(4), 639-648.
- Heaney, R. P. (2001). Factors influencing the measurement of bioavailability, taking calcium as a model. *Journal of Nutrition*, 131 (4), 1344-8.
- Heijnen, C. G. M., Haenen, G. R. M. M., Van Acker, F. A. A., Van der Vijgh, W. J. F., and Bast, A. (2001). Flavonoids as peroxy-nitrite scavengers: the role of the hydroxyl groups. *Toxicology in vitro*, 15(1), 3-6.
- Helal, A., and Tagliazucchi, D. (2018). Impact of in-vitro gastro-pancreatic digestion on polyphenols and cinnamaldehyde bioaccessibility and antioxidant activity in stirred cinnamon-fortified yogurt. *LWT-Food Science and Technology*, 89, 164-170.
- Hernández-Mendoza, A., Robles, V. J., Angulo, J. O., De La Cruz, J., and García, H. S. (2007). Preparation of a whey-based probiotic product with *Lactobacillus reuteri* and *Bifidobacterium bifidum*. *Food Technology and Biotechnology*, 45(1), 27-31.

- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L. Berni, C. R., Flint, H. J., Salmanien, S., Calder, P. C. and Ellen, S. M. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11(8), 506.
- Hollman, P. C. H., Bijsman, M. N. C. P., Van Gameren, Y., Cnossen, E. P. J., De Vries, J. H. M., and Katan, M. B. (1999). The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radical Research*, 31(6), 569–573.
- Hoover, D. G. (2000). Ultrasound. *Journal of Food Safety*, 65(8), 93-95.
- Hurrell, R., and Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5), 1461-1467.
- Ibáñez, F., Torre, P. y Irigoyen, A. (2003). Aditivos alimentarios. *Universidad Pública de Navarra*, 1-10.
- Isanga, J., and Zhang, G. (2008). Screening of stabilizers for peanut milk based set yoghurt by assessment of whey separation, gel firmness and sensory quality of the yoghurt. *American Journal of Food Technology*, 3(2), 127-133.
- Ju, N. H., Min, S. H., Ho, L. J. and Hyuk, C. Y. (2013). Physicochemical and sensory properties of yogurt supplemented with corni fructus during storage. *Preventive nutrition and food Science*, 18(1), 45.
- John, J. H., Ziebland, S., Yudkin, P., Roe, L. S., and Neil, H. A. W. (2002). Effects of fruit and vegetable consumption on plasma antioxidant concentrations and blood pressure: a randomised controlled trial. *The lancet*, 359(9322), 1969-1974.
- Jiménez-Aguilar, D. M., López-Martínez, J. M., Hernández-Brenes, C., Gutiérrez-Uribe, J. A., and Welti-Chanes, J. (2015). Dietary fiber, phytochemical composition and antioxidant activity of Mexican commercial varieties of cactus pear. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 66-73.

- Jolalpa, B. J. L., Aguilar, Z. A., Ortiz B. O. y García, L. L. (2011). Producción y comercialización de tuna en fresco bajo diferentes modalidades en Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Agro Negocios*, (28), 605-614.
- Kamiloglu, S., Pasli, A. A., Ozcelik, B., and Capanoglu, E. (2014). Evaluating the *in vitro* bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity during consumption of dried fruits with nuts. *LWT-Food Science and Technology*, 56(2), 284-289.
- Karaaslan, M., Ozden, M., Vardin, H. and Turkoglu, H. (2011). Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *Food Science and Technology*, 44, 1065-1072.
- King. (2000). AGA Technical Review: Impact of Dietary Fiber on Colon Cancer Occurrence. *Gastroenterology*. 118 (6), 1235-1257.
- Kris-Etherton, P. M., Lefevre, M., Beecher, G. R., Gross, M. D., Keen, C. L., and Etherton, T. D. (2004). Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing biological function: the antioxidant and anti-inflammatory effects of flavonoids on atherosclerosis. *Annual Review Nutrition*, 24, 511-538.
- Kuskoski, E., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J. y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia e Tecnología de Alimentos*. 25, 726-732.
- Kuti, J.O. (2004). Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chemistry*. 85, 527-533.
- Labayen, I., Forga, L., Gonzalez, A., Lenoir-Wijnkoop, I. and Martínez, J. A. (2001). Relationship between lactose digestion, gastrointestinal transit time and symptoms in lactose malabsorbers after dairy consumption. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 15(4), 543-549.
- León S, M. (2005). Proteínas en nutrición artificial. *Nutrición enteral. Publicación SENPE. Madrid Ed Edi-kOMED*.
- Levine, R. L. and Stadtman, E. R. (2001). Oxidative modification of proteins during aging. *Experimental Gerontology*, 36(9),1495-1502.

- Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M., and Li, H. B. (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6(12), 6020-6047.
- Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 517–520.
- Liu, R. H., and Hotchkiss, J. H. (1995). Potential genotoxicity of chronically elevated nitric oxide: a review. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 339(2), 73-89.
- Linh N., and Eun-Sun, H. (2016). Quality characteristics and antioxidant activity of yogurt supplemented with aronia (*Aronia melanocarpa*) juice. *Preventive Nutrition and Food Science*, 21(4), 330.
- Lindmark-Månsson H., and Åkesson B., (2000). Antioxidative factors in milk. *British Journal Nutrition*, 84 (1), 103-110.
- Livney, Y. D. (2010). Milk proteins as vehicles for bioactives. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 15(1-2), 73-83.
- Londoño, L. J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. En: *Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia*. Corporación Universitaria Lasallista, 130-162.
- López, M., Martínez, F., Del Valle, C., Ferrit, M., and Luque, R. (2003). Study of phenolic compounds as natural antioxidants by a fluorescence method. *Talanta*, 60(2-3), 609-616.
- MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G., and Garg, M. L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2046-2056.
- Maldonado, S. O., Nahúm, J. V., Guapillo, V. M. R. B., Ceballos, R. G. M. y Méndez, B. E. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 32-39.

- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., and Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Maki-Díaz, G., Peña-Valdivia, C. B., García-Nava, R., Arévalo-Galarza, M. L., Calderón-Zavala, G. y Anaya-Rosales, S. (2015). Características físicas y químicas de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) para exportación y consumo nacional. *Agro ciencia*, 49, 31-51.
- Mason, T. J. and Vinatoru, M. (2017). Ultrasonically Assisted Extraction in Food Processing and the Challenges of Integrating Ultrasound into the Food Industry. *Ultrasound in Food Processing: Recent Advances*, 329-353.
- Mendoza, E. y Calvo, C. (2010). Bromatología. Composición y propiedades de los alimentos. *Editorial Mc Graw Hill, México, México*, 159.
- Mesa-Vanegas, A. M., Gaviria, C. A., Cardona, F., Sáez-Vega, J. A., Blair Trujillo, S., y Rojano, B. A. (2010). Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(2), 13-26.
- Miller, D. D., Schricker, B. R., Rasmussen, R. R. and Van Campen, D. (1981). An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 34(10), 2248-56.
- Morales, F. J. and Jiménez- Pérez, S. (2001). Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to color and fluorescence. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 72, 19-125.
- Monroy-Gutiérrez, T., Martínez-Damián, M., Barrientos-Priego, A., Gallegos-Vázquez, C., Cruz-Alvarez, O. y Vargas-Madríz, H. (2017). Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en frutos de xocotuna, tuna y xoconostle (*Opuntia spp.*). *Chilean journal of Agricultural & Animal Sciences*, 33(3), 263-272.
- Morata, B. A. (2008). Sonicación. Ultrasonidos. En: Nuevas tecnologías de conservación de alimentos. Madrid. 156-161.

- Moreno-Arribas, M. V., and Polo, M. C. (2008). Occurrence of lactic acid bacteria and biogenic amines in biologically aged wines. *Food Microbiology*, 25(7), 875-881.
- Mondragón-Jacobo, C., and Pérez-González, S. (2001). Cactus (*Opuntia* spp.) as forage. *Food & Agriculture Organization*, 5-12.
- Muniandy, P., Shori, A. B., and Baba, A. S. (2016). Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. *Food Packaging and Shelf Life*, 8, 1-8.
- Muñoz Jáuregui, A. M., y Ramos Escudero, F. (2007). Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. *Horizonte Médico*, 7(1), 23-71.
- Muñoz Juárez, M. A., y Gutiérrez, D. M. (2009). Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana glauca*. *Facultad Química, Universidad Autónoma de Querétaro*, 1-4.
- Nahan, L. K., Escott-Stump, S., y González Hernández, J. L. (2001). *Nutrición y dietoterapia de Krause*,
- Naidu, K. A. (2003). Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal*, 2(1), 1-10.
- Najgebauer-Lejko, D., Grega, T., and Tabaszewska, M. (2014). Yoghurts with addition of selected vegetables: acidity, antioxidant properties and sensory quality. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 13(1), 35-42.
- Nava, M. G. (2007). Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos. *Querétaro: Primer verano de introducción a la investigación de la UAQ*.
- Navarrete, L. A., Ortiz, G. J. y Favela, T. T. (2004). *Tecnología de productos lácteos*. En: *Introducción a la tecnología de alimentos*. 2da edición. México, Limusa, 13-25.
- Newman, A. P., Lorimer, J. P., Mason, T. J. and Hunt, K. R. (1997). An investigation into the ultrasonic treatment of polluted solids. *Ultrasonics Sonochemistry*, 4(2), 153-156.

- Nikmaram, P., Mousavi, S. M., Emam-Djomeh, Z., Kiani, H., and Razavi, S. H. (2015). Evaluation and prediction of metabolite production, antioxidant activities, and survival of *Lactobacillus casei* 431 in a pomegranate juice supplemented yogurt drink using support vector regression. *Food Science and Biotechnology*, 24(6), 2105-2112.
- Nionelli, L., Coda, R., Curiel, J. A., Poutanen, K., Gobbetti, M. and Rizzello, C. G. (2014). Manufacture and characterization of a yogurt-like beverage made with oat flakes fermented by selected lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 185, 17-26.
- Norma Mexicana, NMX-F-444-1983. Alimentos. Yoghurt o leche búlgara.
- Norma Oficial Mexicana. NOM_181_SCFI-2010, Yogurt-Denominaciones, especificaciones físico químicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba.
- Ochoa, V. C. y Guerrero, B. J. (2010) La tuna: una perspectiva de su producción, propiedades y métodos de conservación. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*. 4 (1), 49-63.
- Ordóñez-Santos, L. E., Martínez-Girón, J., and Arias-Jaramillo, M. E. (2017). Effect of ultrasound treatment on visual color, vitamin C, total phenols, and carotenoids content in Cape gooseberry juice. *Food Chemistry*, 233, 96-100.
- Ortega-Ortega, M. D. L. A., Cruz-Cansino, N. D. S., Alanís-García, E., Delgado-Olivares, L., Ariza-Ortega, J. A., Ramírez-Moreno, E. y Manríquez-Torres, J. D. J. (2017). Optimization of ultrasound extraction of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) seed oil based on antioxidant activity and evaluation of its antimicrobial activity. *Journal of Food Quality*, 2017.
- O'Sullivan, A. M., O'Grady, M. N., O'Callaghan, Y. C., Smyth, T. J., O'Brien, N. M., and Kerry, J. P. (2016). Seaweed extracts as potential functional ingredients in yogurt. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 293-299.
- Padayatty, S. J., and Levine, M. (2001). New insights into the physiology and pharmacology of vitamin C. *Canadian Medical Association Journal*, 164(3), 353-355.

- Pagthinathan, M., Nafees, M. S. M., and Jeganathan, N. (2016) Development and Investigate of Palmyrah Fruit Pulp (PFP) Added Yoghurt. *International Journal of scientific Research and Innovative Technology*, 3(5), 15-30.
- Parada, J., and Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of Food Science*, 72(2), 21-32.
- Parada, M. J. N., Romero, J. C. A. y Yépez, V. B. (2012). Aplicación de ultrasonido el procesamiento de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth): Efecto sobre la calidad funcional y evaluación como pretratamiento el secado conectivo. *Revista alimentos hoy*. 21 (27), 15-38.
- Parra, H. R. A. (2010). Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8(1), 93-105.
- Parra-Huertas, R. A., y Medina-Vargas, O. J. (2012). Sobrevivencia y encapsulación de bacterias y su efecto en las propiedades sensoriales, fisicoquímicas y microbiológicas del yogurt. *Vitae*, 19(1).
- Parra, H. R. A. (2012). Yogurt en la salud humana. *Revista lasallista de investigación*. 9(2), 162-177.
- Parra-Huertas, R. A. (2009). Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 62(1).
- Pasquel, J. L. R., da Fonseca, M, A. P., Barbero, G. F., Rezende, C. A., and Martínez, J. (2014). Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus sp.*) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound. *The Journal of Supercritical Fluids*, 94, 223-233.
- Pavan, V., Sancho, R. A. S., and Pastore, G. M. (2014). The effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*). *Food Science and Technology*, 59(2), 1247-1251.
- Peña-Valdivia, C. B., C. Trejo L, V. B. Arroyo-Peña, A. Sánchez U. and R. Balois M. (2012). Diversity of unavailable polysaccharides and dietary fiber in

domesticated nopalito and cactus pear fruit (*Opuntia spp.*). *Chemistry and Biodiversity*, 1599-1610.

- Pérez-Jímenez, J., Arranz, S., Taberbero, M., Días-Rubio, E., Serrano, J. and Goñi, I. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*. 4, 274-285.
- Pescuma, M., Hébert, E. M., Mozzi, F., and de Valdez, G. F. (2008). Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology*, 25(3), 442-451.
- Piga, A. (2004). Cactus pear: A Fruit of Nutraceutical and Functional Importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 9-22.
- Pihlanto A., (2006). Antioxidative peptides derived from milk proteins. *International Dairy Journal*. 16, 1306-1314.
- Pokorný, J and Schmidt, S., (2004). Funcionalidad de los antioxidantes naturales durante el procesado de los alimentos. En: *Antioxidantes de los alimentos: aplicaciones prácticas*, 311-334.
- Polledo, F. J. N., Oliver, P. A. and Buttica J. J. (2011). Implicación social de la industria alimentaria. *Fundación Alimentum*.
- Prior, L. R. (2003). Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *The American Journal of of Clinical Nutrition*. 78, 570-578.
- ProChile (2013). Tendencias del Mercado, Productos FOSHU en Japón (Alimentos Funcionales).
- Quintanar, E. M. A. y Calderón S. J. V. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de educación bioquímica*, 28(3), 89-101.
- Quirós, S A. E., Palafox, H., Robles S. M., y González, A. A. (2011). Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: Capacidad antioxidante y biodisponibilidad. *Biotecnia*, 13(3), 3-11.

- Ramírez, R. J.C., Rosas, U. P., Velázquez, G. M. Y, Ulloa, J. A. y Arce, R. F. (2011) Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente Año.* (7), 1-16.
- Ramírez-Ramos, M., García-Mateos, M., Corrales-García, J., Ybarra-Moncada, C. y Castillo-González, A. M. (2015). Compuestos antioxidantes en variedades pigmentadas de tuna (*Opuntia sp.*). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(4), 349-357.
- Ramírez-Moreno, E., Hervert-Hernández, D., Sánchez-Mata, M. C., Díez-Marqués, C., and Goñi, I. (2011). Intestinal bioaccessibility of polyphenols and antioxidant capacity of pulp and seeds of cactus pear. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(8), 839-843.
- Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., and Baines, S. K. (2012). Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. *Food Chemistry*, 135(3), 1411-1418.
- Reglamento bromatológico nacional, (2012), decreto N° 315/994; 5^{ta} Edición.
- Remeuf, F., Mohammed, S., Sodini, I., and Tissier, J. P. (2003). Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. *International Dairy Journal*, 13(9), 773-782.
- Reyes-Agüero, J. A., J. R. Aguirre R., and H. M. Hernández. (2005). Systematic notes and a detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae). *Agrociencia*, 39, 395-408.
- Rein, M. J., Renouf, M., Cruz-Hernandez, C., Actis-Goretta, L., Thakkar, S. K., and da Silva Pinto, M. (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: A challenging journey to bioefficacy. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75(3), 588–602.
- Reynoso, C. R., Ríos, U., M. D. C., Torres, P. I., Acosta, G. J. A., Palomino, S. A. C., Ramos, G. M., Gonzalez, J. E. y Guzmán, M. S. H. (2007). El consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y su efecto sobre el cáncer de colon en ratas Sprague-Dawley. *Agricultura Técnica en México*, 33(1), 43-52.

- Reyes, A., Galicia, M., y Carrillo, M. (2011). Antioxidantes: la magia de lo natural. *Revista Tlatemoani*, (8), 1-16.
- Rincón, F., Oberto, A., y León de Pinto, G. (2005). Funcionalidad de la goma de *Enterolobium cyclocarpum* en la preparación de yogurt líquido semi-descremado. *Revista Científica*, 15(1).
- Rodríguez-Roque, M. J., Rojas-Gra , M. A., Elez-Martínez, P., and Martín-Belloso, O. (2013). Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout *in vitro* gastrointestinal digestion of a blended fruit juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1859-1867
- Roig, M. G., Rivera, Z. S., and Kennedy, J. F. (1993). L-ascorbic acid: an overview. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 44(1), 59-72.
- Román, R. E. y Álvarez, C. G. (2013). Empleo de probióticos y prebióticos en pediatría. *Nutrición Hospitalaria*, 28, 42-45.
- Romero C. S., M., y Mestres L. J. (2004). Productos lácteos: tecnología.
- Rondon, L., Añez Zavala, M., Salvatierra Hidalgo, A., Meneses Barrios, R. T., y Heredia Rodriguez, M. T. (2015). Probióticos: generalidades. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 78(4), 123-128.
- Rusell, R. (2005). *Deficiencias y excesos de vitaminas y oligoelementos*. En: Harrison principios de Medicina Interna. México, McGraw-Hill Interamericana, 452-9.
- Robens, J. F., Dill, G. S., Ward, J. M., Joiner, J. R., Griesemer, R. A., and Douglas, J. F. (1980). Thirteen-week subchronic toxicity studies of Direct Blue 6, Direct Black 38, and Direct Brown 95 dyes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 54, 431-442.
- Saeeduddin, M., Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Awad, F. N., Hu, B., Lei, S. and Zeng, X. (2015). Quality assessment of pear juice under ultrasound and commercial pasteurization processing conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 64(1), 452-458.

- Sáenz C., Berger H., Corrales G. J., Galletti L., Garcia de C. V., Higuera I., Mondragón C., Rodríguez-Felix A., Sepúlveda E. y Varnero M. T. (2006) Utilización Agroindustrial del nopal del Boletín de servicios agrícolas de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma
- Sáenz, C. y Sepúlveda, E. (2001). Ecotipos coloreados de tuna (*Opuntia ficus-indica*). *ACONEX* 72:29-32
- Sahin, S., and Güllum, S. S. (2006). Rheological properties of foods. En: *Physical Properties of Foods*, 39-105.
- Saito, M. (2007). Role of FOSHU (food for specified health uses) for healthier life. *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 127(3), 407-416.
- Salinas, C. (2002). Promoción de la salud en Chile. *Revista chilena de nutrición*, 29, 164-173.
- Sanders, M. E., Walker, D. C., Walker, K. M., Aoyama, K., and Klaenhammer, T. R. (1996). Performance of commercial cultures in fluid milk applications. *Journal of Dairy Science*, 79(6), 943-955.
- Santillán-Urquiza, E., Méndez-Rojas, M., y Vélez-Ruiz, J. (2014). Productos lácteos funcionales, fortificados y sus beneficios en la salud humana. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 8(1).
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J., y Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84(3), 197-215.
- Sasaki, Y. F., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K., Taniguchi, K. and Tsuda, S. (2002). The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 519(1), 103-119.
- Scheinvar, L. (1999). *Taxonomía de las Opuntias utilizadas*. En: Agroecología, cultivo y usos del nopal. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal N° 132. Roma, 21-28.

- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), Cierre de la producción agrícola. Anuario Estadístico Nacional de la Producción Agrícola 2017. Dirección: <https://www.gob.mx/siap/articulos/cierre-estadistico-de-la-produccion-agricola-2017?idiom=es>.
- Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación. Dirección: <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/me-he-de-comer-esa-tuna?idiom=es>. Actualización: 20/08/2016. Acceso: 25/09/2017.
- Selvamuthukumar, M., and Farhath, K. (2014). Evaluation of shelf stability of antioxidant rich seabuckthorn fruit yoghurt. *International Food Research Journal*, 21(2).
- Şengül, M., Erkaya, T., Şengül, M., and Yildiz, H. (2012). The effect of adding sour cherry pulp into yoghurt on the physicochemical properties, phenolic content and antioxidant activity during storage. *International Journal of Dairy Technology*, 65(3), 429-436.
- Sengul, H., Surek, E., and Nilufer-Erdil, D. (2014). Investigating the effects of food matrix and food components on bioaccessibility of pomegranate (*Punica granatum*) phenolics and anthocyanins using an in-vitro gastrointestinal digestion model. *Food Research International*, 62, 1069-1079.
- Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Food/nahrung*, 44(3), 158-163.
- Shahidi, F., and Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897.
- Shin, B. K., Kang, S., Han, J. I., and Park, S. (2015). Quality and sensory characteristics of fermented milk adding black carrot extracts fermented with *Aspergillus oryzae*. *Journal of the Korean Society of Food Culture*, 30(3), 370-376.
- Sigdel, A., Ojha, P., and Karki, T. B. (2018). Phytochemicals and syneresis of osmo-dried mulberry incorporated yoghurt. *Food Science & Nutrition*, 1-8.

- Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., and Schneider, E. L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175(1), 184-191.
- Singh, G. and Muthukumarappan, k. (2007). Influence of calcium fortification on sensory, physical and rheological characteristics of fruit yogurt. *Food Science and Technology*, 41, 1145–1152.
- Solomón, A. G. (2005). La industria alimentaria. *Comercio exterior*, 55(3), 242.
- Stadtman E and Levine R. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*; 25, 207-218.
- Stintzing, F., Herbach, K., Mobhammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappa, S., Akoh, C. C., Brunch, R. and Felker, P. (2005). Color, betalains pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia spp*) clones. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 53, 442-451.
- Strahsburger, E., Retamales, P., Estrada, J., y Seeger, M. (2016). Método de la microgota: usado con agar cromogénico es un procedimiento útil para el monitoreo sanitario en acuicultura. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(4), 742-749.
- Sumaya- Martínez, M. A., Suárez, D. T., Cruz, C. N. S., y Alanís, G. E. (2010). Innovación de productos de alto valor agregado a partir de la tuna mexicana. *Revista Mexicana de Agro Negocios*. 27, 435-441.
- Sumaya-Martínez, M. T., Cruz-Jaime, S., Madrigal-Santillán, E., García-Paredes, J. D., Cariño-Cortés, R., Cruz-Cansino, N., Valadez-Vega, C., Martínez-Cardenas, L. and Alanís-García, E. (2011). Betalain, acid ascorbic, phenolic contents and antioxidant properties of purple, red, yellow and white cactus pears. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(10), 6452-6468.
- Sun-Young L., Joungjwa A. and Hae-Soo K., (2011). Effects of the extract yam powder addition on yogurt properties during storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 31(1), 66-73.

- Tagliazucchi, D., Helal, A., Verzelloni, E., Bellesia, A., and Conte, A. (2016). Composition and properties of peptides that survive standardised *in vitro* gastro-pancreatic digestion of bovine milk. *International Dairy Journal*, 61, 196-204.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., and Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675.
- Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A. M., Allegra, M., and Livrea, M. A. (2004). Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(2), 391-395.
- Tiwari, B.K., Muthukumarappan, K., O'Donnell C.P. and Cullen P.J. (2008). Colour degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology, *LWT-Food Science and Technology*, 41 1876–1883.
- Torres-Ponce, R., Morales-Corral, D., Ballinas-Casarrubias, M., y Nevárez-Moorillón, G. (2015). El nopal: planta del semidesierto con aplicaciones en farmacia, alimentos y nutrición animal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6 (5), 1129-1142.
- Trigueros, L., Wojdyło, A., and Sendra, E. (2014). Antioxidant activity and protein–polyphenol interactions in a pomegranate (*Punica granatum* L.) yogurt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(27), 6417-6425.
- Tseng, A., and Zhao, Y. (2013). Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. *Food Chemistry*, 138(1), 356-365.
- Valenzuela, A., Valenzuela, R., Sanhueza, J., y Morales, G. (2014). Alimentos funcionales, nutraceúticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación?. *Revista Chilena de Nutrición*, 41(2), 198-204.
- Vásquez, S. M., Suárez, H., y Zapata, S. (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutrición*, 36(1), 64-71.

- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. y Oomah, B. D. (1998). Actividad Antioxidante y Fenoles totales y frutas selectas, vegetales y productos de grano. *Journal Agric Food Chem*.
- Venereo, G. J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 31 (2), 126-33.
- Vera B. M. E. (2011). *Elaboración y aplicación gastronómica del yogurt*. Tesis de licenciatura. Universidad de cuenca: facultad de gastronomía. 1-85.
- Vergara, H. C. C. (2013). Extracción y estabilización de betalaínas de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) Mediante tecnología de membranas y microencapsulado, como colorante alimentario. Tesis de doctorado. Universidad de Chile. 1-129
- Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Troncoso, A. M., and García-Parrilla, M. C. (2005). Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites *in vitro*. *Analytica Chimica Acta*, 538(1-2), 391-398.
- Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(3), 303-313.
- Vincent, H. K., Bourguignon, C. M., and Taylor, A. G. (2010). Relationship of the dietary phytochemical index to weight gain, oxidative stress and inflammation in overweight young adults. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 23(1), 20-29.
- Walstra, P., Geurts, T. J., Noomen, A., Jellema, y Van Boekel, M. A. J. S. (2001). *Leches fermentadas*. En: Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. Ed Acribia. España. 532-543.
- Williamson, G., and Clifford, M. N. (2010). Colonic metabolites of berry polyphenols: The missing link to biological activity? *British Journal of Nutrition*, 104(3), 48–66.
- Wildman, R. E. C. (2007) Handbook of nutraceuticals and functional foods. Segunda edición. EE.UU. 541.
- Won-Young, C., Su-Jung Y., Go-Eun H., Ji-Han K., Tsend-Ayush, C. and Chi-Ho L. (2017). Antioxidant Activity and Quality Characteristics of Yogurt Added Green

Olive Powder during Storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(6), 865.

- Xiao, J., Mao, F., Yang, F., Zhao, Y., Zhang, C., and Yamamoto, K. (2011). Interaction of dietary polyphenols with bovine milk proteins: molecular structure–affinity relationship and influencing bioactivity aspects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(11), 1637-1645.
- Xu, H., Heinze, T. M., Chen, S., Cerniglia, C. E., and Chen, H. (2007). Anaerobic metabolism of 1-amino-2-naphthol-based azo dyes (Sudan dyes) by human intestinal microflora. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(23), 7759-7762.
- Yamada, K., Sato-Mito, N., Nagata, J., and Umegaki, K. (2008). Health claim evidence requirements in Japan. *The Journal of Nutrition*, 138(6), 1192-1198.
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., and Chen, S. S. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59(3), 113-122.
- Yasui, K. (2010). Fundamentals of acoustic cavitation and sonochemistry. In *Theoretical and experimental sonochemistry involving inorganic Systems*, 1-29.
- Yildiz, F. (2016). *Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products*.
- Zafra-Rojas, Q.Y., Cruz-Cansino, N.S., Quintero-Lira, A., Gómez-Aldapa, C.A., Alanís-García, E., Cervantes-Elizarrarás, A., Güemes-Vera, N. and Ramírez-Moreno, E. (2016). Application of Ultrasound in a Closed System: Optimum Condition for Antioxidants Extraction of Blackberry (*Rubus fruticosus*) Residues. *Molecules*, 21(7), 950.
- Zafra-Rojas, Q. Y., Cruz-Cansino, N., Ramírez-Moreno E., Delgado-Olivares, L., Villanueva- Sánchez, J. and Alanís-García, E. (2013). Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*. 20(5), 1283-1288.
- Zainoldin, K. H., and Baba, A. S. (2009). The effect of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* on physicochemical, proteolysis, and antioxidant activity in yogurt. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 60, 361-366.

- Zamora, J. D. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(1), 17-26.
- Zenteno-Ramirez, G., Juárez-Flores, B. I., Aguirre-Rivera, J. R., Monreal-Montes, M., García, J. M., Serratos, M. P. and Rendon-Huerta, J. A. (2018). Juices of prickly pear fruits (opuntia spp.) As functional foods. *Italian Journal of Food Science*, 30(3).
- Zinoviadou, K. G., Galanakis, C. M., Brnčić, M., Grimi, N., Boussetta, N., Mota, M. J. and Barba, F. J. (2015). Fruit juice sonication: Implications on food safety and physicochemical and nutritional properties. *Food Research International*, 77, 743-752.
- Zou, T., He, P., Yasen, A., and Li, Z. (2013). Determination of seven synthetic dyes in animal feeds and meat by high performance liquid chromatography with diode array and tandem mass detectors. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1742-1748.