



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**

---

---

**INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**MAESTRÍA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS**

**Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la extracción  
de pigmentos y compuestos antioxidantes de tunas rojas  
(*Opuntia* spp.)**

**TESIS**

Para obtener el grado de

**Maestra en Ciencias de los Alimentos**

**PRESENTA:**

**Elba González Aguayo**

**DIRECTORA:**

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

**ASESORES:**

Dr. Rafael G. Campos Montiel  
Dr. Otilio A. Acevedo Sandoval  
Dr. J. Manuel Pinedo Espinoza  
Dr. Juan Carlos Contreras Esquivel

Tulancingo de Bravo, Hidalgo.



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO DEL ICAP

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos

Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis titulada: "Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la extracción de pigmentos y compuestos antioxidantes de tunas rojas (Opuntia spp.)", que desarrolla la I.A. Elba González Aguayo.

Asistentes:

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Dr. Otilio A. Acevedo Sandoval

Dr. J. Manuel Pinedo Espinoza

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la I.A. Elba González Aguayo, oportunamente las correcciones adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado.

La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que el estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 4 de septiembre del 2014

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Dr. Otilio A. Acevedo Sandoval

Dr. J. Manuel Pinedo Espinoza

Handwritten signatures of the committee members on lines.



## **AGRADECIMIENTO**

**Al apoyo recibido por CONACyT con la beca de la Maestría en Ciencia de los Alimentos de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo incluida en el Padrón Nacional de posgrado de CONACyT.**

## AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

*A Dios por la vida tan hermosa que me ha regalado, por permitirme cumplir cada una de mis metas y por la oportunidad de mejorar como ser humano.*

*A ser más especial: Vicente Yasid González Aguayo por ser una gran bendición en mi vida y mi mayor motivación y a Marco Antonio Juárez Meza por regalarme la oportunidad de ser madre de un hermoso niño.*

*A mi padre Rigoberto González Soto, porque me ha brindado su consejo y apoyo incondicionalmente sacrificándose para darme siempre lo que he necesitado, siendo un ejemplo a seguir y mi mayor orgullo porque a él le debo todo lo que soy.*

*A mi madre Elia Aguayo Abila, que a pesar del tiempo y la distancia que nos separa, nunca me ha dejado sola, motivándome para que siga adelante, enseñándome que para tener lo que deseamos en algunas ocasiones hay que sacrificar incluso lo que más queremos.*

*A mi Abuelita Margarita Soto Sandoval, que en la ausencia de mi madre, ella fue mi guía, confidente y gran amiga siempre dándome consejos en el momento más indicado, mostrándome la cara más bella que tiene el ser humano la paciencia y una inmensa bondad.*

*A mis hermanos: Alicia González Aguayo, porque incondicionalmente me ha apoyado sabiéndome escuchar y dándome ánimos cuando lo he necesitado; y por las hermosas sobrinas que me ha regalado Claudia Denis y Kimena Lizeth me llenan de alegría cada vez que vuelvo a casa.*

*Armando González Aguayo, mi hermanito que con su ímpetu y energía me ha enseñado a valorar la vida a disfrutarla y siempre tener una actitud positiva pase lo que pase.*

*Agradezco también a la Dra. Alma Delia Hernández Fuentes por el tiempo y esfuerzo invertidos en la dirección de esta investigación. Al resto del comité de tesis, Dr. Rafael G. Campos Montiel, Dr. Otilio H. Acevedo Sandoval, Dr. J. Manuel Pinedo Espinoza y Dr. Juan Carlos Contreras Esquivel gracias por su apoyo. Y a la Dra. Norma Güemes Vera por las facilidades en los trámites administrativos.*

*También le doy las gracias a mis compañeros de generación Alba, Eva, Nancy, Wendy, Lizbeth, Lorena, Laura, Rafael, Ángel y Humberto. Una mención aparte merecen grandes amigos y seres humanos Cesar y Mariana, muchas gracias por su apoyo y los consejos que me brindaron durante mi estancia en la maestría.*

# ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES .....	3
2.1 <i>Opuntia</i> .....	3
2.1.1 Antecedentes históricos de <i>Opuntias</i> .....	3
2.1.2 Morfología del nopal y su fruto .....	4
2.1.3 Composición química.....	6
2.1.4 Propiedades funcionales .....	7
2.1.5 Pigmentos presentes en <i>Opuntias</i> .....	8
2.2 Colorantes .....	10
2.2.1 Betalaínas .....	18
2.2.1.1 Estructura .....	18
2.2.1.2 Estabilidad .....	20
2.2.1.2.1 Efecto del pH .....	21
2.2.1.2.2 Efecto de la temperatura.....	21
2.2.1.2.3 Efecto de radiaciones .....	22
2.2.1.2.4 Efecto del oxígeno .....	22
2.2.1.2.5 Efecto de la actividad de agua.....	22
2.2.1.2.6 Efecto de la acción enzimática .....	23
2.2.1.3 Betanína.....	23
2.2.2 Proceso de obtención .....	25
2.2.2.1 Extracción.....	25
2.2.2.2 Lixiviación .....	26
2.2.2.3 Maceración .....	26
2.2.2.3.1 Maceración en frío .....	26
2.2.2.3.2 Maceración con calor .....	27
2.2.2.4 Secado .....	27
2.2.2.4.1 Liofilización.....	28

2.2.2.5 Encapsulación.....	29
2.2.3 Aplicaciones.....	29
2.3 Fitoquímicos.....	31
2.3.1 Actividad antioxidante .....	32
2.4 Pulsos eléctricos de alto voltaje.....	33
III. JUSTIFICACIÓN.....	37
IV. OBJETIVOS.....	38
V. HIPOTESIS .....	39
VI. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	40
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
7.1 Químicos .....	41
7.2 Material vegetal .....	41
7.5 Variables de respuesta.....	44
7.5.1 Color de los extractos .....	44
7.5.2 Estabilidad del color a diferentes temperaturas y pH .....	44
7.5.3 Cuantificación de betalaínas.....	45
7.5.4 Determinación de Fenoles Totales .....	46
7.5.5 Determinación de Actividad Antioxidante .....	48
7.5.5.1 Método de DPPH.....	48
7.5.5.2 Método de ABTS .....	49
7.6 Análisis de Resultados.....	50
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	51
8.1 Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en parámetros físicoquímicos.....	51
8.1.1 Pérdida de Peso .....	51
8.1.2 Jugos liberados.....	54
8.1.3 pH.....	57
8.1.4 Sólidos Solubles Totales .....	60
8.1.5 Color de los extractos .....	64
8.2 Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la estabilidad del color ( $\Delta E$ ).....	70
8.2.1 A diferentes pH .....	70
8.2.2 A diferentes temperaturas .....	74

8.3 Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la extracción de betalaínas .....	78
8.3.1 Betalaínas Totales.....	78
8.3.1.1 Betacianinas.....	82
8.3.1.1 Betaxantinas .....	86
8.4 Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la extracción de Fenoles Totales.....	89
8.5 Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la Actividad Antioxidante.....	92
8.5.1 Radical ABTS .....	92
8.5.2 Radical DPPH .....	96
IX. CONCLUSIONES .....	101
X. BIBLIOGRAFÍA .....	102
XI. ANEXOS.....	121
Diagrama de flujo del proceso de extracción.....	121
Efecto de la aplicación de PEAV en epicarpio-mesocarpio y endocarpio de tuna 'Rojo Insurgentes' a nivel microscópico. ....	122

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Pigmentos autorizados por la Unión Europea para uso en alimentos.....	13
Cuadro 2.	Especificaciones para el uso de pigmentos sintéticos en México.....	14
Cuadro 3.	Algunos pigmentos exentos de certificación por la FDA.....	15
Cuadro 4.	Colorantes naturales permitidos en alimentos por la Norma Oficial Mexicana NOM-119.SSA1-1994.....	17
Cuadro 5.	Tres clases de fitoquímicos y sus principales componentes.....	32
Cuadro 6.	Diseño de tratamientos.....	42
Cuadro 7.	Concentraciones para la curva de calibración empleada para fenoles totales expresada en mg de ácido gálico/litro.....	47
Cuadro 8.	Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio, de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro y Rojo Pelón en pérdida de peso.....	52
Cuadro 9.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio, de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro y Rojo Pelón en pérdida peso.....	53
Cuadro 10.	Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro y Rojo Pelón en jugos liberados.....	54



Cuadro 11.	Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro y Rojo Pelón en jugos liberados.....	56
Cuadro 12.	Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el pH de epicarpio-mesocarpio y extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro y Rojo Pelón.....	58
Cuadro 13.	Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el pH de endocarpio y en extractos de endocarpio en tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro y Rojo Pelón.....	59
Cuadro 14.	Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en solidos solubles totales en epicarpio-mesocarpio y extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro y Rojo Pelón.....	61
Cuadro 15.	Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en solidos solubles totales en endocarpio y extractos de endocarpio en tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro y Rojo Pelón.....	63
Cuadro 16.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en el color de los extractos.....	65
Cuadro 17.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en el color de los extractos...	68

Cuadro 18.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en la estabilidad del color a diferentes pH.....	71
Cuadro 19.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en la estabilidad del color a diferentes pH.....	73
Cuadro 20.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en la estabilidad del color a diferentes temperaturas.....	75
Cuadro 21.	Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en la estabilidad del color a diferentes temperaturas.....	77
Cuadro 22.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en betalaínas totales.....	79
Cuadro 23.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en betalaínas totales.....	81
Cuadro 24.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en betacianínas.....	83
Cuadro 25.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en betacianínas.....	85

Cuadro 26.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en betaxantínas.....	86
Cuadro 27.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en betaxantínas.....	88
Cuadro 28.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en fenoles totales.....	90
Cuadro 29.	Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en fenoles totales.....	91
Cuadro 30.	Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en la actividad antioxidante con el radical ABTS.....	93
Cuadro 31.	Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en la Actividad antioxidante con el radical ABTS.....	95
Cuadro 32.	Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en la actividad antioxidante con el radical DPPH.....	97
Cuadro 33.	Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: Cardona, Rojo Insurgentes, Orejón, Burra la Cruz, Sandía, Cacalote, Tapón Aguanoso, Sangre de Toro, Rojo Pelón en la Actividad Antioxidante con el radical DPPH.....	99

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Betacianínas.....	19
Figura 2.	Betaxantínas.....	19
Figura 3.	Betanína.....	20
Figura 4.	Estructura de tuna ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ).....	43
Figura 5.	Curva de calibrado para medición de Fenoles Totales.....	47
Figura 6.	Curva de calibrado para la medición de actividad antioxidante del radical DPPH.....	49
Figura 7.	Curva de calibrado para la medición de actividad antioxidante del radical ABTS.....	50

## RESUMEN

México es considerado el centro de origen y dispersión del género *Opuntia*, la tuna es una baya que varía en forma, tamaño y color. La gama de atractivos colores que presenta esta fruta se debe a la presencia de carotenoides, fenoles y betalaínas, estas últimas son moléculas hidrosolubles con nitrógeno en su estructura que se sintetizan a partir del aminoácido tirosina. Las betalaínas se subdividen en dos grupos: las betacianinas las cuales se forman por la condensación de una estructura ciclo- DOPA (dihidroxifenilalanina) con el ácido betalámico y estas brindan tonalidades rojas, y las betaxantinas que se sintetizan a partir de diferentes compuestos amino y el ácido betalámico las cuales proporcionan coloraciones amarillas. Las betalaínas son reconocidas como fitoquímicos debido a su alta actividad antioxidante, sin embargo, la estabilidad del color de estas moléculas está restringida por varios factores como la temperatura, pH, actividad acuosa y la luz, por ello son necesario procedimientos adecuados de extracción, una de las técnicas que en la actualidad tiene gran auge son los pulsos eléctricos de alto voltaje (PEAV), esta tecnología consiste en la aplicación intermitente de campos eléctricos de alta intensidad (1-50 KV/cm) y corta duración (microsegundos) sin aumentar la temperatura del producto, por lo que no ocasiona alteraciones en las propiedades sensoriales y nutricionales. Por lo anterior el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la extracción de pigmentos y compuestos antioxidante de nueve tunas rojas.

El estudio se realizó en epicarpio-mesocarpio (cascara) y endocarpio (pulpa) de las tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón', con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV, se tuvieron 36 tratamientos. Las variables evaluadas fueron; pérdida de peso, jugos liberados, pH, sólidos solubles totales, color de los extractos, estabilidad de los extractos a diferentes pH (3-7) y temperaturas (40°C-100°C), betalaínas totales (betacianinas y betaxantinas), fenoles totales y actividad antioxidante para el radical ABTS y DPPH. El mayor efecto de la aplicación de PEAV en la pérdida de peso y liberación de jugos en

epicarpio-mesocarpio y endocarpio se observó en las tunas 'rojas Cacalote', 'Sandía' y 'Tapón Aguanoso', la aplicación de PEAV no mostró ningún efecto en el pH de las tunas rojas analizadas y la liberación de sólidos solubles totales se ve favorecida con la aplicación de PEAV. Respecto al color de los extractos se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en el epicarpio-mesocarpio y endocarpio de las tunas 'Orejón' (-0.18 a -3.74) y 'Sandía' (-0.87 a -5.34), los valores de  $b^*$  fueron negativos (tonalidades azules). Los extractos mostraron mejor estabilidad a pH de 6, para epicarpio-mesocarpio y endocarpio para las nueve tunas rojas evaluadas, y los valores menores de la diferencia de color ( $\Delta E$ ) fueron para tuna 'Orejón' (0.67 a 1.22), 'Sangre de Toro' (1.38) y 'Cacalote' (2.07), la aplicación de PEAV no mostró efecto en la estabilidad a diferentes pH (3 a 7). Sin embargo, si favoreció la estabilidad de los extractos a diferentes temperaturas (40°C a 100°C), y los que presentaron mejor estabilidad fueron los extractos de epicarpio-mesocarpio y endocarpio de tunas 'Tapón Aguanoso' (9.26 a 10.28) y 'Sangre de Toro' (10.64 a 11.15). Se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en endocarpio-mesocarpio y endocarpio de las tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' respecto a betalaínas y fenoles. El mayor efecto de la aplicación de PEAV se observó en epicarpio-mesocarpio de las tunas 'Burra la Cruz' (3.97 mg) y 'Tapón Aguanoso' (3.34 mg) y para endocarpio en las tunas 'Tapón Aguanoso' (3.97 mg) y 'Orejón' (3.15 mg). Respecto a fenoles el mejor efecto de la aplicación de PEAV se observó en el epicarpio-mesocarpio de las tunas 'Rojo Pelón' (798.61 mg EAG/100g) y 'Rojo Insurgentes' (532.57 mg EAG/100g) y para endocarpio en las tunas 'Sandía' (895.41 mg EAG/100g) y 'Rojo Insurgentes' (292.00 mg EAG/100g). Y los extractos que mostraron mayor actividad antioxidante tanto para el radical ABTS como DPPH fueron los de las tunas rojas 'Sangre de Toro', 'Sandía' y 'Orejón'. En general la aplicación de PEAV favoreció la liberación de pigmentos (betalaínas y fenoles) lo que conlleva a un aumento en la actividad antioxidante.

## ABSTRACT

Mexico is considered the center of origin and dispersal of the genus *Opuntia*, the prickly pear is a berry that varies in shape, size and color. The choice of colors that has the fruit due to the presence of carotenoids, phenols and betalains, latter are soluble molecules with nitrogen in its structure which are synthesized from the amino acid tyrosine. Betalains are subdivided into two groups: the betacyanins which are formed by the condensation of a cyclohexane structure DOPA (dihydroxyphenylalanine) with acid and these provide betalamic red hues, and betaxanthins that are synthesized from various amino compounds and betalamic acid which provide for yellowing. Betalains phytochemicals are acknowledged as due to its high antioxidant activity, yet the color stability of these molecules is restricted by several factors such as temperature, pH, water activity and light. As merit suitable extraction procedures, one of the techniques that currently has boom are the high voltage electrical pulses (HVEP), this technology is the intermittent application of high intensity electric fields (1-50 kV/cm) and short duration (microseconds) without increasing the temperature of the product, so it does not cause disturbances in the sensory and nutritional properties. So the purpose of this research was to evaluate the effect of the application of high voltage electrical pulses in the extraction of pigments and antioxidant compounds of nine red prickly pear.

The study was conducted in epicarp-mesocarp (husk) and endocarp (pulp) of red prickly pear 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejon', 'Burra la Cruz', 'Sandia', 'Cacalote', 'Tapon Aguanoso', 'Sangre de Toro' and 'Rojo Pelon' with application of HVEP and HVEP application without resulting in a total of 36 treatments. The variables evaluated were weight loss, juices released, pH, total soluble solids, color extracts, extracts stability at different pH (3-7) and temperatures (40 °C-100 °C), total betalains (betacyanins and betaxanthins), total phenols and antioxidant activity for ABTS and DPPH radical. The greatest effect of the application of HVEP in weight loss and release juices epicarp-mesocarp and endocarp was observed in the red prickly pear 'Cacalote', 'Sandia' and 'Tapon Aguanoso', application of

HVEP showed no effect on the pH of the red prickly pear analyzed and release of total soluble solids is enhanced with the application of HVEP. Regarding the color of the extracts significant differences ( $P \leq 0.05$ ) in the epicarp-mesocarp and endocarp of 'Orejon' (-0.18 to -3.74) and 'Sandia' (-0.87 to -5.34) were observed prickly pear as  $b^*$  values are negative corresponding to blue hues. The extracts showed better stability at pH 6 for both epicarp-mesocarp and endocarp for the nine red prickly pear evaluated, and lower values were 'Orejon'  $\Delta E$  (0.67), 'Sangre de Tor'o' (1.38) and 'Cacalote' (2.07), the HVEP application showed no effect on stability at different pH (3 to 7). If, however, favored the stability of the extracts at different temperatures (40 °C to 100 °C), and those with better stability were extracts from epicarp-mesocarp and endocarp of red prickly pear 'Tapon Aguanoso' (9.26 to 10.28) and 'Sangre de Toro' (10.64 to 11.15). Significant differences ( $P \leq 0.05$ ) in endocarp-mesocarp and endocarp of prickly pear 'Cardona', Rojo Insurgentes, Orejon, Burra la Cruz, Sandia, Cacalote, Tapon Aguanoso, 'Sangre de Toro' and 'Rojo Pelon' regarding betalains and phenols were observed. The greatest effect of the application of HVEP was observed in exocarp-mesocarp of the red prickly pear 'Burra la Cruz' (3.97 mg) and 'Tapón Aguanoso' (3.34 mg) and endocarp in prickly pear 'Tapon Aguanosos' (3.97 mg) and 'Orejon' (3.15 mg). Regarding phenols best effect of applying HVEP epicarp-mesocarp prickly pear 'Rojo Pelon' (798.61 mg GAE/100g) and 'Rojo Insurgentes' (532.57 mg GAE/100g) and the endocarp was observed in the prickly pear 'Sandia' (895.41 mg GAE/100g) and 'Rojo Insurgentes' (292.00 mg GAE/100g). And the extracts showed higher antioxidant activity for both ABTS and DPPH radical were the red prickly pear 'Sangre de Toro', 'Sandia' and 'Orejon'. Generally HVEP application promotes release of pigments (betalains and phenols) which leads to an increased antioxidant activity.



## I. INTRODUCCIÓN

El género *Opuntia* es originario de América tropical y subtropical. Pero, hoy día se encuentra en una gran variedad de condiciones edafo-climáticas, en forma silvestre o cultivada en todo el continente americano. Además, se ha difundido a África, Asia, Europa y Oceanía. Uno de sus mayores atractivos es su anatomía y morfología adaptada a condiciones de fuerte estrés ambiental, por lo que son una alternativa de cultivo para regiones donde por la escasez de agua difícilmente prosperan otras especies (Sáenz, 2006). Aproximadamente, se conocen 300 especies del género *Opuntia*. Sin embargo, hasta ahora hay solo 12 especies utilizadas por el hombre, ya sea para producción de fruta o verdura, útil para la alimentación humana, forraje para la alimentación de ganado, y cochinilla, para la obtención de colorante (Sáenz, 2006). Las especies cultivadas para la obtención de fruta son: *Opuntia ficus-indica*, *O. amyclaea*, *O. xocconostle*, *O. megacanthay* *O. streptacantha*. Las especies silvestres son: *Opuntia hyptiacantha*, *O. leucotrichay* *O. robusta*. De las especies citadas, la más ampliamente cultivada en distintas partes del mundo es *Opuntia ficus-indica* (Zavaleta *et al.*, 2001). En cuanto a la producción de tuna, México es el mayor productor del mundo con 57,692.55 ha cultivadas, obteniendo una producción de 352,374.15 toneladas al año. La gran superficie cubierta con nopales, tanto silvestres como cultivados, y su distribución en diferentes zonas, indica que existe un interesante espacio para el desarrollo de nuevas alternativas para su uso (SAGARPA, 2012). A pesar de la gran diversidad de productos que se obtienen de la tuna, aún sigue siendo bajo el porcentaje del cultivo que se destina a la industrialización. Los alimentos obtenidos en base al fruto son: mermeladas, jugos néctares; productos deshidratados, jugos concentrados, jarabes y licores (Sáenz, 2006). Además, en estas plantas existen valiosos y atractivos compuestos funcionales que pueden ser extraídos y utilizados para formular y/o fortificar nuevos alimentos.

Para formar parte de la cada vez más cotizada gama de aditivos naturales (gomas, colorantes), para la industria alimentaria; para formular suplementos alimenticios ricos en fibra o con fines de control de la diabetes o de la obesidad, entre otros (Sáenz, 2006). Los procesos extractivos requieren la aplicación de tratamientos térmicos, enzimáticos o incluso el uso de fuerzas mecánicas para provocar la desintegración celular y facilitar la transferencia de masa. Los elevados costos energéticos de algunas de estas técnicas, sumados a los efectos negativos sobre las características organolépticas y nutritivas del alimento (Kazazi *et al.*, 2007), han provocado la búsqueda de nuevas tecnologías, menos agresivas con el producto y que permitan reducir los costos de producción. Una de las técnicas con mayor proyección son los pulsos eléctricos de alto voltaje (Jemai y Vorobiev, 2007). Por lo anterior, el propósito de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la extracción de pigmentos y capacidad antioxidante de diferentes genotipos de tunas rojas, para su posterior utilización en la industria alimentaria.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 *Opuntia*

La familia a la que pertenecen el nopal es la *Cactaceae* y es endémica del continente americano, incluye unas 1,800 especies que se encuentran distribuidas de los 59° de latitud Norte (norte de Canadá) hasta los 52° de latitud Sur (La Patagonia, Argentina), del nivel del mar hasta los 5,100 msnm en Perú. Forma parte importante de la vegetación de las zonas áridas y semiáridas, también se les encuentra en las zonas subtropicales y tropicales húmedas (Bravo y Sánchez, 1995; ASERCA, 1999). México, por sus peculiares condiciones de latitud, topografía y clima, es el país que alberga la mayor variabilidad fitogenética de estas especies (Scheinvar, 1988). La morfología de las plantas lleva diversos caracteres que proporcionan indicios de las condiciones del medio en que viven. Las *Opuntias* son plantas xerófilas suculentas muy tolerantes a la sequía. Su forma y estructura son el resultado de la adaptación a los desiertos en donde la lluvia es escasa y el clima es extremo (Bravo, 1978).

#### 2.1.1 Antecedentes históricos de *Opuntias*

En la vida económica, social y religiosa de las culturas prehispánicas, los nopales desempeñaron un papel importante a tal grado que el jeroglífico de la gran Tenochtitlán ostentaba airesamente un nopal, símbolo que conserva el escudo de México (Bravo, 1978). Dentro de la nomenclatura que usaron para designarlas había dos grupos bien definidos: el de los nochtli, integrado por las especies de tallos articulados, discoides y aplanados, y el de los comitl, que incluía los cactus provistos de tallos esferoidales. Los nochtli, llamados también nopalli, que comprendían diversas especies que se distinguían normalmente añadiendo al radical nochtli, uno o varios términos que precisaban sus cualidades, con el

nombre de nopal-nocheztli eran conocidos los nopales. Las plantas de este grupo son las que actualmente están incluidas en los géneros *Opuntia* subgénero *Opuntia* y *Nopalea* (ASERCA, 1999).

Las especies de *Opuntia* tuvieron gran importancia tanto por los productos alimenticios que se obtenían de ellas como por sus cualidades medicinales (Sáenz, 2006). Las *Opuntias* determinaron en muchos casos la formación de núcleos de población humana, distintas etnias errantes concurrían en la época de fructificación a las zonas habitadas por estas plantas y terminaban por fijar su residencia (ASERCA, 1999). La extensión de las regiones áridas y semiáridas de nuestro país es muy amplia, pues ocupan más del 60% de su área total. Estas regiones son: sonorenses, chihuahuenses, tamaulipeca, hidalguense, poblana, guerrerense, tehuantepeca, zacatecana y además, otras dos regiones pequeñas la veracruzana y la yucateca, con clima semiárido que son notables por estar rodeadas por regiones muy húmedas (Bravo, 1978).

### 2.1.2 Morfología del nopal y su fruto

El nopal es una planta suculenta cuyas partes basales se vuelven leñosas, su tallo presenta forma de raquetas encadenadas (cladodios), generalmente los cladodios son útiles para diferenciar las especies de *Opuntias*, distinguiéndose por el tamaño y forma de los mismos. Alcanzan generalmente los tipos de crecimiento: rastrero, arbustivo o arborecente. En cuanto a los cladodios, algunos son gruesos, otros delgados, unos cubiertos de espinas, otros con espinas escasas y pequeñas, unos redondos, otros obovados u oblongos, unos de tamaño enorme y otros muy pequeños (Bravo y Sánchez, 1995). Scheinvar (1985), los divide en especies con epidermis glabra o pubescente y frutos dulces, de paredes delgadas, o ácidos, de paredes gruesas, (tunas o xoconostles respectivamente). El fruto de cactáceas consta de tres estructuras, que son epicarpio, mesocarpio y endocarpio. Estas tres estructuras son delgadas y no están diferenciadas en la tuna, mientras que el xoconostle, el epicarpio corresponde a la "cascara" y los tejidos restantes, mesocarpio y endocarpio, reciben el nombre de "pulpa". Estos varían en el grosor y color, dependiendo de la especie y el tipo. Esta es la parte que se utiliza del

fruto, finalmente en el centro se encuentran las semillas unidas y compactadas firmemente por un componente mucilaginoso, menos ácido, es lo que ha dado lugar al nombre de tuna ácida o xoconostle (Olivares *et al.*, 2003). El fruto es complejo, pues en su estructura intervienen no solo el ovario sino también los órganos en que está incluido el pericarpelo (tallo modificado), que corresponde a la parte inferior de la flor que envuelve el ovario y posee areolas con escama basal (gloquidas) y que después de la fecundación, se transforma en las paredes del fruto. Las flores son amarillo-anaranjadas o rosas, con el extremo blanco o por fuera amarillas y por dentro del mismo color del fruto, o bien amarillas por fuera y blancas con escarlata, o también amarillas por dentro (Bravo, 1978). Los frutos presentan forma ovoide, globosa o elipsoide, varían de tamaño y color. Su morfología depende del grado de desarrollo o reducción del pericarpelo, como son: los podarios, las escamas y las aréolas, con su producción o no de lana, cerdas o espinas. La reducción de estas estructuras parece estar ligada a la evolución de las especies y así aquellos adaptados a regiones xerófitas tienen frutos con areolas numerosas, provistas de abundante lana y espinas, en tanto que las especies domesticadas, con disponibilidad de agua y sombra, producen frutos en donde las espinas han desaparecido parcialmente presentándose solo en ocasiones, por atavismo una o dos espinas diminutas. El fruto está unido al cladodio sin pedúnculo; cuando madura sus paredes engruesan y la cáscara se vuelve colorida adquiriendo diversos matices del amarillo, anaranjado, rojo o púrpura (Bravo, 1978). La cáscara de los frutos de los nopales está formada por una pared delgada y en los xoconostles es gruesa. La superficie es opaca o lustrosa, cuando está recubierta de cera y provista de pequeñas areolas dispuestas en series espiraladas, las cuales por lo general tienen espinas y glóquidas (ahuates). La pulpa es jugosa o seca y está formada por los funículos largos y esponjosos de las semillas, que en las tunas contienen jugos azucarados y en los xoconostles es seco, de diferentes colores y gran variedad de tonalidades (Bravo, 1978). La maduración de las diferentes especies de tuna dulce se da en los meses de junio a septiembre, extendiendo hasta fines de octubre. Miden de 4 a 12 cm de longitud y tienen un peso promedio de 30 a 180 g según la especie. El fruto

presenta una cantidad considerable de semillas, que varía según las especies, aproximadamente 3000 o más en un solo fruto. Cuando la tuna madura queda adherida al cladodio, unos 2 o 3 meses; puede abrirse cuando se pudre o seca, dejando escapar las semillas. Los tejidos del fruto se convierten en una masa en descomposición. Su caída al suelo a veces se debe al fuerte viento, el golpeteo de la lluvia, granizo o la acción de los animales.

### **2.1.3 Composición química**

El agua constituye el principal componente químico de las cactáceas. Su contenido varía mucho entre los frutos de diversos géneros, y en cada especie varía en relación a la humedad del suelo, a la disponibilidad del agua y las características genéticas de cada especie o variedad (Sáenz, 2006). La composición de las cenizas es muy variable, no solo entre las distintas especies, sino también dentro de una misma, ya que depende en gran parte de la composición química del suelo y de los complicados fenómenos de la disponibilidad de minerales para la planta, como son: los relacionados con la acidez, salinidad, conductividad, grado de disociación o ionización, humedad y textura en los suelos. Los componentes principales son: calcio y potasio, encontrándose también algo de magnesio, sílice, sodio y pequeñas cantidades de hierro, aluminio y manganeso, predominando en forma de carbonatos, aunque también se encuentran como cloruros, sulfatos y en pequeñas cantidades de fosfatos (Bravo, 1978). Los principales carbohidratos son monosacáridos, disacáridos y polisacáridos. La cantidad de sales minerales que tiene el fruto, unido a que cuando madura, los funículos de los ovarios se llenan de azúcares, así como otras sustancias nutritivas como potasio, calcio, oxalato, vitamina A y vitamina C, es lo que contribuye para la pulpa sea comestible. Esto le da una enorme importancia a su valor alimenticio, siendo muy apreciada, como fruta de mesa; además, posee en el mucílago sustancias pépticas, ácidos orgánicos y pigmentos los cuales son utilizados con diferentes fines (Sáenz, 2006). La consistencia suave de los frutos maduros, se debe a la desintegración del ácido péptico, contenido en sus membranas, y de otras sustancias pépticas contenidas

en el jugo, al transformarse en pectinas. Las pectinas poseen un valor muy grande para la manufactura de jaleas y otros dulces. Como su contenido en los frutos de cactáceas es muy alto, se pueden comercializar para la preparación de diversos dulces y jaleas, preparados con las pectinas extraídas de las tunas. Paredes *et al.*, (1973), evaluaron el valor nutritivo del jugo de tuna enlatado y reportaron que es comparable con los jugos de otras frutas tropicales, en el estudio químico sobre el jugo de tuna encontraron que el contenido de vitamina "C", parece ser mayor que en algunos otros frutos como la pera, plátano, naranja, durazno y mango, el contenido de calcio, cenizas, fibras, también resulta mayor en las tunas que en otros frutos, pero tiene un nivel muy bajo en carotenoides y la composición química de la tuna varía según el tipo de tuna y la época del año, grado de humedad y la edad del tallo.

#### **2.1.4 Propiedades funcionales**

Algunas aplicaciones probadas científicamente de los frutos de *Opuntias* son, el tratamiento de la gastritis, aterosclerosis, diabetes e hipertrofia prostática, disminuye el nivel de estrés oxidativo, la circulación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y triglicéridos (Fрати *et al.*,1990; Herwood, 1990; Palevitch *et al.*,1993; Stintzing, *et al.*, 2005; Tesoriere *et al.*, 2004). Se utiliza también en tratamientos patológicos severos como dolor reumático, fragilidad capilar, vejez del hígado y úlceras (Muñoz *et al.*, 1995 y Domínguez *et al.*, 2002).

El jugo de tunas extingue en gran manera el ardor de la fiebre, apaga la sed y la pulpa corrige algunos malestares estomacales. Las tunas proporcionan alimento, refrescan y producen el mucílago (baba) que modera el calor de los riñones y orina (Villareal, 1963).

### 2.1.5 Pigmentos presentes en *Opuntias*

La clorofila es el principal pigmento de las cactáceas, se encuentra concentrado debajo de la epidermis de los tallos o de las hojas cuando éstas existen. No se encuentra libremente disuelta en el jugo celular, sino que se halla contenida en los cloroplastos. Como es sabido la clorofila desempeña la importantísima función de absorber la energía lumínica y transformarla en energía química necesaria para la vida de la planta (Bravo, 1978). El  $\beta$ -caroteno es el principal constituyente carotenoide de las hojas y tallos de las cactáceas pues se encuentra junto con la clorofila en el cloroplasto. El  $\beta$ -caroteno es además importante como precursor de la vitamina A (Bravo, 1978). Muchas especies de la familia cactácea sufren un cambio de coloración en el invierno, en forma semejante al cambio de coloración que sufren las hojas de los árboles y arbustos caducifolios en el otoño, en las cactáceas conforme se acentúa el periodo de sequía, que generalmente coincide con el invierno, se retarda la producción de clorofila y aumentan las cantidades de carotenoides y xantofílicos produciendo la coloración rojiza purpúrea de los tallos que es muy notable en ciertas especies de *Opuntia*, este cambio se debe a la baja temperatura (Bravo, 1978).

El color característico de sus frutos se debe a las betalaínas; pigmentos naturales hidrosolubles, con nitrógeno en su estructura que se sintetizan a partir del aminoácido tirosina. Las betalaínas se dividen en dos grupos: betacianinas que brindan tonalidades rojas y se forman por la condensación de una estructura ciclo-DOPA (dihidroxifenilalanina) con el ácido betalámico; y las betaxantinas, que proporcionan coloraciones amarillas y se sintetizan a partir de diferentes compuestos amino y el ácido betalámico (Gardía *et al.*, 2010; Stracket *et al.*, 2003). Además de dar coloración a los frutos y poseer actividad antioxidante, las betalaínas son reconocidas por otras importantes actividades biológicas, tales como, la inducción de la quinona reductasa, potente enzima de detoxificación en la quimio-prevención del cáncer (Azevedo, 2009), y su actividad antiproliferativa de células de melanoma maligno (Wu *et al.*, 2006).



Los frutos que contienen betalaínas también poseen fenoles de diferentes tipos (Wu *et al.*, 2006). En algunas especies, el contenido de fenoles es mayor que el de betalaínas, y en otras, es lo contrario. En varias especies del género *Opuntia*, los valores de fenoles solubles totales fueron mayores que los de betalaínas (Cayupán *et al.*, 2011).

En la familia *Cactaceae*, la betalaína que se encuentra en mayor cantidad es la betacianína. Asimismo, se ha detectado la presencia de filocactina, que se encuentra en menor cantidad (Ramos, 1983). Con respecto a las betaxantinas (pigmentos amarillos) se tienen pocos datos, ya que han sido poco estudiadas, debido principalmente a que son más difíciles de aislar, pero se tienen indicios de que son mucho más termolábiles que las betacianinas (Rodríguez, 1985). La primera betaxantina aislada y caracterizada fue la indicaxantina, a partir de los frutos del cactus *Opuntia ficus-indica* (Piatelli y Imperato, 1969).

A la fecha existen estudios relacionados con la tuna (*Opuntia ficus-indica*), donde se ha analizado la actividad antioxidante de la misma, así como el extracto del fruto y las propiedades de las betalaínas (betaninas e indicaxantinas), esto en tres especies de *Opuntia ficus-indica* de fruto amarillo, rojo y blanco, con la combinación de 2 pigmentos de betalaínas purpura-rojo (betanina) y amarillo-naranja (indicaxantina). La distribución de la betalaína en los tres especies y la actividad antioxidante de los extractos metanolicos de la pulpa y la cantidad de vitamina C (Butera, 2002). Otro estudio evaluó la viabilidad de las betalaínas como fuentes dietarias en humanos (Tesoriere *et al.*, 2004). Coskuner *et al.*, (2000), investigaron sobre los efectos del pH y temperatura sobre la termo estabilidad de los pigmentos amarillo-naranja de tuna (*Opuntia ficus-indica*), donde encontró que la estabilidad del color de los pigmentos está en función de la temperatura y pH (en tres diferentes temperaturas 50, 70, 90°C y con soluciones de pigmentos de pH (2-7).

## 2.2 Colorantes

La calidad de un alimento, sin tomar en cuenta los aspectos sanitarios, toxicológicos y nutricionales, se basa en los parámetros de color, olor, sabor y textura (Badui, 2006). El uso de colorantes data desde épocas muy antiguas, el arte de elaborar dulces coloreados se observa en las tumbas egipcias, el uso de colorantes artificiales en el vino data del año 1500 a.C. Hasta la mitad del siglo XIX, los colorantes usados en alimentos eran de origen natural, provenientes de plantas, minerales y animales. Lo anterior, cambió con el descubrimiento del primer colorante sintético, por William Henry Perkin (1856), al final del siglo XIX, más de 700 colorantes sintéticos estaban disponibles para su uso en alimentos en los Estados Unidos (Macdouglass, 2002). En la práctica es normal agregar colorantes a los alimentos, con el objeto de resaltar, homogenizar o cambiar el color, esto, para hacerlos más atractivos al consumidor. Es decir, para los consumidores, el color en un alimento es una de las características más atractivas, porque predetermina ciertas expectativas de sabor (Badui, 2006). Los colores de los alimentos se deben a diferentes compuestos, principalmente orgánicos, algunos de los cuales se producen durante su manejo y/o procesamiento, debido a las reacciones de Maillard y a los pigmentos sintetizados o modificados en los procesos de fermentación. Sin embargo, la mayoría de los alimentos deben su color a las sustancias pigmentantes que contienen o que se le añaden durante el proceso de elaboración (Francis, 1986). Generalmente para definir los colorantes de alimentos se hacen uso de dos clasificaciones: la primera basada en su origen y la segunda basada en su estructura química. La clasificación de los colorantes alimenticios basados en su estructura química no está del todo clara. Demann (1980), establece tres clasificaciones químicas para los colorantes naturales: derivados de isoprenoides, derivados de tetrapiroles y derivados de benzopiranos. En relación a su origen los colorantes son definidos como: naturales, idénticos a los naturales y sintéticos. Una de las mejores definiciones para un colorante natural es esta: producto que se sintetiza, acumula o excreta de una célula viviente. Un colorante idéntico al natural es aquel producto de una síntesis química que iguala la estructura química de un colorante

encontrado en la naturaleza. Un colorante sintético es aquel que es químicamente sintetizado y no se encuentra en la naturaleza (Delgado *et al.*, 2000). Según la FDA (Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos), un aditivo es un material que se añade de manera intencionada, por lo general en pequeñas cantidades, a otras sustancia para mejorar su apariencia, sabor, color o estabilidad. De acuerdo con la misma agencia, un pigmento es cualquier material que importe color a otra sustancia, obtenida por síntesis o artificio similar, extraída o derivada con o sin intermediarios, a partir de un vegetal, animal, mineral u otra fuente y que cuando es añadida o aplicada a alimentos, medicamentos o cosméticos, es capaz de impartir color por sí misma (Vaca y Santana, 1999). Los pigmentos sintéticos presentan ventajas significativas las cuales son: firmeza de color, amplio intervalo de tintes, bajos costos, alta efectividad, homogeneidad entre lotes y no presenta aromas o sabores. Los pigmentos sintéticos requieren de una certificación, incluyen sustancias químicas sintetizadas con altos grados de pureza y los principales son: azoicos (31.5% de ventas mundiales): su estructura es de monodiotriazo. Producen casi todos los colores, se caracterizan por tener un grupo cromóforo  $-N=N-$ , los de más ventas son los amarillos 5 y 6, los rojos 2, 4 y 40, y el naranja B y antraquinonas (21.6% de ventas mundiales): su estructura es uno o más grupos carboxilo, en un sistema de anillos conjugados, tienen al menos tres anillos condensados.

Debido a la preocupación por la seguridad en el uso de pigmentos, estos se han estudiado exhaustivamente respecto a su efecto en la salud. Aunque a la mayoría se les han atribuido daños en el comportamiento conductual de los niños, este hecho no se ha comprobado, pero aún queda duda sobre su posible participación en otras alteraciones en la salud. Por esto se ha reducido cada vez más su uso en alimentos, aunque los aspectos de legislación varían ampliamente entre bloques comerciales y países dentro de cada bloque (Badui, 2006).

En Europa y Japón, la demanda de pigmentos sintéticos ha disminuido, aunque en el resto del mundo ha aumentado (2 a 3% al año). En general, en alimentos solo se aceptan nueve pigmentos sintéticos, con severas restricciones en su uso (Marmion, 1982; Vaca y Santana, 1999; EFI, 2005). Tartracina: Autorizado para utilizarlo en más de setenta países, incluidos Estados Unidos y la Unión Europea. Es ampliamente utilizado en repostería, galletas, productos cárnicos, sopas instantáneas, vegetales en conserva, helados, caramelos, bebidas no alcohólicas y como adulterante en platillos como la paella, en lugar de azafrán. Puede producir alergia en el 10% de los consumidores. Amarillo anaranjado: Se utiliza para bebidas no alcohólicas, helados, caramelos, botanas y postres, entre otros. En la Unión Europea no se autoriza en conservas. Azorrubina: No autorizado en Estados Unidos, pero si en Europa; se emplea principalmente en caramelos. Rojo ponceau: Se emplea para producir el color fresa de caramelos y productos de repostería, así como en productos cárnicos en lugar del pimentón. Negro brillante: No se autoriza su uso en Estados Unidos, Canadá, ni Japón, pero si en Europa, en donde se emplea para productos de imitación de caviar. Amarillo de quinoleína: No se autoriza en Estados Unidos, Canadá y Japón, pero si en la Unión Europea, para su uso en bebidas de naranja, bebidas alcohólicas, repostería, conservas vegetales, helados y productos cárnicos, entre otros. Eritrosina: Muy usada en productos lácteos con sabor a fresa, en mermeladas, caramelos y productos cárnicos. Debido a su alto contenido de yodo, puede ser nocivo por su acción sobre la tiroides, por lo que en Europa no está autorizado para alimentos dirigidos a niños. Indigotina: Autorizada en todo el mundo, se emplea en bebidas no alcohólicas, caramelos, confitería y helados. Azul V: Se utiliza en conservas vegetales, mermeladas, repostería, caramelos y bebidas para lograr tonos verdes al combinarlo con colorantes amarillos. En el cuadro 1 se presentan los pigmentos autorizados en la Unión Europea para uso en alimentos. En el cuadro 2 se señalan las especificaciones para el uso de los pigmentos sintéticos en México, dictadas por la Secretaría de Salud.

**Cuadro 1. Pigmentos autorizados por la Unión Europea para uso en alimentos.**

Aluminio (sólo en superficies)	Eritrosina
Amaranto	Ester etílico del ácido B- apo-8'-carotenico
Amarillo de quinoleína	Extracto de pimentón
Amarillo ocaso FCF	Indigotina
Antocianinas	Licopeno
Azorrubina	Litorrubina
Azul V	Luteína
B- apo-8'-carotenal	Marrón FK
Bixino	Marrón HT
Cantaxantina	Negro brillante BN
Carbón vegetal	Oro (sólo para superficies)
Caramelo amónico	Óxidos e hidróxidos de hierro (sólo para superficies)
Caramelo natural	Plata (sólo para superficies)
Caramelo de sulfito cautico	Riboflavininas
Caramelo de sulfito amoniaco	Rojo alura AC
Carbonato de calcio( sólo para superficies)	Rojo remolacha
Carotenos	Rojo donceau 4R
Clorofilas y complejos cúpricos	Rojo 2G
Curcumina	Tartracina
Dióxido de titanio (sólo en superficies)	Verde S

Fuente: EFI(2005).

**Cuadro 2. Especificaciones para el uso de pigmentos sintéticos en México.**

<b>NOMBRE OFICIAL</b>	<b>CLASIFICACIÓN QUÍMICA</b>	<b>COLOR</b>	<b>USOS</b>
Rojo 3 eritrosina	Xantana	Rosa-azul	Salsas, bebidas carbonatadas, pan y cereales, emulsiones aceite/agua.
Rojo 40	Monoazo	Rojo-amarillo	Gelatinas, salsas, bebidas carbonatadas, bebidas en polvo, confitería, pan y cereales, emulsiones aceite/agua.
Amarillo 5 tartracina	Pirazolona	Verde-amarillo	Gelatinas, bebidas en polvo, bebidas carbonatadas, confitería, pan y cereales, emulsiones aceite/agua.
Azul 1	Trifenilmetano	Verde-azul	Bebidas carbonatadas, bebidas en polvo, confitería, pan y cereales, emulsiones aceite/agua.
Azul 5	Índigo	Azul intenso	Confitería, gelatinas, emulsiones aceite/agua.
Verde 3	Trifenilmetano	Verde-azul	Gelatinas, bebidas en polvo, bebidas carbonatadas, confitería, pan y cereales, emulsiones aceite/agua.
Naranja B	Pirazolona	Rojo-amarillo	Helados.

Fuente: SSM (2010).

Los pigmentos naturales, normalmente tienen un menor poder de tinción que los sintéticos y también son más sensibles a la luz, temperatura, pH y agentes reductores (Macdouglass, 2002). Están sujetos a las mismas pruebas de calidad y seguridad toxicológica que los sintéticos, pero la FDA y otras agencias no requieren que se certifique su pureza química, y por lo tanto, se refiere a ellos como aditivos de color no certificados (Cuadro 3). Sin embargo, algunos de estos pigmentos si están restringidos en su uso, en un nivel máximo permitido o en el uso en los animales y/o humanos (Marmion, 1982).

**Cuadro 3. Algunos pigmentos exentos de certificación por la FDA**

Aceite de endospermo de maíz (solo para alimentos de aves).
Aceite de zanahorias
Ácido cármico ( extracto de cochonilla)
Aceite de semilla de algodón degradado
Azafrán
Azul ultramarino (solo para alimentos animales)
$\beta$ - apo-8-carotenal
$\beta$ -caroteno
Betabel deshidratado
Cantaxantina
Color caramelo
Dióxido de titanio
Extracto de <i>anato</i> ( achiote)
Extracto de cascara de uva ( solo para bebidas)
Extracto de color uva (enocianina) (solo para alimentos, no bebidas)
Gluconato de ferroso (( solo para pigmentar aceitunas negras)
Glutamato de hierro
Harina de algas secas( solo para alimento de aves)
Harina de semilla de algodón parcialmente tostada
Jugo de frutas
Jugo de vegetales
Oleoresina turmerica
Oxido ferroso ( solo para alimento animal)
Paprika y Oleoresina de paprika
Riboflavina
<i>Tagetes erecta</i> (cempasúchil) extracto y harina ( solo para alimento animal)

Fuente: FDA (2010).

La Secretaria de Salud de México reporta que, aunque no requieren certificación, los pigmentos naturales deben de cumplir con las siguientes especificaciones químicas y toxicológicas: no deben tener más de 3 mg de arsénico/kg, no deben tener más de 10 mg de plomo/kg, máximo contenido de mercurio 1 mg/kg, en su

deseccación debe de haber menos de 0.2% de pérdida, sea analizable por espectrometría de absorción, sea analizable por cromatografía.

En México, los colorantes en alimentos están regulados por la Norma Oficial Mexicana NOM-119-SSA1-1994, “bienes y servicios, materias primas para alimentos, productos de perfumería y belleza, colorantes orgánicos naturales especificaciones sanitarias”. En esta norma, los colorantes naturales permitidos en alimentos se presentan en el cuadro 4. Los pigmentos naturales difieren ampliamente en su estructura química y en su origen. Aunque hay colores poco comunes, como el ácido carmínico, los más distribuidos en los alimentos pueden agruparse en seis categorías: carotenoides, clorofilas, pigmentos fenólicos (flavonoides, antocianinas y taninos), betalaínas, hemopigmentos y otros. Los cuatro primeros son de fuentes vegetales, aunque llegan a estar presentes en alimentos de origen animal, a los que ingresan a través de la dieta. La mayoría de los pigmentos vegetales se localizan en el protoplasma de las células, dentro de los organelos especializados llamados plástidos, que se observan al microscopio formando pequeñas placas o agujas de estructura cristalina. En algunos casos, cuando son solubles en agua, se encuentran disueltos en las vacuolas de las células. El quinto grupo solo se encuentra en productos de origen animal. En el sexto grupo se incluyen pigmentos que imparten color tanto a los tejidos vegetales como a los animales y son poco abundantes en la naturaleza.



**Cuadro 4. Colorantes naturales permitidos en alimentos por la Norma Oficial Mexicana NOM-119-SSA1-1994**

Aceite de zanahoria ( <i>Daucus carota</i> L.)
Achiote, annato (extracto de semillas de <i>Bixaorellana</i> )
Azafrán (estigmas de <i>Crocussativus</i> L.)
Beta-Apo-8'-Carotenal
Betabel Deshidratado
Beta-caroteno
Cantaxantina
Color caramelo
Clorofila
Cochinilla (Extracto de <i>Coccusacti</i> L. o carmín)
Cúrcuma (polvo y oleorresina del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L.)
Extracto de color de uva (uva Concord) (Antocianina)
Extracto de tegumento de uva (Enocianina)
Harina de semilla de algodón, cocida, tostada y parcialmente desgrasa
Jugos de frutas
Jugos de vegetales
Pimentón en polvo ( <i>Capsicum annum</i> L.)
Paprika
Oleorresina de pimentón
Riboflavina
Riboflavina-5-fosfato
Eserapocarotenoico
Xantófilas

Fuente: NOM-119-SSA1-1994

Es necesario indicar que la estructura química determina las propiedades de los pigmentos, que van más allá del color, aunque esta sea su característica evidente: la estabilidad durante el procesamiento y almacenamiento, su reactividad con otros compuestos químicos para determinar tanto el color como la durabilidad o cambio de este, su posible toxicidad; por lo que, es necesario en algunos casos certificarlos para que cumplan con las normas oficiales y su posible capacidad como micronutrientes son algunas de las características de los pigmentos.

## 2.2.1 Betalaínas

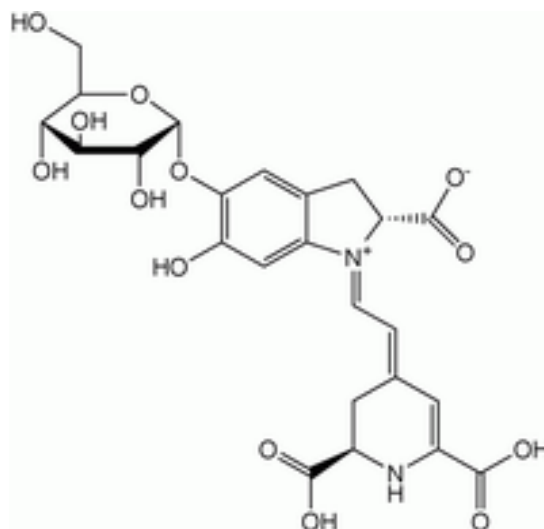
Las betalaínas han sido estudiadas entre 1960-1970 en Italia, Suiza, Estados Unidos y Alemania (Stintzing, *et al.*, 2005). Este término se refiere a un grupo aproximadamente de 70 pigmentos hidrosolubles, con estructuras de glucósidos, derivados de la 1, 7-diazoheptametina, y que se han dividido en dos grandes grupos: los rojos (betacianinas) y los amarillos (betaxantinas) (Francis, 1999).

Son parecidas a las antocianinas y flavonoides en apariencia visual, anteriormente se les llamaba antocianinas nitrogenadas. Estos pigmentos se encuentran en 10 familias vegetales: *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Basellanaceae*, *Cactaceae*, *Chenopodaceae*, *Didieraceae*, *Holophytaceae*, *Nyctaginaceae*, *Phytolaccaceae* y *Portulacaceae* (Piatelli y Imperato, 1969; Franco, 2004). También se han encontrado algunas betalaínas de origen fúngico. Las betalaínas, al igual que las antocianinas, se acumulan en las vacuolas de las hojas, flores y frutos que las sintetizan, principalmente en la epidermis y sub-epidermis (Badui, 2006).

### 2.2.1.1 Estructura

Las betacianinas (Figura 1) y betaxantinas (Figura 2) se diferencian por la sustitución del anillo 1,7-diazaheptametina protonado y el aglucón cromóforo (Jackman & Smit, 1996). Las betaxantinas (amarillas) no incluyen a los grupos R y R', en el sistema resonante del anillo cromóforo; si la resonancia se extiende a los grupos R y R', se produce el color rojo de las betacianinas. En las betaxantina, el anillo ciclo DOPA de la betacianina es desplazado por un grupo amino o por un aminoácido; por lo que puede haber más de 200 betalaínas (Badui, 2006).





**Figura 3. Betanína**

La betacianína más abundante es 5-O-B-glucosido de betanídina; los azúcares esterificados más importantes son la glucosa, soforosa y ramnosa (Azevedo, 2009). Puede ocurrir también la acilación, si el grupo acilo está esterificado al azúcar. Los grupos acilo pueden ser: ácido sulfúrico, malónico, cítrico, 3-hidroxi-3 metilglutámico, p-cumárico, ferrulico, caféico y sinapico (Wrolstand, 2000).

### 2.2.1.2 Estabilidad

La estabilidad de las betalainas es restringida, debido a que su color se altera por varios factores: pH, temperatura, actividad de agua y luz; no se ha logrado la estabilización de estos pigmentos a través de acilación o sustitución de la molécula, aunque su estabilidad puede aumentar si se añaden antioxidantes como ácido ascórbico, BHT y BHA (Lee *et al.*, 1982).

Las betaxantínas se degradan con mayor rapidez que las betacianínas, además que por su color amarillo en general se enmascaran por las betacianínas u otros compuestos presentes. Todas las reacciones se aceleran por acción catalítica de algunos metales principalmente el cobre (Huang y Von, 1986).

### 2.2.1.2.1 Efecto del pH

El color permanece inalterado en un intervalo de pH de 3 a 7, por debajo del pH 3, el color cambia a violeta, y su intensidad decrece. Arriba del pH 7, el color es más azulado debido a un efecto batocrónico. La mayor intensidad de la luz se absorbe a un pH 9 (Von y Goldman, 2000).

### 2.2.1.2.2 Efecto de la temperatura

La temperatura es el parámetro que mayor influencia tiene en la degradación del color, por lo que se ha puesto atención en el estudio del efecto de este parámetro. Encontrando que la degradación térmica de estos pigmentos sigue una cinética de reacción de primer orden y es dependiente del pH (Attoe y Von Elbe, 1985). La máxima termo-estabilidad del jugo de betabel se ha determinado a pH de 5.8. Los estudios también han demostrado que la betanína degradada puede ser parcialmente regenerada después de tratamiento térmico con la ayuda de ciertos aditivos (Huang y Von, 1987).

La degradación de las betalaínas como betanína y vulgaxantína I sigue una reacción de primer orden en un intervalo de pH 3 a 7 en ausencia de oxígeno. La betanína por otra parte, produce isobetanína e isobetanína descarboxilada cuando se calienta a un pH de 3 a 4; la fracción azúcar es muy sensible a la ruptura a altas temperaturas, así como a reacciones de oxidación lo que iniciara una polimerización que dará productos similares a las metaninas (Badui, 2006). Estudios de la estabilidad de las betalaínas obtenidas de especies de *Amaranthus* muestran que la degradación del colorante es 100 veces mayor a 100°C ( $t_{1/2} = 19$  min) que a 40°C ( $t_{1/2} = 2571$  min) (Cai *et al.*, 1998). La degradación de la betanína por efectos de la temperatura o pH, es iniciada por un ataque nucleofílico, por ejemplo de agua al carbono C11, que es el carbono adyacente al nitrógeno de la amina cuaternaria (Jackman y Smith, 1996).

### 2.2.1.2.3 Efecto de radiaciones

En relación a la baja estabilidad de las betalaínas a la luz, se debe a que la luz excita los electrones de los dobles enlaces, lo cual causa una alta reactividad (EA = 25 Kcal/mol-1 en oscuridad y 19.2 Kcal/mol-1 en iluminación). La estabilidad del pigmento en oscuridad ( $k = 0.007/\text{días}$ ) es al menos dos veces mayor que en condiciones de luz; el uso de radiación UV o gamma implica condiciones extremas y la degradación es aún mayor (Von Elbe, Maing y Amundson, 1974). Las antocianinas y las betalaínas son muy sensibles a la degradación iniciada por radiación de varios tipos; la degradación por fotooxidación depende del pH, y ocurre con más intensidad a pH de 3 que a 5 (Von Elbe y Goldman, 2000). La radiación gamma incrementa la velocidad de degradación de betanína, y se pierde totalmente a dosis de 100 Krad (Wybraniec *et al.*, 2001).

### 2.2.1.2.4 Efecto del oxígeno

La presencia de oxígeno afecta la velocidad de fotooxidación y de degradación por temperatura; los iones metálicos (hierro, cobre, estaño, aluminio) aceleran la oxidación en presencia del oxígeno (Attoe y Von Elbe, 1985). La presencia de ácido ascórbico o  $\alpha$ -tocoferol no protegen a las betalaínas de la oxidación; sin embargo, el ácido cítrico y EDTA si la reduce, posiblemente debido a la neutralización parcial del el efecto electrofílico del núcleo (Butera, 2002)..

### 2.2.1.2.5 Efecto de la actividad de agua

Las betalaínas son estables en productos deshidratados con una actividad de agua menor a 5. Los tocoferoles y la vitamina C solo funcionan como antioxidantes de las betalaínas a 1000 ppm, pero a esa concentración son pro-oxidantes que afectan al pigmento. La betanína se vuelve más inestable a medida que se aumenta la actividad de agua y el contenido de humedad en el alimento, por esta

razón, las betalaínas deberán almacenarse con la menor cantidad de agua posible y en las condiciones más secas (Von *et al.*, 1981). Igualmente en función de la actividad de agua, el oxígeno retenido puede causar modificaciones en la betanína (Saguy, 1979). Con una baja actividad de agua, las betalaínas muestran una alta estabilidad, esto debido al hecho de que las reacciones de degradación involucran agua. Las betalaínas de *Amaranthus* secado por aspersion tienen características similares a aquellas secadas por liofilización. Otro factor que afecta la estabilidad de las betalaínas es el oxígeno que causa oscurecimiento del producto y la pérdida de color (Cai *et al.*, 1998).

#### **2.2.1.2.6 Efecto de la acción enzimática**

Otro mecanismo de decoloración de la betacianína y de la betaxantina, particularmente en el betabel, es por acción enzimática que alcanza su máximo decoloración a un pH 3.4, aparentemente debido a la actividad de peroxidasa (Shih y Wiley, 1982).

#### **2.2.1.3 Betanína**

La betanína es el aglucón de la betanidína es el mayor componente del colorante obtenido del betabel, que es conocido comercialmente como rojo remolacha. Este colorante rojo es catalogado como colorante natural y está aprobado como aditivo en los Estados Unidos, en el título 21 del código de regulación federal (21 CFR 73.40) con el código 1600 y comercialmente está exento de certificación del lote. Lo mismo sucede en la Unión Europea donde es permitido para su uso en alimentos con el código E-162 (Delgado *et al.*, 2000). Este colorante consiste en el extracto acuoso de la raíz del betabel (*B. vulgaris*). El extracto es una mezcla compleja de la cual aún no se conocen todos sus componentes; se han puesto muchos esfuerzos en identificar y cuantificar los pigmentos responsables del color del betabel, encontrando que los pigmentos presentes son betalaínas,

específicamente dos betacianinas: la betanina e isobetanina (Fennema y Dekker, 1996).

A veces se deja fermentar el jugo del betabel para eliminar el azúcar presente, pero también se utiliza sin más modificación, simplemente secado. Aunque este colorante resiste bien las condiciones ácidas, se altera fácilmente con el calentamiento, especialmente en presencia de aire, pasando su color a marrón. Se absorbe poco en el tubo digestivo y la mayor parte del colorante absorbido se destruye en el organismo, aunque en un cierto porcentaje de las personas se elimina sin cambios (Francis, 1999).

En México se tienen establecidas algunas de las especificaciones que deben cumplir los colorantes orgánicos naturales (NOM-119-ssa1-1994) señalando para el colorante betanina, las siguientes características físicas y químicas: nombre químico: betanina 1-[2-(2,6 dicarboxi-1, 2, 3, 4-tetra hidroxil-4-piridilideno)-etilideno]-5-β-D-glucopiranosil-oxi-6-hidroxindolium-2-carboxilato, peso molecular: 550.48, descripción: líquido, pasta o polvo color rojo o rojo pardo, color rojo, soluble en agua, insoluble en alcohol absoluto, identificación en espectrofotometría, pH 5,4 máximo característico a 530 nm, pH 8,9 máximo impreciso a 535 nm, el 1% en 1cm de la betanina pura a 535 nm en agua 475-625. Strack *et al.*, (2003), indican que en las betacianinas se encuentran los subgrupos de betanina, pigmentos característicos de los frutos de la familia *Cactaceae*. Los derivados de 2'-apiosilpilocactina como la D-aposil-betanina en *Phytolacca americana*. Shliemann *et al.*, 1996, mencionan que en las brácteas de *Bougainvillea glabra*, se encuentran betacianinas con dos residuos de hidroxicinamoil. En el grupo de amarantina es un pigmento característico de la familia *Amaranthaceae* encontrado en *Celosia argentea var. Cristata*. Los nombres comunes de las betalainas son asignados en relación con la planta de la cual fueron primeramente extraídos. Por ejemplo, la amarantina-I fue extraída de *Amaranthus tricolor*, la portulaxantina extraída de pétalos de *Portulaca grandiflora*; la miraxantina extraída de flores de *Mirabilis jalapa*; la vulgaxantina y la betanina de la raíz de *Beta vulgaris* (Cai *et al.*, 1998; Cai *et al.*, 2003 y Herbach *et al.*, 2007).



## 2.2.2 Proceso de obtención

Los métodos para la separación u obtención de betalaínas toman ventaja de la variación de la solubilidad de las fracciones en un solvente en particular, como pueden ser las soluciones acuosas con solventes. Así mismo, la solubilidad depende de la temperatura; por lo que, en la extracción debe de ser controlada, es decir, el control de este parámetro es determinante para la extracción, debido a que los compuestos presentan propiedades termo-sensibles (Azevedo, 2009).

### 2.2.2.1 Extracción

La velocidad y eficiencia de la extracción es afectada por diversos factores, principalmente por aquellos que tienen relación directa con la solubilidad de las betalaínas. Los factores son los siguientes: temperatura, concentración del solvente, tamaño de las partículas, porosidad y agitación. Las propiedades que cada variable añade al proceso de extracción son diversas; por esto, es que el estudio de dichas variables es importante para determinar un proceso adecuado de extracción (UNC, 2000). Al aumentar la temperatura se aumenta la velocidad, porque la solubilidad es mayor. La temperatura máxima para cada sistema está limitada por el punto de ebullición del solvente, el punto de degradación del producto y la solubilidad de impurezas. La concentración del solvente es importante para las soluciones acuosas, debido a la saturación y a las reacciones químicas que se llevan a cabo, sin embargo es de poca importancia cuando la extracción es controlada por difusión (UNC, 2000). La reducción de partículas tiene gran importancia, porque aumenta el área de contacto y disminuye el tiempo necesario para la extracción, esto es importante para sólidos de baja porosidad. Por otra parte, la porosidad permite que el líquido penetre a través de los canales formados por los poros dentro del sólido, aumentando así el área activa para la extracción. Finalmente la agitación otorga una mayor eficiencia en la extracción debido a que disminuye la resistencia a la difusión, eliminando la película de fluido que cubre la superficie del sólido en reposo (UNC, 2000).

### **2.2.2.2 Lixiviación**

La lixiviación produce el desplazamiento de sustancias solubles o de alta dispersión, es un proceso en el cual ambas fases entran en contacto íntimo. El soluto o los solutos pueden difundirse desde el sólido a la fase líquida, lo que produce una separación de los componentes originales del soluto. Industrialmente la lixiviación se utiliza para preparar elixires, para ello se toma la materia prima, se pulveriza y se mezcla con el disolvente (etanol generalmente), se coloca un lixivador y se deja macerando el tiempo requerido. Dicho proceso es apto para la extracción de compuestos que dan sabor y aromas en los vegetales (SNMPE, 2005).

### **2.2.2.3 Maceración**

La maceración es un proceso de extracción sólido- líquido, donde la materia prima posee una serie de compuestos solubles en el líquido de extracción, que son los que se pretende extraer. El proceso de maceración genera dos productos que se pueden emplear dependiendo de las necesidades de usos: el sólido ausente de esencias o el propio extracto. La naturaleza de los compuestos extraídos depende de la materia prima empleada, así como del líquido de extracción (solvente). Existen dos métodos de maceración de acuerdo a la temperatura (Ferraroli's, 1975).

#### **2.2.2.3.1 Maceración en frío**

Consiste en sumergir el producto por macerar en un recipiente con la cantidad suficiente de solventes para cubrir totalmente lo que se desea macerar. Esto se lleva a cabo por un lapso de tiempo largo, dependiendo de la materia prima. Las ventajas de la maceración en frío consisten en la utilización de equipos simples, que requieren mínimas cantidades de energía, y en la capacidad de extraer la

mayoría de las propiedades de lo que se macera (dependiendo del solvente), prácticamente en su totalidad sin alterarla por efectos de la temperatura. Sin embargo, se necesitan periodos de tiempo mucho más extensos para lograr una extracción adecuada (Ferraroli's, 1975).

#### **2.2.2.3.2 Maceración con calor**

El proceso consiste en el contacto entre las fases: el producto a macerar y el solvente; con la diferencia de la variación de temperatura. En este caso, pueden variar las condiciones de la maceración. El tiempo que se desea macerar varía mucho de la maceración en frío, ya que al utilizar calor se acelera el proceso (Ferraroli's, 1975).

La desventaja de la maceración con calor es que no logra extraer totalmente pura la esencia del producto, ya que regularmente modifica algunas propiedades, es decir, muchas veces se trata de compuestos termolábiles que se ven afectados por la temperatura, además de que se requieren equipos más sofisticados que permitan el control de temperatura, sin mencionar el consumo energético que dicho proceso implica, no obstante los periodos de tiempo de extracción se reducen.

#### **2.2.2.4 Secado**

Un colorante concentrado en polvo es deseable por muchas razones, principalmente por su fácil manejo, transportación, almacenado, y especialmente, para su uso en productos alimenticios. En general los productos en polvo tienen un largo tiempo de vida útil cuando son empacados y manipulados apropiadamente (Vilarios *et al.*, 2002). La liofilización es considerada como el mejor método para el secado de pigmentos sensitivos, sin embargo, el secado por aspersión puede ser un método más práctico y económico para secar colorantes sensitivos, ya que este proceso es de 30 a 50 veces más económico que la

liofilización. Adicionalmente, el secado por aspersion es el método más usado e incluye la encapsulación del compuesto (Cai y Corke, 1999).

#### 2.2.2.4.1 Liofilización

Es un proceso de secado cuyo principio consiste en sublimar el hielo de un producto congelado. El agua del producto pasa directamente del estado sólido al estado de vapor, sin pasar por el estado líquido. La liofilización presenta una serie de ventajas frente a otras técnicas de secado, en particular, la estructura original del alimento se mantiene mejor, la textura es aceptable. Los productos liofilizados presentan una mayor calidad que los mismos productos deshidratados por otros métodos (Díaz *et al.*, 2003). La liofilización es un proceso caro, tanto en términos de inversión como en costo de operación y también en tiempo de proceso (Cai y Corke, 1999).

El proceso de liofilización se desarrolla en tres fases (Casp y Abril, 2003). 1. La fase de pre-congelación es la temperatura en la que el material está completamente sólido, que será inferior a 0°C; 2. La fase de sublimación es propiamente dicha, también llamada “deseccación primaria”, en la que se elimina alrededor del 90% del agua, lo que lleva al producto a una humedad del orden del 15%, se elimina el hielo libre y 3. La fase de “desecación” o “deseccación secundaria”, que elimina el 10% de agua ligada restante, con lo que se puede llegar hasta productos con una humedad del 2%. Esta fase consiste en una vaporización a vacío, a una temperatura positiva de 20 a 60°C. Como los constituyentes del material están congelados, permanecen inmovilizados durante la sublimación, la forma de la sustancia seca es prácticamente la misma que la de la congelada y se reduce o incluso se elimina la migración de sólidos hacia la superficie. Como el secado por liofilización tiene lugar a baja temperatura, se minimizan los daños por calor y se retienen los componentes volátiles (Vilarios *et al.*, 2002).

### 2.2.2.5 Encapsulación

La encapsulación consiste en atrapar a un ingrediente sensitivo en un material protector o pared protectora, cuya función es aislar al ingrediente del medio ambiente (Shahidi, 2009). La manera más simple de encapsulación es el emulsificar el ingrediente sensitivo, en una solución que contiene el material encapsulante, seguido de un proceso de secado en el cual el material o pared protectora atrapa el material a proteger en una matriz, la cual provee una barrera al oxígeno y vapor de agua. El material se puede secar y forma un polvo que puede variar en tamaño de partícula; se debe ser cuidadoso de que el material protector o encapsulante sea lo suficientemente grueso o denso para proveer una buena barrera contra el oxígeno (Vergara *et al.*, 2014). Los agentes protectores más usados son goma arábica, dextrosa, azúcar, almidones, gelatina, metil celulosa, y mezclas de estos, para el secado por aspersión de sabores y colorantes. Para el secado de extractos de betalaínas se reporta el uso de maltodextrina, con buenos resultados en la estabilidad al almacenado y retención de pigmento (Cai y Corke, 1999).

Cuando las betalaínas son purificadas y se encuentran en polvo, absorben humedad fácil y rápidamente con una alta higroscopicidad (115.4 g/100 g). Agregando agentes encapsulantes como pueden ser maltodextrinas se puede reducir significativamente la higroscopicidad (42.6 g/100 g) lo cual es benéfico a la hora de almacenar el colorante (Cai *et al.*, 2001).

### 2.2.3 Aplicaciones

Las betalaínas tienen una alta absorptividad molar y por esto sólo son necesarias pequeñas cantidades de pigmentos puros (<50 ppm calculado como betanína) para lograr el color deseado para otras aplicaciones; sin embargo, su estabilidad tienen limitaciones para su aplicación en alimentos (Delgado *et al.*, 2000). A pesar de lo anterior, las betalaínas han sido usadas como colorantes en alimentos al

menos desde el siglo XX, las primeras aplicaciones incluían su uso para mejorar color al vino tinto.

En la actualidad, debido a que existen restricciones de tipo legal en el uso de colorantes rojos sintéticos, se ha sugerido emplear a las betalaínas en diversos alimentos, sin embargo, por las limitaciones en su estabilidad su uso se restringe a alimentos como: gelatinas, bebidas y postres. Las betalaínas se obtienen en forma de concentrado deshidratado a partir de una extracción acuosa a pH ácido. La purificación de los pigmentos se logra por medio de ultrafiltración y de osmosis inversa. Incluso, debido a su potencial, se ha ensayado el cultivo de tejidos para producir betabeles con mayor contenido de betaninas (Ravichandran *et al.*, 2013).

Las betalaínas comerciales en el mundo están normalmente restringidas por las legislaciones a concentrados obtenidos de extractos de betabel o remolacha roja (*Beta vulgaris*). Pigmentos del betabel son comercializados como jugo concentrado, secados a vacío para un 60 a 65% de sólidos totales. La FDA clasifica estos como jugos vegetales, los cuales contiene de 0.3 a 1% de betalaínas, 70 a 80% de azúcar y 10% de proteína (Delgado *et al.*, 2000).

Varias plantas acumulan betalaínas, pero solo la del betabel (*Beta vulgaris*) y la tuna (*Opuntia ficus-indica*), son aprobadas para su uso en alimentos (Delgado, *et al.*, 2000). Alternativas para la obtención de pigmentos similares al rojo remolacha (extraído de betabel) han sido las betacianinas obtenidas del género *Amaranthus* denominada amarantina (Cai *et al.*, 1998), y de algunas especies de cactáceas como: *Myrtillocactus geometrizans* (Reynoso *et al.*, 1997), *Hyilocereus polyrhizus* (Slawomir y Mizrahi, 2002) o de *Opuntia ficus-indica* (Stintzing *et al.*, 2005). Además se han estudiado las betalaínas de muchas otras especies vegetales como las de la *Celosia argentea* (Cai *et al.*, 2001); las de *Christmas cactus* (Kobayashi *et al.*, 2000); de *Phytolacca americana* (Schliemann *et al.*, 1996); de *Gomphrena globosa* (Heuer *et al.*, 1994) de frutos de *Basella rubra* (Glässgen *et al.*, 1993).

La eficiencia del pigmento de betalaínas de amaranto y rábano rojo han sido comparados con el rojo FD&C No.3, en productos como gelatinas, helados y

bebidas; las características de color son similares que los productos de pigmentos naturales, pero son menores que la con pigmentos sintéticos. En muestras de gelatina, el almacenado produjo como se esperaba una vida útil a baja temperatura (4°C, 78% de retención después de 24 semanas) mayor que a una alta temperatura (14°C, 72%, 18 semanas). La vida útil se reduce a 1.3 semanas a 37°C. Durante el almacenado el color cambia de rojo-púrpura a rojo-naranja y a un amarillo ligero. Estos pigmentos naturales son menos estables que el rojo FD&C No.3 (90% de retención de color). En bebidas se ha observado una buena estabilidad a 4°C por 20 semanas, sin embargo a 25°C ocurren considerables cambios (Delgado *et al.*, 2000). La estabilidad entre el colorante de amaranto y rábano rojo son comparables, pero solo durante las 4 primeras semanas, después de eso, los pigmentos de rábano rojo son más estables. Sin embargo, los pigmentos de amaranto tienen una buena estabilidad de color a bajas temperaturas y pueden ser usados en productos en el rango de pH de 4 a 7 (Cai y Corke, 1999).

### **2.3 Fitoquímicos**

Los fitoquímicos son sustancias que se encuentran únicamente en los tejidos provenientes de plantas comestibles, son metabolitos secundarios, ya que no ejercen una función directa en las actividades fundamentales del organismo vegetal, como el crecimiento o la reproducción (Bonafine *et al.*, 2006), constituyen numerosos componentes químicos (Cuadro 5).

**Cuadro 5. Tres clases de fitoquímicos y sus principales componentes.**

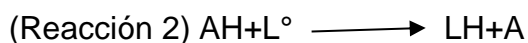
CLASE DE FITOQUÍMICOS	COMPONENTES
Terpenoides	Monoterpenoides, iridoides, sesquiterpenoides, sesquiterpenolactones, diterpenoides, Triterpenoide saponinas, esteroides saponinas, cardenolides, bufadienolides, fitoesteroles, cucurbitacines, nortriterpertenoides, triperpenoides, carotenoides, limonoides.
Metabolitos fenólicos	Anthocianinas, anthocloros, benzofuranos, choromones, coumarines, flavonoides, flavonones, flavonoles, isoflavonoides, ligananes, fenoles, ácido fenólico, fenoles cetonicos, fenil – propanoides, quinonoides, estilbenoides, taninas, xanthones.
Alcaloides y otros constituyentes nitrógeno-contenido	Amarillidacea, <b>betalaínas</b> , diterpenoide, indol, isoquinolina, lycopodium, monoterpeno, sesquiterpeno, péptido, pirolidina, pirolizidina, quinolina, quinolizidina, esferoidal, componentes de tropano, -non-ácidos amino proteína, aminas, glucósidoscianogenicos, glucosinilatos, purina, pirimidinas.

Fuente: Premier (2002).

### 2.3.1 Actividad antioxidante

Son innegables los beneficios que acarrea a la salud humana mantener una dieta con alto consumo de frutas y verduras, efecto que se atribuyen principalmente al poder antioxidante de los fitoquímicos contenidos en los alimentos (Shahidi, 2009). La función de los antioxidantes es facilitar el uso fisiológico del oxígeno, por parte de las mitocondrias celulares, ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y falta de oxígeno, formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales oxidantes, también conocidos como radicales libres. Evidencias a este respecto sugieren que los antioxidantes (AH) rompen las cadenas de radicales por la donación de átomos de hidrogeno a la cadena acarreadora de radicales peróxilo ( $LOO^\circ$ ), bajo condiciones atmosféricas (reacción 1) y los radicales lipídicos ( $L^\circ$ ) bajo condiciones de baja disponibilidad de oxigeno (reacción 2) (Frankel y Meyer, 2000).





Las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas: el sistema enzimático y el sistema no enzimático; también conocidos como endógeno y exógeno respectivamente, los cuales pueden actuar tanto en el espacio intracelular como en el extracelular, ayudando a prevenir enfermedades (Zamora, 2007). Las betalaínas son fotoquímicos considerados como potentes antioxidantes (Cai *et al.*, 2003). En los últimos años han proliferado estudios sobre las betalaínas y sus propiedades en varias especies del género *Opuntia* (Osorio *et al.*, 2011) e *Hylocereus* (Wu *et al.*, 2002; Herbach *et al.*, 2007).

Debido a la importancia económica de estos compuestos y a los beneficios reportados para la salud humana es necesario buscar nuevas alternativas para mejorar la competitividad de la industria alimentaria, la cual se fundamenta en el uso de nuevas tecnologías de extracción, que mejoren la calidad de los productos obtenidos y optimicen el proceso; así como reducir los costos de producción (económicos y energéticos). Una de estas tecnologías es el uso de pulsos eléctricos de alto voltaje (PEAV).

#### 2.4 Pulsos eléctricos de alto voltaje

Esta tecnología consiste en la aplicación intermitente de campos eléctricos de alta intensidad (1-50 Kv/cm) y corta duración (microsegundos), sin aumento significativo de la temperatura del producto tratado. Por lo tanto, no hay alteraciones en sus propiedades sensoriales y nutricionales (Wouters *et al.*, 2001). Estos campos eléctricos producen un fenómeno denominado electroporación, que consiste en la formación de poros en la membrana celular para facilitar la extracción de compuestos intracelulares (Barbosa *et al.*, 2001).

Los campos eléctricos de alta intensidad provocan cambios estructurales en las membranas celulares, lo que ocasionan un aumento en la permeabilidad

(electroporación), sin embargo los mecanismos celulares que originan dichos cambios aún no se conocen con absoluta precisión. Diversos modelos teóricos matemáticos surgieron con objeto de explicar las bases biológicas de la electroporación. Estos pueden dividirse en dos grupos: los modelos electromecánicos (Riemann *et al.*, 1975), y los modelos basados en la formación de poros hidrofóbicos e hidrofílicos en la bicapa lipídica (Dimitrov, 1984) y/o en los cambios de su fluidez (Powell y Weaver, 1986; Joshi *et al.*, 2002).

Los parámetros más importantes que caracterizan el tratamiento con pulsos eléctricos de alta intensidad, son la intensidad del campo eléctrico, la forma y la anchura de pulso, el tiempo de tratamiento, la energía específica, la frecuencia y la resistencia de la cámara de tratamiento. La intensidad del campo eléctrico es sin duda alguna, el parámetro más importante que determina la eficacia del procesado. Esta se define como la diferencia de potencial existente entre los dos electrodos, donde se coloca el producto dividido por la distancia existente entre ellos, para que acontezca la electroporación es necesario superar un determinado campo eléctrico crítico (Toepfl *et al.*, 2007), una vez superado ese valor crítico, el incremento del campo eléctrico se asocia generalmente a un aumento de la eficacia del proceso (Álvarez *et al.*, 2003; Barsotti *et al.*, 1999; López *et al.*, 2008). Sin embargo, se ha constatado en células eucariotas y procariontas que, por encima de un determinado valor, este aumento no provoca un incremento sustancial en la eficiencia del tratamiento (Alvarez *et al.*, 2003; López *et al.*, 2008). Además de conocer con exactitud el valor del campo eléctrico aplicado, es de vital importancia conocer la distribución del mismo en la cámara de tratamiento. La presencia de zonas en las que el campo eléctrico es especialmente intenso ( $> 60$  Kv/cm), los denominados “hot spots”, puede provocar aumentos localizados de temperatura y esto ocasionar problemas en los tratamientos (Gerlach *et al.*, 2008). Actualmente en los tratamientos de pulsos eléctricos de alta intensidad se utilizan esencialmente dos tipos de pulsos: pulsos de caída exponencial y pulsos de onda cuadrada (de Haan, 2007). Los pulsos de caída exponencial se basan en la descarga completa y no regulada de los condensadores, lo que provoca un rápido incremento del voltaje y su posterior disminución exponencial a lo largo del tiempo.

Por su parte, los pulsos de onda cuadrada se caracterizan porque tras el rápido incremento de voltaje, este se mantiene constante y, finalmente, cae de nuevo rápidamente. Por lo tanto, en este caso la descarga de los condensadores está completamente regulada con el fin de mantener el voltaje seleccionado constante, a lo largo de toda la duración del pulso. Tanto los pulsos de caída exponencial como los de onda cuadrada pueden ser mono-polares o bipolares. Los pulsos bipolares se caracterizan por la aplicación de un pulso de una polaridad, y luego, se aplica otro de polaridad contraria. Se ha descrito que los pulsos bipolares producen una inactivación microbiana ligeramente mayor que los mono-polares (de Hann, 2007). A pesar de ello, su uso no está generalizado debido a que necesitan generadores de pulsos más complejos y costosos (Zhang *et al.*, 1995). Una de las principales diferencias prácticas entre los pulsos de caída exponencial y los de onda cuadrada es el cálculo de su anchura, que determina a su vez el tiempo de tratamiento (número de pulsos multiplicado por la anchura de los mismos). Mientras que en el caso de los pulsos de onda cuadrada, la anchura del pulso coincide con su duración, en los pulsos de caída exponencial el cálculo no es tan evidente. A pesar de ello, la anchura de los pulsos de caída exponencial se define como el tiempo durante el cual el voltaje aplicado es superior al 37% del valor máximo alcanzado en la descarga (Zhanget *al.*,1995). La energía por pulso es cuando se aplica una diferencia de potencial entre los electrodos de la cámara de tratamiento, este genera una corriente eléctrica que circula a través del producto. La energía eléctrica necesaria para mantener esta diferencia de potencial entre los electrodos procede del condensador, la energía eléctrica almacenada en el condensador depende de su capacidad y de la diferencia de potencial que existe entre sus armaduras. Matemáticamente, esta energía es igual a:

$$W = \left(\frac{1}{2}\right)(C)(V^2)$$

Donde:

$W$  = la energía almacenada en el condensador expresada en julios (J)

$C$  = la capacidad del condensador expresada en faradios (F)

$V$  = la diferencia de potencial entre las armaduras expresada en voltios (V).

La frecuencia corresponde al número de pulsos aplicados por unidad de tiempo, la frecuencia utilizada por los equipos de generación de pulsos eléctricos de alto voltaje es muy variable, pudiendo oscilar entre 1 y 5,000 Hz. En las cámaras estáticas, una vez establecido el tiempo efectivo de tratamiento (número de pulsos por su anchura), la frecuencia de los pulsos determina el tiempo de permanencia del producto en la cámara (el tiempo de procesado). En los tratamientos aplicados en condiciones de flujo continuo, la frecuencia seleccionada junto con el caudal del producto determina el número de pulsos medio aplicado.

### III. JUSTIFICACIÓN

Actualmente la industria alimentaria está orientándose a la obtención de colorantes naturales que tengan alto grado de diversificación de tonalidades, además se requiere que presenten estabilidad química, un alta fuerza de tinción y constancia de apariencia en diferentes rangos de pH. Las betalaínas ofrecen algunos de estos criterios como son diferentes tonalidades y características de estabilidad poco comunes en otros colorantes.

El uso de tunas como fuente de betalaínas puede ser interesante, ya que las plantas del género *Opuntia* tienen requerimientos edafo-climáticos mínimos, por lo que se podría convertir en una alternativa de agricultura económica para regiones áridas y semiáridas.

Las razones que dieron origen a esta investigación fue el buscar fuentes alternas de aprovechamiento para las tunas que son un recurso natural utilizado en gran parte del país. El poder ofertar la posibilidad de obtener colorante a partir de estas, tiene como primer paso demostrar su factibilidad técnica, seguido de un estudio del colorante obtenido, para valorar si cuenta con las características requeridas para usarlo en la industria alimentaria.

## IV. OBJETIVOS

### GENERAL

Evaluar el efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la extracción de pigmentos y compuestos antioxidante de nueve tunas rojas.

### PARTICULARES

- Establecer los parámetros del equipo y tiempos adecuados para la extracción de los pigmentos presentes en tunas.
- Evaluar el efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en parámetros fisicoquímicos.
- Cuantificar el contenido de betalaínas (betacianinas y betaxantinas) y fenoles totales presentes en extractos con y sin aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje.
- Determinar la estabilidad del color a diferentes temperaturas y pH.
- Evaluar el efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la actividad antioxidante de los extractos.

## **V. HIPOTESIS**

La aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje favorecerá la extracción de pigmentos y compuestos antioxidantes de tunas rojas.

## VI. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Estudios recientes han descubierto que muchos de los colorantes sintéticos utilizados en la industria de los alimentos, pueden resultar muy peligrosos para la salud humana, debido a su toxicidad. En ese punto sobresalen aquellos pigmentos sintéticos que imparten un color rojo, la mayoría de los cuales han sido prohibidos por considerarse tóxicos.

Debido a lo anterior, ha renacido el interés por los pigmentos de origen natural, sobre todo aquellos de color rojo que no resulten tóxicos y que puedan sustituir a los sintéticos. Entre los pigmentos naturales de color rojo destacan las betalaínas, que tienen un uso potencial prometedor en la industria de los alimentos. Su limitante es que son moléculas de gran sensibilidad química y ameritan procedimientos de extracción adecuados. Por otro lado, es bien sabido que México posee una gran riqueza en especies vegetales sobre todo en lo que se refiere a la familia de las *Cactáceas* que pueden ser utilizadas para la obtención de dichos pigmentos.



## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Químicos

2,2-Azinobis (3-ethylbenzothianoline-6-sulphonic acid) diammoniumsalt (ABTS), 2,2-difenilo-1-picrilhidrazilo (DPPH), Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxil, Ácido cítrico, Persulfato de potasio fueron comprados a Sigma Aldrich, Sigma Aldrich Co. SpruceStreer, St Louis, MO, 63103, USA. Carbonato de sodio, Carbonato de sodio anhidro, Hidróxido de sodio fueron comprados a J.T.Baker, Avator™ Performance Materials S.A. de C.V., 55320, Xalostoc, Edo. De Méx., México. Etanol, Follin-Ciocalteu y Metanol fueron comprados a Meyer, Química Suater S.A. de C.V., Pámpano #7 Col. Del Mar, Del. Tlahuac, 13720, D.F. México.

### 7.2 Material vegetal

Los nueve genotipos de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgente', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón', fueron cosechados en agosto-septiembre del 2013, del Depositario Nacional de *Opuntias*, ubicado en el Centro Regional Universitario Centro Norte (CRUCEN-Zacatecas) de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Zacatecas, Zacatecas, México (22° 44.7' latitud norte y 102° 36.4' longitud oeste). Se cosecharon 4 frutos de cada una de 10 plantas seleccionadas. Los frutos se cosecharon en madurez comercial, cuando los frutos estaban completamente coloreados y la depresión de la cicatriz estilar completamente plana, según las características propias de cada cultivar.

### 7.3 Diseño de tratamientos

Con base a los factores y niveles de estudio se tuvieron 36 tratamientos

**Cuadro 6. Diseño de tratamientos**

Factores	Niveles de estudio
Cultivares	c1, c2, c3, c4, c5, c6, c7, c8 y c9
Aplicación de pulsos eléctricos	cp, sp
Estructura del fruto	e-m, en

C= cultivares; cp=con aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje; sp=sin aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje; e-m= epicarpio-mesocarpio; en= endocarpio.

T1=c1+cp+eym; T2=c1+cp+en; T3=c1+sp+eym; T4=c1+sp+en; T5=c2+cp+eym;

T6=c2+cp+en; T7=c2+sp+eym; T8=c2+sp+en; T9=c3+cp+eym; T10=c3+cp+en;

T11=c3+sp+eym; T12=c3+sp+en; T13=c4+cp+eym; T14=c4+cp+en;

T15=c4+sp+eym; T16=c4+sp+en; T17=c5+cp+eym; T18=c5+cp+en;

T19=c5+sp+eym; T20=c5+sp+en; T21=c6+cp+eym; T22=c6+cp+en;

T23=c6+sp+eym; T24=c6+sp+en; T25=c7+cp+eym; T26=c7+cp+en;

T27=c7+sp+eym; T28=c7+sp+en; T29=c8+cp+eym; T30=c8+cp+en;

T31=c8+sp+eym; T32=c8+sp+en; T33=c9+cp+eym; T34=c9+cp+en;

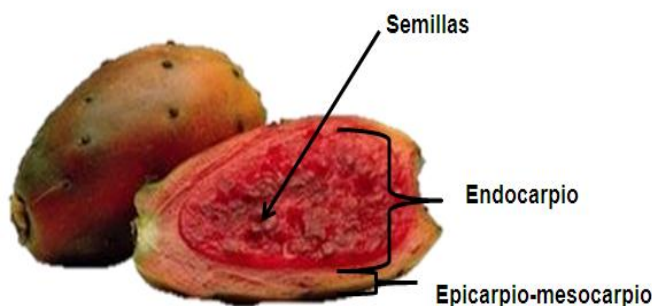
T35=c9+sp+eym; T36=c9+sp+en.

PARÁMETROS DEL EQUIPO: Intensidad del campo eléctrico= 8 Kv/cm, tasa de repetición= 5 Hz, tiempo de tratamiento= 10 minutos.

## 7.4 Establecimiento del experimento

### Preparación del extracto del fruto

A los frutos de tuna se les cortó la parte basal y cicatriz estilar los cuales se desecharon, se separó el epicarpio-mesocarpio (cascara) del endocarpio (pulpa) y se partió en pequeños cubos de tamaño homogéneo de aproximadamente (1 cm<sup>3</sup>). Posteriormente se colocó (35 g) en las placas para materiales sólidos del equipo de pulsos eléctricos de alto voltaje marca (SteriBeam) modelo semiautomático, se procedió a someter la muestra a tratamiento, concluido el tratamiento se colectó la muestra.



**Figura 4. Estructura de tuna (*Opuntia ficus-indica*) (Bravo, 1978).**

Después se colocó en un recipiente, tanto la parte sólida como la líquida, añadiéndole (20 mL) de agua destilada y se sometió a vacío durante (4 min) para coleccionar y cuantificar la cantidad de jugo liberados, y se midió el pH con un potenciómetro marca HaNNA modelo 209, y los sólidos solubles totales (°Brix) con un refractómetro digital marca ATAGO modelo PR-101. Los restos sólidos nuevamente fueron pesados. Los extractos se congelaron a una temperatura de (-80°C) para luego ser liofilizados.

## 7.5 Variables de respuesta

### 7.5.1 Color de los extractos

Se realizó mediante un colorímetro por reflexión “Hunter Lab” Marca Minolta (modelo CM5080) en escala CIE  $L^*a^*b^*$ , el cual se basa en el empleo de funciones trigonométricas. Un círculo de color dividido en 360°; con rojo púrpura situado en el extremo derecho en el ángulo 0, el amarillo en 90°; el verde-azul en 180° y el azul en 270°. El Hunter L, a y b, indicó el cambio de coloración del extracto en 3 direcciones;  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , las cuales marcan los cambios de brillantes,  $L^*$  mide de la oscuridad o luminosidad,  $a^*$  representa el rojo si es positivo y el verde si es negativo y  $b^*$  corresponde al amarillo si es positivo y al azul en caso de ser negativo.

### 7.5.2 Estabilidad del color a diferentes temperaturas y pH por el método descrito por Moßhammer *et al.*, (2005).

La estabilidad del color de los diferentes extractos se determinó a diferentes temperaturas (40°C, 60°C, 80°C y 100°C) para calentar las muestras se utilizó un agitador magnético equipado con parrilla y control de temperatura marca CVEQ modelo 85-2; una vez alcanzando la temperatura deseada se midió el color mediante un colorímetro por reflexión “Hunter Lab” Marca Minolta (modelo CM5080) en escala CIE  $L^*a^*b^*$ . El pH se evaluó en un rango de (3 a 7), utilizando ácido cítrico para acidificar e hidróxido de sodio para modificar el pH a neutro y después a básico usando un potenciómetro marca HaNNA modelo 209 (calibrado con soluciones buffer dependiendo del pH a evaluar); estabilizado el pH se procedió a hacer la lectura del color mediante un colorímetro por reflexión “Hunter Lab” Marca Minolta (modelo CM5080) en escala CIE  $L^*a^*b^*$ , estos valores fueron comparados con el color original de los extractos obteniendo una diferencia entre las dos muestras, a la cual se le conoce como Delta E ( $\Delta E$ ) o lo que es lo mismo el error delta.

Donde la letra griega “ $\Delta$ ” es usada en matemáticas para denotar diferencia y la “E” proviene del término alemán empfindung o sensación, por lo que su traducción literal es la “diferencia de sensación” que percibimos al observar dos colores.

Habitualmente se escribe como  $\Delta E^*$  y para su cálculo se utiliza la siguiente fórmula:

$$\Delta E^* = (L^*_1 - L^*_2)^2 + (a^*_1 - a^*_2)^2 + (b^*_1 - b^*_2)^2$$

### 7.5.3 Cuantificación de betalaínas por el método de Nilsón descrito por Castellanos y Yahia (2008).

Este método se basa en que las betaxantinas se absorben de 483 nm y las betacianinas a 535 nm. El cálculo de la relación determina la concentración de las betalaínas totales.

La muestra (1 g) de polvo liofilizado, se extrajo con agua destilada (20 mL), se agita en un vortex (30 min) y se centrifuga (17500 rpm) por 10 minutos a 5 °C, el sobrenadante de recupero, se toma (1 mL) de muestra diluida y se mezcla en (20 mL) de alcohol metílico a (20 %). Posteriormente se lee en espectrofotómetro marca Cary modelo 100 Bio, a una absorbancia de 483 y 538 nm usando como blanco alcohol metílico (80%).

Los resultados se expresaran en términos de concentración de betalaínas totales, betacianinas y betaxantinas.

$$BC(\text{mg/g}) = [A(\text{DF})(\text{MW})Vd/\epsilon l Wd]$$

Donde:

A = 535 nm $\lambda$  (para betacianinas)

A = 483 nm $\lambda$  (para betacianinas)

DF= Factor de dilución

Vd= volumen de la muestra seca en solución

$W_d$ = peso de la muestra seca

$MW$ = peso molecular 550 g/mol (para betacianinas)

$MW$ = peso molecular 308 g/mol (para betaxantinas)

$\epsilon$ = 60 000 L/(mol cm) (par betacianinas)

$\epsilon$ =48 000 L/(mol cm) (par betaxantinas)

*Betalainas totales= betacianinas + betaxantinas*

#### 7.5.4 Determinación de Fenoles Totales por el método de Folin y Ciocalteu descrito por Waterman y Mole, (1994).

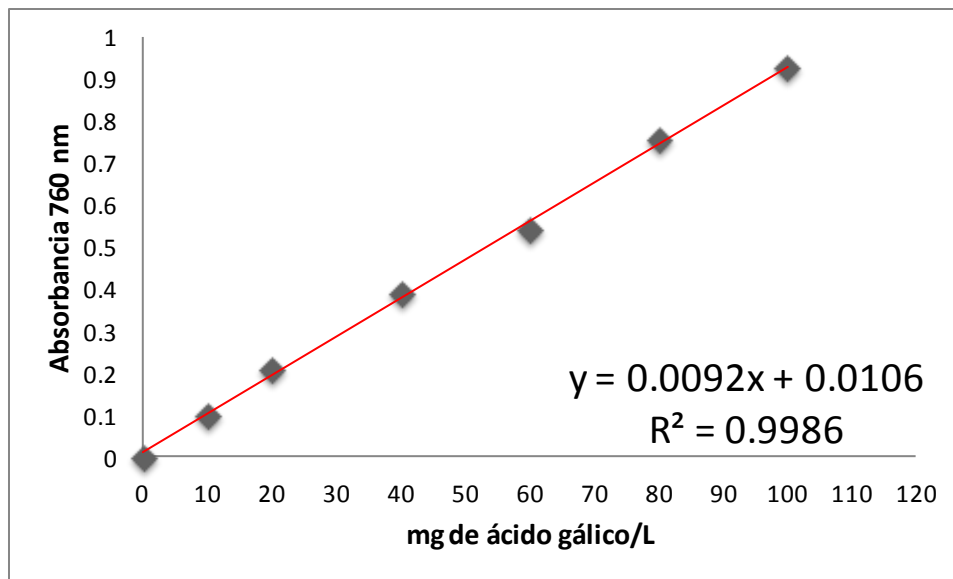
La muestra (1 g) de polvo liofilizado, se extrajo con agua destilada (20 mL), se agita en un vortex (30 min) y se centrifuga (17500 rpm) por 10 minutos a 5 °C, el sobrenadante de recupero. La determinación de fenoles solubles totales se estimó por el método de Folin-Ciocalteu, se toma (1 mL) del sobrenadante y se diluye en (20 mL) alcohol metílico (20 %). Después agrega (1 mL) de la muestra diluida y se le añade (5 mL) de Folin diluido 1:10 con agua destilada, se reposa (7 min), posteriormente se le agrega (4 mL) de Carbonato de Sodio (7.5%) y se deja reaccionar en completa oscuridad (2 h). Posteriormente, se pasan al espectrofotómetro marca Cary modelo 100 Bio, para su lectura a 760 nanómetros, utilizando como blanco agua destilada.

Dado que los resultados se expresan en equivalentes de ácido gálico, fue necesario elaborar una curva de calibración, para ello se preparó una solución patrón de ácido gálico a una concentración (1000 mg/L), a partir de ésta se hicieron diluciones para obtener las concentraciones empleadas en la curva de calibrado como se muestra en la Cuadro 7.

**Cuadro 7. Concentraciones para la curva de calibración empleada para fenoles totales expresada en mg de ácido gálico/litro.**

Tubos	Concentración mg/L ácido gálico
1	0
2	10
3	20
4	40
5	60
6	80
7	100

Con los datos obtenidos se elaboró la curva de calibrado que se muestra en la figura 5.



**Figura 5. Curva de calibrado para medición de Fenoles Solubles Totales.**

## 7.5.5 Determinación de Actividad Antioxidante

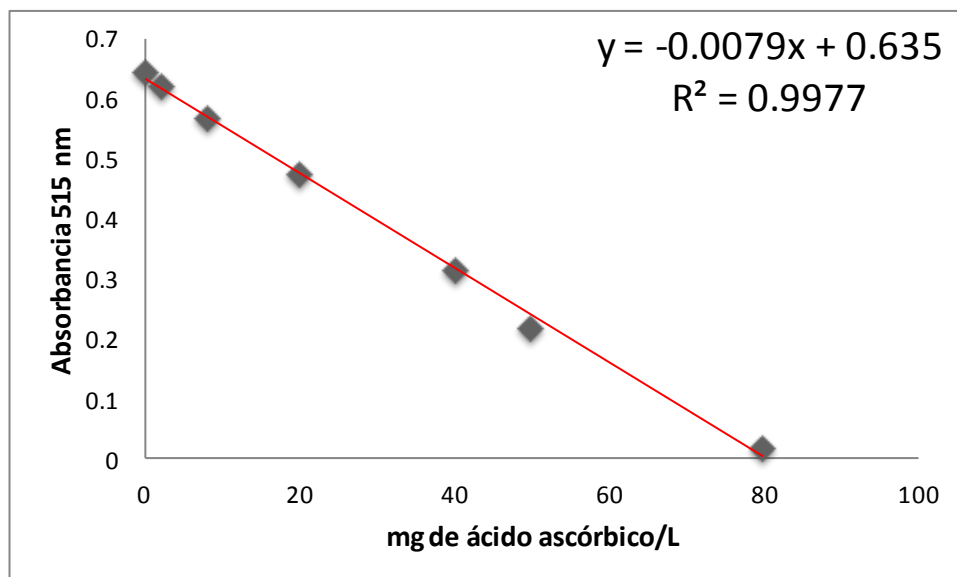
### 7.5.5.1 Método de DPPH descrito por Brand-Williams *et al.*, (1995).

La muestra (1 g) de polvo liofilizado, se extrajo con agua destilada (20 mL), se agita en un vortex (30 min) y se centrifuga (17500 rpm) por 10 minutos a 5 °C, el sobrenadante de recupero, se toma (1 mL) de muestra diluida y se mezcla en (20 mL) de alcohol metílico a (20 %).

La solución de DPPH (7.8 mg en 100 mL de alcohol metílico) se coloca en agitación (2 h) cubriendo el recipiente de la luz, se estabiliza agregar paulatinamente alcohol metílico al 80% hasta obtener lecturas de 0.7 a una absorbancia de 515 nanómetros, luego se toman (500 µl) de la muestra diluida y se le agregan (2500 µL) de DPPH estabilizado, se agita (15 seg.) se deja en reposo en completa oscuridad (1 h), posteriormente se pasan al espectrofotómetro marca Cary modelo 100 Bio. Utilizando como blanco alcohol metílico al (80%).

Los resultados se reportan como porcentaje de inhibición expresándolo como la actividad equivalente al ácido ascórbico como antioxidante de referencia. Para esto se preparó una solución patrón con una concentración (1000 mg/L) y se realizaron las diluciones apropiadas para cubrir un intervalo (0-80 mg/L). En la figura 5 se muestra la curva de calibración obtenida para la interpretación de los resultados.





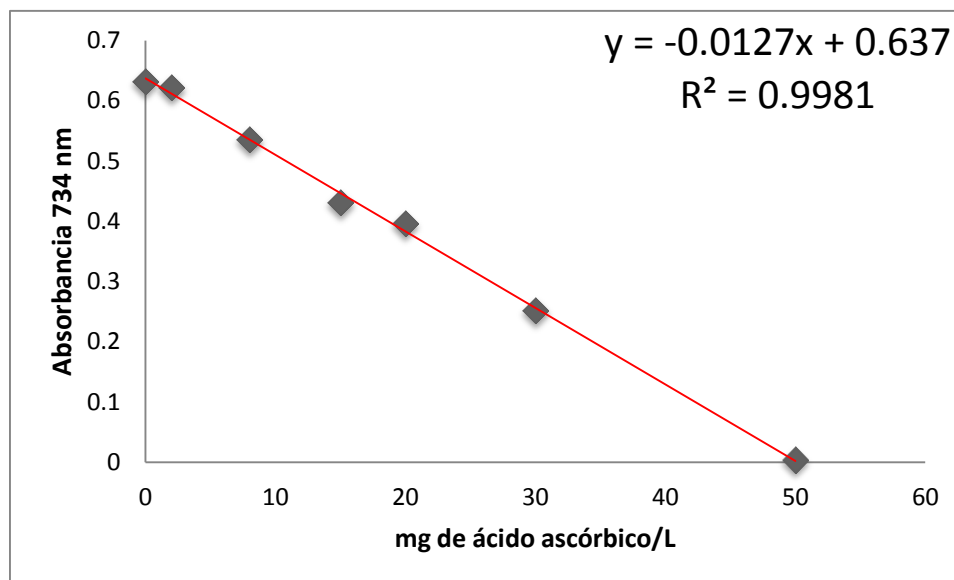
**Figura 6. Curva de calibrado para la medición de actividad antioxidante del radical DPPH.**

#### 7.5.5.2 Método de ABTS descrito por Re *et al.*, (1999).

La muestra (1 g) de polvo liofilizado, se extrajo con agua destilada (20 mL), se agita en un vortex (30 min) y se centrifuga (17500 rpm) por 10 minutos a 5 °C, el sobrenadante de recupero, se toma (1 mL) de muestra diluida y se mezcla en (20 mL) alcohol metílico (20 %).

La solución de ABTS (27.72 mg y se afora a 10 mL de agua destilada) se le agregan 10 mL de Persulfato de Potasio diluido (66.15 mg y se afora a 100 mL de agua destilada) y se coloca en agitación (12 h) cubriendo el recipiente de la luz, se estabiliza agregar paulatinamente alcohol etílico (20%) hasta obtener lecturas de 0.7 a una absorbancia de 734 nanómetros, luego se toman (100 µl) de muestra diluida y se le agregan (3 mL) de ABTS estabilizado se agita (15 seg), se deja en reposo en completa oscuridad (6 min), posteriormente se pasan al espectrofotómetro marca Cary modelo 100 Bio. Utilizando como blanco alcohol etílico al (20%).

Los resultados se reportan como porcentaje de inhibición expresándolo como la actividad equivalente al ácido ascórbico como antioxidante de referencia. Se utilizó una solución patrón a una concentración (1000 mg/L), a partir de ella se prepararon diluciones estándar en un intervalo de concentración (0-50 mg/L) obteniendo la curva de calibrado que se muestra en la figura 6.



**Figura 7. Curva de calibrado para la medición de actividad antioxidante del radical ABTS.**

## 7.6 Análisis de Resultados

Para el análisis de los los resultados, se utilizó un diseño experimental completamente al azar; los datos se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar, con 3 repeticiones ( $n=3$ ) para cada tratamiento. El análisis estadístico se realizó utilizando el software JMP.5.0.1 SAS, (Statistics Analysis System), versión 9.0, (SAS, 2002) SAS Inst. Inc., N., EE.UU. Utilizando el procedimiento de análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey a un nivel de significancia de 0.05.

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 8.1 Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en parámetros fisicoquímicos

#### 8.1.1 Pérdida de Peso

En el epicarpio-mesocarpio (cáscara) de tunas rojas 'Cardona', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón', se observaron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) con aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje (PEAV) en pérdida de peso, en relación con el epicarpio-mesocarpio sin aplicación de PEAV, excepto en el epicarpio-mesocarpio de tuna 'Rojo Insurgentes', y no se observaron diferencias significativas (Cuadro 8). Finca *et al.*, (2004) realizaron un estudio con pre-tratamiento de PEAV, en la extracción sólido-líquido en betabel (*Beta vulgaris*) y aseveran que el grado de variación de la extracción y por lo tanto de la pérdida de peso, está correlacionado con la permeabilización no homogénea de las células, la mayor extracción fue obtenida con aplicación de PEAV, en donde se observa que a mayor pérdida de peso mayor liberación de compuestos intracelulares.

La mayor pérdida de peso fue exhibida por el epicarpio-mesocarpio de las tunas rojas 'Cacalote' y 'Tapón Aguanoso' con aplicación de PEAV, con valores de 28.33 y 29.16 g respectivamente, mientras que la menor de pérdida de peso se observó en epicarpio-mesocarpio tanto con aplicación de PEAV como sin aplicación de PEAV y fueron en las tunas 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón', con valores de 38.20 y 37.40 g respectivamente, esto debido a las características del epicarpio-mesocarpio el cual es muy delgado y al momento de aplicarle agua para la extracción en vez de liberar jugos intracelulares absorbió el agua.

**Cuadro 8. Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio, de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en pérdida de peso.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en epicarpio-mesocarpio de tunas rojas	Peso (g)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	29.16 ± 0.29 h	31.56 ± 0.21f
Rojo Insurgentes	35.23 ± 0.15 c	35.88 ± 0.03 c
Orejón	30.40 ± 0.20 g	32.03 ± 0.25 f
Burra la Cruz	30.13 ± 0.21 g	31.56 ± 0.21f
Sandia	34.23 ± 0.25 d	37.40 ± 0.26 a
Cacalote	28.33 ± 0.21 i	34.16 ± 0.21 d
Tapón Aguanoso	29.16 ± 0.23 h	33.40 ± 0.26 e
Sangre de Toro	37.40 ± 0.26 b	38.20 ± 0.20 a
Rojo Pelón	35.30 ± 0.10 c	37.40 ± 0.26 b

CV (%)=0.65

DMS=0.67

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

El mayor efecto de la aplicación de PEAV epicarpio-mesocarpio en la pérdida de peso se observó en las tunas rojas 'Cacalote' (5.73 g) y 'Tapón Aguanoso' (4.24 g) Esto refleja el efecto positivo que tiene la aplicación de PEAV, lo cual coincide con lo reportado por (Mustafa *et al.*, 2003), quienes mencionan que pre-tratamientos de PEAV mejora la extracción de compuestos intracelulares.

En el endocarpio (pulpa-semillas) de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón', se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con aplicación de PEAV en pérdida de peso, en comparación con el endocarpio que no se le aplico PEAV. Los valores con mayores pérdidas de peso, se encontraron en endocarpio de tunas rojas 'Cardona' y 'Cacalote' con aplicación de PEAV, con valores de 11.73 y 13.33 g respectivamente. La menor de pérdida de peso se observó en el

endocarpio sin aplicación de PEAV de las tunas 'Sandía' y 'Rojo Pelón', con valores de 33.43 y 32.90 g respectivamente (Cuadro 9).

**Cuadro 9. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio, de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en pérdida peso.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas	Peso (g)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	11.73 ± 0.31 k	23.56 ± 0.06 ef
Rojo Insurgentes	15.16 ± 0.25 i	24.06 ± 0.40 e
Orejón	14.36 ± 0.47 i	22.93 ± 0.40 f
Burra la Cruz	14.46 ± 0.23 i	27.46 ± 0.15 d
Sandía	16.70 ± 0.17 h	33.43 ± 0.25 a
Cacalote	13.33 ± 0.31 j	31.33 ± 0.15 b
Tapón Aguanoso	19.23 ± 0.41 g	29.60 ± 0.17 c
Sangre de Toro	16.93 ± 0.31 h	29.33 ± 0.29 c
Rojo Pelón	16.26 ± 0.45 h	32.90 ± 0.56 a

CV (%)=1.48  
DMS=0.99

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

El mayor efecto de la aplicación de PEAV en la pérdida de peso se observó en el endocarpio de tunas rojas 'Cacalote' y 'Sandía' disminuyendo 18.0 g y 16.73 g respectivamente, Angersbach *et al.*, (2000) reportan aumento significativo de la permeabilidad de las células en plantas a escala sub-milimétrica después de la aplicación de pre-tratamientos de PEAV, lo que se ve reflejado en la disminución de peso como se observa en este estudio. Además, complementado con la presión que se genera al aplicar vacío ya sea al mismo tiempo o después del tratamiento con PEAV, ha demostrado mejoras en la tasa de extracción sólido-liquido según una investigación realizada por Vorobiev y Lebovka (2006), lo cual concuerda con los resultados obtenidos.

### 8.1.2 Jugos liberados

Epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso' y 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en la liberación de jugos, comparando con epicarpio-mesocarpio sin aplicación de PEAV, excepto en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Orejón' y 'Sangre de Toro' (Cuadro 10). Jemai y Vorobiev (2002) investigaron el efecto de la aplicación de PEAV en el coeficiente de difusión de sustancias solubles en agua de rodajas de manzana y mencionan que tratamientos previos de PEAV combinado con tratamientos térmicos incrementaron significativamente el coeficiente de difusión, lo cual coincide con los datos observados en esta investigación.

**Cuadro 10. Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en jugos liberados.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-Mesocarpio de tunas rojas	Volumen (mL)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	21.96 ± 0.06 d	21.32 ± 0.11 e
Rojo Insurgentes	18.93 ± 0.12 g	17.48 ± 0.03 h
Orejón	20.93 ± 0.12 e	19.53 ± 0.15 e
Burra la Cruz	23.63 ± 0.15 c	22.03 ± 0.06 d
Sandía	19.23 ± 0.25 fg	16.33 ± 0.15 j
Cacalote	26.46 ± 0.25 a	21.13 ± 0.06 e
Tapón Aguanoso	24.70 ± 0.10 b	21.32 ± 0.23 e
Sangre de Toro	15.45 ± 0.15 k	15.10 ± 0.10 k
Rojo Pelón	16.96 ± 0.21 i	16.23 ± 0.26 j

CV (%)=0.738

DMS=0.451

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

La mayor liberación de jugos se observó en epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso' y 'Burra la Cruz' con aplicación de PEAV con valores de 26.46, 24.70 y 23.63 mL respectivamente y la menor liberación de jugos intracelulares se observó en el epicarpio-mesocarpio de las tunas rojas 'Sangre de Toro', 'Rojo Pelón' y 'Sandía' sin aplicación de PEAV con valores de 15.10, 16.23 y 16.33 mL respectivamente. El mayor efecto de la aplicación de PEAV en la liberación de jugos se observó en las tunas rojas 'Cacalote' aumentando 5.33 mL y 2.90 mL en 'Sandía'. La aplicación de pre-tratamientos de PEAV aumentó la eficiencia del proceso de extracción, independientemente de las condiciones de extracción, esto coincide con lo reportado por López *et al.*, (2009).

En endocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV se observaron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) para jugos liberados, con respecto al endocarpio que no se les aplicó PEAV. La mayor liberación de jugo se observó en el endocarpio de las tunas rojas 'Cardona' (39.56 mL), 'Cacalote' (38.50 mL) y 'Orejón' (37.50 mL), con la aplicación de PEAV y la menor liberación de jugo en el endocarpio de las tunas 'Rojo Pelón' (21.35 mL) y 'Sandía' (21.50 mL), sin aplicación de PEAV (Cuadro 11).

**Cuadro 11. Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en jugos liberados.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas	Volumen (mL)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	39.56 ± 0.50 a	29.66 ± 0.58 f
Rojo Insurgentes	35.56 ± 0.40 de	29.70 ± 0.61 f
Orejón	37.50 ± 0.50 b	34.20 ± 0.53 e
Burra la Cruz	37.33 ± 0.58 bc	26.50 ± 0.50 g
Sandía	34.84 ± 0.28 de	21.50 ± 0.50 i
Cacalote	38.50 ± 0.50 ab	23.76 ± 0.55 h
Tapón Aguanoso	34.16 ± 0.42 e	24.66 ± 0.49 h
Sangre de Toro	36.03 ± 0.15 cd	25.13 ± 0.33 gh
Rojo Pelón	35.90 ± 0.27 d	21.35 ± 0.31 i

CV (%)=1.46

DMS=1.41

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

El mayor efecto de la aplicación de PEAV en la liberación de jugos intracelulares en endocarpio se observó en tunas rojas 'Cacalote' y 'Rojo Pelón'; aumentando 14.74 y 14.55 mL respecto al endocarpio sin aplicación de PEAV, estos resultados indican que el número de células permeabilizadas aumentó facilitando así la liberación de jugos intracelulares con la aplicación de PEAV. Por otro lado, cuando se le aplicó vacío permitieron la máxima extracción de compuestos intracelulares, esto coincide con lo reportado en una investigación realizado por (López *et al.*, 2009). Al respecto Finca *et al.*, (2004) mencionan que las muestras tratadas con PEAV dieron como resultado un nivel de extracción de alrededor del 90 %, en comparación con las muestras sometidas a prensado mecánico. Investigaciones anteriores reportan que pre-tratamientos con intensidades de campo eléctrico inferiores a 10 Kv/cm, mejora el rendimiento de la tasa de extracción de jugos intracelulares esto en manzana y zanahoria de acuerdo con lo reportado por Jemai y Vorobiev (2007).



### 8.1.3 pH

En tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso' y 'Sangre de Toro' no se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en el pH del epicarpio-mesocarpio, del extracto con aplicación de PEAV y del extracto sin aplicación de PEAV. En tuna roja Orejón se observaron diferencias significativas en pH del epicarpio-mesocarpio comparando con los extractos con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV, en tunas rojas 'Burra la Cruz' y 'Sandía' se observó diferencias significativas en el extracto con aplicación de PEAV comparado con el pH del epicarpio-mesocarpio y con el del extracto sin aplicación de PEAV, en tuna 'Rojo Pelón' se observaron diferencias significativas en el pH del epicarpio-mesocarpio, extractos con aplicación de PEAV y extractos sin aplicación de PEAV (Cuadro 12). En los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' se observaron pH ácidos y los valores cercanos al neutro se obtuvieron en extractos en epicarpio-mesocarpio de la tuna 'Rojo Insurgentes' con valores de 6.15 a 6.50, los valores ligeramente ácidos se obtuvieron en los extractos de epicarpio-mesocarpio en tuna roja 'Orejón' con valores de 3.43 a 3.89. En una investigación Stintzing *et al.*, (2005) reportaron valores para pH en tunas verdes de 6.5, naranjas de 6.3, rojas de 5.6 y purpuras de 6.3, los cuales son comparables a los obtenidos en las diferentes tunas analizadas en este estudio.

**Cuadro 12. Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el pH de epicarpio-mesocarpio y extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón'.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas	pH		
	Epicarpio-mesocarpio	Extracto con aplicación de PEAV	Extracto sin aplicación de PEAV
Cardona	5.13 ± 0.41 hijk	5.30 ± 0.07 fghij	5.25 ± 0.05 fghij
Rojo Insurgentes	6.15 ± 0.11 abc	6.50 ± 0.10 a	6.17 ± 0.16 ab
Orejón	4.89 ± 0.34 ijkl	3.43 ± 0.07 m	3.57 ± 0.09 m
Burra la Cruz	5.24 ± 0.10 ghijk	5.67 ± 0.02 cdefg	4.75 ± 0.16 kl
Sandía	5.19 ± 0.07ghij	5.62 ± 0.210 defg	5.20 ± 0.20 ghijk
Cacalote	5.19 ± 0.07 ghijk	4.84 ± 0.17 jkl	4.86 ± 0.14 jkl
Tapón Aguanoso	5.82 ± 0.07 bcde	5.41 ± 0.12 efgh	5.45 ± 0.12 defgh
Sangre de Toro	5.73 ± 0.10 bcde	5.47 ± 0.05 defgh	5.39 ± 0.18 efgh
Rojo Pelón	5.37 ± 0.14 efghi	5.93 ± 0.14 bcd	4.53 ± 0.08 l

CV (%)=2.51

DMS=0.41

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

Los resultados concuerdan con Cerezal y Duarte (2005), los cuales reportaron valores de pH en epicarpio-mesocarpio de 4.85 en variedad (*Opuntia ficus-índica* (L.) Miller), Moreno Álvarez *et al.*, (2008), obtuvieron valores de 5.20 de pH de tuna (*Opuntia elatior* Miller) y Viloría *et al.*, (2002), reportaron valores de 4.93 de pH de tuna (*Opuntia boldinghii* Br. et R.). La aplicación de PEAV no mostró ningún efecto sobre el pH, la variabilidad de los datos aquí reportados se atribuyen a diferencias propias entre frutos y entre cada uno de los genotipos analizados, además de las condiciones edafoclimáticas de su cultivo.

En tunas rojas 'Cardona', 'Orejón' y 'Sangre de Toro' no se observaron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) en pH de endocarpio, extractos con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV. En endocarpio de tunas 'Rojo Insurgentes' y 'Rojo Pelón' mostraron diferencias significativas en pH de extractos con aplicación de PEAV comparado con el pH del epicarpio y del extracto sin aplicación de PEAV, en tunas rojas 'Burra la Cruz', 'Cacalote' y 'Tapón Aguanoso' se observó diferencias significativas en el pH de endocarpio con respecto al pH de los extractos con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV y en tuna roja Sandía se observaron diferencias significativas en el pH del extracto sin aplicación de PEAV comparado con el pH del endocarpio y del extracto con aplicación de PEAV (Cuadro 13).

**Cuadro 13. Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el pH de endocarpio y en extractos de endocarpio en tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón'.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas	pH		
	Endocarpio	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	5.06 ± 0.44 fghi	4.74 ± 0.14 hij	4.98 ± 0.16 ghi
Rojo Insurgentes	6.50 ± 0.07 a	6.53 ± 0.06 a	5.12 ± 0.13 fghi
Orejón	5.06 ± 0.22 fghi	3.96 ± 0.06 i	3.94 ± 0.08 i
Burra la Cruz	6.19 ± 0.05 ab	5.00 ± 0.01 ghi	4.74 ± 0.03 hij
Sandía	5.44 ± 0.06 def	5.22 ± 0.07efg	4.65 ± .17ij
Cacalote	5.42 ± 0.07 def	4.42 ± 0.01 jk	4.40 ± 0.03 jk
Tapón Aguanoso	5.14 ± 0.02 efgh	4.31 ± 0.11 kl	4.27 ± 0.14 kl
Sangre de Toro	5.46 ± 0.20 def	5.06 ± 0.02 fghi	5.13 ± 0.04 fghi
Rojo Pelón	6.08 ± 0.07 b	5.55 ± 0.03 cde	5.89 ± 0.05 bc

CV (%)=2.91

DMS=0.48

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

En los extractos de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' se observaron pH ácidos y los valores cercanos al neutro se obtuvieron en extractos de la tuna 'Rojo Insurgentes' con un pH de 5.12 a 6.53, los valores ligeramente ácidos se obtuvieron en extractos de tuna roja 'Cacalote' con valores de 3.94 y 5.06, los datos coinciden con lo reportado por Cerezal y Duarte (2005), los cuales observaron valores de pH en endocarpio de 6.31 (*Opuntia ficus-índica* (L.) Miller), Moreno-Álvarez *et al.*, (2008), reportaron valores de 5.20 en tuna (*Opuntia elatior* Miller), Viloría *et al.*, (2002), reportaron valores de 4.93 de pH en tuna (*Opuntia boldinghii* Br. et R.).

#### 8.1.4 Sólidos Solubles Totales

En tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) en sólidos solubles totales de epicarpio-mesocarpio, extractos con aplicación de PEAV y extractos sin aplicación de PEAV. En la tuna roja 'Burra la Cruz' se observó diferencias significativas en sólidos solubles totales de epicarpio-mesocarpio comparado con los extractos con aplicación de PEAV y extractos sin aplicación de PEAV. Los valores mayores de sólidos solubles totales se observaron en epicarpio-mesocarpio de tunas 'Rojo Insurgentes' con 14.83 y 'Sangre de Toro' con 13.47, y en extractos con aplicación de PEAV en tunas rojas 'Sandía' (7.50) y 'Cacalote' (7.46) y en extractos sin aplicación de PEAV en tunas rojas 'Sangre de Toro' y 'Sandía' con 5.66 y 5.60 respectivamente. En el epicarpio-mesocarpio los valores menores de sólidos solubles se observaron en tunas rojas 'Burra la Cruz' (8.50) y 'Rojo Pelón' (9.60), en extractos con aplicación de PEAV en las tunas rojas 'Cardona' (5.53) y 'Burra la Cruz' (5.66) y en extractos sin aplicación de PEAV en las tunas 'Rojo Pelón' y 'Cacalote' con 2.96 y 3.66 respectivamente (Cuadro 14). En un estudio realizado por Cerezal y Duarte (2005), reportaron valores de 14.00 para epicarpio-mesocarpio y Moreno *et al.*, (2008), reportan valores de sólidos solubles totales de 11.

**Cuadro 14. Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en sólidos solubles totales en epicarpio-mesocarpio y extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón'.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas	Sólidos Solubles Totales		
	Epicarpio-mesocarpio	( <sup>o</sup> Brix)	
		Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	10.10 ± 0.26 d	6.53 ± 0.06 ghi	5.53 ± 0.12 jkl
Rojo Insurgentes	14.83 ± 0.42 a	6.63 ± 0.15 fgh	5.40 ± 0.10 kl
Orejón	12.73 ± 0.59 bc	6.20 ± 0.20 hijk	4.80 ± 0.10 l
Burra la Cruz	8.50 ± 0.36 e	5.66 ± 0.21 ijkl	5.03 ± 0.12 l
Sandía	10.43 ± 0.64 d	7.50 ± 0.20 f	5.60 ± 0.10 ijkl
Cacalote	12.10 ± 0.50 c	7.46 ± 0.21 fg	3.66 ± 0.15 m
Tapón Aguanoso	10.33 ± 0.59 d	6.43 ± 0.25 hij	5.33 ± 0.15 kl
Sangre de Toro	13.47 ± 0.15 b	6.90 ± 0.26 fgh	5.66 ± 0.12 ij
Rojo Pelón	9.60 ± 0.30 d	6.50 ± 0.26 hi	2.96 ± 0.15 m

CV (%)=3.91

DMS=0.94

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

En un estudio de tunas rojas Chávez *et al.*, (2009) reportan valores del contenido de sólidos solubles totales que varía desde 11.6 hasta 15.3, en la tuna 'Cardona' se obtuvo 15.3, seguido de 'Liria' 14.0, 'Roja Lisa' 13.86, 'Camuesa' y '2-14-2' mostraron valores relativamente menores 11.6 y 11.9 respectivamente, estos resultados coinciden con los reportados recientemente en otros cultivares de tunas producidas en México. El mayor efecto de la aplicación de PEAV en la cantidad liberada de sólidos solubles totales, se observó en tunas rojas 'Cacalote' y 'Rojo Pelón' aumentando 3.80 y 3.54 % respectivamente.

En tunas rojas 'Cardona', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote' y 'Tapón Aguanoso' mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) en sólidos solubles totales de endocarpio comparado con los extractos con aplicación de PEAV y en extractos sin aplicación de PEAV, en tunas 'Rojo Insurgentes', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' se observó diferencias significativa en sólidos solubles en endocarpio, extractos con aplicación de PEAV y extractos sin aplicación de PEAV. En el endocarpio los valores mayores de sólidos solubles se observaron en las tunas rojas 'Burra la Cruz' con 16.43 y 'Rojo Insurgentes' con 15.40, y en extractos de endocarpio con aplicación de PEAV en tunas 'Rojo Insurgentes' con 7.66 y 'Rojo Pelón' con 5.30 y en extractos sin aplicación de PEAV en tunas rojas 'Cardona' y 'Rojo Insurgentes' con 3.36 y 3.16 respectivamente. En el endocarpio los valores menores de sólidos solubles se observaron en tunas rojas 'Tapón Aguanoso' con 9.07 y Orejón con 9.57, en extractos con aplicación de PEAV en las tunas rojas 'Orejón' con 2.46 y 'Sandía' con 2.56 y en extractos sin aplicación de PEAV en las tunas rojas 'Sangre de Toro' y 'Orejón' con 1.63 y 2.26 respectivamente (Cuadro 15). En un estudio realizado por Stintzing *et al.*, (2005), reportan valores de °Brix para tunas verdes de 14.2, naranjas de 12.6, rojas de 14.8 y purpuras de 12.8, los cuales son muy similares a los obtenidos en las nueve tunas rojas analizadas.

**Cuadro 15. Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en sólidos solubles totales en endocarpio y extractos de endocarpio en tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón'.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas	Sólidos Solubles Totales (°Brix)		
	Endocarpio	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	11.37 ± 0.25 c	4.03 ± 0.15 fg	3.36 ± 0.21fghi
Rojo Insurgentes	15.40 ± 0.70 a	7.66 ± 0.21d	3.16 ± 0.29 ghij
Orejón	9.57 ± 0.75 c	2.46 ± 0.21fgh	2.26 ± 0.12 gh
Burra la Cruz	16.43 ± 0.75 a	2.63 ± 0.15 hijk	2.50 ± 0.10 hijk
Sandía	11.20 ± 0.50 b	2.56 ± 0.23 hijk	2.50 ± 0.10 hijk
Cacalote	9.77 ± 0.12 c	2.93 ± 0.25 ghij	2.16 ± 0.06 jk
Tapón Aguanoso	9.07 ± 0.58 c	3.50 ± 0.17 fgh	3.03 ± 0.12 ghij
Sangre de Toro	11.27 ± 0.60 b	4.46 ± 0.15 ef	1.63 ± 0.15 k
Rojo Pelón	11.53 ± 0.31 b	5.30 ± 0.10 e	2.33 ± 0.06 ijk

CV (%)= 5.69

DMS=1.10

<sup>z</sup> Valores con la misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

En un estudio realizado por Cerezal y Duarte (2005), reportaron valores de 14.8 para endocarpio de tuna y de 14.00 y Viloría *et al.*, (2002), reportaron valores de 10.0 de ° Brix en tuna (*Opuntia boldinghii* Br. et R.), el mayor efecto en sólidos solubles totales de la aplicación de PEAV en endocarpio se observó en tunas 'Rojo Insurgentes' y 'Rojo Pelón' aumentando 4.50 y 2.97 % respectivamente.

### 8.1.5 Color de los extractos

Los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Burra la Cruz', 'Cacalote', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) comparados con los extractos sin aplicación de PEAV, en el valor de  $L^*$ , sin embargo en los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Sandía' y 'Tapón Aguanoso' no se observó diferencias significativas en los extractos con aplicación de PEAV comparados con los extractos sin aplicación de PEAV. Los extractos de epicarpio-mesocarpio con aplicación de PEAV de tunas rojas 'Cardona' y 'Burra la Cruz' mostraron valores mayores de  $L^*$  y en los extractos las tunas rojas 'Orejón', 'Sandía', 'Tapón Aguanoso', 'Cacalote', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' se observaron valores menores de  $L^*$ , lo cual demuestra que la aplicación de PEAV disminuyó la luminosidad de los extractos en seis de las nueve tunas rojas analizadas (Cuadro 16). Los datos obtenidos con son ligeramente menores a lo reportado por Yahia y Mondragón (2011), quienes observaron valores de  $L^*$  para la tuna 'Camuesa' de 23.88, 'Cardona' de 24.79 y 'Liria' 34.54.



**Cuadro 16. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en el color de los extractos.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en epicarpio-mesocarpio de tunas rojas	Color de los extractos					
	Con aplicación de PEAV			Sin aplicación de PEAV		
	L	a	b	L	a	b
Cardona	16.60 ± 0.13 g	8.20 ± 0.02 c	0.81 ± 0.04 c	16.20 ± 0.12 h	6.63 ± 0.11 g	-0.87 ± 0.12 f
Rojo Insurgentes	14.10 ± 0.08 k	5.45 ± 0.14 h	0.53 ± 0.06 c	14.10 ± 0.12 k	5.28 ± 0.02 h	0.28 ± 0.15 d
Orejón	15.84 ± 0.16 i	2.98 ± 0.03 k	-0.18 ± 0.05 e	16.00 ± 0.04 hi	1.72 ± 0.10 l	-0.55 ± 0.12 f
Burra la Cruz	18.17 ± 0.07 cd	4.79 ± 0.12 i	1.05 ± 0.05 bc	17.82 ± 0.06 e	4.76 ± 0.12 i	0.51 ± 0.07 cd
Sandía	20.88 ± 0.13 a	11.46 ± 0.12 a	-3.74 ± 0.08 g	20.96 ± 0.10 a	6.80 ± 0.08 g	-0.55 ± 0.19 f
Cacalote	14.60 ± 0.07 j	7.45 ± 0.15 f	0.92 ± 0.05 bc	15.80 ± 0.08 i	5.40 ± 0.03 h	1.01 ± 0.03 bc
Tapón Aguanoso	15.76 ± 0.06 i	4.76 ± 0.03 i	0.73 ± 0.09 c	15.99 ± 0.02 hi	4.26 ± 0.09 j	0.38 ± 0.09 d
Sangre de Toro	17.51 ± 0.08 f	7.54 ± 0.15 ef	1.14 ± 0.10 b	17.90 ± 0.09 de	4.36 ± 0.08 j	0.07 ± 0.03 e
Rojo Pelón	18.34 ± 0.15 c	8.52 ± 0.06 b	1.47 ± 0.04 a	18.78 ± 0.12 b	8.03 ± 0.05 cd	0.98 ± 0.03 bc

**CV: L=0.56, a=1.36, b=45.87**

**DMS: L=0.36, a=0.36, b=6.32**

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

Con respecto al valor de  $a^*$  en extractos de epicarpio-mesocarpio con aplicación de PEAV de tunas rojas 'Cardona', 'Orejón', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron diferencias estadísticas significativas comparados con extractos sin aplicación de PEAV, mientras que en los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas 'Rojo Insurgentes', 'Orejón' y 'Burra la Cruz' no se observaron diferencias significativas. Los extractos de epicarpio-mesocarpio con aplicación de PEAV de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron valores positivos de  $a^*$  lo que indica que presentan tonalidades rojas y en las nueve tunas rojas analizadas hubo un incremento en  $a^*$ , lo que indica que la aplicación de PEAV favorece la extracción de pigmentos. Los valores obtenidos en este estudio son de dos a tres veces menores a los obtenidos por Yahia y Mondragón (2011), con respecto al valor de  $a^*$  para 'Camuesa' reportan un valor de 22.85, 'Cardona' con 22.50 y 'Liria' con 34.93.

En el valor de  $b^*$  los extractos de epicarpio-mesocarpio con aplicación de PEAV de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Sandía', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron diferencias significativas comparados con extractos sin aplicación de PEAV, sin embargo en los extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas 'Burra la Cruz' y 'Cacalote' no se observaron diferencias significativas en los extractos con y sin aplicación de PEAV. Los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas 'Rojo Insurgentes', 'Burra la Cruz', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron valores positivos de  $b^*$  lo que indica que presentan tonalidades amarillas y en las tunas rojas 'Orejón' y 'Sandía' se observaron valores negativos los cuales corresponden a tonalidades azules, en siete de las nueve tunas analizadas aumento el valor de  $b^*$ , estos datos coinciden con los valores reportados para el parámetro  $b^*$  para tuna 'Camuesa' 0.10, 'Cardona' 1.11 y 'Liria' 3.95 Yahia y Mondragón (2011), excepto en las tunas 'Orejón' y 'Sandía' que tienen valores negativos.

En extractos de endocarpio con aplicación de PEAV de tunas rojas 'Cardona', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso' y 'Rojo Pelón' mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) en el valor de  $L^*$ , comparado con extractos sin aplicación de PEAV y en los extractos de endocarpio de tunas 'Rojo Insurgentes', 'Sandía' y 'Sangre de Toro' no se observaron diferencias significativas en los extractos con aplicación de PEAV comparados con los extractos sin aplicación de PEAV con respecto al valor de  $L^*$ . En los extractos de endocarpio con aplicación de PEAV de tunas rojas 'Cardona', 'Cacalote' y 'Sangre de Toro' se observaron valores mayores de  $L^*$  y en las tunas rojas 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' se observaron valores menores de  $L^*$ , lo cual indica que la aplicación de PEAV disminuyó la luminosidad de los extractos en cinco de las nueve tunas rojas analizadas, los resultados observados en esta investigación son menores a los reportados por Yahia y Mondragón (2011), para tunas 'Rojo Lisa' de 34.23, 'Roja Pelota' de 30.19 y '2-14-2' con 33.30, lo que indica que existe mayor luminosidad (Cuadro 17).

En extractos de endocarpio con aplicación de PEAV de tunas rojas 'Cardona', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron diferencias significativas comparados con extractos sin aplicación de PEAV y en los extractos de endocarpio de 'Rojo Insurgentes' no se observó diferencia significativa en los extractos con aplicación de PEAV comparados con los extractos sin aplicación de PEAV, en donde los extractos de endocarpio con aplicación de PEAV de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' se observó un aumento en el valor de  $a^*$ , por lo anterior se sugiere que la aplicación de PEAV favorece la liberación de pigmentos al respecto Yahia y Mondragón (2011), reportan valores de parámetro  $a^*$  para tunas rojas 'Roja Lisa' (29.54), 'Roja Pelota' (29.44) y '2-14-2' (29.89) los cuales son de dos a tres veces mayores a los observados en esta investigación.

**Cuadro 17. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en el color de los extractos.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en endocarpio de tunas rojas	Color de los extractos					
	Con aplicación de PEAV			Sin aplicación de PEAV		
	L	a	b	L	a	b
Cardona	15.71 ± 0.07 e	10.46 ± 0.08 c	1.77 ± 0.19 bc	15.31 ± 0.10 f	9.75 ± 0.18 d	1.25 ± 0.15 ef
Rojo Insurgentes	14.78 ± 0.11g	6.71 ± 0.19 h	0.44 ± 0.15 hi	14.96 ± 0.09 g	6.42 ± 0.11 h	0.31 ± 0.11 i
Orejón	14.17 ± 0.04 h	3.69 ± 0.16 k	-1.12 ± 0.11 k	14.87 ± 0.11 g	3.02 ± 0.05 l	-0.87 ± 0.11 k
Burra la Cruz	15.99 ± 0.02 e	5.95 ± 0.06 i	1.81 ± 0.07 b	16.97 ± 0.09 d	5.06 ± 0.08 j	0.94 ± 0.04 fg
Sandía	18.79 ± 0.14 a	12.03 ± 0.04 a	-5.34 ± 0.11 m	18.86 ± 0.11 a	11.04 ± 0.04 b	-4.23 ± 0.09 l
Cacalote	13.66 ± 0.05 i	8.09 ± 0.04 f	0.45 ± 0.13 hi	13.56 ± 0.08 o	7.74 ± 0.10 g	0.76 ± 0.14 gh
Tapón Aguanoso	14.04 ± 0.05 h	5.94 ± 0.08 i	0.09 ± 0.03j	14.75 ± 0.07 g	5.29 ± 0.07 j	0.16 ± 0.08 ij
Sangre de Toro	16.00 ± 0.04 e	9.68 ± 0.04 d	1.66 ± 0.18 cd	15.98 ± 0.08 e	9.03 ± 0.04 e	1.31 ± 0.03 de
Rojo Pelón	17.32 ± 0.14 c	10.19 ± 0.08 c	2.51 ± 0.09 a	17.92 ± 0.07 b	9.32 ± 0.06 e	2.02 ± 0.02 b

**CV: L=0.56, a=1.36, b=45.87**  
**DMS: L=0.36, a=0.36, b=6.32**

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

Para el valor de  $b^*$  en extractos de endocarpio con aplicación de PEAV de tunas rojas 'Cardona', 'Burra la Cruz', 'Sandía' y 'Rojo Pelón' mostraron diferencias estadísticas significativas con respecto a los extractos sin aplicación de PEAV y los extractos de endocarpio en tunas 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso' y 'Sangre de Toro' no se observaron diferencias significativas en los extractos con y sin aplicación de PEAV. En donde los extractos de endocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Burra la Cruz', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron valores positivos de  $b^*$  lo que indica que presentan tonalidades amarillas y los extractos de tunas rojas 'Orejón' y 'Sandía' se observaron valores negativos los cuales corresponden a tonalidades azules, en ocho de las nueve tunas analizadas aumentó el valores de  $b^*$  con la aplicación de PEAV, para el valor de  $b^*$  Yahia y Mondragón (2011), reportan valores para tunas rojas 'Roja Lisa', 'Roja Pelota' y '2-14-2' de 9.83, 2.09 y 6.36 respectivamente los cuales son similares a los observados en las tunas rojas evaluadas en este estudio excepto en 'Orejón' y 'Sandía' en los cuales se observaron valores de  $b^*$  negativos que corresponden a tonalidades azules.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que las tunas pueden llegar a ser una fuente adecuada para proporcionar tonos personalizados para productos alimentarios como lo propone Stintzing *et al.*, (2005).

## 8.2 Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la estabilidad del color ( $\Delta E$ )

### 8.2.1 A diferentes pH

En extractos de epicarpio-mesocarpio con aplicación de PEAV en tunas 'Cardona', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía' y 'Cacalote' mostraron mayor estabilidad de color y en los extractos de tunas 'Rojo Insurgentes', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' fueron más estables los extractos de epicarpio-mesocarpio sin aplicación de PEAV. Los extractos de epicarpio-mesocarpio que exhiben mayor estabilidad en un rango de pH de 3-7 son los de tunas rojas 'Orejón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de  $\Delta E$  de 0.67 y 1.09 respectivamente y 'Sangre de Toro' sin aplicación de PEAV de 1.38. Los extractos de epicarpio-mesocarpio que mostraron ser más inestables en un rango de pH de 3-7, son los de las tunas 'Sandía' (6.31), 'Cardona' (4.59) sin aplicación de PEAV y 'Tapón Aguanoso' (4.63) con aplicación de PEAV (Cuadro 18), lo que concuerda con lo reportado por Viloría *et al.* (2002), quienes mencionan que los valores máximos de absorbancia son a pH de 6.1 para frutos de *Opuntia boldinghii* Br. Et R., y esto coincide con lo señalado con otros autores para betalaínas (Bilyk, 1981; Delgado *et al.*, 2000; Viloría *et al.*, 2001).

La mayor estabilidad del color de los extractos con valores menores de delta E de epicarpio- mesocarpio en tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' se observó a pH 6, estos resultados son similares a los reportados por Cai *et al.*, (1998), Cai *et al.*, (2001), Castellar (2003), Coskuner (2000), Huang y von Elbe (1987), Pátkai y Barta (1996) y Von Elbe *et al.*, (1971), quienes mencionan que la mayor estabilidad de las betalaínas está a valores de pH cercanos a los naturales del respectivo tejido de donde se extraen.

**Cuadro 18. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en la estabilidad del color a diferentes pH.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas	Estabilidad del color ( $\Delta E$ ) a diferentes pH						CV	DMS
	3	4	5	6	7			
Cardona C/A	5.91 ± 0.10 a	5.75 ± 0.15 a	5.19 ± 0.07 b	4.41 ± 0.19 d	4.85 ± 0.08 c	2.39	0.33	
Cardona S/A	5.28 ± 0.10 a	5.23 ± 0.06 a	4.90 ± 0.13 b	4.59 ± 0.17 b	5.49 ± 0.15 a	1.77	0.32	
Rojo Insurgentes C/A	5.36 ± 0.18 a	5.33 ± 0.19 a	4.98 ± 0.19 a	4.03 ± 0.11 b	5.36 ± 0.18 a	3.18	0.42	
Rojo Insurgentes S/A	2.45 ± 0.16 b	2.43 ± 0.15 bc	2.24 ± 0.07 bc	2.10 ± 0.14 c	4.17 ± 0.08 a	4.72	0.34	
Orejón C/A	1.47 ± 0.15 a	1.42 ± 0.19 a	0.78 ± 0.02 b	0.67 ± 0.17 b	1.68 ± 0.15 a	2.24	0.39	
Orejón S/A	2.03 ± 0.18 a	2.02 ± 0.13 a	1.11 ± 0.10 b	1.09 ± 0.11 b	2.10 ± 0.04 a	7.12	0.32	
Burra la Cruz C/A	6.82 ± 0.16 a	6.57 ± 0.21 a	5.52 ± 0.11 c	3.80 ± 0.14 d	6.15 ± 0.09 b	2.52	0.39	
Burra la Cruz S/A	4.84 ± 0.10 b	4.83 ± 0.11 ab	4.64 ± 0.18 b	4.11 ± 0.17 c	5.11 ± 0.09 a	2.85	0.36	
Sandía C/A	4.59 ± 0.04 a	3.90 ± 0.10 c	3.77 ± 0.19 b	3.67 ± 0.07 bc	4.65 ± 0.13 a	2.96	0.32	
Sandía S/A	6.96 ± 0.15 ab	6.83 ± 0.06 ab	6.70 ± 0.08 b	6.31 ± 0.19 c	7.08 ± 0.08 a	1.77	0.32	
Cacalote C/A	3.58 ± 0.11 b	3.54 ± 0.15 b	3.19 ± 0.12 c	2.57 ± 0.10 d	5.36 ± 0.16 a	3.58	0.35	
Cacalote S/A	4.85 ± 0.07 a	3.63 ± 0.12 c	3.46 ± 0.06 c	3.36 ± 0.19 b	4.85 ± 0.07 a	3.15	0.34	
Tapón Aguanoso C/A	6.39 ± 0.18 ab	6.22 ± 0.10 b	6.15 ± 0.18 b	4.63 ± 0.15 c	6.72 ± 0.14 a	2.49	0.40	
Tapón Aguanoso S/A	4.61 ± 0.15 a	4.07 ± 0.18 bc	3.74 ± 0.17 cd	3.50 ± 0.14 d	4.16 ± 0.03 b	3.56	0.38	
Sangre de Toro C/A	4.21 ± 0.12 a	3.59 ± 0.10 b	3.40 ± 0.11 bc	3.17 ± 0.18 c	4.02 ± 0.14 a	3.59	0.39	
Sangre de Toro S/A	2.70 ± 0.10 a	2.33 ± 0.06 b	1.85 ± 0.14 c	1.38 ± 0.17 d	2.74 ± 0.08 a	5.32	0.31	
Rojo Pelón C/A	3.43 ± 0.08 a	3.41 ± 0.19 a	3.35 ± 0.13 a	2.87 ± 0.13 b	3.52 ± 0.15 a	4.23	0.37	
Rojo Pelón S/A	3.20 ± 0.12 ab	3.15 ± 0.10 b	2.83 ± 0.11 c	2.15 ± 0.12 d	3.47 ± 0.11 a	3.72	0.29	

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma filas son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje, C/A: con aplicación de PEAV, S/A: sin aplicación de PEAV.

En extractos de endocarpio con aplicación de PEAV en tunas 'Rojo Insurgentes', 'Tapón Aguanoso' y 'Sangre de Toro' mostraron mayor estabilidad de color y en las tunas 'Cardona', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote' y 'Rojo Pelón' son más estables los extractos de endocarpio sin aplicación de PEAV. Los extractos de endocarpio que exhiben mayor estabilidad en un rango de pH de 3-7 son los de tunas rojas 'Orejón' sin aplicación de PEAV y con aplicación de PEAV con valores de  $\Delta E$  de 0.68 y 1.22 respectivamente y 'Cacalote' sin aplicación de PEAV de 2.07. Los extractos de endocarpio que se observaron más inestables en un rango de pH de 3-7, son los de las tunas 'Burra la Cruz' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de  $\Delta E$  de 5.68 y 4.93 respectivamente y 'Tapón Aguanoso' (4.79) sin aplicación de PEAV. La mayor estabilidad del color de los extractos con valores menores de  $\Delta E$  de endocarpio en tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' se observó a pH 5-6 (Cuadro 19), lo cual coincide con un estudio realizado en tuna (*Opuntia ficus-indica*) por Strack *et al.*, (2003), en donde mencionan que la mayor estabilidad de los extractos de tuna fue a un pH de 5 a 6 y afirman que la acidificación mejora la estabilidad de las betalaínas y evita la oxidación por polifenoloxidasas y peroxidasas.

Moßhammer, *et al.*, (2005), en un estudio realizado en jugo de tuna reportan valores de betacianinas de 6.4, 7.1 y 7.0 mg/L a pH de 3, 5 y 7 respectivamente; y de betaxantinas de 5.4, 5.8 y 5.4 mg/L a pH de 3, 5 y 7 respectivamente, esto indica que el contenido de betalaínas difiere solo ligeramente en un rango de pH de 3-7 debido a un cambio hipsocrómico. Resultados similares fueron reportados por Kobayashi (2002), en el análisis de betacianinas y betaxantinas de cultivo de raíces de betabel (*Beta vulgaris*), debido a lo anterior no hay cambios significativos en los valores de  $\Delta E$ , lo cual se ve reflejado en una mejor estabilidad del color de los extractos.



**Cuadro 19. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en la estabilidad del color a diferentes pH.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas	Estabilidad del color ( $\Delta E$ ) a diferentes pH						CV	DMS
	3	4	5	6	7			
Cardona C/A	4.18 ± 0.31 ab	4.01 ± 0.19 ab	3.91 ± 0.28 ab	3.80 ± 0.14 b	4.45 ± 0.08 a	5.38	0.58	
Cardona S/A	3.67 ± 0.13 b	3.63 ± 0.09 b	3.14 ± 0.08 c	2.98 ± 0.13 c	4.22 ± 0.16 a	3.37	0.32	
Rojo Insurgentes C/A	4.41 ± 0.15 a	3.82 ± 0.04 b	3.79 ± 0.12 bc	3.51 ± 0.09 c	3.89 ± 0.18 b	3.25	0.34	
Rojo Insurgentes S/A	6.20 ± 0.19 a	5.39 ± 0.13 b	5.38 ± 0.14 b	4.66 ± 0.15 c	5.75 ± 0.17 b	2.85	0.42	
Orejón C/A	1.72 ± 0.01 a	1.64 ± 0.18 a	1.38 ± 0.19 ab	1.22 ± 0.16 b	1.70 ± 0.09 ab	9.42	0.38	
Orejón S/A	1.03 ± 0.16 ab	0.82 ± 0.12 ab	0.81 ± 0.13 ab	0.68 ± 0.10 b	1.09 ± 0.12 a	4.68	0.35	
Burra la Cruz C/A	7.12 ± 0.05 a	6.66 ± 0.12 b	5.75 ± 0.11 c	5.68 ± 0.08 c	6.74 ± 0.14 b	1.56	0.26	
Burra la Cruz S/A	5.65 ± 0.11 ab	5.60 ± 0.11 ab	5.51 ± 0.06 b	4.93 ± 0.11 c	5.85 ± 0.13 a	1.91	0.28	
Sandía C/A	4.41 ± 0.17 b	4.16 ± 0.11 bc	4.01 ± 0.04 cd	3.77 ± 0.10 d	5.78 ± 0.16 a	2.78	0.33	
Sandía S/A	4.08 ± 0.13 b	3.60 ± 0.04 c	3.48 ± 0.14 cd	3.23 ± 0.06 d	4.83 ± 0.12 a	2.75	0.28	
Cacalote C/A	3.02 ± 0.19 a	2.80 ± 0.13 ab	2.63 ± 0.11 b	2.10 ± 0.12 c	2.80 ± 0.13 ab	5.11	0.37	
Cacalote S/A	2.36 ± 0.08 c	2.17 ± 0.14 b	2.14 ± 0.14 c	2.07 ± 0.05 c	3.61 ± 0.19 a	4.90	0.35	
Tapón Aguanoso C/A	4.51 ± 0.10 a	3.86 ± 0.15 b	3.73 ± 0.12 b	3.53 ± 0.12 b	3.86 ± 0.14 b	3.27	0.34	
Tapón Aguanoso S/A	6.99 ± 0.07 a	6.53 ± 0.05 b	6.25 ± 0.15 b	4.79 ± 0.19 c	7.25 ± 0.16 a	2.14	0.36	
Sangre de Toro C/A	3.41 ± 0.13 a	3.35 ± 0.15 ab	3.04 ± 0.18 b	2.47 ± 0.11 c	3.66 ± 0.04 a	4.16	0.35	
Sangre de Toro S/A	2.95 ± 0.06 a	2.94 ± 0.19 a	2.73 ± 0.11 a	2.71 ± 0.07 a	2.98 ± 0.16 a	4.46	0.34	
Rojo Pelón C/A	3.11 ± 0.09 a	3.03 ± 0.14 ab	3.03 ± 0.08 ab	2.71 ± 0.24 b	3.40 ± 0.14 a	4.89	0.40	
Rojo Pelón S/A	2.57 ± 0.12 a	2.56 ± 0.13 a	2.48 ± 0.16 a	2.36 ± 0.29 a	2.65 ± 0.15 a	7.10	0.48	

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma filas son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje, C/A: con aplicación de PEAV, S/A: sin aplicación de PEAV.

Las tunas son una rica fuente de betalaínas las cuales pueden aplicarse en productos alimentarios en un rango de pH de 3–7 sin cambios significativos de tonalidad, esto fue confirmado en estudios anteriores de Stintzing *et al.*, (2003). Las antocianinas son los pigmentos más utilizados que cubren la gama de colores rojo-purpura, las betalaínas exhiben mayor estabilidad en un rango de pH, donde utilizar las antocianinas no es posible (Stintzing y Carle, 2004). Además para el rango de color amarillo-naranja los carotenoides son los pigmentos más utilizados, pero debido a su mala solubilidad en agua, las betaxantinas podrían sustituir a los carotenoides (Azeredo, 2009).

### 8.2.2 A diferentes temperaturas

La temperatura es el factor más decisivo para la desnaturalización de las betalaínas (Ravichandran *et al.*, 2013), lo cual ocasiona un cambio en el color de los extractos, conforme aumenta la temperatura de 40 °C a 100 °C el valor de  $\Delta E$  tiende a aumentar en los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón', los extractos de epicarpio-mesocarpio con aplicación de PEAV mostraron mayor estabilidad en las tunas rojas 'Cardona', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' y únicamente los extractos de epicarpio-mesocarpio de tuna 'Rojo Insurgentes' sin aplicación de PEAV mostraron mayor estabilidad a diferentes temperaturas (Cuadro 20). La mejor estabilidad de los extractos de epicarpio-mesocarpio, con valores menores de  $\Delta E$  se observaron en las tunas rojas 'Tapón Aguanoso' (9.26) y 'Sangre de Toro' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de 10.64 y 11.15 respectivamente, lo cual concuerda con Herbach *et al.*, (2004), quienes mencionan que la liberación máxima de pigmentos se observa en un rango de temperatura de 30-50 °C y que temperaturas mayores a los 60 °C deterioran las betalaínas.

**Cuadro 20. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en la estabilidad del color a diferentes temperaturas.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas	Estabilidad del color ( $\Delta E$ ) a diferentes temperaturas					
	40°C	60°C	80°C	100°C	CV	DMS
Cardona C/A	12.11 ± 0.07 d	14.14 ± 0.15 c	14.70 ± 0.10 b	15.44 ± 0.16 a	0.88	0.32
Cardona S/A	14.86 ± 0.14 b	14.98 ± 0.17 b	15.16 ± 0.09 b	16.21 ± 0.09 a	1.07	0.43
Rojo Insurgentes C/A	11.21 ± 0.11 c	11.50 ± 0.16 bc	11.72 ± 0.14 b	15.23 ± .19 a	1.22	0.39
Rojo Insurgentes S/A	11.35 ± 0.10 c	12.41 ± 0.08 b	12.73 ± 0.21 b	13.10 ± 0.11a	1.07	0.34
Orejón C/A	10.74 ± 0.06 c	11.28 ± 0.25 b	11.27 ± 0.11 b	12.37 ± 0.17 a	1.44	0.43
Orejón S/A	11.86 ± 0.11 c	12.21 ± 0.21 bc	12.62 ± 0.19 b	13.19 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.28	0.41
Burra la Cruz C/A	14.86 ± 0.14 b	14.98 ± 0.17 b	15.16 ± 0.09 b	16.21 ± 0.09 a	1.49	0.40
Burra la Cruz S/A	13.40 ± 0.12 c	13.47 ± 0.10 c	15.07 ± 0.08 b	15.84 ± 0.22 a	0.94	0.35
Sandía C/A	11.68 ± 0.08 d	12.75 ± 0.18 c	13.48 ± 0.07 b	13.95 ± 0.06 a	0.83	0.28
Sandía S/A	13.31 ± 0.20 d	14.23 ± 0.06 c	16.67 ± 0.19 b	18.20 ± 0.18 a	1.07	0.43
Cacalote C/A	13.70 ± 0.20 b	14.15 ± 0.24 ab	14.48 ± 0.22 a	14.54 ± 0.12 a	1.43	0.53
Cacalote S/A	16.33 ± 0.08 b	16.33 ± 0.14 b	16.40 ± 0.23 b	18.17 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.91	0.40
Tapón Aguanoso C/A	4.74 ± 0.15 d	7.68 ± 0.20 c	8.33 ± 0.11b	9.26 ± 0.08 a	1.90	0.37
Tapón Aguanoso S/A	11.36 ± 0.17 d	12.18 ± 0.17 c	13.28 ± 0.25 b	14.15 ± 0.23 a	1.65	0.55
Sangre de Toro C/A	9.31 ± 0.23 c	9.79 ± 0.09 b	9.86 ± 0.09 b	10.64 ± 0.20 a	1.64	0.42
Sangre de Toro S/A	9.77 ± 0.22 c	9.82 ± 0.06 c	10.31 ± 0.15 b	11.15 ± 0.12 a	1.49	0.40
Rojo Pelón C/A	10.56 ± 0.15 b	10.63 ± 0.11 b	10.79 ± 0.05 b	11.42 ± 0.20 a	1.28	0.36
Rojo Pelón S/A	13.28 ± 0.04 b	13.45 ± 0.06 b	13.58 ± 0.18 b	14.21 ± 0.25 a	1.15	0.41

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma filas son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje, C/A: con aplicación de PEAV, S/A: sin aplicación de PEAV.

Los extractos de epicarpio-mesocarpio, que mostraron valores mayores de  $\Delta E$  fueron los extractos de tunas 'Sandía' (18.20), 'Cacalote' (18.17), 'Cardona' (16.21) y 'Burra la Cruz' (16.21) sin aplicación de PEAV, lo que refleja una menor estabilidad del color a diferentes temperaturas.

En los extractos de endocarpio conforme aumento la temperatura de 40 °C a 100 °C el valor de  $\Delta E$  tendió a aumentar en los extractos de tunas 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Sandía', 'Cacalote' y 'Tapón Aguanoso' con aplicación de PEAV y se observó mejor estabilidad en las tunas rojas 'Cardona', 'Burra la Cruz', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' y se obtuvieron mejores resultados en estabilidad del color de acuerdo con el valor de  $\Delta E$  en los extractos sin aplicación de PEAV (Cuadro 20). La mayor estabilidad de los extractos de endocarpio, con valores menores de  $\Delta E$  se observaron en las tunas rojas 'Tapón Aguanoso' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de  $\Delta E$  de 9.82 y 10.28 respectivamente y 'Sangre de Toro' sin aplicación de PEAV con 10.73. La menor estabilidad, con valores mayores de  $\Delta E$  de los extractos de endocarpio se observó en las tunas rojas 'Cacalote' sin aplicación de PEAV y con aplicación de PEAV con 16.71 y 16.02 respectivamente y 'Sandía' (16.07) sin aplicación de PEAV. Durante el tratamiento térmico, las betalaínas son degradadas por isomerización, descarboxilación o la escisión por calor Herbach *et al.*, (2004), lo que ocasiona cambios en las tonalidades del color del extracto lo que concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación.

**Cuadro 21. Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en la estabilidad del color a diferentes temperaturas.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas	Estabilidad del color a diferentes temperaturas ( $\Delta E$ )					
	40°C	60°C	80°C	100°C	CV	DMS
Cardona C/A	12.40 ± 0.06 c	12.55 ± 0.10 c	13.10 ± 0.09 b	15.13 ± 0.03 a	0.56	0.19
Cardona S/A	13.31 ± 0.13 c	14.19 ± 0.08 b	14.22 ± 0.09 b	14.50 ± 0.03 a	0.60	0.22
Rojo Insurgentes C/A	10.23 ± 0.06 c	11.13 ± 0.06 b	11.28 ± 0.14 b	11.61 ± 0.08 a	0.82	0.23
Rojo Insurgentes S/A	10.14 ± 0.10 d	10.81 ± 0.18 c	11.47 ± 0.10 b	12.17 ± 0.09 a	1.10	0.32
Orejón C/A	11.34 ± 0.15 b	11.44 ± 0.12 b	11.67 ± 0.05 ab	12.07 ± 0.25 a	1.36	0.41
Orejón S/A	11.68 ± 0.19 b	11.79 ± 0.47 b	12.13 ± 0.04 b	12.93 ± 0.13 a	2.19	0.69
Burra la Cruz C/A	14.59 ± 0.22 b	14.69 ± 0.09 a	14.71 ± 0.13 a	14.83 ± 0.12 a	0.09	0.37
Burra la Cruz S/A	13.63 ± 0.24 c	13.76 ± 0.18 bc	14.22 ± 0.14 ab	14.32 ± 0.15 a	1.31	0.47
Sandía C/A	14.20 ± 0.09 b	14.43 ± 0.17 b	14.50 ± 0.18 b	15.17 ± 0.12 a	1.00	0.38
Sandía S/A	13.56 ± 0.23 c	13.75 ± 0.17 c	15.65 ± 0.06 b	16.07 ± 0.09 a	1.01	0.39
Cacalote C/A	15.27 ± 0.19 b	15.67 ± 0.14 a	15.98 ± 0.09 a	16.02 ± 0.16 a	0.94	0.38
Cacalote S/A	15.76 ± 0.19 c	16.20 ± 0.02 b	16.22 ± 0.09 b	16.71 ± 0.01 a	0.63	0.27
Tapón Aguanoso C/A	8.97 ± 0.07 c	9.39 ± 0.16 b	9.40 ± 0.16 b	9.82 ± 0.14 a	1.49	0.36
Tapón Aguanoso S/A	9.24 ± 0.07 c	9.78 ± 0.17 b	9.95 ± 0.25 b	10.58 ± 0.13 a	1.70	0.43
Sangre de Toro C/A	9.01 ± 0.11 c	9.70 ± 0.16 b	9.71 ± 0.10 b	11.40 ± 0.07 a	1.15	0.29
Sangre de Toro S/A	6.19 ± 0.07 d	9.83 ± 0.12 c	10.22 ± 0.05 b	10.73 ± 0.15 a	1.15	0.27
Rojo Pelón C/A	11.84 ± 0.17 c	14.64 ± 0.10 b	15.48 ± 0.14 a	15.62 ± 0.07 a	0.88	0.33
Rojo Pelón S/A	12.70 ± 0.10 d	13.90 ± 0.06 c	14.45 ± 0.13 b	14.73 ± 0.09 a	0.69	0.25

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma filas son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje, C/A: con aplicación de PEAV, S/A: sin aplicación de PEAV.

### 8.3 Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la extracción de betalaínas

#### 8.3.1 Betalaínas Totales

En extractos con aplicación de PEAV de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a extractos sin aplicación de PEAV, en extractos de epicarpio-mesocarpio de tuna roja 'Sandía' no se observaron diferencias significativas en extractos con aplicación de PEAV comparándolo con extractos sin aplicación de PEAV para betalaínas totales (Cuadro 26). En una investigación en diferentes cultivares de tunas (*Opuntia ficus-indica*) Butera *et al.*, (2002), mencionan que cultivares de color amarillo muestra el mayor contenido de indicaxantinas que representan el 89% de los pigmentos. La betanina aparece más concentrada en el cultivar de color rojo, lo que representa alrededor de 66% de las betalaínas totales. Los valores mayores de betalaínas se observaron en los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Orejón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 45.49 y 42.34 mg/100g respectivamente, 'Sangre de Toro' con aplicación de PEAV con 29.12 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 26.11 mg/100g y 'Cacalote' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de 25.66 y 24.81 mg/100g respectivamente. Los valores menores de betalaínas se observaron en los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Sandía' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 14.50 y 14.57 mg/100g respectivamente, 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV con 16.07 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 14.40 mg/100g y 'Cardona' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de 16.31 y 13.49 mg/100g respectivamente.

**Cuadro 22. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en betalainas totales.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas	Betalainas Totales (mg/100g peso seco)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	16.31 ± 0.13 k	13.49 ± 0.11 n
Rojo Insurgentes	23.25 ± 0.14 g	21.80 ± 0.18 h
Orejón	45.49 ± 0.19 a	42.34 ± 0.15 b
Burra la Cruz	19.11 ± 0.14 j	15.14 ± 0.12 l
Sandía	14.50 ± 0.17 m	14.47 ± 0.15 m
Cacalote	25.66 ± 0.14 e	24.81 ± 0.15 f
Tapón Aguanoso	24.52 ± 0.09 f	21.18 ± 0.10 i
Sangre de Toro	29.12 ± 0.11 c	26.11 ± 0.10 d
Rojo Pelón	16.07 ± 0.11 k	14.40 ± 0.09 m

CV (%)=0.58

DMS=0.40

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

El contenido de betalainas totales en epicarpio-mesocarpio fue mayor a lo reportado por Castellanos y Yahia (2008), quienes mencionan que la relación y la concentración de pigmentos (betalainas), son responsables del color en los diferentes cultivares y los valores mayores de betalainas de tunas se obtuvo en el cultivar 'Camuesa' (*Opuntia robusta* Wendl) con 8.1 mg/100 g de pulpa seca, que es comparable a la que se encuentra en betabel (*Beta vulgaris* L. ssp. Var. Pablo) 8.6 mg/100 g de tejido seco.

La cantidad de betalainas presentes en los extractos de epicarpio-mesocarpio parece ser característica de cada una de las tunas rojas, el mayor efecto de la aplicación de PEAV en la liberación de betalainas en extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas 'Burra la Cruz' se observó un aumento de 3.97 mg, en 'Tapón Aguanoso' de 3.34 mg y 'Orejón' con 3.15 mg, por lo cual la aplicación de

PEAV favoreció la liberación de betalaínas en ocho de las nueve tunas rojas evaluadas.

La aplicación de PEAV a 7 Kv/cm, permite aumentar el rendimiento máximo de betalaínas por un factor de 4.2 en comparación con las muestras no tratadas, para conseguir la liberación casi completa de dichos pigmentos, la combinación de PEAV con la presión que genera el vacío acorta el tiempo de extracción de 18 veces según lo reportado por López *et al.*, (2009).

En extractos con aplicación de PEAV de endocarpio en tunas 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso' y 'Sangre de Toro' mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a extractos sin aplicación de PEAV, en extractos de endocarpio de tunas rojas 'Cardona' y 'Rojo Pelón' no se observaron diferencias significativas en extractos con aplicación de PEAV comparándolo con extractos sin aplicación de PEAV para betalaínas totales (Cuadro 26). Los valores mayores para la cuantificación de betalaínas se observaron en los extractos de endocarpio de tunas rojas Tapón Aguanoso con aplicación de PEAV con 22.67 mg/100 g y sin aplicación de PEAV con 18.15 mg/100 g, 'Orejón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 22.09 y 18.26 mg/100 g respectivamente y 'Cacalote' con aplicación de PEAV 18.43 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 17.12 mg/100g de pesos seco. Los valores menores de betalaínas se observaron en los extractos de endocarpio de tunas 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 2.84 y 2.80 mg/100g respectivamente, 'Cardona' con aplicación de PEAV de 3.93 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 3.76 mg/100g y 'Sandía' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de 4.82 y 3.71 mg/100g respectivamente. En un estudio realizado por Castellanos y Yahia (2008), mencionan que el mejor solvente para la extracción fue en agua debido a que extrae mayor cantidad de pigmentos.



**Cuadro 23. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en betalaínas totales.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas	Betalaínas Totales (mg/100 g peso seco)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	3.93 ± 0.07 j	3.76 ± 0.01 j
Rojo Insurgentes	8.40 ± 0.9 f	6.42 ± 0.06 h
Orejón	22.09 ± 0.26 a	18.26 ± 0.10 b
Burra la Cruz	12.08 ± 0.05 d	10.53 ± 0.46 e
Sandía	4.82 ± 0.07 i	3.71 ± 0.08 j
Cacalote	18.43 ± 0.38 b	17.12 ± 0.18 c
Tapón Aguanoso	22.67 ± 0.28 a	18.15 ± 0.11 b
Sangre de Toro	8.40 ± 0.19 f	7.21 ± 0.26 g
Rojo Pelón	2.84 ± 0.03 k	2.80 ± .02jk

CV (%)=1.84

DMS=0.60

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

El mayor efecto de la aplicación de PEAV en la liberación de betalaínas en extractos de endocarpio en tunas rojas 'Tapón Aguanoso' se observó un aumento de 3.97 mg y 'Orejón' con 3.15 mg, por lo cual la aplicación de PEAV favorece la liberación de betalaínas en siete de las nueve tunas rojas evaluadas.

En un estudio realizado por Ravichndran *et al*; (2013), analizaron en efecto de la irradiación con microondas en la extracción de betalaínas de betabel (*Beta Vulgaris*) y reportados que este tratamiento aumento un 20 % el contenido de betalaínas extraídas con respecto al control. Castellanos y Yahia (2008), mencionan que con respecto a los diferentes variedades y/o cultivares su estudio confirmó que las variaciones en el contenido de betalaínas totales (betaxantinas amarillo- naranja y las betacianinas rojo-violeta) así como las variaciones en los niveles de ciertas estructuras difieren entre cada variedad y/o cultivar y que las

proporciones de las betacianinas son las principales responsables de la diversidad de colores y tonalidades de las tunas evaluadas. Investigaciones anteriores afirman que la aplicación de pre-tratamientos de PEAV aumenta de forma significativa la extracción de compuestos como el almidón, sacarosa, polifenoles y diferentes pigmentos incluyendo las betalainas y esto es confirmado por Knorr (2007).

### 8.3.1.1 Betacianinas

En extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV, se observaron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a extractos sin aplicación de PEAV, en extractos de epicarpio-mesocarpio de tuna roja 'Sandía' no se observaron diferencias significativas en extractos con y sin aplicación de PEAV para betacianinas. La mayor cantidad de betacianinas se observaron en los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Orejón' con aplicación de PEAV con 33.45 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 29.57 mg/100g y para 'Tapón Aguanoso' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 18.52 y 15.09 mg/100g de peso seco respectivamente (Cuadro 24). La cantidad de betacianinas encontradas en de la tuna roja 'Orejón' es comparable con la cantidad que se reportan en betabel rojo con 50.41 mg/100 g y menores a las que se reportan en algunos betabeles comerciales que es de 40-60 mg/100g según Sobkowska *et al.*, (1991) y de 71-77 mg/100g reportado por Von Elbe *et al.*, (1981). Los valores menores de betacianinas se observaron en los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 8.88 y 8.03 mg/100g respectivamente, 'Cardona' con aplicación de PEAV con 10.88 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 9.07 mg/100g y 'Sandía' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de 10.08 y 9.89 mg/100g respectivamente, estos valores son ligeramente mayores a los reportados para betacianinas con

5.12 mg/100g en tuna (*Opuntia ficus-indica*) cultivadas en Sicilia en un estudio realizado por Butera *et al.*, (2002).

**Cuadro 24. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en betacianinas.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas	Betacianinas (mg/100 g peso seco)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	10.88 ± 0.11 i	9.07 ± 0.08 l
Rojo Insurgentes	15.58 ± 0.10 e	14.36 ± 0.15 g
Orejón	33.45 ± 0.20 a	29.57 ± 0.15 b
Burra la Cruz	11.72 ± 0.19 h	9.61 ± 0.10 k
Sandía	10.08 ± 0.07 j	9.89 ± 0.01 jk
Cacalote	16.55 ± 0.02 d	15.61 ± 0.21 e
Tapón Aguanoso	18.52 ± 0.07 c	15.09 ± 0.01 f
Sangre de Toro	16.91 ± 0.06 d	14.75 ± 0.22 fg
Rojo Pelón	8.88 ± 0.16 l	8.03 ± 0.03 m

CV (%)=0.85  
DMS=0.39

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

El mejor efecto de la aplicación de PEAV en la cantidad de betacianinas liberadas en extractos de epicarpio-mesocarpio se observó en tunas rojas 'Orejón' con un aumento de 3.88 mg y 'Tapón Aguanoso' aumento 3.43 mg.

En extractos con aplicación de PEAV de endocarpio en tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso' y 'Sangre de Toro' se observaron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) comparados con extractos sin aplicación de PEAV, en extractos de endocarpio de tuna 'Rojo Pelón' no se observaron diferencias significativas en extractos con y sin aplicación de PEAV en la cuantificación de betacianinas.

Los valores mayores de betacianinas se observaron en extractos de endocarpio de tunas rojas 'Tapón Aguanoso' con aplicación de PEAV con 16.55 mg/100 g y sin aplicación de PEAV con 13.46 mg/100g, 'Orejón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 15.38 y 12.60 mg/100g respectivamente y 'Cacalote' con aplicación de PEAV con 11.84mg/100g y sin aplicación de PEAV con 10.54 mg/100g peso seco. La cantidades menores de betacianinas se observaron en los extractos de epicarpio de tunas 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 1.59 y 5.57 mg/100g respectivamente, 'Cardona' con aplicación de PEAV con 2.49 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 2.27 mg/100g y 'Sandía' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de 3.50 y 2.48 mg/100g peso seco respectivamente (Cuadro 25), estos valores son menores a los reportados en extractos acuosos de tuna (*Opuntia ficus-indica*) con un total de betacianinas de 24.09 mg EB/100g en un estudio realizado por Prakash y Manikandan (2012) y similares a los reportados por Castellanos y Yahia (2008), en tunas 'Camuesa' con 5.29, 'Roja Pelota' con 2.06, 'Cardona' con 2.04 mg/100g en endocarpio.

**Cuadro 25. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en betacianinas.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas	Betacianinas (mg/g peso seco)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	2.49 ± 0.07 m	2.27 ± 0.01 n
Rojo Insurgentes	5.73 ± 0.03 h	4.34 ± 0.05 i
Orejón	15.38 ± 0.04 b	12.66 ± 0.02 d
Burra la Cruz	7.78 ± 0.02 g	5.83 ± 0.03 h
Sandía	3.50 ± 0.01 k	2.48 ± 0.09 m
Cacalote	11.84 ± 0.08 e	10.54 ± 0.02 f
Tapón Aguanoso	16.55 ± 0.02 a	13.46 ± 0.03 c
Sangre de Toro	3.63 ± 0.03 j	2.89 ± 0.02 l
Rojo Pelón	1.59 ± 0.02 o	1.57 ± 0.02 o

CV (%)=0.58

DMS=0.12

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

El mejor efecto de la aplicación de PEAV en la cantidad de betacianinas liberadas se observó en extractos de endocarpio de tunas rojas 'Tapón Aguanoso' y 'Orejón' aumentando 3.09 y 2.72 mg respectivamente.

En un estudio controlando algunos parámetros del procesos de extracción acuosa realizado en tunas (*Opuntia ficus-indica*) Prakash y Manikandan (2012), reportaron que a una temperatura de 40 °C, un tiempo de extracción de 115 min., y 1.44 g de fruta obtuvieron valores de 13.43 mg/100g de betacianinas.

### 8.3.1.1 Betaxantínas

En extractos con aplicación de PEAV de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas 'Cardona', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' se observaron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) en el contenido de betaxantínas, con respecto a extractos sin aplicación de PEAV, en extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas 'Rojo Insurgentes', 'Sandía', 'Cacalote' y 'Tapón Aguanoso' no se observaron diferencias significativas en extractos con y sin aplicación de PEAV en la contenido betaxantínas (Cuadro 26).

**Cuadro 26. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en betaxantínas.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas	Betaxantínas (mg/100 g peso seco)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	5.39 ± 0.17 h	4.96 ± 0.06 i
Rojo Insurgentes	7.33 ± 0.12 f	7.28 ± 0.07 f
Orejón	12.61 ± .18 b	13.16 ± 0.06 a
Burra la Cruz	7.24 ± 0.16 f	5.49 ± 0.08 h
Sandía	4.38 ± 0.19 j	4.60 ± 0.09 j
Cacalote	9.23 ± 0.06 e	8.98 ± 0.16 e
Tapón Aguanoso	6.00 ± 0.13 g	6.08 ± 0.02 g
Sangre de Toro	12.16 ± 0.15 c	10.50 ± 0.04 d
Rojo Pelón	7.04 ± 0.02 f	6.34 ± 0.12 g

CV (%)=1.51

DMS=0.35

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

El mayor contenido de betaxantínas se observó en extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Orejón' con aplicación de PEAV con 12.61 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 13.16 mg/100 g, 'Sangre de Toro' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 12.16 y 10.50 mg/100g respectivamente y

'Cacalote' con aplicación de PEAV con 9.23 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 8.98 mg/100 g peso seco. El menor contenido de betaxantinas se obtuvo en los extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas 'Sandía' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 4.38 y 4.60 mg/100g respectivamente, 'Cardona' con aplicación de PEAV con 5.39 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 4.96 mg/100g y 'Tapón Aguanoso' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de 6.00 y 6.08 mg/100g peso seco respectivamente, los cuales son comparables con lo reportado por Vergara *et al.*, (2012), en un estudio realizado micro-encapsulación de un extracto de tuna (*Opuntia ficus-indica*) obtuvieron 8.5 mg EI/100 g y también son similares a los valores obtenidos en tunas de origen siciliano donde Butera *et al.*, (2002), reportan betaxantinas en cultivares amarillos con 8.82 mg/100g y en cultivares rojos de 2.61 mg/100g.

En extractos con aplicación de PEAV de endocarpio en tunas 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso' y 'Sangre de Toro' se observaron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) comparado con extractos sin aplicación de PEAV, en extractos de endocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Sandía' y 'Rojo Pelón' no mostraron diferencias significativas en extractos con y sin aplicación de PEAV en la cantidad betaxantinas (Cuadro 27).

La mayor cantidad de betaxantinas liberadas se observó en extractos de endocarpio de tunas rojas 'Cacalote' con aplicación de PEAV con 6.78 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 6.52 mg/100g, Orejón con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 6.86 y 5.55 mg/100g respectivamente y 'Tapón Aguanoso' con aplicación de PEAV con 5.97 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 4.69 mg/100 g peso seco, los cuales son comparables con los obtenidos por Vergara *et al.*, (2014), quienes reportaron valores de betaxantinas de  $8.5 \pm 0.1$  mg EI/100g esto en endocarpio y de  $8.8 \pm 1.2$  mg EI/100 g en extracto ultrafiltrado en tuna (*Opuntia ficus-indica*).

**Cuadro 27. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en betaxantínas.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas	Betaxantínas (mg/100 g peso seco)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	1.43 ± 0.05 jk	1.47 ± 0.02 j
Rojo Insurgentes	2.60 ± 0.05 h	2.08 ± 0.02 i
Orejón	6.86 ± 0.01 a	5.55 ± 0.04 d
Burra la Cruz	4.28 ± 0.02 g	4.90 ± 0.09 e
Sandía	1.29 ± 0.02 kl	1.19 ± 0.08 l
Cacalote	6.78 ± 0.07 a	6.52 ± 0.06 b
Tapón Aguanoso	5.97 ± 0.02 c	4.69 ± 0.08 f
Sangre de Toro	4.60 ± 0.01 f	4.20 ± 0.08 g
Rojo Pelón	1.26 ± 0.02 l	1.24 ± 0.02 l

CV (%)=1.37  
DMS=0.15

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje.

El menor contenido de betaxantínas se obtuvo en los extractos de endocarpio de tunas 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 1.26 y 1.24 mg/100g respectivamente, 'Sandía' con aplicación de PEAV con 1.29 mg/100g y sin aplicación de PEAV con 1.19 mg/100g y 'Cardona' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de 1.43 y 1.47 mg/100g peso seco respectivamente, estos valores son menores a lo reportado para tuna 'Camuesa' con 5.29 mg/100g, y similares a los de tuna 'Roja Pelota' 1.99 mg/100 g, 'Cardona' 1.04 mg/100 g, 2142 con 1.04 mg/100g, de acuerdo con lo reportado por Castellanos y Yahia (2008).



#### 8.4 Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la extracción de Fenoles Totales

En extractos con aplicación de PEAV en epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a extractos sin aplicación de PEAV y no se observaron diferencias significativas en los extractos con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV en epicarpio-mesocarpio de tuna roja 'Orejón'. La mayor cantidad de fenoles se observaron en los extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas 'Cardona' con aplicación de PEAV con 3698.38 mg EAG/100g y sin aplicación de PEAV con 3241.60 mg EAG/100 g, 'Sangre de Toro' con aplicación de PEAV con 3366.11 mg EAG/100 g y sin aplicación de PEAV con 3129.65 mg EAG/100g y 'Orejón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 3090.32 y 3021.85 mg EAG/100 g peso seco respectivamente (Cuadro 28).

El menor contenido de fenoles totales se observó en extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas 'Cacalote' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 1440.10 y 1235.13 mg EAG/100 g, 'Tapón Aguanoso' con aplicación de PEAV con 1556.65 mg EAG/100g y sin aplicación de PEAV con 1323.72 mg EAG/100g y 'Burra la Cruz' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de 1662.30 y 1473.30 mg EAG/100g peso seco respectivamente, los valores son similares con los reportados por Khatabi *et al.*, (2013), quienes determinaron los fenoles presentes en tunas y reportaron que el jugo de endocarpio contiene 1534 mg EAG/100g, el fruto 1781 mg EAG/100 g en tunas rojas y en jugo de endocarpio de 503 mg EAG/100 g y en fruto de 776 mg EAG/100 g en tunas amarillas, también concuerda con los 1550 mg EAG/100g de fenoles totales reportados para betabel (*Beta vulgaris*), en una investigación realizada por Kujala *et al.*, (2000).

**Cuadro 28. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en fenoles totales.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas	Fenoles Totales (mg EAG/100g peso seco)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	3698.39 ± 53.27 a	3241.60 ± 6.04 c
Rojo Insurgentes	2240.38 ± 26.40 g	1717.81 ± 7.93 h
Orejón	3090.32 ± 55.49 d	3021.85 ± 53.09 de
Burra la Cruz	1662.30 ± 16.19 hi	1473.31 ± 21.85 jk
Sandía	2923.70 ± 24.07 e	2728.38 ± 14.58 f
Cacalote	1440.10 ± 32.01k	1235.15 ± 45.86 l
Tapón Aguanoso	1556.65 ± 43.83 ij	1323.72 ± 45.86 l
Sangre de Toro	3366.11 ± 32.81 b	3129.65 ± 29.65 d
Rojo Pelón	2302.19 ± 55.87 g	1603.48 ± 27.46 i

CV (%)=1.53

DMS=109.16

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje, EAG: equivalente a ácido gálico.

En mejor efecto de la aplicación de PEAV en la liberación de fenoles totales en extractos de epicarpio-mesocarpio se observó en las tunas 'Rojo Pelón' aumentando 798.61 mg EAG/100g, 'Rojo Insurgentes' con un aumento de 532.57 mg EAG/100 g y 'Cardona' aumento 456.59 mg EAG/100 g con respecto a los extractos sin aplicación de PEAV.

En extractos con aplicación de PEAV de endocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a extractos sin aplicación de PEAV. La mayor cantidad de fenoles se observaron en los extractos de endocarpio en tunas rojas 'Sandía' con aplicación de PEAV con 1306.51 mg EAG/100 g, 'Tapón Aguanoso' con aplicación de PEAV con 873.61 mg EAG/100 g y 'Orejón' con aplicación de PEAV con 773.94 mg EAG/100 g peso seco respectivamente (Cuadro 29).

El menor contenido de fenoles totales se observó en extractos de endocarpio en tunas 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 256.93 y 226.00 mg EAG/100g, 'Rojo Insurgentes' sin aplicación de PEAV con 411.96 mg EAG/100g y 'Sandía' sin aplicación de PEAV con valores de 410.66 mg EAG/100g peso seco respectivamente.

**Cuadro 29. Efecto de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en fenoles totales.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas	Fenoles totales (mg EAA/100g peso seco)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	726.12 ± 1.19 d	707.83 ± 0.87 e
Rojo Insurgentes	704.36 ± 1.57 e	411.96 ± 1.94 m
Orejón	773.94 ± 1.74 c	702.91 ± 1.82 e
Burra la Cruz	603.11 ± 2.71 g	459.03 ± 1.00 j
Sandía	1306.51 ± 2.77 a	410.66 ± 2.08 m
Cacalote	548.26 ± 1.55 h	418.33 ± 2.89 l
Tapón Aguanoso	873.61 ± 2.26 b	659.00 ± 2.65 f
Sangre de Toro	484.77 ± 2.04 i	446.55 ± 1.89 k
Rojo Pelón	256.93 ± 2.17 n	226.00 ± 1.73 o

CV (%)=0.33

DMS=6.18

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje, EAG: equivalente a ácido gálico.

El mejor efecto de la aplicación de PEAV se observó en los extractos de endocarpio de tunas rojas 'Sandía' aumentando 895.41 mg EAG/100g y en 'Rojo Insurgentes' aumentando 292.40 mg EAG/100g comparado con extractos sin aplicación de PEAV. La cantidad de fenoles totales cuantificados en los diferentes extractos de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' son similares a los reportados para betabel (*Beta vulgaris*) con valores de 1550 mg EAG/100 g de muestra seca, los resultados obtenidos en esta investigación son

similares a los obtenidos en un estudio realizado por Osorio *et al.*, (2011) en *Opuntia joconostle*, quienes reportan valores que variaron de 840 a 986 mg EAG/100g de muestra seca, y no se observó una relación directa entre fenoles totales con el color de los extractos lo cual concuerda con lo reportado por Figueroa *et al.*, (2010).

## **8.5 Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la Actividad Antioxidante**

### **8.5.1 Radical ABTS**

Los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Tapón Aguanoso' y 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) para actividad antioxidante contra el radical ABTS comparadas con aquellos extractos sin aplicación de PEAV y los extractos de epicarpio-mesocarpio con aplicación de PEAV de tunas rojas 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote' y 'Sangre de Toro' no se observaron diferencias significativas con extractos sin aplicación de PEAV, sin embargo, de acuerdo con los valores obtenidos el tratamiento con pulsos eléctricos de alto voltaje favorece la actividad antioxidante contra el radical ABTS, debido que Los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron un aumentó en la actividad antioxidante con aplicación de PEAV comparadas con las que no se les aplico PEAV (Cuadro 30).

**Cuadro 30. Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en la actividad antioxidante con el radical ABTS.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas	Actividad Antioxidante (ABTS) (mg EAA/100 g peso seco)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	1924.20 ± 37.60 a	1742.54 ± 34.35 b
Rojo Insurgentes	1625.78 ± 30.71 b cd	1463.13 ± 43.21 e
Orejón	1715.94 ± 24.86 bc	1219.32 ± 119.25 f
Burra la Cruz	1688.04 ± 72.47 bc	1589.38 ± 78.14 cde
Sandía	2024.55 ± 53.70 a	1980.24 ± 12.68 a
Cacalote	850.21 ± 32.12 gh	750.16 ± 58.95 hi
Tapón Aguanoso	916.52 ± 15.45 g	702.78 ± 67.79 i
Sangre de Toro	1984.43 ± 12.08 a	1926.87 ± 34.87 a
Rojo Pelón	1756.98 ± 63.79 b	1496.91 ± 40.55 de

CV (%)=2.99

DMS=139.23

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje, EAA: equivalente a ácido ascórbico.

La mayor actividad antioxidante contra en radical ABTS fue exhibida por los extractos de epicarpio-mesocarpio de las tunas 'Sandía con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de 2024.55 y 1980.24 mg EAA/100g peso seco respectivamente, y a continuación los extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas 'Sangre de Toro' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV reportando datos de 1984.43 y 1926.87 mg EAA/100g peso seco respectivamente, los extractos de epicarpio-mesocarpio de tunas 'Cardona' con aplicación de PEAV también mostró alta actividad antioxidante con 1924.20 mg EAA/100g peso seco. La capacidad antioxidante total de los extractos de tunas obtenidos en la presente investigación parece ser hasta de dos veces a lo

reportado en pera, manzana, tomate, plátano y uva blanca; y del mismo orden de toronja rosa, uva roja y naranja (Wang *et al.*, 1996).

En contraste la menor actividad antioxidante contra el radical ABTS se observaron en extractos de epicarpio-mesocarpio en la tuna roja 'Tapón Aguanoso' con 702.78 mg EAA/100g peso seco esta sin aplicación de PEAV, en seguida fue el extracto de la tuna 'Cacalote' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con valores de 850.21 y 750.16 mg EAA/100g peso seco respectivamente, debido a lo anterior se infiere que la actividad antioxidante contra el radical ABTS es característica de cada una de las tunas rojas, y aunque el tratamiento con PEAV favorecen dicha actividad antioxidante no la modifica en gran medida.

Estudios recientes en variedades de tunas rojas de origen asiático han mostrado una importante actividad antioxidante al reducir significativamente el estrés oxidativo en pacientes (Bundinsky *et al.*, 2001; Tesorie *et al.*, 2004; Tesoriere *et al.*, 2005). Los pigmentos rojos (betalaínas) parecen ser los principales responsables de esta actividad (Stintzing *et al.*, 2001; Stintzing *et al.*, 2005; Tesoriere *et al.*, 2003; Butera *et al.*, 2002). Dichos estudios reportan que el 15% de la actividad antioxidante total de la tuna es responsabilidad de la vitamina C y el resto de la actividad antioxidante es debido a los compuestos fenólicos y betalaínas (Galati *et al.*, 2003). Estos pigmentos presentan una importante actividad antioxidante sin mostrar efectos tóxicos en seres humanos (Castellar *et al.*, 2003).

Los extractos con aplicación de PEAV de endocarpio en tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) para actividad antioxidante contra el radical ABTS comparadas con aquellas sin aplicación de PEAV, los extractos de endocarpio de tunas rojas 'Orejón' y 'Burra la Cruz' se consideran estadísticamente iguales con aplicación de PEAV como aquellas a las cuales no se les aplico PEAV, sin embargo, de acuerdo con los valores obtenidos el pre-tratamiento con PEAV favorece la actividad antioxidante contra el radical ABTS, debido que los extractos de endocarpio de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo

Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron un aumento en las mediciones con aplicación de PEAV comparadas con las que no se les aplicó PEAV (Cuadro 31).

**Cuadro 31. Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en la Actividad antioxidante con el radical ABTS.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas	Actividad Antioxidante (ABTS) (mg EAA/100g peso seco)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	3774.00 ± 54.04 a	2061.36 ± 53.30 jk
Rojo Insurgentes	2775.60 ± 66.34 de	2133.53 ± 85.68 ij
Orejón	2791.48 ± 87.54 de	2616.79 ± 29.08 ef
Burra la Cruz	2418.89 ± 18.74 gh	2266.53 ± 38.82 hi
Sandía	2490.42 ± 93.16 fg	2233.63 ± 11.25 ij
Cacalote	2867.07 ± 50.93 d	1927.92 ± 48.42 k
Tapón Aguanoso	3471.85 ± 71.99 b	3168.43 ± 87.80 c
Sangre de Toro	3851.10 ± 64.60 a	2488.23 ± 33.25 fg
Rojo Pelón	2533.33 ± 57.74 fg	2235.51 ± 35.61 ij

CV (%)=2.23

DMS=183.16

<sup>z</sup> Valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje, EAA: equivalente a ácido ascórbico.

En extractos de endocarpio de tunas 'Sangre de Toro' y 'Orejón', se observó una mayor actividad antioxidante contra el radical ABTS con valores de 3851.10 y 3774.00 mg EAA /100g peso seco respectivamente, ambas con aplicación de PEAV. En contraste, los valores menores se observaron en los extractos de endocarpio de tuna roja 'Cacalote' con 1927.92 mg EAA /100g peso seco, 'Cardona' con 2061.36 mg EAA /100g peso seco, 'Rojo Insurgentes' con 2133.53 mg EAA /100g peso seco, 'Sandía' con 2233.63 y 'Rojo Pelón' con 2235.51 mg EAA /100g peso seco; todos ellos sin aplicación de PEAV, con lo que se comprueba que el pre-tratamiento con PEAV favorece la actividad antioxidante

exhibida ante el radical ABTS y que la variabilidad observada se debe principalmente a la diversidad genética de las tunas rojas analizadas.

En una investigación realizada por Butera *et al.*, (2002), mencionan que la capacidad de captación de las radicales libres de betalaínas (betanína e indicaxantina) purificadas, se evaluó por la interacción de estas con el radical ABTS y reportan que ambas betalaínas son altamente eficaces, sin embargo la betanína es más activa que la indicaxantina.

### **8.5.2 Radical DPPH**

Los extractos con aplicación de PEAV de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) para actividad antioxidante contra el radical DPPH comparadas con aquellas que no se les aplicó PEAV y los extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote' y 'Rojo Pelón' se consideran estadísticamente iguales, las mediciones con aplicación del PEAV como aquellas a las cuales no se les aplicó PEAV, sin embargo, de acuerdo con los datos obtenidos el pre-tratamiento con PEAV favorece la actividad antioxidante contra el radical DPPH, debido que los extractos de epicarpio-mesocarpio en las tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' mostraron un aumento numérico en las mediciones con aplicación de PEAV comparadas con las que no se les aplicó PEAV (Cuadro 32).



**Cuadro 32. Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en la actividad antioxidante con el radical DPPH.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el epicarpio-mesocarpio de tunas	Actividad Antioxidante (DPPH) (mg EAA/100g peso seco)	
	Con aplicación de PEA V	Sin aplicación de PEA V
Cardona	2154.56 ± 46.67 de	2066.91 ± 30.00 e
Rojo Insurgentes	1537.16 ± 24.27 gh	1434.83 ± 73.10 gh
Orejón	2462.61 ± 23.87 bc	2449.00 ± 81.05 bc
Burra la Cruz	1484.26 ± 62.45 gh	1207.47 ± 89.91 i
Sandía	2543.6 ± 46.65 b	2288.97 ± 66.45 cd
Cacalote	1613.13 ± 89.75 g	1372.57 ± 58.46 hi
Tapón Aguanoso	1357.80 ± 51.73 hi	1222.76 ± 83.15 i
Sangre de Toro	2756.50 ± 4.65 a	2601.53 ± 76.47 ab
Rojo Pelón	1828.41 ± 39.17 f	1441.64 ± 71.53 gh

CV (%)=3.33

DMS=191.85

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEA V: pulsos eléctricos de alto voltaje, EAA: equivalente a ácido ascórbico.

La mayor actividad antioxidante frente al radical DPPH fue observada en los extractos de epicarpio-mesocarpio en tunas rojas 'Sangre de Toro' con aplicación de PEA V y sin aplicación de PEA V con valores de 2756.50 y 2601.53 mg EAA/100g peso seco respectivamente, 'Sandía' con aplicación de PEA V reportó 2543.6 mg EAA/100g peso seco y 'Orejón' con aplicación de PEA V y sin aplicación de PEA V obtuvo 2462.61 y 2449.0 mg EAA/100g peso seco respectivamente.

En contraste la menor actividad antioxidante se observó en extractos de epicarpio-mesocarpio en las tunas rojas 'Burra la Cruz' con 1207.47 mg EAA/100g peso seco esto sin aplicación de PEA V, a continuación 'Tapón Aguanoso' tanto con aplicación de PEA V como sin aplicación de PEA V obtuvo 1357.80 y 1222.76 mg EAA/100g peso seco respectivamente y 'Cacalote' con 1372.57 mg EAA/100g peso seco esto sin aplicación de PEA V. En un estudios realizado por Seeram *et*

*al.*, (2008), reportan que extractos de tunas rojas contienen al menos el doble de la actividad antioxidante que la fresa, ciruela, naranja, toronja, uva roja y blanca, kiwi, manzana, pera y tomate y comparable con la que presenta el vino tinto, granada, arándanos.

Los extractos con aplicación de PEAV de endocarpio en tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote' y 'Sangre de Toro' mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) para actividad antioxidante contra el radical DPPH comparadas con aquellas que no se les aplicó PEAV y los extractos de endocarpio en tunas 'Orejón', 'Tapón Aguanoso' y 'Rojo Pelón' se consideran estadísticamente iguales con aplicación del PEAV como aquellas a las cuales no se les aplicó PEAV, de acuerdo con los valores obtenidos el pre-tratamiento con PEAV afecta la actividad antioxidante contra el radical DPPH, mostrando una notable disminución en los extractos de endocarpio en las tunas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón'; en extracto de endocarpio en tunas 'Cacalote' y 'Sangre de Toro' se observó un aumento numérico con aplicación de PEAV comparadas con los que no se les aplicó PEAV (Cuadro 33).

**Cuadro 33. Efectos de la aplicación pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas rojas: 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' en la Actividad Antioxidante con el radical DPPH.**

Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en el endocarpio de tunas	Actividad Antioxidante (DPPH) (mg EAA/100g peso seco)	
	Con aplicación de PEAV	Sin aplicación de PEAV
Cardona	511.74 ± 91.26 ghi	670.51 ± 61.13 efg
Rojo Insurgentes	272.37 ± 69.64 jkl	502.47 ± 71.44 ghi
Orejón	1235.11 ± 98.92 ab	1283.08 ± 71.49 a
Burra la Cruz	721.14 ± 61 70 ef	936.28 ± 92.59 cd
Sandía	313.75 ± 30.56 ijk	630.38 ± 89.71 fgh
Cacalote	861.56 ± 54.20 cde	457.86 ± 19.09 hij
Tapón Aguanoso	1035.71 ± 38.13 bc	1217.61 ± 86.99 ab
Sangre de Toro	1067.82 ± 80.65 bc	784.62 ± 64.63 def
Rojo Pelón	86.19 ± 29.96 l	189.20 ± 29.80 kl

CV (%)=9.56

DMS=208.02

<sup>z</sup> Valores con las misma letra dentro de las misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ ; MNS: diferencia mínimamente significativa; CV: coeficiente de variación; PEAV: pulsos eléctricos de alto voltaje, EAA: equivalente a ácido ascórbico.

Los valores mayores en actividad antioxidante frente al radical DPPH se obtuvieron en los extractos de endocarpio en tunas 'Orejón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV con 1235.11 y 1283.08 mg EAA/100g peso seco respectivamente, 'Tapón Aguanoso' con 1035.71 mg EAA/100g peso seco y 1217.61, con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV respectivamente, 'Sangre de Toro' con 1067.82 mg EAA/100g peso seco, este último con aplicación de PEAV. Lo anterior demuestra que la aplicación de PEAV en ocho de las nueve tunas rojas analizadas afecta a los compuestos que inhiben el radical DPPH. Los datos menores se observaron en extractos de endocarpio en tunas 'Rojo Pelón' con aplicación de PEAV y sin aplicación de PEAV de 86.19 y 189.20 mg EAA/100g peso seco respectivamente, 'Rojo Insurgentes' con 272.37 mg EAA/100g peso seco y Sandía con 313.75 mg EAA/100g peso seco, ambos con aplicación de

PEAV. Con lo anterior se comprueba que el tratamiento con pulsos eléctricos de alto voltaje afecta la actividad antioxidante exhibida ante el radical DPPH y que la variabilidad observada se debe principalmente a la diversidad genética de las tunas rojas analizadas esto coincide con Scalzo *et al.*, (2005).

Lo anterior indica que extractos de tunas rojas 'Cardona', 'Rojo Insurgentes', 'Orejón', 'Burra la Cruz', 'Sandía', 'Cacalote', 'Tapón Aguanoso', 'Sangre de Toro' y 'Rojo Pelón' presentan buena capacidad antioxidante con respecto a otras especies de alto consumo. Esta característica es importante porque los antioxidantes naturales son elementos esenciales que protegen de la oxidación a las moléculas biológicas en el cuerpo humano. Además, la protección antioxidante en el organismo es clave para el control de algunas enfermedades crónicas, de acuerdo con lo reportado por Figueroa *et al.*, (2010). Además, los extractos acuosos de tunas rojas exhiben una capacidad antioxidante marcada en varios ensayos *in vitro*, incluyendo la oxidación de lípidos en sangre (Tesoriere *et al.*, 2004). En una investigación realizada por Ravichandran *et al.*, (2013), aseveran que la actividad antioxidante de las betalaínas es mayor que la del ácido ascórbico (Vitamina C) y esto coincide con lo reportado por Stinting *et al.*, (2005).

## IX. CONCLUSIONES

La aplicación de PEAV no mostro ningún efecto en la estabilidad de los extractos a diferentes pH (3-7), pero si favoreció la estabilidad a diferentes temperaturas (40-100°C).

La aplicación de PEAV mejoró la liberación de betalaínas y fenoles en todos los frutos de tunas analizadas, se observo mayor efecto en las tunas 'Orejón', 'Tapón Aguanoso' y 'Burra la Cruz' en betalaínas y 'Rojo Insurgentes', 'Rojo Pelón' y 'Sandía' para fenoles.

Las tunas rojas 'Orejón', 'Sangre de Toro' y 'Sandía' mostraron mayor actividad antioxidante tanto para el radical ABTS y DPPH, la aplicación de PEAV favorece la actividad antioxidante para el radical ABTS y no mostró efecto en el radical DPPH.

## X. BIBLIOGRAFÍA

Abidor, I., Arakelyan, L., Chernomordik, L., Chizmadzhev, Y., Pastushenko, V., & Tarasevich, M. (1979). Electric breakdown of bilayer lipid membrane the main experimental facts and their qualitative discussion. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* , 6,37-52.

Alvarez, I., Manas, P., Condon, S., & Raso, J. (2003). Resistance variation of Salmonella enterica serovars to pulsed electric fields treatments. *Journal of Food Science* , 68, 2316- 2320.

Alvarez, I., Raso, J., Sala, F., & Condon, S. (2003). Inactivation of Yersinia enterocolitica by pulsed electric fields. *Food Microbiology* , 20, 691-700.

Arba, M. (2006). Dellahia a cactus pear cultivar from the Mediterranean coast of Northern Morocco. . *Acta Horticulturae* , 728, 37-42.

ASERCA. (1999). La tuna base de las culturas mesoamericanas. *Claridades Agropecuarias* , 71, 9-44.

Attoe, L., & Von Elbe, J. (1985). Oxygen involvement in betanine degradation: Effect of antioxidants. *Journal of Food Science* . , 50: 106-110.

Azevedo, H. (2009). Betalains: properties, sources applications, and stability – a review. *Int. Journal Food Sci. Technology* . , 44:2365-2376.

Badui D. (2006). *Química de los Alimentos*. México, D.F.: Pearson Educación.

Barbosa, C., Fernández, M., & Swanson, B. (2001). Pulsed electric fields: A novel technology for food preservation. *Agro Food Industry Hi-Tech* , 12,9-14.

Barsotti, L., & Cheftel, J. (1999). Food processing by pulsed electric fields. Biological aspects. *Food Reviews International* , 15,181-213.

Barsotti, L., Merle, P., & Cheftel, J. (1999). Food processing by pulsed electric fields. I. En *Physical aspects*. (págs. 15, 163-180.). *Food Reviews international*.

- Bekir, A. (2006). Cactus pear (*Opuntia ficus-indida* Mill). In Turkey, growing regions and pomological traits of cactus pear fruits. . *Acta Horticulturae*. , 728, 51-54.
- Bilyk, A. (1981). Thin-layer chromatographic separation of beet pigments. . *Journal of Food Science*. , 46 (1): 298-299.
- Bilyk, A. (1979). Extractive fractionation of betalains. *Journal Food Sci.* , 44: 1249-1251.
- Bilyk, A., Myron, A., Kolodi, A., & Sapers, M.(1981). Stabilization of Red Beet Pigments with isoascorbic acid. *Journal of Food Science*. , 16: 1616-1617.
- Bonafine, O., Canizales, A., & Laverde, D. (2006). Importancia de los fitoquímicos en la alimentación. *Nutricion Humana*. , INIA 9-12 p.
- Bravo, H., & Sánchez, M. (1995). *El interesante mundo de las cactaceas*. F.C.E.
- Bravo, H. (1978). *Las Cactáceas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México. Volumen I.
- Britton, G. (1999). *Pigments in foods. More than just colours*. Sevilla, España: 1er Congreso Internacional Pigments in Foods.
- Bundinsky, A., Wolfram, R., Oguogho, A., Efthimiou, Y., Stamatopoulos, Y., & Sinzinger, H. (2001). Regular ingestion of *Opuntia robusta* lowers oxidation injury. *Rostaglandis, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* , 65(1),45-50.
- Butera D. (2002). Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruits extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin. *Journal Agricultural Food Chemistry* , 50:6895.
- Butera, D., Tesoriere, L., Di Gaudio, F., Bongiorno, A., Allegra, M., Pintaudi, A., y otros. (2002). Antioxidant activities of Sicilian pickly pear (*Opuntia ficus-indica*)fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 50, 6895-6901.

Cai, Y., & Corke, H. (1999). Amaranthus betacyanin pigments applied in model food systems. . *Journal Agricultural Food Chemistry* , 64, 869-873.

Cai, Y. , Sun, M., & Corke, H. (1998). Colorant Properties and Stability of Amaranthus Betacyanin Pigments. *Journal Agricultural and Food Chemistry.* , 46, 4491-4495.

Cai, Y., Sun, M., & Corke, H. (2003). Antioxidant activity of betalaínas from plants of the amarathacea. *Journal of agricultural and Food Chemistry* , 51,2288-2294.

Cai, Y., Sun, M., Schliemann, W., & Corke, H. (2001). Chemical Stability and Colorant Properties of Betaxanthin Pigment from Celosia argentea. *Journal Agricultural and Food Chemistry* , 49, 4429-4435.

Cai, Y., Sun, M., Wu, H., Huang, R., & Cork, e. H. (1998). Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse Amaranthus species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 46 (6): 2074-2070.

Calvo, C. (1999). *Uso de los colorantes en el campo de la alimentación. Alimentación. Equipos y Tecnología.*

Candelario, M., & Tesoriere, F. (2006). .Horticultural and preliminary economic assessment of cactus pear fruit utilization in Trigray Northem Ethiopia. . *Acta Horticulturae* , 728, 55-59.

Carle, R., Schieber, A., & Stintzing, F. (2002). Identification of betalains from Yellow Beet (*Beta vulgaris* L.) and Cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L.)Mill.), by High-performance Liquid Chromatography-electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal Agricultural and Food Chemestry* , 50,2302-2307.

Castellanos, S., & Yahia, E. (2008). Identification and quantication of betalains from fruit of 10 Mexican prickly pear cultivars by high performance liquid chromatography and electrosplay ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 56,5758-5764.



- Castellar, R., Obón, J., & Fernandez, J. (2003). Color Properties and Stability of Betacyanins from Opuntia Fruits. *Journal Agricultural and Food Chemistry* , 51, 2772-2776.
- Cayupán, C., Ochoa, M., & Nazareno, M. (2011). Health-promoting substances and antioxidant properties of Opuntia sp.fruits. Changes in bioactive-compound contents during ripening process. *Journal Food Chemistry* , 126: 514-519.
- Chavez, S., Gutierrez, U., & Serna, S. (2009). Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cáncer cell cytotoxicity of nine prickly pear (Opuntia spp.) juices . *Plant Foods and Human Nutrition*, 64, 146-152.
- Clark, P. (2006). Pulsed electric field processing. *Food Technology* , 60,66-67.
- Cohen, E., & Saguy, I. (1983). Effect of water activity and moisture content on the stability of Beet powder pigments. *Journal of Food Science* , 48: 703-707.
- Corral, A., Yahia, E., Carrillo, L., & González, A. (2008). Correlation between some nutrition components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 56,10498-10504.
- Coskuner, Y., Turker, N., Erkiz, H., Aksay, S., & Karababa, E. (2000). Effect of pH and temperature on the thermostability of prickly pear (Opuntia ficus-indica) yellow-orange pigments. *Nahrung Food* , 44:261–263 .
- De Haan, S. (2007). Circuitry and pulse shapes in pulsed electric field treatment of food. En H. Lelieveld, S. Notemans, & S. De Haan, *Food Preservation by Pulsed Electric Fields* (págs. 43-69). Cambridge: Woodhead Publishing.
- Delgado V., Jiménez, A., & Paredes, L. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* , 40, 173-289.

Delgado Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes López, O. (2000). Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains-characteristics, Biosynthesis, Processing and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* , 40: 173-289.

Dimitrov, D. (1984). Electric field induced breakdown of lipid bilayers and cells membranes: A this viscoelastic model. *Journal of Membrane Biology* , 78,53-60.

Dok-Go, H., Lee, K., Kim, H., Lee, E., Lee, J., Song, Y., y otros. (2003). Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)- dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isilated from *Opuntia ficus-indica* var.Saboten. *Brain Research* , 965(1-2),130-137.

Domínguez L., Castellar, R., Obon, J., & Almela, L. (2002). Screening and mass – spectral confirmation of betalains in cactus pears. *Journal of Chromatography* , 56(9):591-594.

Elhadi, M., & Cardelario, M. (2001). Nutritional components and antioxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruits (*Opuntia* spp.). *Food Reseach International* , 44, 2311-2318.

European Food Information, C. (2005). <http://www.eufic.org>. Recuperado el Octubre de 2013, de <http://www.eufic.org>.

Farmacopea de los Estados Unidos Americanos (1974). En *The Pharmacopeia of the United States of América*.IV Edición.

Fennema O., & Dekker, M. (1996). Química de los alimentos. Nueva York.

Fernandez, L., & Almela, L. (2001). Application of high performace liquid chomatographi to the characterization of the betalain pigments in pickly pear fruits. *Journal Chromatografia* , 913, 415-420.

Francis, F. (1986). En *Handbook of Food Colorant Patents*. (pág. 181.). Westport,Connecticut EUA.: Food and Nutrition Press Inc.

Francis, F. (1999). *Colorants. Practical guides for the food industry*. Santo Paul, Minnessota: Eagan Press.

Franco, Z. (2004). caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de jiotilla (*Escontria chiotilla*) una cactacea subexplotada. *Tesis de Doctorado*. México, D.F.

Frankel, N., & Meyer, S. (2000). The problems of using one dimensional method to evaluate multifunctional foods and biological antioxidants. *Journal of Science of food and Agriculture* , 80:1925-1941 .

Frati, A., Jimenez, E., & Ariza, C. (1990). Hypoglycemic effect of *Opuntia ficus-indica* in non insulin-dependent diabetes mellitus patients. . *Phytother Res.* , 4, 195-197 .

Frati, M., Vera, L., & Ariza, A. (1992). Evolution of nopal capsules in diabetes mellitus. *Gac. Med. Mex* , 128, 131-436.

Galati, E., Mondello, M., Giuffrida, D., Dugo, G., Miceli, N., Pergolizzi, S., y otros. (2003). Chemical characterization and biological effects of sicilian *Opuntia ficus-indica* L. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *Journal of Food Chemistry* , 51(17),4903-4908.

Gandia, H., Jimenez, A., Calbanes, J., García, C., & Escribana, J. (2010). Stabilization of the bioactive pigment of *Opuntia* fruits through maltodextrin encapsulation. . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (9), 10646-1065.

García C., Gandía H., & Escribano, J. (2011). La combinación de ciertos pigmentos vegetales genera en las flores patrones de fluorescencia que podrían operar a modo de señales para los polinizadores. *Investigación y Ciencia* , 50-57.

García P., Reyes A., Aguirre R., & Pinos R. (2005). Preliminary nutritional and organoleptic assessment of xocostle fruit (*Opuntia* spp.) as a condiment or appetizer. *Food Science* , 3(17): 333-340.

García, B., Reynoso, R., & González, E. (1998). Estabilidad de las betalainas extraídas del garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). *Journal of Food Science and Technology International* , 4: 115-120.

García H., Jimenez A., Arbanes, F., García C., & Escribano, J. (2010). Stabilization of the bioactive pigment of *Opuntia* fruits through maltodextrin encapsulation. *Journal Agricultural and Food Chemistry* , 58:10646-10652.

Gerlach, D., Alleborn, N., Baars, A., Delgado, A., Moritz, J., & Knorr, D. (2008). Numerical simulations of pulsed electric fields for preservation: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* , 9,408-417.

Girod, P., & Zryd, J.(1991). Biogenesis of betalains: purification and partial characterization of DOPA 4,5-dioxygenase from *Amanita*. *Phytochemistry* . , 30 (1): 169-174.

Goodwin, T.(1976). Chemistry and Biochemistry of plant pigments.(citado en Ramos, 1983, Facultad de Química, UNAM). *Academic Press. New York* , Volume I.

Gurrieri, S., Miceli, L., Lanza, M., Tomaselli, F., Bonomo, R., & Rizzarelli, E. (2000). Chemical characterization of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) and Perspectives for the storage of its Juice. *Journal Agricultural and Food Chemistry* , 48, 5424-5431.

Henry, B. (1996). Natural food colorants. En B. S. Henry, "*Natural Food colors*". . Houghton. : Blackie Academic Professional.

Herbach, K., Maier, F., Stintzing, R., & Carle. (2007). Effects of processing and storage in juice colour and betacyanin stability of purple pitaya (*Hylocereus podyrhizus*) juice. *Eur. Food Res. Technol.* , 224:649-658.

Herwood, D. (1990). Human healthy discoveries with *Opuntia* sp. (prickly pear). *Horticultural Science* , 25,1515-1516.

- Heuer, S., Richter, S., Metzenger, J., Wray, V., Nimtz, M., & Strack, D. (1994). Betacyanins from bracts of (*Bougainvillea glabra*). *Phytochemistry* , 37:761.
- Hidalgo B., Moreno Á., & Vilario M. (2001). Isolation and identification of betacyanin from fruits of *Opuntia boldinghii* Br. Et R. by HPLC. *Cienc. Tecnol. Aliment.* , 3. 3:140-143.
- Huang, A., & Von Elbe, J. (1985). Kinetics of the degradation and regeneration of betanine. *Journal Food* , 50:1115.
- Huang, A., & Von Elbe, J. (1986). Stability comparison of two betacyanine pigments amaranthine and betanine. *Journal Food* , 51:670.
- Huang, S., & Von Elbe, J. (1987). Effect of pH on the degradation and regeneration of betanine. . *Journal of Food Science* , 52: 1689-1693.
- Impellizzeri, G., & Piatelli, M. (1970). 2-Descarboxybetanidin, a minor Betacyanin from *Carpobrotus acinaciformis*. *Phytochemistry* , 9: 2553- 2556.
- Imperato, F., & Piatelli, M. (1970). Pigments of *Bougainvillea glabra*. *Phytochemistry* , 9: 455-458.
- Jackman, R., & Smit, J. (1996). Anthocyanins and betalains. En G. F. Hendry, & J. D. Houghton, *Natural Food Colorants* (págs. 244-309). London: Blackie Academic and Professional.
- Jackman, R., & Smith, D. (1996). *Natural Food Colorants. Anthocyanins and betanins*. Glasgow, Escocia: Blackie academic and Professional.
- Jackman, R., & Smith, J. (1996). Betacyanin. En G. A. Hendry, & J. D. Houghton, *Natural Food Colorants*. London.: Eds., Blackie.
- Jagota, S., & Dani, H. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin Phenol Reagent. . *Anal Biochemistry* , 127:178-182.

Jemai, A., & Vorobiev, E. (2007). Effect of moderate electric field pulses on the diffusion coefficient of soluble substances from apple slices. *Journal of Food Science and Technology* , 37, 73-86.

Joshi, R., Hu, Q., Schoenbach, K., & Hjalmarson, H. (2002). Improved energy model for membrane electroporation in biological cells subjected to electrical pulses. *Physical Reviews Statistical, Nonlinear and Soft Matter Physics* , 65,041920.

Kanner, J., Harel, S., & Gradi, R. (2001). Betalains a new class of dietary cationised antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 49, 5178-5185.

Kati, O. (2004). Antioxidant compounds from four opuntia cactus pear fruit varieties. *Journal Food Chemistry* , 85,527-533.

Kazazi, H., Rezaei, K., Ghotb Sharif, S. J., Emam Djomeh, Z., & Yamini, Y. (2007). Supercritical fluid extraction of flavors and fragrances from *Hyssopus officinalis* L. cultivated in Iran. *Food Chemistry* , 105, 805-811.

Klinger, W., Pinzón, A., Pachón, M., Rojas, L., & Aragón, J. (2002). Estudio de las especies promisorias productoras de colorantes en el trapecio amazónico. *Estudio de las especies promisorias productoras de colorantes en el trapecio amazónico*. Bogotá, Colombia: Centro de Investigación y Desarrollo Científico Universidad Distrital Francisco José de Caldas.

Knorr, D., Toepfl, S., & Heinz, V. (2007). History of pulsed electric field treatment. En HLM Lelieveld, S Notermans, SWH de Haan. En *Food preservation by pulsed electric fields* (págs. 9-39). Woodhead Publishing: Cambridge.

Kobayashi, N., Schmidt, J., Nimtz, M., Wray, V., & Schliemann, W. (2000). Betalains from Christmas cactus. *Phytochemistry* , 54: 419-426.

Lee, Y., Wiley, R., Sheu, M., & Schlimme, D.(1982). Purification and concentration of betalaines by ultrafiltration and reverse osmosis. *Journal Food* , 47:465.

Livrea, M., & Tesoriere, L. (2006). Health benefits and bioactive components of fruits from *Opuntia ficus-indica*(L.)Mill. . *Journal of the Profesioonal Association for Cactus Development*, 73-90.

López, B. (1985). Obtención de colorantes rojos de origen natural a partir del betabel, estudio agroquímico. *Tesis Doctoral* . D.F., México: Facultad de Química. UNAM.

López, N. (2008). Mejora de la transferencia de masa mediante Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje: aplicación al proceso de elaboración de vino. *Tesis Doctoral* . Zaragoza, España. Universidad de Zaragoza.

López, N., Puertolas, E., Álvarez, I., & Raso, J. (2008). Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of must of Tempranillo grapes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* , 9, 477-482.

Lopez, N., Puertolas, E., Condon, S., Raso, J., & Alvarez, I. (2009). Enhancement of the extraction of betanine from red beetroot by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering* , 90,60-66.

Lopez, N., Puertolas, E., Condon, S., Raso, J., & Alvarez, I. (2009). Enhancement of the solid-liquid extraction of sucrose from sugar beet (*Beta vulgaris*) by pulsed electric fields. . *Food Science and Technology* , 42,1674-1680.

Maldonado, S. (2002). *Colorantes Naturales cobran fuerza como productos sanos*.México: Seminario.

Marmion, D.(1982). *Handbook of U.S. Colorants*. Nueva York: John Wiley and Sons.

Martínez, L. (2009). *“Teñido con colorantes naturales, sobre lana” Buenos Aires-Argentina*. . Buenos Aires Argentina: Programa de Diseño Material Publicado en Blog objeto Fieltro.

- MobHammer, M., Stinzing, F., & Carle, R. (2006). Cactus pear fruits (*Opuntia* spp.). A review of processing technologies and current uses. *Journal Prof. Assoc. Cactus.* , 4, 3-10.
- Muñoz, M., Chávez, A., Valles, V., & Roldan, J. (1995). World Review of Nutrition and Dietetics. En A. P. Simopoulos, *A plants of Mainfold Qualities* (págs. 77, 109-134). Switzerland: Karger: Basel.
- Muy, R., Baez, S., González, L., Troncoso, R., & Pacheco, A. (1998). Comportamiento fisiológico y caracterización de pigmentos del fruto del pitayo (*Stenocereus thurberi*) durante su desarrollo. *Revista de Tecnología Alimentaria* , 26 (6): 6-12.
- Nilsson, T. (1970). Studies in to the pigments in beet-root. *Lant bruck shogs kolans Annake.* , 36: 179- 219.
- Noonan, J., & Meggos, H. Synthetic food colours. En *Handbook of Food Additives* (págs. Vol II: 339-383.). Furia T. E.
- Olivares, O., Zabaleta, B., Chimal, H., Montiel, S., Fierro, A., & Scheinvar, L. (2003). *Xoconostle biología y manejo agronómico*. México: Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.
- Osorio E., Ortiz M., Álvarez, L., Dorantes Á., & Giusti. (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Res.* , 44:2160-2168.
- Palevitch, D., Earon, G., & Levin, I. (1993). Treatment of Benign Protatic Hypertrophy with *Opuntia ficus indica* (L) Miller. *J. Herbs. Spices Med. Plants* , 2, 45-49.
- Pasch, J, & Von Elbe, J. (1979). Betanine stability in buffered solutions containing organic acids, metal cations, antioxidants or sequestrants. . *Journal of Food Science* , 44: 72-75.



- Peña, R., Scheinvar, L., Cruz, M., Filardo, K., Estrada, Z., & Tapia, A. (2006). Validación de mermelada elaborada con xoconostle (*Opuntia matudaesheinvar*). En *Tecnología* (págs. 18-29.).
- Piatelli, M., & Imperato, F. (1969). Betacyanins of the family Cactaceae. *Phytochemistry* , 8: 1503-1507.
- Pimentel, G. (1984). *Caracterización del pigmento rojo de la jiotilla Escontria chiotilla*. México.: Tesis Doctoral, Facultad de Química. UNAM. .
- Powell, K., & Weaver, J. (1986). Transients aqueous pores in bilayer membranes: A statistical theory. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* , 15, 211-227.
- Premier, R. (2002). Phytochemical composition: A paradigm shift for food – health considerations. *Journal Clin. Nutr.* , 11(56): 5197-5201. .
- Prieto G., Filardo K., Pérez C., Beltran H., & Román G. (2006). *Caracterización física y química de semillas de opuntias (Opuntia spp.) cultivadas en el estado de hidalgo, México*. México: Bioagro.
- Ramos, B. (1983). Utilización de pigmentos rojos de *Escontria chiotilla* como colorante en alimentos. . *Tesis Doctoral* . México: Facultad de Química. UNAM.
- Ravichandran, K., Thaw Saw, N., Mohdaly, A., Gabr, A., Kastell, A., Riedel, H., y otros. (2013). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Research International* , 50: 670-675.
- Reynoso, R., García, F., Morales, D., & González, E. (1997). Stability of betalain pigments from a cactaceae fruit. *Journal Agricultural and Food Chemistry* , 45:2884-2889.
- Riemann, F., Zimmermann, U., & Pilwat, G. (1975). Release and uptake of haemoglobin and ions in red blood cells induced by dielectric breakdown. *Biochimica et Biophysica* , 394,449-46.

Rodríguez N., & Quintero M. (2009). *LVVV Congreso de la SMSR*. San Luis Potosí, México.

Rodríguez, M.(2002). *El color en los alimentos*. México: Diario de la Seguridad Alimentaria.

Rodríguez, P.(1985). Las betalainas como colorantes naturales en alimentos. . *Revista de la Industria Alimentaria*. Vol. 7 , 4 : 9-13.

Sáenz, C. (2006). Características y composición química del nopal. *Food and agricultural Organization (FAO)* , 162.

Sáenz, C. (2006). Utilización agroindustrial del nopal. *Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO* , 162-186.

Sáenz, C., Tapia, S., Chávez, J., & Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Journal Food Chemistry* , 114, 616-622.

Sáenz, H. (1995). Food manufacture and by-products in G. Barbera, P. P. Inglese y B. Pimienta (Eds), *Agro-ecology, cultivation uses of cactus pear*. *FAO Plant Production Protection Paper* , 132, 137-143.

Saguy, I. (1979). Thermostability of red beet pigments (betanine and vulgaxanthin I):Influence of pH and temperature. *Journal of Food Science* , 44: 1554- 1555.

Sapers, G., & Hornstein, J. (1979). Varietal differences in colorant properties and stability of Red Beet pigments. *Journal of Food Science* , 44 (4): 1245-1248.

Scalzo, J., Politi, A., Mezetti, N., & Battino, M. (2005). Plant genotype effect total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21:207-213.

Scheinvar, L. (1988). *Los nopales silvestres del estado de Querétaro en sus tipos de vegetación*. Saltillo. Coah. México: Memoria de la III Reunión Nacional y I Reunión Internacional. El Nopal.

Schliemann, W., Joy, I., Komamine, I., Metzger, J., Nimtz, M., Wray, V., y otros. (1996). Betacyanins from plants and cell cultures of *Phytolacca Americana*. . *Phytochemistry* , 42: 1039-1046.

Schliemann, W., Cai, Y., Degenkolb, T., Schmidt, J., & Corke, H. (2001). Betalains of *Celosia argentea*. *Phytochemistry*, 58 (1): 159-165.

Schwartz, S., & Von Elbe, J. (1980). Quantitative determination of individual betacyanin pigments by high-performance liquid chromatography. . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, 540-543.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (26 de Noviembre de 2012). <http://www.sagarpa.gob.mx> . Recuperado el 20 de Octubre de 2013, de <http://www.sagarpa.gob.mx> : <http://www.sagarpa.gob.mx>.

Seera, N., Aviram, M., Shang, Y., Hennig, S., Dreher, M., & Heber, D. (2008). Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol rinch beverages in the United states. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 56, 1415-1422.

Shahidi, F. (2009). Nutraceuticals and functional foods: Whole versus processed foods. *Trends Food Science and Technology* , 20:376-387.

Shih, C., & Wiley, R.(1982). Betacyanine and betaxanthine decolorizing enzymes in the beet (*Beta vulgaris*) root. *Journal food Science* , 47:164.

Sobkowska, E., Czapski, J., & Kaczmarek, R. (1991). Red table beet pigments as food colorant. . *Int. Food Ingr.* , 3, 24-28.

Sree K., Arunasree, M., Roy, R., Redy, C., & Reddanna, P. (2007). Betanin a betacyanin pigment puried from fruits of *Opuntia ficus-indica* indices apoptosis in human chonic myebid leukemia cell line-KS62. *Phytomedicine* , 14:739-746.

Stafford, H.(1994). Review article: Anthocyanins and betalains: evolution of the mutually exclusive pathways. *Plant Science*, 101, 91-98.

Stintzing, F., Hebach, K., Mosshammer, M., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., y otros. (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *Journal Agricultural and Food Chemistry* , 52(2):442-451.

Stintzing, F., Herban, K., Mosshamer, M., Carle, R., Yi, W., & Sallapan, S. (2005). Color betalain pattend and antioxidant properties of cactus pear. *Journal of Agriculturan and Food Cheistry* , 53, 442-451.

Stintzing, F., Schieber, A., & Carle, R. (2001). Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *European Food Research and Technology* , 212(4),396-407.

Strack, D., Vogt, T., & Schliemann, W. (2003). Recent advances in betalain research :review. . *Phytochemistry* , 62 (3): 247-269.

Stuppner, H., & Egger, R. (1996). Application of capillary zone electrophoresis to the analysis of betalains from *Beta vulgaris* . *Journal of Chromatography A.* , 735 (1-2): 409-413.

Tafoya, A., & García, H. A. (1993). Colorantes. En *Bioteconología Alimentaria. 1ª edición.* (págs. Capitulo 15: 486-492.). México D.F. : Editorial Limusa. Grupo Noriega Editores.

Tarasevich, M. (1979). Electric breakdown of bilayer lipid membrane. I. The main experimental facts and their qualitative discussion. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* , 6, 37-52.

Tesoriere, L., Allegra, M., Butera, D., & Livrea, M. (2004). Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant batalains in LDLs: potencial health effects of betalains in humans. *ClinNutr.* , 80(4): 41-50 .

Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M., Fazzari, M., & Livrea, M. (2005). Distribution of betalain pigments in red blood cellsalter comsumption of cactus pear fruit an increased resistenceofthe cells to ex vivo induced oxidative hemolysis an humans. *Journal Agriculturaland food chemistry* , 53:1266-1270.

Tesoriere, L., Butera, D., Arpa, D., Di Gaudio, F., Allegra, M., Gentile, C., y otros. (2003). Increased Resistance to Oxidation of Betalain – Enriched Human Low – Density lipoproteins. *Free Radical Res.* , 35:689-696.

Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A., Allegra, M., & Livrea, M. (2004). Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans. A comparative study with vitamin C. *The Americans Journal of Clinical Nutrition* , 80,395-397.

Teutonico, R., & Knorr, D. (1985). Amaranth: composition properties, applications of a rediscovery food crop. *Food Technology* , 39(4):49.

Toepfl, S., Heinz, V., & Knorr, D. (2007). High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. *Chemical Engineering and Processing* , 46,537-546.

Torres, O. (1997). *De la vista nace*. México. : Tecnología de alimentos, Industria y Mercado.

Vaca, R., & Santana, A.(1999). *La Importancia de los Colorantes en Estados Unidos*. México: Gerencia de Desarrollo de Productos de Información. Banco de Comercio Exterior.

Vaca, R., & Santana, A.(1999). *Principales requisitos para la importación de colorantes en Estados Unidos*. México: Gerencia de Desarrollo de Productos de Información. Banco de Comercio Exterior.

Vereltzis, K., & Buck, E.(1984). Color stability and sensory attributes of chicken frankfurters made with betalains and potassium sorbate versus sodium nitrite. *Journal Food Protec* , 47(1):41.

Vergara, C., Saavedra, J., Sáenz, C., García, P., & Robert, P. (2014). Microencapsulation of pulp and ultrafiltered cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) extracts and betanin stability during storage. *Food Chemistry* , 157: 246-251.

Viades, J. (1984). Colorantes que se consideran nocivos a la salud humana. . *Tesis Doctoral* . México: Facultad de Química. UNAM. .

Vilarios Matos, A., Corbelle Moreno, D., Moreno Alvarez, M. J., & Belén, D. R. (2002). Stability in betalains from tuna pulp (*Opuntia boldinghii* Br. et R.) submitted to a lyophilization process. *Fac. Agron. (LUZ)* , 19: 324-331.

Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., & Bates, D. (2007). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, Doi:10-1016/j.ifset.2007.04.014.

Villegas, L. (1979). Estudio de los colorantes del betabel (*Beta vulgaris*). . *Tesis Doctoral* . México.: Facultad de Química. UNAM.

Villegas, R. L., García, H. F., Caballero, A. Y., & Santos de Flores, E. (1983). Estudio de los colorantes del betabel ( *Beta vulgaris* L.). *Revista de la Sociedad Química de México.* , 27 (4) jul-ag.: 175-183.

Von Elbe, J. H., & Goldman, I. L. (2000). *Natural Food Colorants. The betalains*. Merce Dekker, Nueva York. Basic Symposium Series.

Von Elbe, J. H., Maing, I., & Amundson, C. H. (1974). Colour stability of betanin. *Journal Food Science* , 39, 334-337.

Von Elbe, J., Schwertz, S., & Hildebrand, B. (1981). Loss and regeneration of betacyanin pigments during processing of red beets. *Journal Food Science* , 46, 1713-1715.

Vorobiev, E., & lebovka, N. (2006). Extraction of intracellular components by pulsed electric fields. pulsed electric fields technology for the food industry fundamentals and applications. *Springer* , 153-193.

Wang, H., Cao, G., & Prior, R. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 44, 701-705.

Warris, P. D., & Rhodes, D. N. (1977). Haemoglobin concentrations in beef. *J. Sci. Food Agricultural* , 28:931.

- Weller, T. A., & Lasure, L. L. (1982). Betalains in beet root tissue culture. *Journal Food Sci.* , 47:162.
- Wiley, R., Lee, Y., Saladini, J., Wyss, C., & Topalian, H. (1979). Efficiency studies of a continuous diffusion apparatus for the recovery of betalaínas from the red table beet. . *Journal of Food Science*, 44 (1): 208-212.
- Wouters, P., Alvarez, I., & Raso, J. (2001). Critical factors determining inactivation kinetics. *Trends in Food Science and Technology* , 12,112-121.
- Wouters, P., Bos, A., & Vecket, J. (2001). Membrane permeabilizacion in relation toin activation kinetics of Lactobaccillus specie due to pulsed electric fried . *Applied and Environmental Microbiology* , 67,3092-3101.
- Wrolstand, R. E. (2000). *Food Chemistry and Applications. Colorants*. Sacramento, California: Science Technology System.
- Wu, L. C., Hsiu Wen, H., Yun Chen, C., Chich Chung, C., Yu In, L., & Ja An, A. H. (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry.* , 95:319-327.
- Wu, L. C., Hsiu Wen, H., Yun Chen, C., Chih Chung, C., Yu In, L., & Ja An, A. H. (2002). Fruit flesh betacyanin pigments in Hylocereus cacti . *Journal Agricultural and Food Chemistry* , 50:6086-6089.
- Wybraniec, S., Platzner, I., Geresh, S., Gottlieb, H., Haimberg, M., Mogilnitzki, M., y otros. (2001). Betacyanins from vine cactus Hylocereus polyrhi. *Phytochemistry*, 58: 1209-1212.
- Zamora, J. D. (2007). Antioxidantes micronutrientes en la lucha por la salud. *Journal Food and Chemistry* , 34: 28-32 .
- Zavaleta Beckler, P., Olivares Orozco, L. J., Montiel Salero, D., Chimal Hernández, A., & Scheinvar, L. (2001). Organic fertilization in sour prickly pear (Opuntia Joconostle and O. matudae). *Agrocoencia* , 35(6), 609-614.

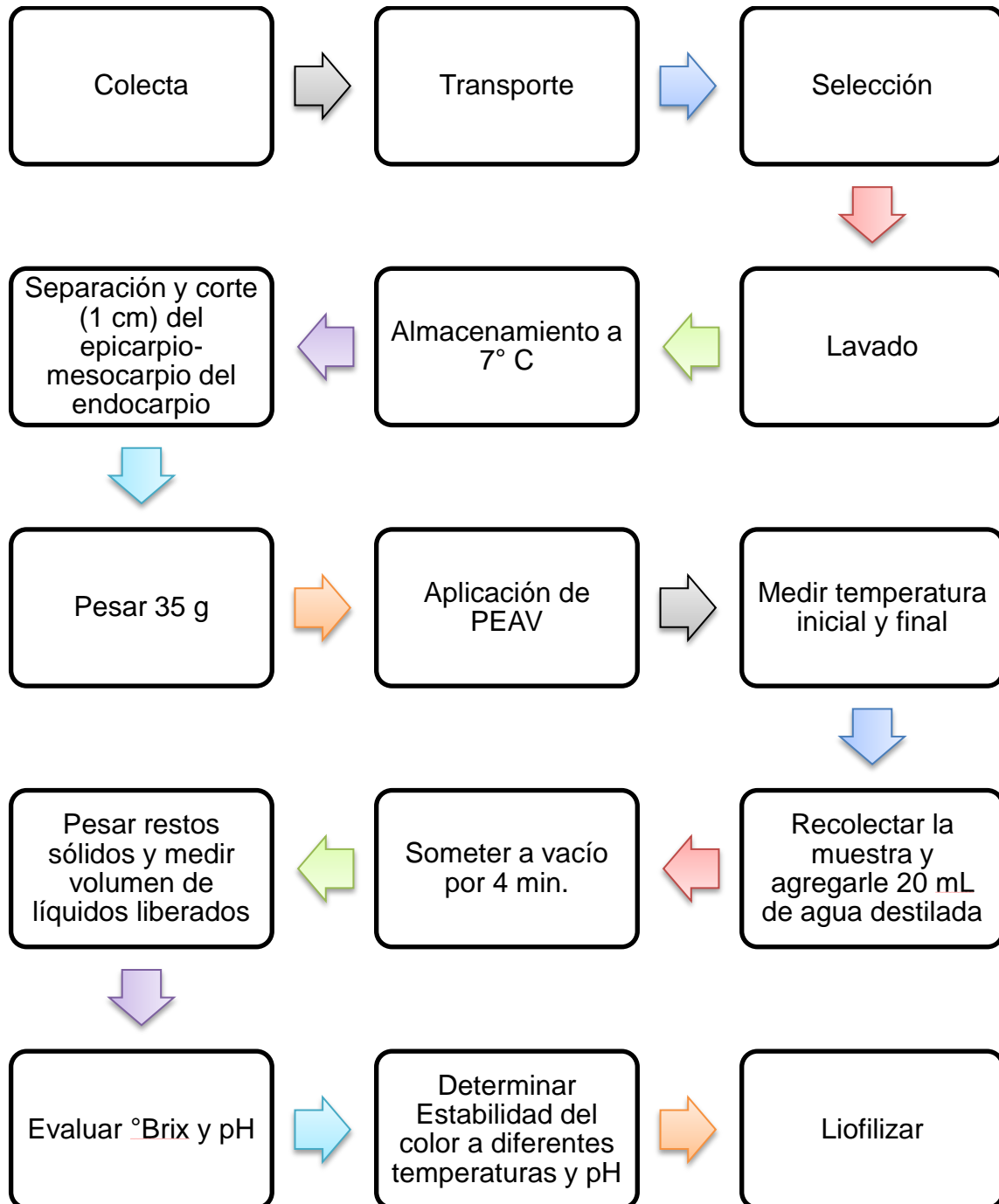
Zhang, Q., Barbosa, C., & Swanson, B. (1995). Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. *Journal of Food Engineering* , 25,261-281.

Zimmermann, U., Pilwat, G., & Riemann, F. (1974). Dielectric breakdown of cell membranes. . *Biophysics Journal* , 14, 881-899.

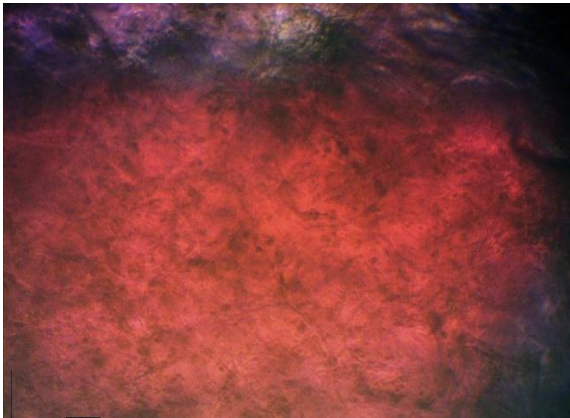


## XI. ANEXOS

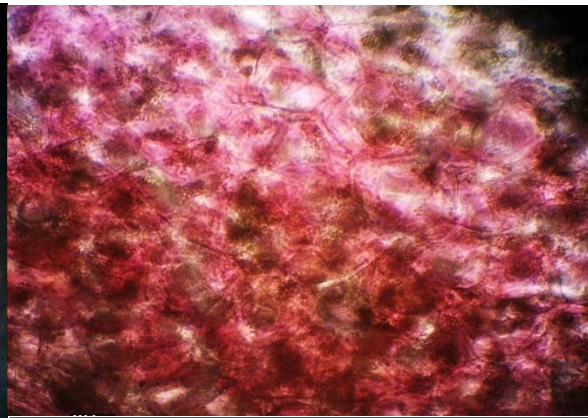
### Diagrama de flujo del proceso de extracción



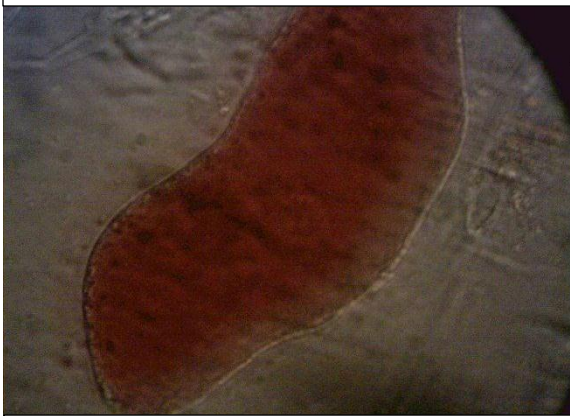
**Efecto de la aplicación de PEAV en epicarpio-mesocarpio y endocarpio de tuna 'Rojo Insurgentes' a nivel microscópico.**



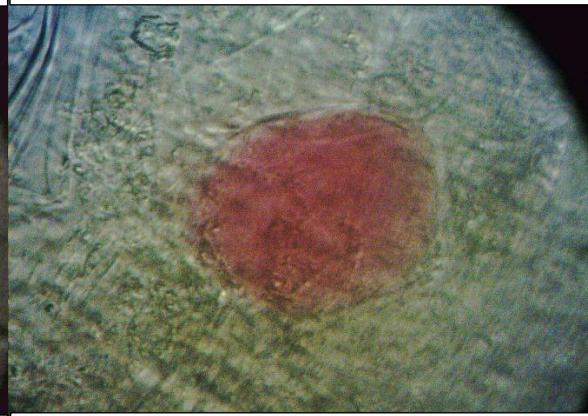
**Epicarpio-Mesocarpio de tuna 'Rojo Insurgentes' sin aplicación de PEAV.**



**Epicarpio-Mesocarpio de tuna 'Rojo Insurgentes' con aplicación de PEAV.**



**Endocarpio de tuna 'Rojo Insurgentes' sin aplicación de PEAV.**



**Endocarpio de tuna 'Rojo Insurgentes' con aplicación de PEAV.**