



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS

Para obtener el grado de

Maestro en Ciencia de los Alimentos

*“Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos encapsulados provenientes del
xoconostle (*Opuntia oligacantha* C. F. Först)”*

PRESENTA:

L.Q.A. Emmanuel Martínez Ramírez

Directora: Dra. Diana Jaqueline Pimentel González

Asesores:

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Externo

Dr. Cesar Pérez Alonso (UAEM)

29 de octubre del 2013

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



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 intitulada: "Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos encapsulados provenientes del xoconostle (*Opuntia oligacantha* C. F. Först)", que desarrolla el estudiante L.Q.A. Emmanuel Martínez Ramírez

Asistentes:

Dra. Diana Jaqueline Pimentel González

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por el estudiante, comunicando al L.Q.A. Emmanuel Martínez Ramírez, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. El 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 la 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 08 de Octubre del 2013.

Dra. Diana Jaqueline Pimentel González

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes



AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Primeramente quiero dar gracias a Dios por permitirme culminar esta etapa en mi vida y por todas las bendiciones otorgadas hasta el momento.

A mi familia también le quiero dar las gracias por su apoyo durante todo este tiempo, a mi papá por su paciencia y consejos hacia conmigo, a mi mamá por su cariño y cuidado, a mi hermana por su amistad y cariño y por último a mi pequeño hermano, por su compañía y cariño, los quiero mucho, y éste trabajo se los dedico a ustedes.

Agradezco también a la Dra. Diana Jaqueline Pimentel González por su paciencia y consejos, no solo para la realización de este trabajo de investigación si no también en el aspecto personal. Al resto del comité de tesis, Dra. Alma Delia Hernández Fuentes y Dr. Rafael Germán Campos Montiel, gracias por su apoyo.

También le doy las gracias a mis compañeros de laboratorio que sin duda alguna, hicieron más amena la estancia y la ciencia, a Rosalba y Elizabeth por transmitirme sus conocimientos con respecto a los antioxidantes, Lupita también por la paciencia y consejos técnicos, a Cesar por la gran ayuda prestada, a mis muchachos de servicio, próximos ingenieros: Ana Karen, Esmeralda y Edher, por su valiosa ayuda, mucha de investigación se la debo a ustedes. Pero más que nada agradezco su amistad de todos ustedes.

Un agradecimiento especial a mi familia de Tulancingo, miembros de la casita azul, Heidi, Ulin y Rene. No tengo muchas palabras para ustedes que no les haya dicho ya, muchísimas gracias por su amistad, que para mí es invaluable, gracias por todos sus consejos y los muchos buenos momentos que vivimos. Agradezco a una miembro no oficial de la casita azul pero que más bien si lo es, Adabella, amiga gracias por la amistad brindada y por aguantarme como tu compañero de viajes, aunque me corras por dormirme.

A mis compañeros de generación: Enaim, amiga nuevamente hemos terminado otra aventura académica, gracias por tu amistad a lo largo de tantos años de conocernos. Luis y Jorge, gracias también por hacer más amena la estancia estudiantil.

A mis amigos y amigas que estuvieron también conmigo en esta etapa, siempre al pendiente de uno: Zaira, Viri, Alma, Mimi y Mario, Ignacio, Germán, Javier, PP. Muchísimas gracias.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	V
I. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
3. MARCO TEÓRICO	5
3.1 Xoconostle	5
3.2 Características del xoconostle	6
3.2.1 Propiedades del xoconostle	7
3.3 Polifenoles	9
3.3.1 Clasificación de los polifenoles	9
3.3.2 Estabilidad de los compuestos fenólicos	13
3.3.2.1 Efecto de la temperatura	14
3.3.2.1 Efecto del oxígeno	14
3.3.2.3 Efecto del pH	15
3.4 Betalainas	15
3.4.1 Propiedades funcionales	17
3.4.2 Estabilidad de las betalainas	17
3.4.2.1 Efecto del pH	18
3.4.2.2 Efecto de la temperatura	18
3.4.2.3 Efecto de la luz	18
3.4.2.4 Efecto del oxígeno	19
3.5 Actividad Antioxidante	19
3.6 Radicales Libres	20
3.7 Cuantificación de la actividad antioxidante	22
3.7.1 DPPH	23
3.7.2 ABTS	24
3.7.3 Método de Folin-Ciocalteau	25
3.8 Encapsulación de compuestos fenólicos	26
3.8.1 Secado por aspersión	28
3.9 Bioaccesibilidad	29
3.9.1 Solubilidad y diálisis	32
3.9.2 Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos	33
4. JUSTIFICACIÓN	34
5. OBJETIVOS	35
5.1 Objetivo general	35
5.2 Objetivos específicos	35
6. HIPÓTESIS	36
7. MATERIALES Y MÉTODOS	37
7.1 Materiales	37
7.2 Enzimas	37
7.3 Reactivos	37
7.4 Equipos	37
7.5 Establecimiento del experimento	38
7.6 Obtención de la pulpa de xoconostle	38
7.7 Microencapsulación de la pulpa de xoconostle	38

7.8 Análisis de las microcápsulas de xoconostle	39
7.8.1 Compuestos bioactivos totales	39
7.8.2 Compuestos bioactivos en superficie.	39
7.8.3 Reconstitución de las microcápsulas de xoconostle	40
7.9 Pruebas de bioaccesibilidad	40
7.10 Proceso de extracción de los compuestos bioactivos	41
7.11 Determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteau	41
7.12 Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH	42
7.13 Determinación de capacidad antioxidante por la técnica ABTS•+.	43
7.14 Determinación de Humedad	45
7.15 Análisis de resultados	46
8. RESULTADOS Y DISCUISIONES	47
8.1 Obtención de los polvos de pulpa de xoconostle	47
8.2 Medición del rendimiento de la microencapsulación de los compuestos fenólicos	48
8.3 Contenido de fenoles totales en la pulpa de xoconostle	49
8.4 Contenido de fenoles totales en las microcápsulas de xoconostle	49
8.5 Bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos durante la digestión in vitro	50
8.5.1 Compuestos fenólicos totales durante la fase gástrica	50
8.5.2 Actividad antioxidante contra el radical DPPH+ durante la fase gástrica	52
8.5.3 Actividad antioxidante contra el radical ABTS durante la fase gástrica	54
8.5.4 Compuestos fenólicos totales durante la fase pancreática	56
8.5.5 Actividad antioxidante contra el radical DPPH+ durante la fase pancreática	59
8.5.6 Actividad antioxidante contra el radical ABTS durante la fase pancreática	61
8.7 Porcentajes de pérdidas de compuestos fenólicos para la evaluación de de la bioaccesibilidad	63
8.8 Porcentaje de bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos	64
8.9 Correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante	66
9. CONCLUSIONES	68
10. RECOMENDACIONES	69
11. BIBLIOGRAFÍA	70
12. ANEXOS	79

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Muestra planta de donde se obtiene el xoconostle.	6
Figura 2. Imagen de un xoconostle variedad cuaresmeño y sus partes	7
Figura 3. Estructura general de los flavonoides	10
Figura 4. Estructura química de la quercitina, flavonol representativo.	11
Figura 5. Estructura química de las flavonas y flavononas	11
Figura 6. Estructura química de las isoflavonas y de las antocianinas	12
Figura 7. Estructura química de un flavanol; catequina	12
Figura 8. Estructura química de los ácidos fenólicos	13
Figura 9. Fórmula general de las betalainas.	16
Figura 10. Muestra la estructura química betanidina	16
Figura 11. Estructura del radical DPPH libre y neutralizado	23
Figura 12: Reacción del radical ABTS•+ cuando es neutralizado.	24
Figura 13. Esquema de las fases de la digestión en el humano y las características de las mismas.	31
Figura 14: Curva de calibrado para medición de Fenoles totales	42
Figura 15: Curva de calibrado para la medición de actividad antioxidante del radical DPPH	43
Figura 16: Curva de calibrado para la medición de actividad antioxidante del radical ABTS•+.	45
Figura 17: Imagen de los polvos obtenidos después de la operación de secado de la solución de extracto de xoconostle con goma arábica y maltodextrina (50:50)	48
Figura 18: Efecto del tiempo en la concentración de fenoles totales expresados en mg equivalentes de ácido gálico/ 100 gr de muestra; durante la fase gástrica en cada tratamiento. PN ,MBG y MR	50
Figura 19: Efecto del tiempo en la actividad antioxidante contra radical DPPH ⁺ expresados en mg equivalentes de ácido ascórbico / 100 gr de muestra; durante la fase gástrica en cada tratamiento. PN, MBG y MR.	53
Figura 20: Efecto del tiempo en la actividad antioxidante contra radical ABTS expresados en mg equivalentes de ácido ascórbico / 100 gr de muestra; durante la fase gástrica en cada tratamiento. PN, MBG y MR .	55
Figura 21: Efecto del tiempo en la concentración de fenoles totales expresados en mg equivalentes de ácido gálico/ 100 gr de muestra; durante la fase pancreática en cada tratamiento. PN, MBG y MR.	57
Figura 22: Efecto del tiempo en la actividad antioxidante contra radical DPPH ⁺ expresados en mg equivalentes de ácido ascórbico / 100 gr de muestra; durante la fase gástrica en cada tratamiento. PN, MBG y MR .	59
Figura 23: Efecto del tiempo en la actividad antioxidante contra radical ABTS expresados en mg equivalentes de ácido ascórbico /100 gr de muestra; durante la fase pancreática en cada tratamiento. PN, MBG y MR.	61
Figura 24: Porcentaje de bioaccesibilidad de compuestos fenólicos para PN, MPG Y MR.	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros físico-químicos de distintas variedades de xoconostle	8
Tabla 2. Radicales más comunes y tiempo de vida promedio	21
Tabla 3. Concentraciones empleadas para la curva de calibrado para fenoles totales expresadas en mg de ácido gálico/L	42
Tabla 4: Efecto de los tratamientos sobre la concentración fenoles totales en cada tiempo de la fase gástrica	51
Tabla 5: Efecto de los tratamientos en la actividad antioxidante contra radical DPPH en cada tiempo de la fase gástrica	53
Tabla 6: Efecto de los tratamientos en la actividad antioxidante contra el radical ABTS en cada tiempo de la fase gástrica	56
Tabla 7: Efecto de los tratamientos sobre la concentración de fenoles totales en cada tiempo de la fase pancreática	58
Tabla 8: Efecto de los tratamientos en la actividad antioxidante contra radical DPPH en cada tiempo de la fase pancreática	60
Tabla 9: Efecto de los tratamientos en la actividad antioxidante contra el radical ABTS en cada tiempo de la fase pancreática	62
Tabla 10: Concentración de compuestos fenólicos y porcentajes de pérdida de pulpa de xoconostle natural, pulpa de xoconostle con biopolímeros y pulpa de xoconostle microencapsulada reconstituida, al inicio, después de la fase gástrica y pancreática in vitro.	64
Tabla 11: Correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante empleando DPPH y ABTS	66

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó el ensayo de bioaccesibilidad para los compuestos fenólicos encapsulados procedentes del xoconostle (*Opuntia oligacantha* C. F. Först). Para la obtención de las microcápsulas, primeramente se obtuvo la pulpa de xoconostle, para ello se realizó una extracción de manera enzimática empleando un complejo de enzimas (Celulasas y Hemicelulasas), con la finalidad de extraer la mayor cantidad de compuestos bioactivos presentes en el fruto. Después la pulpa de xoconostle obtenida, se mezcló con goma arábiga y maltodextrina en una relación 50:50, la mezcla resultante fue secada por aspersión bajo las siguientes condiciones: temperatura de entrada de 160°C, 4 bares de presión y 20 mL/ min de flujo de entrada.

La bioaccesibilidad de compuestos fenólicos fue evaluada en la pulpa natural (PN), mezcla de pulpa con biopolímeros (MPG) y microcápsulas reconstituidas (MR), cada uno de los tratamientos fue mezclado con una solución de pepsina-HCl (fase gástrica), posteriormente se adicionó una solución de pancreatina-sales biliares (fase pancreática), ambas fases, por 2h a 37 °C con agitación. Durante la fase gástrica se observó un aumento en la cantidad de compuestos fenólicos totales para los tres tratamientos con respecto al tiempo inicial. Durante la fase gástrica se observó un incremento en la concentración de compuestos fenólicos, siendo PN estadísticamente superior ($p < 0.05$) a MPG y MR. Durante el proceso final de la simulación gastrointestinal in vitro, fase pancreática, se observó que la concentración alcanzada para MR fue de 74.19 ± 1.45 mg equivalentes de ácido gálico (EAG), mientras que para PN y MPG fue de 61.61 ± 5.13 , 54.40 ± 2.3 respectivamente, siendo mayor estadísticamente ($p < 0.05$) la concentración encontrada en MR.

La actividad antioxidante fue medida por los métodos de DPPH⁺ y ABTS. Para el primero se observó un comportamiento similar al de fenoles totales, durante la fase gástrica se observó un incremento en la actividad antioxidante, siendo PN estadísticamente superior ($p < 0.05$) a MPG y MR. Durante fase pancreática, se

observó que la actividad antioxidante alcanzada para MR fue de 48.60 ± 6.99 mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA), mientras que para PN y MPG fue de 25.54 ± 2.26 y 27.98 ± 6.54 mg EAA/100 g de muestra respectivamente, siendo mayor estadísticamente ($p < 0.05$) la actividad encontrada para MR.

En el caso de ABTS, se observó que durante la fase gástrica el tratamiento PN mostro una mayor actividad antioxidante ($p < 0.05$) con respecto a MPG y MR. Durante la fase pancreática la actividad antioxidante para MR mostró un valor de 52.21 ± 9.34 mg EAA/100 de muestra, mientras que para PN y MPG se encontraron valores de 51.07 ± 5.42 y 53.38 ± 2.36 mg EAA/ 100 g de muestra, por lo que no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tres tratamientos al final del proceso de simulación gastrointestinal *in vitro*.

Las microcápsulas obtenidas mediante el secado por aspersion provenientes del xoconostle, mostraron un efecto positivo en la conservación de las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos, haciéndolos más bioaccesibles al final del ensayo de simulación gastrointestinal *in vitro*.

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas que se tienen hoy en día es el aumento de enfermedades cardiovasculares, tales como la diabetes, colesterol elevado, hipertensión y problemas del corazón. Una forma de poder prevenir estas enfermedades es mediante el consumo de alimentos que contengan compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes, los vegetales y las frutas están asociados a un alto contenido de compuestos antioxidantes (Rojas-Barquera *et al.*, 2008). El xoconostle es un fruto proveniente de las cactáceas y que se encuentra ampliamente diversificado en el continente americano, siendo México el lugar donde más variedades y producción del mismo se desarrollan; el estado de Hidalgo se encuentra dentro de uno de los estados de la República Mexicana de mayor producción, su contenido de compuestos antioxidantes se ha evaluado y comparado con algunos otros frutos y se ha observado que algunas especies contienen una mayor cantidad que algunos frutos convencionales, por lo que se ha propuesto como un fruto rico en compuestos antioxidantes. Sin embargo, su aprovechamiento se limita sólo al consumo del fruto de forma tradicional, debido a las dificultades que presenta durante su manejo poscosecha y al desconocimiento de su potencial alimentario. Dentro de los compuestos antioxidantes identificados en este producto se encuentran los ácidos fenólicos, algunos flavonoides y principalmente las betalaínas; siendo estas responsables de la coloración roja característica, por lo que su uso como colorante en la industria de los aditivos ha llamado la atención. Por otra parte, por ser moléculas de gran sensibilidad física y química, su aprovechamiento integral en la industria alimentaria es limitado. Una de las formas en las que el humano pueda aprovechar íntegramente estos compuestos es protegiendo a estos por medio de las encapsulaciones, ya que con ellas se preserva al compuesto activo de factores que puedan llegar a afectarlos, tales como la presencia de oxígeno, cambio de pH, luz, etc. Una de las formas para evaluar experimentalmente el aprovechamiento estos compuestos es realizando pruebas *in vitro* simulando las condiciones en la que el alimento es digerido, con ellos se ahorran pruebas experimentales con animales o humanos

que tienden a ser complicadas en el sentido de que el organismo de los humanos no es igual para todos, ya que existen diferencias en los metabolismos de cada individuo ocasionando así errores en la medición y gastos mayores. El término que describe a lo antes mencionado se le conoce como bioaccesibilidad.

2. ANTECEDENTES

Previamente se han realizado estudios al xoconostle donde se ha analizado su composición física y química, al respecto Reyes-Agüero *et al.*, (2006) estudiaron la biología reproductiva y partes anatómicas de diversas especies de *Opuntia*. Por otra parte Morales *et al.*, (2012) realizaron análisis físico-químicos a varias partes anatómicas del fruto, destacando la pulpa y las semillas de dos variedades de xoconostle: *Opuntia joconostle*, c.v. Cuaresmeño y *Opuntia matudae*, c.v. rosa. Los resultados que obtuvieron, demuestran que se trata de un fruto con humedad del 93-94% en el caso de la pulpa y de un 60-74% para las semillas, un contenido proteínico por debajo del uno por ciento en el caso de la pulpa y un porcentaje de entre 2-3.8 % en las semillas, el porcentaje en grasa menor al 0.05 % para la pulpa y en semillas de un 2-3.5%. (Osorio-Esquivel *et al.*, 2011). Realizó un estudio de la actividad antioxidante en diversas partes anatómicas del *Opuntia joconostle*, c.v. Cactus, destacando el pericarpio, mesocarpio, endocarpio y el fruto entero, encontrándose una concentración de fenoles totales de: 2.1, 1.4, 1.1 y 1.48 mg de ácido gálico equivalentes por cada gramo de muestra. Además reporta la actividad antioxidante contra el radical DPPH• de diversos extractos obtenidos de las partes anatómicas antes mencionadas, obteniendo un mayor porcentaje de inhibición en el pericarpio (86% de inhibición), seguido del fruto entero (80%).

En cuanto a procesos de encapsulación de fenoles por medio del secado por aspersión. Morales-Luna *et al.*, (2012) realizó un estudio de encapsulamiento de compuestos fenólicos provenientes del xoconostle *Opuntia oligacantha* mezclados con aguamiel, obteniendo un valor de 1.40 ± 0.01 mg EAG/mL en contenido de fenoles totales utilizando las siguientes condiciones de secado: 160 °C, 4 Bares de presión y 20 mL/min de flujo de entrada utilizando una mezcla de goma arábiga y maltodextrina en una relación 50:50; por otra parte Saénz *et al.*, (2009) evaluó la micro-encapsulación de los compuestos bioactivos provenientes de *Opuntia ficus-indica* y de un extracto con etanol, utilizando maltodextrina como agente encapsulante e inulina por separado, las condiciones para el uso del primer material de pared mencionado fue un radio 3:1 entre el extracto y la goma y una

temperatura de 140 °C, mientras que para el caso de la inulina el ratio de la pulpa y extracto variaron de 3:1 y en el extracto orgánico la relación fue 5:1 con una temperatura de entrada de 120 °C, obteniendo una concentración de fenoles totales de 2135 mg EAG/g de polvo.

Los estudios de bioaccesibilidad de polifenoles en extractos de fruta son limitados: Jugo de naranja (Gil-Izquierdo et al., 2002) y jugo de granada (Pérez-Vicente et al., 2002), en los que se aplica el método de diálisis, y zumo de Aronia melanocarpa (Bermúdez-Soto et al., 2007) en el que se utiliza el método de solubilidad. Y en cuanto a la evaluación de la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos encapsulados, sólo se tienen reportes de la utilización de nanoemulsiones para la encapsulación de quercetina (Pool *et al.*, 2012)

3.- MARCO TEÓRICO

3.1 Xoconostle

Las cactáceas han tendido una especial atención en nuestro país desde tiempos muy antiguos por diversas tribus prehispánicas, dentro de este grupo destacan las *Opuntias* (nopalli) comúnmente conocidas como nopales, debido a su importancia tanto económica y nutritiva. El género *Opuntia* abarca alrededor de unas 1500 especies de cactus y muchos de ellos producen frutos dulces (tuna) o frutos ácidos (Xoconostle) (Morales *et al.*, 2012). Las *Opuntias* son originarias del continente americano, se tienen datos de que 61 especies se encuentran ubicadas en México, siendo este un punto central en la diversificación de esta familia de plantas (Filardo *et al.*, 2006).

El xoconostle como se mencionó anteriormente, se refiere al fruto que surge de los nopales, su nombre proviene del náhuatl que significa etimológicamente *nochtli* = tuna; *xoco* = agria, es decir, tuna ácida (Filardo *et al.*, 2006). Su importancia no solo se limita en lo cultural, también lo es en lo comercial y en lo alimentario ya que su producción es sustento para varios campesinos.

Una de las cualidades y ventajas que presenta el xoconostle es su fácil cultivo, ya que se puede adaptar a las condiciones climáticas de las regiones donde se encuentra, estas se caracterizan por las escasas lluvias, predominando así un clima caliente y seco. Este fruto puede estar en la planta por varios meses sin deterioración alguna, a demás de que posterior a su cosecha, éste puede estar almacenada por varias semanas en un medio ambiente frío y seco sin que propiedades como el sabor, color y humedad se vean afectadas (Zabaleta-Beckler *et al.*, 2001)

Las cactáceas están distribuidas desde Canadá hasta Argentina, siendo México el centro más importante de diversidad con 669 especies 244 subespecies (Guzmán *et al.*, 2003; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). Entre los estados con mayor producción de xoconostle se encuentra el estado de Jalisco en los municipios de San Juan de los Lagos, Tepatitlán y Valle Guadalupe (Arias y Martínez 1988); San Luis Potosí

es otro estado con una buena producción destacando el municipio de La Pila. En el estado de México destacan Tecamac y Acomalán. Mientras que en el estado de Hidalgo, los municipios de Pachuca, Zempoala y en el Valle de Mezquital, así como los límites entre este estado y el de Querétaro (Scheinvar, 1988).

En 2008, los estados de Hidalgo y México sumaron una superficie cosechada de mil 256 hectáreas con una producción de 12 mil 298 toneladas. A través de los años el xoconostle se ha consumido en fresco, sin embargo, últimamente su industrialización se ha visto creciente, toda vez que este fruto se utiliza como ingrediente para salsas, botanas, dulces, licores o para acompañar bebidas alcohólicas (SAGARPA 2010).

3.2 Características del xoconostle

El xoconostle al ser un fruto, presenta características típicas de de los mismos, su morfología es esférica-ovoidal. El fruto va de forma elipsoide a piriforme, de aproximadamente 2.5-4.0 cm de largo y 1.5-2.5 cm de ancho, externamente verde-purpúreo y pulpa rosa-rojiza; aréolas sin espinas, con lana grisácea y glóquideas castaño-rojizas (Filardo S. *et al.*, 2006). Figura 1 muestra la planta en donde se encuentra el fruto.



Figura 1. Muestra planta de donde se obtiene el xoconostle.

Presenta un pericarpio con un color entre rosa-rojo ligero y un succulento mesocarpio con una coloración entre amarillo-rosa, en el fondo se encuentra un

endocarpio con una coloración en su mayoría roja, en el que las semillas de color café se encuentran embebidas formando así un compuesto mucilaginoso (Osorio-Esquivel *et al.*, 2011). A diferencia de la tuna dulce, el xoconostle presenta un alto desarrollo de la pared (cáscara) y un pobre contenido de pulpa. El mesocarpio (pulpa) es la parte comestible de este fruto, y es usado como condimento en la comida mexicana. La Figura 2 ilustra la forma de un xoconostle y sus partes.

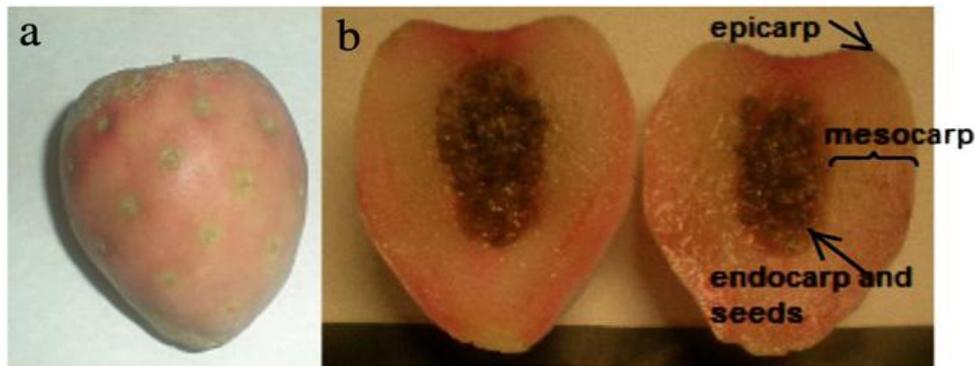


Figura 2. Imagen de un xoconostle variedad cuaresmeño y sus partes; a) el fruto entero y b) partes anatómicas del xocostle. Imagen tomada de Morales *et al.*, (2012)

3.2.1 Propiedades del xoconostle

En años recientes se han desarrollado investigaciones sobre la caracterización en diversas variedades, en la mayoría de ellos se puede destacar que los valores de pH, proteína y lípidos son similarmente parecidos, mientras que los valores de azúcares, fibra y algunos minerales son diferentes (García-Pedroza *et al.*, 2005; Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010), esto se puede observar en la Tabla 1, además en ella se muestran las propiedades del fruto en polvo, también se encuentra una comparación con la pulpa de un xoconostle de la variedad *O. matudae* rosa en el que se puede apreciar que los parámetros cambian en cada parte del fruto; mesocarpio, endocarpio y pericarpio.

Tabla 1: Parámetros físico-químicos de distintas variedades de xoconostle García-Pedroza *et al.*, 2005; a) medición en pulpa Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010

Parámetro	<i>O. duranguensis</i>	<i>O. joconostle colorado</i>	<i>O. joconostle xoconostle</i>	<i>O. matudae cv. blanco</i>	<i>O. matudae cuaresmeño</i>	<i>O. matudae rosa</i> ^a
pH	3.3	3.1	3.2	2.9	3.1	3.0
Proteína (%)	2.9	3.1	3.2	3.4	2.75	0.75
Lípidos (%)	0.8	0.9	1.0	0.8	0.8	0.04
CHO's (%)	12	9.1	10.7	9.3	14.9	3.93
Fibra (%)	14.4	11.6	16.7	14.4	14.4	1.74
Na (mg/100g)	14.4	5.9	12.1	4.8	10.5	*
K (mg/100g)	1 746.8	1 943.3	3 328.7	1 742.2	1 451.8	**

Una de las características que se ha venido mencionando es el carácter ácido que presenta el xoconostle, que a diferencia de la tuna dulce, la cual posee valores de pH entre 5.2 y 6, marca una ventaja en cuanto al manejo y vida de anaquel, ya que los periodos de almacenamiento son más largos sin presentar deterioro alguno a lo largo de éste (Bravo, 1978)

Una de las propiedades que se han descubierto recientemente y ya sabido por generaciones anteriores, es el poder benéfico que posee, se ha utilizado para el tratamiento de diversas enfermedades en la medicina folklórica, por ejemplo para el tratamiento contra la diabetes, colesterol elevado (Pimienta-Barrios *et al.*, 2008) esto se debe gracias al poder antioxidante que presentan algunos compuestos que tiene el xoconostle (Osorio-Esquivel *et al.*, 2011), posee azúcares fácilmente absorbibles, fibra dietética, ácido ascórbico, polifenoles, carotenoides y pigmentos

como las betalainas y compuestos fenólicos. En tanto que las semillas aportan ácidos grasos insaturados (Morales *et al.*, 2012). Por lo tanto el consumo de este alimento proporciona compuestos que nos ayudan a mantener una buena salud.

3.3 Polifenoles

Los estudios epidemiológicos avalan que el consumo de frutas y hortalizas frescas tienen un papel importante en la dieta humana, ya que ayudan a prevenir enfermedades crónico-degenerativas como las cardiovasculares, distintos tipos de cáncer y problemas neurológicos (Molina-Quijada *et al.*, 2010; Manach *et al.*, 2005). Este efecto protector ha sido atribuido a los compuestos bioactivos conocidos como compuestos fenólicos, a los que se les puede encontrar en frutas y hortalizas, teniendo en su mayoría actividad antioxidante (Molina-Quijada *et al.*, 2010; Borowska, 2003). Sumado a lo anterior se ha demostrado que la presencia de estos compuestos tienen que ver con el retraso de los procesos de senescencia en diferentes vegetales (Hodges y Forney, 2003).

En la actualidad no se tienen ingestas diarias recomendadas de polifenoles, aunque de acuerdo a (Cilla. 2010) hace una aproximación basado en la cantidad de polifenoles ingeridas dentro del programa “5 al día”. Por ello, utilizando datos de la USDA de ingestas de los compuestos anteriormente mencionados en individuos que consumen 5 piezas de frutas o verduras al día, se podrían alcanzar valores de ingesta >500mg/día, incrementándose dicho valor entre 500-1000 mg/día si se considera la ingesta de otros alimentos ricos en polifenoles como lo es el café, té o cacao.

3.3.1 Clasificación de los polifenoles

A los polifenoles se les puede encontrar como constituyentes comunes en varios alimentos de origen vegetal; estos comprenden una amplia variedad de moléculas que poseen una estructura de polifenol; es decir varios grupos hidroxilo unidos a anillos aromáticos, también se refiere a moléculas con un anillo de fenol, tales como los ácidos fenólicos y alcoholes fenólicos. Los polifenoles están divididos en

varias clases de acuerdo al número de anillos fenólicos que estos contengan y de los elementos estructurales que estén unidos al anillo/anillos. Los principales grupos de polifenoles son: flavonoides, ácidos fenólicos, alcoholes fenólicos, estilbenos y lignanos (Archivio *et al.*, 2007)

Los flavonoides comparten una estructura carbonada común de difenil-propanos, dos anillos bencénicos (anillo A y B) unidos por una cadena linear de tres carbonos, pero esta a su vez forma un anillo piranoso cerrado (anillo C) con uno de los anillos bencénicos (figura 3) (Archivio *et al.*, 2007).

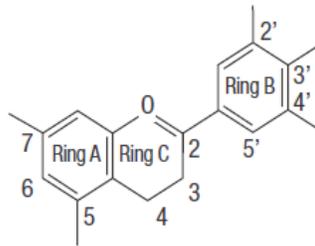


Figura 3. Estructura general de los flavonoides. Imagen tomada de Archivio *et al.*, (2007)

Los flavonoides están divididos a su vez en seis subclases, dependiendo del estado de oxidación del anillo pirano central, se tiene entonces a: flavonoles, flavonas, flavononas, isoflavonas, antocianidinas y flavanoles (catequinas y protoantocianidinas). Más de 4000 flavonoides han sido identificados en plantas, y la lista sigue creciendo conforme pasa el tiempo (Harborne y Williams, 2000; Archivio *et al.*, 2007).

Los flavonoles tienen un doble enlace entre el C₂ y el C₃, con un grupo hidroxilo en la posición C₃, estos representan los flavonoides más ubicuos en alimentos, la quercitina (figura 4) es el compuesto más representativo de esta subclase (Archivio *et al.*, 2007).

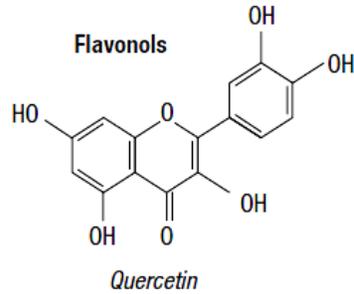


Figura 4. Estructura química de la quercitina, flavonol representativo. Imagen tomada de Archivo *et al.*, (2007)

Las flavonas poseen un doble enlace entre el C₂ y el C₃, estos son los flavonoides menos comunes. Las flavononas se caracterizan por la presencia de una cadena tricarbonada saturada y un átomo de oxígeno en el C₄. Se les encuentra generalmente glicosados por un disacárido en el C₇. Las principales agliconas son la naringenina, hesperetina y el eriodictiol (Archivo *et al.*, 2007) (Figura 5).

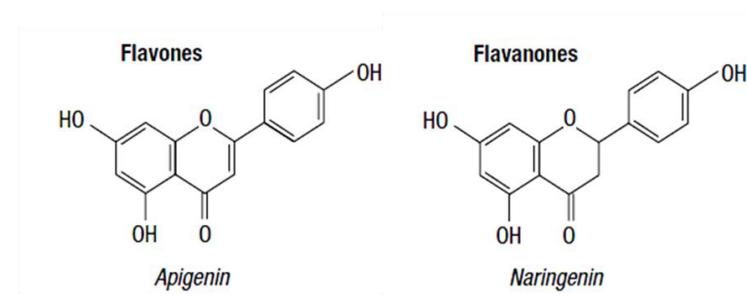


Figura 5. Estructura química de las flavonas y flavononas. Imagen tomada de Archivo *et al.*, (2007)

Las isoflavonas se parecen estructuralmente a los estrógenos, por ejemplo, los grupos hidroxilo en el C₇ y C₄, son posiciones como las que se encuentran en la molécula del estradiol. Tienen la facultad de atrapar a receptores de estrógeno, por ello son clasificados como fitoestrógenos (Figura 6).

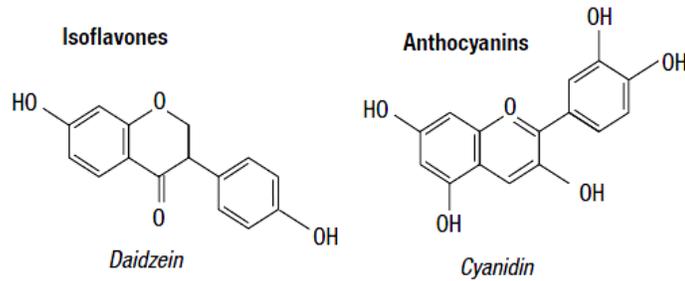


Figura 6. Estructura química de las isoflavonas y de las antocianinas. Imagen tomada de Archivo *et al.*, (2007)

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua, responsables de la pigmentación roja, azul y púrpura de varios vegetales y flores. Estas provienen primeramente como glicósidos y sus respectivas formas de agliconas, llamadas antocianidinas, con el resto del azúcar principalmente unido a la posición 3 del anillo C o a la posición 5,7 del anillo A (figura 6) (Archivo *et al.*, 2007).

Los flavanoles contienen en la cadena de tres carbonos saturada con un grupo hidroxilo en el C₃, se les puede encontrar en dos formas, como monómeros o como polímeros (catequinas y proantocianinas respectivamente), (figura 7).

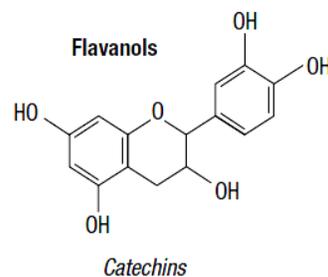


Figura 7. Estructura química de un flavanol; catequina. Imagen tomada de Archivo *et al.*, (2007)

Una división también importante dentro de los compuestos fenólicos son los denominados ácidos fenólicos, los cuales a su vez se dividen en dos clases:

derivados del ácido benzoico y derivados del ácido cinámico, (figura 8). Los ácidos hidroxibenzoicos, como lo es el ácido gálico y el ácido protocatecuico, son los que mayormente se encuentran en algunas plantas o frutas que son consumidas por los humanos, por ello el interés en estudiarlas. Por otra parte los ácidos hidroxicinámicos consisten en compuestos como los ácidos cumárico, cafeíco y el ferulico, éstos raramente son encontrados en su forma libre, se encuentra en su mayoría unidos de formas glicosadas, esteres de ácido quínico, ácido shikimico ó tártrico. (Archivo *et al.*, 2007). Los otros compuestos como los alcoholes fenólicos, estilbenos y los lignanos, son también compuestos fenólicos pero de menor importancia ya que se les encuentra en muy bajas concentraciones en alimentos.

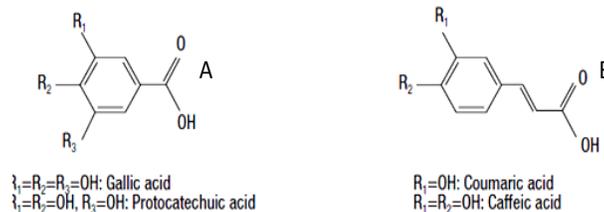


Figura 8. Estructura química de los ácidos fenólicos: A) estructura de los derivados del ácido benzoico, B) estructura de los ácidos derivados del ácido cinámico. Imagen tomada de Archivo *et al.*, (2007)

3.3.2 Estabilidad de los compuestos fenólicos

La estabilidad de los compuestos fenólicos depende de la estructura que tengan, en este caso sólo se mencionará la estabilidad de algunos flavonoides y ácidos fenólicos, las antocianinas quedarán fuera de estudio ya que en el xoconostle los pigmentos mayoritarios son las betalainas (compuestos no fenólicos) y al estar

presentes estos últimos compuestos, las antocianinas no pueden estar presentes, ya que son mutuamente excluyentes (Fennema, 2004).

3.3.2.1 Efecto de la temperatura

La mayoría de los pigmentos de origen vegetal presentan inestabilidad cuando a estos se les somete a altas temperaturas, desmejorando así la apariencia del producto y funciones del mismo pigmento debido a la transformación de éstos (Fennema, 2004). Así mismo la estabilidad térmica de estos compuestos depende de la estructura que estos tengan, en efecto, un estudio demostró que presentan mayor estabilidad compuestos como la quercetina y el ácido elágico entre otros varios compuestos, mientras que el ácido gálico y cafeíco son los que menor estabilidad presentan al exponerlos a una temperatura por arriba de 120°C (tomando en cuenta que la fuente de esos compuestos era de naturaleza oleosa) (Hosein y Hasan, 2012), mientras que por ejemplo al evaluar las condiciones de almacenamiento de una bebida a base de una fruta parecida a la cereza, se estudiaron los siguientes compuestos fenólicos: epicatequina, procianidina B₂, ácido clorogénico y isoquercitina, demostrando que la mayoría de estos compuestos son estables a temperaturas de 4°C, mientras que a temperaturas de 23°C con el tiempo se deterioran, principalmente la epicatequina y la procianidina B₂, y a una temperatura de 45°C la mayoría presenta desestabilidad (Chang *et al.*, 2006).

3.3.2.2 Efecto del Oxígeno

El contacto del oxígeno con cualquier contacto con algún compuesto fenólico causa la oxidación de los mismos, por tanto el contacto con este gas debe ser controlado ya que las estructuras de los pigmentos se ven modificadas, produciendo así por ejemplo colores y aromas extraños (notas a rancio) en vinos por ejemplo (Singleton, 1987). De ahí que a los polifenoles se les atribuya un poder antioxidante y te atrapar radicales libres, esto ha despertado interés la industria agroalimentaria y farmacéutica.

3.3.2.3 Efecto del pH

El pH es un factor muy importante en la estabilidad de los pigmentos de origen vegetal, los compuestos fenólicos no son la excepción aunque la estabilidad depende de la estructura del compuesto, ya que se ha demostrado que no todos los compuestos se comportan de la misma manera, pero la mayoría de estos se mantienen estables en valores de pH ácidos, no así en valores alcalinos. En estudio realizado (Friedman y Jürgens, 2000), se demostró que los ácidos cafeíco, clorogénico y gálico no son estables a un pH alto y después de cierto tiempo dejan de ser reversibles, mientras que el ácido cloragénico es más estable a pH ácido, mientras que la catequina, epilocatequina y el ácido ferúlico son más resistentes a valores de pH más altos.

3.4 Betalaínas

Algunos de los colores que se pueden ver en varias plantas de tonalidades violeta y amarillas se deben a la presencia de un grupo químico llamado betalaínas, este es un grupo de pigmentos vegetales que contienen nitrógeno y solubles en agua, no pertenecen a la familia de los alcaloides ya que son de naturaleza ácida. Hasta el momento se han identificado en la naturaleza más de 50 betalaínas, cifra que aumenta constantemente (Henriette, 2009).

Se dividen en dos grupos: las betacianinas (de color violeta a rojo), y las betaxantinas, de color amarillo. Las dos tienen en común una unidad estructural básica, el ácido betalámico, el cual se encuentra condensado con un aminoácido o amina, en las betaxantinas, y conjugado con ciclo-dihidroxifenilalanina (ciclo-DOPA) en las betacianinas (Figura 9) (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Esta molécula puede incorporar azúcares y ácidos a través de uno de los grupos hidroxilo presentes en el anillo aromático, con lo que origina dos familias de compuestos: los derivados de la betanina (betanidina-5-O- β -glucósido) o de la gomfrenina I (betanidina-6-O-glucósido).

Con la diferencia en la estructura ocasiona que la máxima absorción de luz sea distinta, teniéndose así que las betaxantinas (amarillas) absorban a una longitud de onda de 480 nm mientras que para las betacianinas absorben a una longitud de 540 nm (Fennema, 2000; Strack *et al.*, 2003).

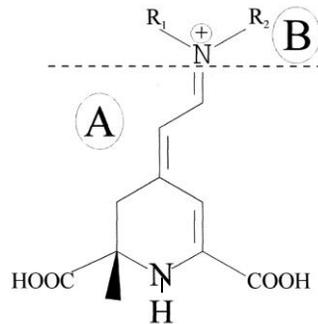


Figura 9. Fórmula general de las betalainas. A) antes de la línea discontinua representa el ácido betalámico. B) La estructura representa a una betacianina o betaxantina, dependiendo de los grupos sustituyentes que se tengan.

Las betacianinas son ópticamente activas debido a que poseen dos carbonos quirales (carbono 2 y carbono 15). La hidrólisis de la betacianina produce betanidina o el epímero en el carbono 15 isobetanina o una mezcla de las agliconas isómeras. Las diferencias entre betacianinas se deben al residuo glucósido (figura 10).

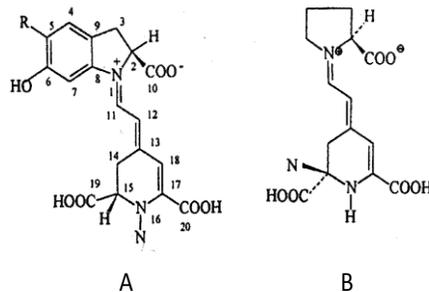


Figura 10. Muestra la estructura química betanidina (A) y de las betaxantinas (B), de acuerdo al sustituyente (R) adquiere otro nombre y propiedades

Entre los vegetales de los que se tiene conocimiento sobre su contenido de betalaínas se encuentra el betabel y el amaranto (*Amaranthus tricolor*) (Cai y Corke., 1999) y recientemente el xoconostle (Osorio-Esquivel *et al.*, 2011).

3.4.1 Propiedades funcionales

La actividad biológica de las betalaínas ha sido investigada en años recientes, en donde se ha puesto de manifiesto su capacidad antioxidante y su capacidad de atrapar radicales libres, además de que por ejemplo se les ha asociado en la eliminación del ácido hipocloroso, producto de la enzima mieloperoxidasa implicado en la respuesta inflamatoria (Gandía-Herrero *et al.*, 2010). Se ha demostrado también que dosis reducidas de betanina en la dieta inhiben en ratones la formación de tumores de piel e hígado; en humanos, las concentraciones en plasma tras la ingesta de estos compuestos bastan para promover su incorporación en las lipoproteínas de baja densidad y en glóbulos rojos, a los que protegen del daño oxidativo y la hemólisis (Tesoriere *et al.*, 2005). Las betalaínas, en forma de extractos concentrados o liofilizados, se utilizan en la industria alimentaria para modificar el color de una amplia variedad de productos; corresponden a los aditivos denominados E-162 (Fennema, 2004; Stinzing *et al.* 2003).

3.4.2 Estabilidad de las betalaínas

La estabilidad de las betalaínas se encuentra influenciada fuertemente por el pH, la temperatura, la luz y la presencia de oxígeno (Castellar *et al.*, 2003; Herbach *et al.*, 2004; Tesoriere *et al.*, 2005). Por lo tanto su uso como colorante en alimentos se ve limitado, de ahí que su uso se restringe hacia alimentos con una vida corta de anaquel, a los alimentos procesados con tratamientos de calor mínimos, por lo que se procura envasarlos y colocarlos en un lugares secos, con bajos niveles de luz, oxígeno y humedad (Rayner, 1993).

3.4.2.1 Efecto del pH

El color de las betalaínas no se ve afectado en valores de pH de entre 3.5 a 7. La longitud de onda máxima para la betacianinas se encuentra entre 537 y 538 nm, mientras el máximo para betaxantinas se encuentra aproximadamente a 475 nm. En valores de pH ácido (3.5), la longitud de onda se desplaza a un valor más bajo, mientras que para valores de pH 7, la longitud cambia a un valor más alto; fuera de este intervalo, la intensidad de del espectro visible decrece, se ha reportado que la estabilidad de la betanina en presencia de oxígeno se puede obtener manejando un pH de entre 5.5-5.8 (Delgado-Vargas *et al.*, 2000)

3.4.2.2 Efecto de la temperatura

La temperatura es uno de los factores más importantes en la estabilidad de las betalaínas. La degradación térmica de la betanina ha sido estudiada por varios autores (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). De acuerdo a estos estudios al calentar las soluciones de betanina en presencia de oxígeno sigue una cinética de primer orden, pero en su ausencia la cinética es diferente. Si se calienta la betanina a altas temperaturas (mayores de 60°C) y por tiempos prolongados (mayores a una hora), se acelera la hidrólisis de este compuesto en solución, produciendo ácido betalámico y el ciclodopa-5-O-glucósido como productos intermediarios, sin embargo, esta reacción es parcialmente reversible de acuerdo al pH presente en el medio (Fennema, 2004; Delgado-Vargas *et al.*, 2000).

3.4.2.3 Efecto de la luz

Se ha reportado que la luz es un factor que influye en la estabilidad de las betalaínas, ya que se demostró que en el caso de la betanina su degradación aumento un 15.6%, después de su exposición a la luz a 15°C. La degradación de estos compuestos expuestos a la luz sigue una cinética de primer orden. Además, se ha observado que cuando las betacianinas fueron expuestas a la luz fluorescente, la degradación fue mayor en un pH ácido (pH=3) que a un pH 5, mientras que la ausencia de esa luz mostro una mayor estabilidad. Por otra parte

se ha demostrado la relación inversa que guarda entre su estabilidad y la intensidad luminosa cuando se evaluó a 2200 a 4400 lux. Esto se explica cuando ocurre la excitación de electrones π de los cromóforos del pigmento a un estado más energético (π^*) por la absorción de luz visible, ocasionando una reactividad más alta o una energía de activación baja (Delgado-Vargas *et al.*, 2000).

3.4.2.4 Efecto del Oxígeno

La presencia del oxígeno ocasiona un oscurecimiento y pérdida del color. Se demostró por medio de una experimentación, la cual consistió en almacenar la betanina en una solución buffer a pH 7 en dos atmosferas diferentes; aire y nitrógeno respectivamente, por un periodo de 6 días a 15°C; se observó que la degradación del color aumento hasta en un 15% cuando la betanina fue expuesta al aire. La betanina reaccionó con el oxígeno molecular, produciendo la degradación del pigmento en soluciones saturadas de oxígeno. La degradación de la betanina es una reacción parcialmente reversible y se ha recomendado que para aumentar la estabilidad del pigmento es necesario colocar las muestras en atmósferas con bajas concentraciones de oxígeno.

3.5 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante, es la capacidad de neutralizar los radicales libres, realizada por un grupo de moléculas llamadas antioxidantes. Un antioxidante es una sustancia que aun en concentraciones más bajas que el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación del sustrato (Tagliazucchi *et al.*, 2010). Entre las sustancias antioxidantes están los polifenoles, betalainas (Osorio-Esquivel *et al.*, 2011) antocianinas y flavonoides (Rao y Balachandran, 2002). Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, de los que se han identificado más de 8,000, los cuales difieren en estructuras químicas y en actividad. La distribución de compuestos fenólicos en tejidos y células vegetales varía considerablemente (Ruiz *et al.*, 2008).

El organismo humano posee antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para protegerse de los radicales libres, sin embargo otra fuente muy importante de compuestos antioxidantes son las plantas. Como se ha mencionado anteriormente éstos compuestos se han relacionado con la prevención de distintos procesos crónicos, como la enfermedad cardiovascular, algunos desórdenes neurológicos y ciertos procesos inflamatorios (Osorio-Esquivel *et al.*, 2011). Además las evidencias experimentales sugieren que protegen de manera importante las funciones biológicas de las células en contra de la actividad de los radicales libres. El contenido de compuestos antioxidantes de frutas y hortalizas se puede ver afectado por factores fisiológicos, como la maduración, así como por factores tecnológicos, como las condiciones de conservación y procesado (Hosein y Hasan, 2012). Las frutas y las hortalizas poseen distintos compuestos bioactivos, entre los que destacan los antioxidantes, compuestos de distinta naturaleza química, que incluyen a las vitaminas C y E, polifenoles, betalaínas, carotenoides y terpenoides, entre otros.

3.6 Radicales libres

Los radicales libres son moléculas o átomos que poseen uno o más electrones desapareados en orbitales atómicos o moleculares, confiriéndoles un considerable grado de reactividad (Fennema 2004). En la Tabla 2, se pueden observar los radicales libres más comunes (como especies reactivas de oxígeno ROS y como especies reactivas de nitrógeno RNS), y el tiempo de vida medio que pueden tener en el organismo humano, a 37°C. Estos radicales son muy inestables en la mayoría de los casos y de tiempo de vida demasiado corto, pero es suficiente para desencadenar una serie de reacciones que según sea el caso pueden ser o no perjudiciales.

Desde el punto de vista químico los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad, señalado por el punto situado a la derecha del

símbolo. Desde el punto de vista molecular son pequeñas moléculas ubicuitarias y difusibles que se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos, y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo), al interactuar con las principales biomoléculas del organismo (Fennema, 2004).

Tabla 2: Radicales más comunes y tiempo de vida promedio.

Especie	Nombre común	Tiempo de vida medio a 37 °C
HO^\cdot	Radical hidroxilo	1 nanosegundo
HO_2^\cdot	Radical hidroperoxido	Inestable
O_2^\cdot	Anión radical superóxido	Enzimático
$^1\text{O}_2$	Oxígeno singulete	1 microsegundo
RO^\cdot	Radical alcoxilo	1 microsegundo
ROO^\cdot	Radical peroxilo	7 segundos
NO^\cdot	Radical oxido nítrico	1-10 segundos
H_2O_2	Peróxido de hidrógeno	Estable

Fuente: Jacob R. (1995)

No obstante lo expresado anteriormente, los radicales libres del oxígeno se involucran en varias funciones fisiológicas en el organismo: participan en la fagocitosis, favorecen la síntesis de colágeno y la síntesis de prostaglandinas, activan enzimas de la membrana celular, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modifican la biomembrana y favorecen la quimiotaxis (Naqui et al., 1996).

3.7 Cuantificación de actividad antioxidante

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea de una forma *in vitro* o *in vivo*. Una de las estrategias más aplicadas en las medidas *in vitro* de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración (Kuskoski *et al.*, 2005)

La capacidad antioxidante de una mezcla no viene dada sólo por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes; también depende del microambiente en que se encuentra el compuesto. Los compuestos interactúan entre sí pudiendo producirse efectos sinérgicos o inhibitorios. Por otra parte, es necesario considerar que los ensayos *in vivo* pueden presentar algunos problemas, como la adaptabilidad en respuesta al aumento del estrés oxidativo.

Paralelamente, diversos compuestos cromógenos (ABTS, DPPH, DMPD, DMPO y FRAP) son utilizados para determinar la capacidad antioxidante total de los compuestos fenólicos que con tienen los frutos para poder captar los radicales libres generados, operando así en contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno (Kuskoski *et al.*, 2005).

Los ensayos de capacidad antioxidante total se dividen en dos grandes grupos atendiendo al mecanismo de las reacciones que tienen lugar (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto. 2005)

Ensayos basados en transferencia de radical de hidrógeno (Hydrogen Atom Transfer-HAT): presentan una reacción competitiva entre antioxidante y sustrato, los cuales compiten por los radicales peroxilo generados térmicamente a través de la descomposición de azo compuestos (Cilla 2010).

Los ensayos basados en la transferencia de electrón (Electron Transfer- ET), se encargan de medir la capacidad de reducción de un oxidante (que cambia de

color) por parte de un antioxidante. El grado de cambio de color se correlaciona con la concentración de antioxidante en la muestra determinada (Cilla 2010).

3.7.1 DPPH

La molécula 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH), está caracterizado como un radical libre estable en virtud de la deslocalización de un electrón libre sobre la molécula como un todo, lo que conlleva a que éstas moléculas no se dimerise, como puede ser el caso con otros radicales libres, a causa de la deslocalización el compuestos adquiere una coloración violeta intensa, caracterizada por una banda de absorción en solución de etanol a 520 nm aproximadamente

Cuando una solución de DPPH es mezclado con una sustancia que tiene la facilidad de donar un átomo de hidrógeno, ésta solución alcanza su forma reducida y se aprecia gracias a la pérdida del color violeta formándose un color que tiende al amarillo. Representado el radical DPPH por Z^{\bullet} y la molécula donadora por AH, en la siguiente figura se representa la reacción primaria:



Donde ZH es la forma reducida y A^{\bullet} es el radical libre que se forma durante esta primer etapa. Más tarde el radical formado pasara por otra serie de reacciones controladas en función de la estequiometria de la reacción, que es, el número de moléculas de DPPH reducidas por una molécula de agente reductor.

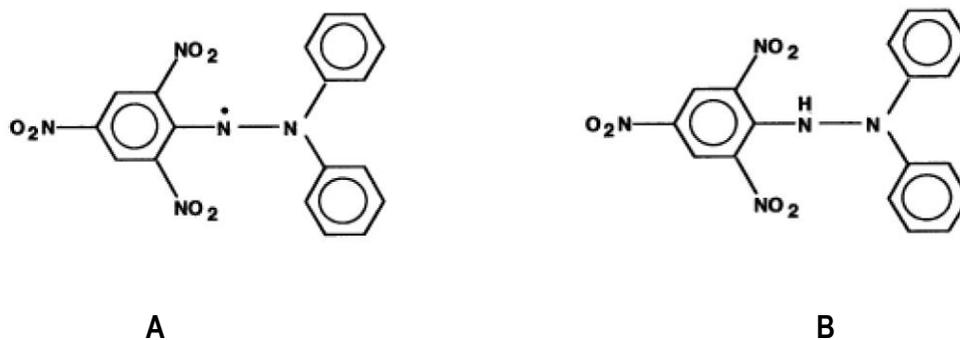


Figura 11: A: Radical libre DPPH; B: radical neutralizado

La reacción mostrada anteriormente es la encargada de proveer el enlace con otras reacciones que se llevan a cabo en un sistema oxidativo, así como la autoxidación de un lípido u otra sustancia insaturada (Molyneux 2003)

3.7.2 ABTS

Método de medición de actividad antioxidante cuya última modificación realizada por Re *et al.*, (1999), se basa en la reducción por medio de antioxidantes del radical catiónico ABTS^{•+} (2,2- Azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato)) obteniéndose una disminución en los valores de absorbancia.

El ABTS^{•+} es soluble en solventes acuosos y orgánicos, el radical se forma gracias a la presencia del persulfato potásico, es un compuesto estable en la oscuridad, muy soluble en agua y posee un espectro de absorción característico a varias longitudes de onda (645, 734 y 815 nm), empleándose comúnmente la de 734 nm por que en ella se minimizan las posibles interferencias debidas a otros componentes y a la turbidez de la muestra. Al poner en contacto la muestra con la disolución del radical, el antioxidante le cede un electrón o radical de hidrógeno al radical, observándose una disminución en la absorbancia.

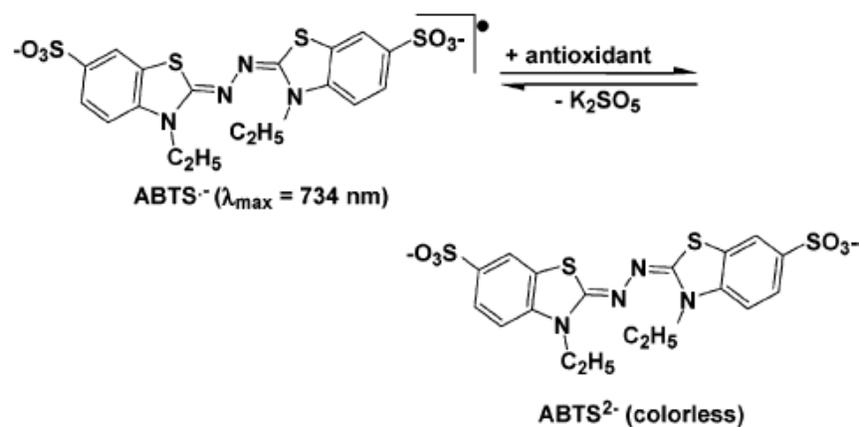


Figura 12: Muestra la reacción del radical ABTS^{•+} cuando es neutralizado. Imagen tomada de Cilla (2010)

Se cuantifica en relación al Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2 carboxílico), análogo sintético hidrosoluble de la vitamina E, que es el antioxidante patrón de uso más generalizado (Cilla. 2010).

3.7.3 Método de Folin-Ciocalteu

El método fue modificado por Singleton y Rossi en 1965, utilizando un heteropolianión fosfórico de molibdeno y tungsteno que oxida los fenoles con mayor especificidad, proporcionando un color azul con una absorción máxima de 765 nm que es proporcional a la concentración total de polifenoles, y que se cuantifica por espectrofotometría utilizando una curva de calibrado de ácido gálico. Este ensayo se utiliza como una medida del contenido de compuestos fenólicos en productos naturales y alimentos; debido a que se trata de una reacción del tipo óxido-reducción, puede considerarse como otro método de medida de la capacidad antioxidante total (Singleton *et al.*, 1999). Tomando en consideración lo anterior (Magalhaes *et al.*, 2008) menciona que el mecanismo se basa en la transferencia de electrones en medio alcalino, por parte de los compuestos fenólicos así como otras especies reductoras presentes en la muestra, al molibdeno del reactivo de Folin-Ciocalteu.

Al respecto se trata de un método simple y reproducible siempre y cuando se sigan los pasos y condiciones indicados: volúmenes adecuados de álcali y del reactivo, tiempos y temperaturas de reacción, medida de absorbancia 765 nm y uso de ácido gálico como compuesto antioxidante de referencia. El método es susceptible de sufrir interferencias por parte de sustancias de naturaleza no fenólica como azúcares, proteínas, algunos aminoácidos, ácidos orgánicos (ácido ascórbico) y algunas sales inorgánicas; interferencias que deben ser minimizadas lo más que se pueda (Cilla 2010).

Diferencias entre los métodos de cuantificación de actividad antioxidante

Los métodos más aplicados son ABTS y DPPH. Ambos presentan una muy buena estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH

es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato de potasio, ABAP), enzimática (peroxidasa, mioglobulina), o también electroquímica. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico, y el DMPD solo en medio acuoso (Kuskoski *et al.*, 2005).

El estudio de la actividad antioxidante en el xoconostle ya fue evaluada por Osorio-Esquivel *et al.*, (2011), según estos autores miden y reportan la actividad antioxidante que presenta este fruto, destacando que la actividad variaba en relación con la parte anatómica del mismo, la mayor cantidad de betalaínas las encontraron en la pulpa y en menor proporción en el fruto entero, además de que la concentración mayoritaria de compuestos fenólicos se encontraba en el pericarpio. La medición que realizaron para la medición de actividad antioxidante fue muy similar a la realizada por otro grupo de investigadores (Morales *et al.*, 2012) en la que se basaron en la inhibición del radical DPPH[·], en este estudio también reportan diferencias en la actividad antioxidante con respecto a la parte del xoconostle.

3.8 Encapsulación de compuestos fenólicos

La encapsulación y la microencapsulación se han venido desarrollando desde hace ya varios años, siendo la última mencionada, la que mayor relevancia ha tomado en los últimos 60 años, y la cual se ha definido como una tecnología de empacamiento a nivel miniatura de materiales sólidos, líquidos y gases, en capsulas selladas que pueden dejar su contenido a velocidades controladas y bajo condiciones específicas. El material al que se desea proteger pueden ser materiales puros o una mezcla, los cuales suelen ser llamados material revestido, material núcleo, relleno, activos y/o fase interna, en tanto que los materiales de empaque suelen ser denominados como: material de revestimiento, material de pared, capsula, membrana, y estos pueden estar hechos de azúcares, gomas,

proteínas, polisacáridos naturales o modificados, lípidos y polímeros sintéticos (Fang y Bhandari 2010).

Son varias las técnicas las que se emplean para poder encapsular agentes bioactivos. En general todas consisten en tres pasos fundamentales: la formación de la pared alrededor del material que se pretende encapsular, asegurar que no exista alguna fuga y por último asegurar los materiales extraños y no deseados estén se mantengan fuera. Las técnicas más empleadas para encapsular incluyen al secado por aspersion, aspersion por enfriamiento/congelación, extrusión, empaquetamiento por lecho fluidizado, coacervación, entrapamiento por liposomas, liofilización, co-cristalización, emulsión, entre otras (Fang y Bhandari 2010).

El principal objetivo de la encapsulación es el de proteger el material de relleno de condiciones adversas que pueda haber en el medio, tales efectos indeseables pueden ser la luz, la humedad y el oxígeno, con ello poder incrementar la vida media del producto. Así también se busca poder controlar la liberación del material de relleno (Desai y Park, 2005; Fang y Bhandari 2010).

Debido a los efectos benéficos que poseen los polifenoles ha surgido el interés de encapsularlos y de esa manera poder aprovecharlos en industrias alimentarias para crear alimentos funcionales, de la misma manera las industrias farmacéuticas han mostrado gran interés. Desafortunadamente, las concentraciones de polifenoles que se encuentran en experimentaciones *in vitro* son a menudo de una magnitud más alta de las medidas obtenidas de una manera *in vivo*. La efectividad de los productos nutracéuticos en la prevención de enfermedades depende obviamente de la preservación y biodisponibilidad de los ingredientes activos (Fang y Bhandari 2010).

Esto representa un gran reto ya que sólo una pequeña proporción de las moléculas permanecen disponibles después de la administración oral, debido a la falta de tiempo de permanencia gástrica, baja permeabilidad y/o solubilidad en el intestino, así como su inestabilidad bajo condiciones encontradas en la

elaboración de alimentos y almacenamiento (temperatura, oxígeno, luz), o en el tracto gastrointestinal (pH, enzimas, la presencia de otros nutrientes), lo cual limita la actividad y los beneficios potenciales para la salud de los componentes nutracéuticos (Fang y Bhandari 2010).

3.8.1 Secado por aspersion

La encapsulación por secado por aspersion ha sido utilizada en la industria desde los años 1950's. Esto debido a que es una operación económica, flexible, continua y además produce partículas de buena calidad (Desai y Park, 2005). Los materiales que se ocupan para encapsular son: almidón modificado, maltodextrinas, gomas u otras sustancias parecidas a estas. El material de relleno es homogenizado con el material de pared. La mezcla es después alimentada hacia un secador con aspersor y atomizada con una boquilla o rueda giratoria, el agua es evaporada por el contacto con el aire caliente y el material atomizado. Las capsulas son después recolectadas después de que todas hayan caído en el fondo del recipiente recolector (Fang y Bhandari, 2010). De esta forma pueden verse los cuatro pasos que involucra el secado por aspersion: Atomización, contacto aire-gota, evaporación y recuperación del producto seco. Aplicando esta técnica se obtienen partículas esféricas, con un tamaño de partícula que en promedio es de 10-100 μm (Tonon *et al.*, 2011).

Los materiales de pared que se han empleado para la encapsulación de polifenoles han sido la maltodextrina, la cual se probó en extractos de etanólicos de zanahoria negra, la cual posee un alto nivel de antocianinas (125 ± 17.22 mg/100 g) (Ersus y Yurdagel, 2007). La maltodextrina puede ser mezclada con goma arábica como material de recubrimiento. Una mezcla de maltodextrina (60%) y goma arábica (40%) han sido usados para la encapsulación de procianidinas obtenidas de semillas de uvas (Zhang *et al.*, 2007). La eficiencia de la encapsulación fue de un 88.84%, y la procianidina no sufrió ningún cambio durante el proceso de secado. La pared compuesta de proteína-lípido (caseinato de sodio-lecitina de soya) es otro material de pared que se ha probado

satisfactoriamente para la encapsulación de polifenoles por secado por aspersión de semillas de uva, extractos de manzana y extracto de hoja de oliva (Kosajaru *et al.*, 2008)

3.9 Bioaccesibilidad

La efectividad con la que el humano pueda asimilar y aprovechar los beneficios de los nutrientes y compuestos positivos (refiriéndose a mejoramiento de la salud) de un alimento depende de que tan disponibles se encuentren estos una vez que son consumidos. Varios estudios *in vivo* se han desarrollado para saber que tan aprovechables son, pero una constante a la que se enfrentan regularmente es la variabilidad entre-sujeto, un factor que repercute bastante en la interpretación de resultados, además de que la composición de la matriz ó composición del alimento puede también intervenir de una manera negativa (Ortega *et al.*, 2009). Sumado a lo anteriormente mencionado se suman factores como el costo, el control de los sujetos y animales a estudiar hacen que los estudios *in vivo* sean complicados de realizar

En consecuencia se han desarrollado metodologías de una manera *in vitro* simulando las condiciones gastrointestinales, para así evaluar la biodisponibilidad de compuestos benéficos provenientes de diversos alimentos. Al hablar de de estudios *in vitro* diversas investigaciones emplean las palabras biodisponibilidad y bioaccesibilidad, términos muy importantes y que no deben de confundirse. El primero se refiere a la proporción de un nutriente que es digerido, absorbido y metabolizado a través de las rutas metabólicas normales. Mientras que la bioaccesibilidad se refiere a la forma de como los nutrientes son liberados del alimento que los contiene por medio de ensayos *in vitro* (Archivio *et al.*, 2007). Así, la definición de las condiciones que influyen en la bioaccesibilidad de los polifenoles puede proporcionar información potencial para maximizar el uso de éstos como nutrientes saludables y en la industria alimentaria poder crear nuevos alimentos funcionales o nutraceuticos (Ortega *et al.*, 2009).

Los ensayos de bioaccesibilidad toman en cuenta las distintas fases de la digestión, por ejemplo la boca, el estómago y el intestino.

En la boca, la principal función es que al ingerir los alimentos, es precisamente convertirlos a una forma en la cual éstos puedan ser ingeridos, Cuando se ingiere un alimento o una bebida sufren una serie de procesos, esto es al mezclarse con la saliva, el pH, fuerza iónica y temperatura deben verse afectados esto debido a la interacción con diversas enzimas (lipasa lingual, amilasa, proteasa) y algunos biopolímeros como la mucina. La saliva humana tiene un valor de pH entre 5.5-6.1 durante la ingestión y un pH entre 7-8 después de la ingestión de los alimentos, además se sabe que se encuentra constituida por un 99% de agua, menos de 1% de minerales y proteínas (0.1-0.2 %), la fracción de proteína es un muy compleja en su composición, ya que, se pueden encontrar enzimas, inmunoglobulinas, proteínas antibacteriales, proteínas ricas en prolina y proteínas glicosadas (McClements y Li, 2010).

El estómago puede ser considerado como una especie de bolsa donde el alimento es procesado y almacenado antes de ser transferido al intestino delgado. El estómago está constituido de tres regiones principales con diferentes funciones fisiológicas: sección superior (cardia), sección media (fundus) y la sección baja (antro). La función principal del fundus es la secreción de jugo gástrico el cual contiene ácidos y enzimas, mientras que la principal función del antro es el de generar fuerzas para poder mezclar el bolo alimenticio. El pH del estómago humano se encuentra entre 1-3 bajo las condiciones de ingesta. Durante la ingesta el estómago tiene una fuerza iónica alrededor de 100 mM, donde los iones predominantes son el Na^+ (70 ± 30 mM); K^+ (13 ± 3 mM); Ca^{2+} (0.6 ± 0.2 mM) y Cl^- (100 ± 30 mM) (McClements y Li, 2010).

En el intestino delgado es la región del tracto gastrointestinal que es considerado como una especie de tubo con un diámetro aproximado de entre 2.5 a 3 cm y que consiste de tres partes principales: duodeno (cerca de 26 cm de largo), yeyuno (cerca de 2500 cm de largo) y el íleon (3500 cm de largo). Después de que el

quimo entre en la parte del duodeno, se empieza a mezclar con bicarbonato de sodio, sales biliares, fosfolípidos y enzimas secretadas por el hígado, páncreas y la vesícula biliar. El bicarbonato de sodio secretado dentro del intestino delgado causa un incremento en el valor de pH llevándolo de un valor de 1-3 como se encuentra en el estómago hasta un pH cercanamente neutral 5.8-6.5 en el duodeno, donde las enzimas pancreáticas trabajan más eficientemente. Mientras que la fuerza iónica es particularmente importante porque esto influye en la magnitud en la que pueden existir interacciones en el sistema (McClements y Li, 2010).

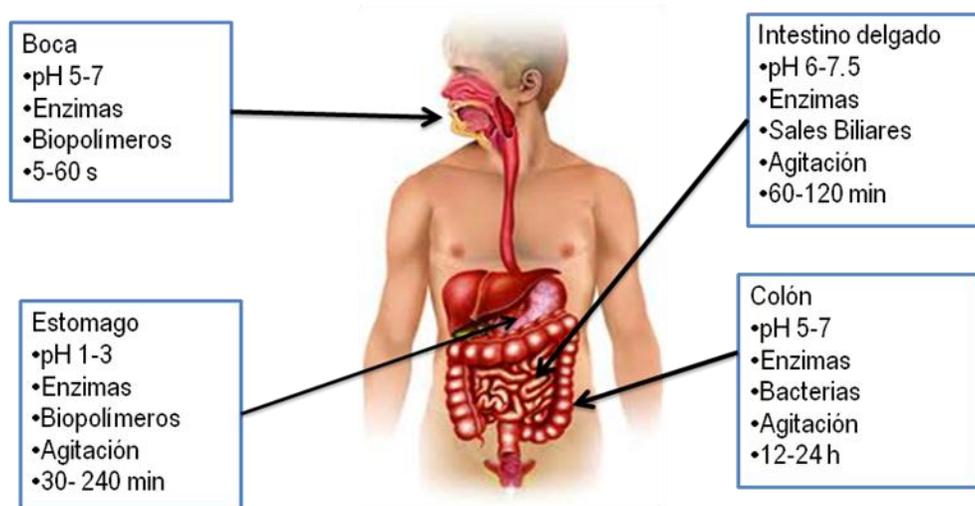


Figura 13. Esquema de las fases de la digestión en el humano y las características de las mismas.

Mediante estudios *in vitro* se pueden simular las condiciones fisicoquímicas (pH, temperatura, tiempo de incubación) del tracto gastrointestinal, y evaluar las posibles transformaciones de los compuestos inicialmente presentes en el alimento, así como las interacciones entre los distintos componentes del alimento que puedan acontecer durante su tránsito intestinal. Sin embargo, estos métodos proporcionan estimaciones relativas y no absolutas de la biodisponibilidad, puesto que no tienen en cuenta determinados factores fisiológicos intrínsecos del

organismo (estado nutricional, secreción gastrointestinal, flora intestinal, transporte activo, interacciones con la mucosa, etc. (Cilla. 2010)

3.9.1 Solubilidad y diálisis

Se basan, generalmente, en la simulación del proceso de digestión gastrointestinal humano. Consiste en un tratamiento secuencial enzimático en dos etapas, gástrica con pepsina a pH 1.8-2.5, e intestinal con pancreatina y sales biliares a pH 5-6.5, y posterior estimación de la fracción del componente estudiado soluble (fracción bioaccesible) o dializable a través de una membrana de determinado tamaño de poro (Cilla. 2010)

Existen también los métodos que se basan en evaluar la solubilidad, ya que tras la digestión gastrointestinal se mide la cantidad de componente soluble en el sobrenadante obtenido por centrifugación o filtración y así se estima la fracción máxima de componente ingerido disponible para ser absorbido (Versantvoor *et al.*, 2005; Cilla 2010)

Además de los dos métodos anteriormente mencionados existe un tercero que resulta de la combinación de los dos, éste método es la dializabilidad, aquí se incorpora una membrana de diálisis durante el proceso gastrointestinal, para simular una difusión pasiva a través del epitelio intestinal. El proceso de diálisis puede llevarse a cabo en equilibrio o en continuo. Estos métodos sólo proporcionan información relativa a la fracción del componente soluble que se encuentra potencialmente disponible para la absorción que tiene un tamaño inferior al del poro de la membrana de diálisis (Cilla 2010).

Existen también experimentos *in vitro* que utilizan cultivos celulares, esto permite evaluar los procesos de captación y transporte en el epitelio intestinal a partir de la fracción bioaccesible obtenida del alimento (Ekmekcioglu *et al.*, 2002). La línea celular más utilizada, son las células Caco-2, modelo validado de epitelio intestinal.

La línea celular Caco-2 se estableció en 1977 por Fogh y colaboradores a partir de un adenocarcinoma de colon humano, moderadamente bien diferenciado, obtenido de un paciente de 72 años. Estas células crecen en cultivo adheridas a un sustrato formando una monocapa. Cuando alcanzan la confluencia se diferencian espontáneamente para dar lugar a una monocapa polarizada que presenta muchas de las características funcionales y morfológicas de los enterocitos humanos maduros: organización de las células dentro de una monocapa polarizada, formación de domas, uniones intercelulares estrechas, microvellosidades en el lado apical y enzimas de secreción propias de la membrana del borde en cepillo como fosfatasa alcalina, sacarasa-isomaltasa, lactasa, etc. (Cilla 2010).

3.9.2 Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos

Los aspectos benéficos, ya mencionados antes, que poseen los compuestos fenólicos han dirigido a diversos autores a evaluar la bioaccesibilidad de éstos. Ortega *et al.*, (2009), evaluaron la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos provenientes de la cocoa, en dicha investigación simularon las condiciones gastrointestinales, desde la simulación de la masticación en la que ocuparon enzimas características que participan en el proceso, por ejemplo, la amilasa. Seguido simularon las condiciones gástricas que predominan en el estomago, después pasaron a la fase pancreática simulando las condiciones en el intestino. Terminadas estas fases realizaron dos diálisis para así obtener los compuestos fenólicos, especialmente a la procianidina, para después seguir con un análisis cuantitativo.

Otro estudio sobre polifenoles en uvas fue realizado por Tagliazucchi *et al.*, (2010), en el que usaron un modelo *in vitro* en el que simularon algunas condiciones químicas gastrointestinales por ejemplo el pH, sales biliares, temperatura y otros aspectos biológicos como las enzimas pancreáticas y gástricas que participan en el proceso. En adición también evalúan los cambios en la actividad antioxidante durante todo el proceso digestivo.

4. JUSTIFICACIÓN

Uno de los problemas de salud que han tomado relevancia últimamente son las denominadas enfermedades crónicas degenerativas, entre las que se encuentran el cáncer, problemas cardiovasculares, diabetes, colesterol elevado, entre otras tantas, éstas enfermedades pueden derivar de la mala alimentación y hábitos de las personas; varias de ellas pueden ser evitadas por el consumo de frutas y verduras, que son ricos en compuestos bioactivos de naturaleza antioxidante. El xoconostle al ser un fruto de temporada y con grandes aportes de compuestos bioactivos resulta una opción viable para la obtención de los requerimientos nutricionales del humano, lamentablemente su aprovechamiento se ve limitado solo a la cocina tradicional mexicana.

Una forma de explotar los beneficios nutricionales y de salud de algunos de sus componentes es la encapsulación, ya que de esta forma se les protege de factores medioambientales que causan su deterioro y con ello poder crear productos alimenticios alternos que otorguen la ingesta recomendada de polifenoles por día. Tomando en cuenta lo anterior, el uso de la encapsulación de secado por aspersion es un método relativamente sencillo, de bajo costo y con buenos rendimientos.

Una vez ingeridos estos compuestos, surge la necesidad de saber realmente cuanto de ellos se encuentran biodisponibles, para saberlo, se han desarrollado técnicas *in vitro* donde se simulan las condiciones gastrointestinales y que permiten cuantificar la cantidad de compuestos que son liberados de la matriz que los contiene, con ello nos da una aproximación de lo que pasaría a nivel humano, ahorrando tiempo y todas las cuestiones económicas y éticas que implican un ensayo con humanos o animales.

Es por tanto que este trabajo se enfoca a la extracción de compuestos bioactivos del xoconostle, para encapsularlos mediante secado por aspersion y después evaluar su bioaccesibilidad y actividad antioxidante final y durante el proceso gastrointestinal simulado de forma *in vitro*.

5. OBJETIVOS

5.1 *Objetivo general*

Evaluar la bioaccesibilidad y actividad antioxidante de los compuestos bioactivos directos y encapsulados provenientes de xoconostle.

5.2 *Objetivos específicos*

- a) Encapsular la pulpa de xoconostle mediante secado por aspersión.
- b) Establecer las condiciones en las que se llevará a cabo la simulación gastrointestinal de los polifenoles de xoconostle.
- c) Evaluar la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos de la pulpa de xoconostle, pulpa de xoconostle con gomas antes de encapsular y reconstituido.
- d) Determinar y cuantificar la actividad antioxidante a la pulpa natural de xoconostle, a la mezcla de gomas con pulpa de xoconostle y las microcápsulas de xoconostle reconstituídas de durante el proceso de la simulación *in vitro* gastrointestinal.

6. HIPÓTESIS

La encapsulación de los compuestos bioactivos provenientes del xoconostle por secado por aspersión, es capaz de protegerlos de las condiciones medioambientales que los deterioran y conservar la bioaccesibilidad de los mismos durante el proceso de simulación gastrointestinal.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Materiales

Xoconostle

Como materia prima se utilizó xoconostle variedad *Opuntia oligacantha* C. F. Först var Ulapa obtenido del municipio de Tezontepec de Aldama, estado de Hidalgo. Se utilizaron frutos en estado de madurez fisiológica (coloración media)

7.2 Enzimas

El complejo enzimático empleado para la extracción (Rohapect B1L) fue obtenido de la empresa PANIPLUS S.A. (Querétaro, México) y contiene hemicelulasas y pectinasas como principales enzimas y trazas de otros tipos de enzimas sin identificar para la aplicación en jugos de frutas difíciles de filtrar.

Las enzimas utilizadas para el ensayo de bioaccesibilidad fueron: pepsina de mucosa porcina obtenida de la comercial Sigma (USA) y la pancreatina de páncreas porcino fue obtenida de la casa proveedora Hycel (México).

7.3 Reactivos

Metanol absoluto, sales biliares (mezcla de colato de sodio y deoxicolato de sodio) éste último adquirido por FLUKA, 2,2-Azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS), persulfato de potasio, ácido clorhídrico, reactivo de Folin-Ciocalteu 2N Sigma (USA), carbonato de sodio ácido, ácido gálico, ácido ascórbico, hidróxido de sodio, 2,2-difenilo-1-picrilhidrazilo (DPPH) de Sigma (USA), etanol y acetona, ambos grado reactivo.

7.4 Equipos

Se utilizó un espectrofotómetro UV-visible (Varian Cary 100BIO, Italia), baño con agitador horizontal Scorpion Scientific, centrífuga con control de temperatura Sorvall ST16R marca Thermo Scientific (Alemania), y potenciómetro marca HANNA instruments pH 211 (Portugal)

7.5 Establecimiento del experimento

El experimento consistió en 5 fases: 1) Obtención de la pulpa de xoconostle mediante un proceso enzimático (**PN**), 2) Obtención de la mezcla de la pulpa con las gomas antes del secado por aspersión (**MPG**), 3) Obtención de las microcápsulas de pulpa de xoconostle reconstituidas (**MR**), 4) Evaluación de la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos de los tres muestras mencionadas anteriormente y 5) La evaluación de la actividad antioxidante antes, durante y después del ensayo de bioaccesibilidad.

7.6 Obtención de la pulpa de xoconostle

Esta metodología se hizo de acuerdo al trabajo realizado previamente por Morales-Luna, *et al.*, 2012^b; (Ovando Chacón y Waliszewski, 2005). Primeramente se hizo una selección de los frutos de forma manual para poder eliminar algún fruto que estuviese en mal estado, seguido, se procedió al picado del fruto de forma manual también. El proceso de homogenización del fruto se hizo en una licuadora industrial (Waring HGBSSSS6, Torrington, Connecticut, USA) durante un tiempo aproximado de 3 minutos. Después al producto obtenido se le adicionó la mezcla de enzimas en relación de 100 μ L por cada 200 gr de pulpa obtenida, y se dejó en maceración en vasos de precipitados forrados con papel aluminio para evitar la entrada de luz, durante un transcurso de 3 horas a temperatura ambiente. El pesado tanto del fruto fresco como de la pulpa obtenida se realizó en una balanza digital (Ouhous SP6000, Pine Brook, NJ USA). Después se colocó la muestra en un baño con hielos con la finalidad de parar la actividad enzimática, después el producto se filtró a vacío utilizando papel Watham del número 2. El producto se almacenó en refrigeración hasta su utilización por un tiempo no mayor a 6 días para evitar procesos de fermentación en la muestra.

7.7 Microencapsulación de la pulpa de xoconostle

La metodología para la obtención de las microcápsulas de la pulpa de xoconostle se hizo conforme al trabajo realizado previamente por Morales-Luna (2012)^a. La pulpa obtenida previamente se mezcló con dos biopolímeros de fuente natural.

Para llegar a las cantidades necesarias de cada ingrediente se realizó un balance de materia, y se tomó como base la cantidad de sólidos totales de la pulpa, adicionando la maltodextrina y la goma arábiga en proporción 50:50 para alcanzar una cantidad cercana al 30 % de sólidos totales en la mezcla final. Toda la mezcla (MPG) se colocó en un matraz erlenmeyer de 1000 mL forrado con aluminio y en agitación por un tiempo de 24 h con la finalidad de disolver completamente las gomas.

Se llevó a cabo el secado por aspersion en un mini Spray Dryer (Büchi B-290, Suiza). Manteniendo las siguientes condiciones de secado: temperatura de entrada de 160°C, 4 bares de presión y 20 mL/ min de flujo de entrada Morales-Luna *et al.* (2012).

7.8 Análisis de las microcápsulas de xoconostle

7.8.1 Compuestos bioactivos totales

Los compuestos fenólicos totales fueron determinados de acuerdo a lo establecido por Saénz *et al.* (2009). Se pesaron 100 mg de las microcápsulas fueron pesados exactamente y se dispersaron en 1 mL de etanol, ácido acético y agua (50:8:42). Ésta dispersión fue agitada usando un vórtex por un minuto y después en un ultrasonicador por un tiempo de 20 min. El sobrenadante fue centrifugado a 17 500 xg por 10 min y después filtrado. Las cantidades de compuestos fenólicos fueron cuantificados por Folin-Ciocalteau (Reyes Munguía *et al.*, 2009).

7.8.2 Compuestos bioactivos en superficie.

Para la determinación de los compuestos fenólicos en superficie se hizo siguiendo la metodología de Saénz *et al.* (2009). 100 mg de las microcápsulas fueron tratadas con 1 mL de una mezcla etanol-metanol (1:1). La dispersión fue agitada en un Vórtex a temperatura ambiente por un minuto y después filtrados (filtro de 0.45µm). La cuantificación de compuestos fenólicos fue determinado por la técnica de Folin-Ciocalteau (Reyes Munguía *et al.*, 2009).

El porcentaje de compuestos en superficie (CS) y el rendimiento de compuestos bioactivos encapsulados (RCM), fueron calculados de acuerdo a la ecuación (1) y (2) respectivamente.

$$CS(\%) = \frac{\text{compuestos bioactivos en superficie}}{\text{compuestos bioactivos totales teóricos}} \times 100 \quad (1)$$

$$RCM (\%) = 100 - CS (\%) \quad (2)$$

7.8.3 Reconstitución de las microcápsulas de xococonostle

Para la reconstitución de las microcápsulas, se adicionó agua, para ello se utilizó un balance de materia tomando como variable el contenido de humedad. Previamente a la operación de secado se midió la humedad de MPG, con la finalidad de saber la cantidad de agua necesaria para adicionar a los polvos.

7.9 Pruebas de bioaccesibilidad

Para la prueba de bioaccesibilidad se evaluaron los tres tratamientos PN, MPG y MR. El ensayo se realizó de acuerdo a lo publicado por Tagliazucchi *et al.* (2010) con algunas modificaciones de acuerdo a lo publicado por Pool *et al.* (2012). Muestras de 10 g fueron transferidas a un matraz volumétrico al cual se le adicionaron 30 mL de fluido gástrico simulado que contenía NaCl a una concentración de 2g/L y a una concentración de 3.2 g/L, el pH se ajustó a un valor de 2.0 con HCL 2 M. Esta solución fue incubada a 37°C en un baño María con agitación por un tiempo de dos horas. Al inicio y por lapsos de 30 minutos se tomaron alícuotas para los análisis de contenido de fenoles y actividad antioxidante, la reacción se detuvo por la colocación de la muestra en hielo. Las muestras fueron centrifugadas a 17 500g a 5°C por 10 minutos y los sobrenadantes fueron retirados para los análisis correspondientes. Al final de la fase gástrica el valor de pH fue llevado a un valor de 7.5 con bicarbonato de sodio antes de la adición de pancreatina (de origen porcino, Hycel de México) 0.8 g/L y 25 mg/mL de sales biliares (Fluka), la solución fue incubada en las mismas condiciones que el paso anterior. La reacción se detuvo por la colocación de la muestra en hielo. Las muestras que fueron retiradas durante la digestión

pancreática fueron inmediatamente acidificadas a un pH 2 para asegurar la estabilidad de los compuestos fenólicos. Los tubos fueron centrifugados bajo las mismas condiciones descritas anteriormente y de la misma forma el sobrenadante se utilizó para realizar los análisis correspondientes.

7.10 Proceso de extracción de los compuestos bioactivos

Las muestras que fueron tomadas en cada fase del proceso de bioaccesibilidad y al tiempo inicial, se sometieron a un proceso de extracción con solventes como lo reporta Morales-Luna (2012) basándose en el protocolo de Rojas-Barquera *et al.*, (2008) con una modificación en el volumen de muestra, esto con la finalidad de eliminar la interferencia ocasionada por las gomas en la muestra. Primeramente 2 mL de la muestra se colocaron en un vaso de precipitado de 100 mL y se le adicionaron 20 mL de una solución de etanol (50:50), se dejó en agitación por un periodo de 10 min, transcurrido el tiempo se centrifugó a 17 500g por un tiempo de 10 min a 4°C. El sobrenadante obtenido del paso anterior se le adicionó un volumen de 20 mL de acetona (70:30) y sometió a las mismas condiciones que el paso anterior. Una vez obtenidos los dos extractos se mezclaron y agitaron por 5 min y se centrifugó bajo las mismas condiciones descritas anteriormente. La muestra se conservó en refrigeración y en oscuridad

7.11 Determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

Las muestras se prepararon colocando 1 mL del extracto diluido en tubos de vidrio, a éstas se les adicionó 5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu diluido (1:10), se mezclaron y se dejaron reposar por 6 minutos, después se añadieron 4 mL de carbonato de sodio al 20% y se dejaron reposar por un período de 120 minutos y finalmente se leyeron la muestras en un espectrofotómetro a 760 nm.

Dado que los resultados deben ser expresados en equivalentes de ácido gálico, fue necesario elaborar previamente una curva de calibración, para ello se preparó una solución madre de ácido gálico a una concentración de 1000 mg/L, a partir de ésta se hicieron las diluciones necesarias para obtener las concentraciones empleadas en la curva de calibrado como se muestra en la tabla 3 (Reyes-Munguía *et al.*, 2010).

Tabla 3. Concentraciones empleadas para la curva de calibrado para fenoles totales expresadas en mg de ácido gálico/L

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

Con los datos anteriores se obtuvo la curva de calibrado que se muestra en la Figura 14

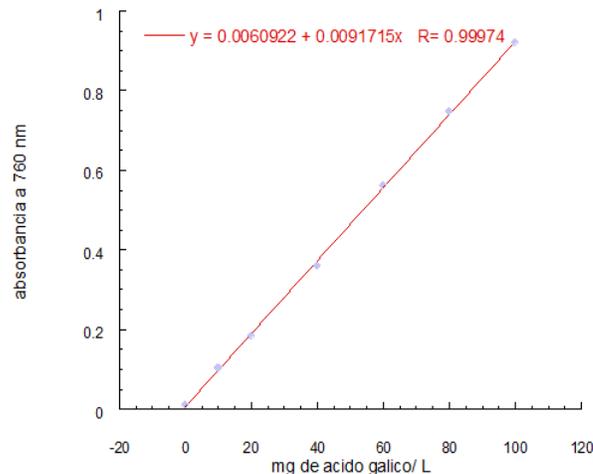


Figura 14: Curva de calibrado para medición de Fenoles totales

7.12 Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH

Se preparó una solución de DPPH 6.5×10^{-5} M en metanol al 80%, para disolver bien fue necesario dejarlo en agitación por un lapso de 2 horas en completa oscuridad (Reyes-Munguía *et al.*, 2009).

En tubos de vidrio se colocaron 2.7 mL de la solución de DPPH junto con 0.3 mL de la muestra, se agitaron por 15 segundos, inmediatamente se tomó lectura de la absorbancia obtenida a una longitud de onda de 515 nm y después se dejó

reposar en condiciones de completa oscuridad por 120 minutos, transcurrido el tiempo se midió la absorbancia final obtenida. Se utilizó como blanco metanol al 80%. Para la interpretación de los resultados se utilizó la ecuación 3

$$\% \text{ de inhibición DPPH} = \frac{(\text{Abs control} - \text{Abs test})}{(\text{Abs control})} \times 100 \text{ (Ecuación 3)}$$

Donde: Abs control: es la absorbancia del blanco, Abs test: es la absorbancia de la muestra.

También se realizó una curva de calibrado empleando ácido ascórbico como compuesto antioxidante de referencia, para ello se preparó una solución patrón con una concentración de 1000 mg/L y a partir de ella se hicieron las diluciones apropiadas para cubrir un intervalo de 0-80 mg/L. En la figura 15 se muestra la curva de calibración obtenida para la interpretación de los resultados.

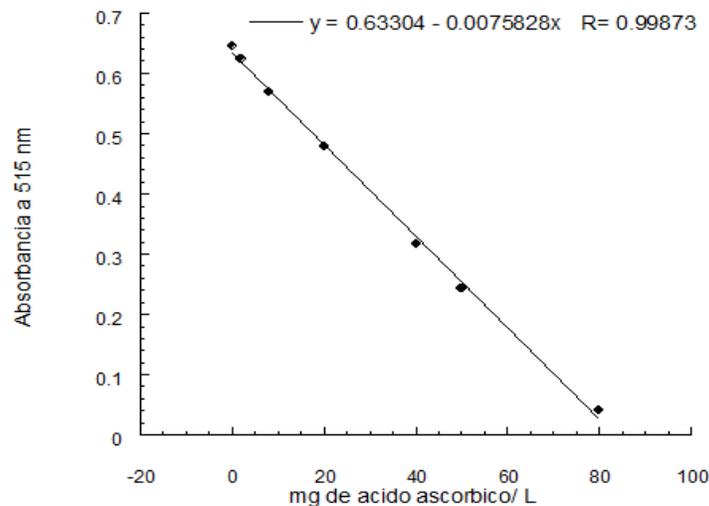


Figura 15: Curva de calibrado para la medición de actividad antioxidante del radical DPPH

7.13 Determinación de capacidad antioxidante por la técnica ABTS^{•+}.

La metodología empleada para la medición antioxidante por medio de ABTS^{•+} se realizó de acuerdo a lo publicado por (Lorenzo-León *et al.*, 2009), con algunas modificaciones. Primeramente se realizó una solución del reactivo ABTS a una

concentración 7 mM, ésta solución se hizo reaccionar con 10 mL de $K_2S_2O_8$ de una concentración 2.45 mM, la mezcla se hizo reaccionar por una noche completa en un vaso de precipitado forrado totalmente para evitar el paso de la luz. Transcurrido el tiempo se leyó su absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 734 nm, se ajustó la absorbancia con etanol al 20% hasta llegar a un valor de 0.7 ± 0.1 . Se midió un volumen de 2 mL de la solución del radical $ABTS^{•+}$ y se depositó en una celda de espectrofotometría añadiendo después 200 μ L de la muestra, se leyó inmediatamente la absorbancia obtenida y se dejó reaccionar por un tiempo de 6 min para nuevamente registrar la absorbancia final. Los resultados se reportan como porcentaje de inhibición que se calcula con la siguiente ecuación (4)

$$\% \text{ de inhibición } ABTS = \frac{(Abs \text{ control} - Abs \text{ test})}{(Abs \text{ control})} \times 100 \text{ Ecuación (4)}$$

Donde: Abs control: es la absorbancia del blanco, Abs test: es la absorbancia de la muestra.

El porcentaje de inhibición representa la pérdida del color azul-verde del radical $ABTS^{•+}$, cuando le es agregado un compuesto antioxidante, disminuyendo así la absorbancia de la solución. (Re *et al.*, 1999).

En ésta técnica también se puede reportar el porcentaje de inhibición expresándolo como la actividad equivalente al ácido ascórbico como antioxidante de referencia. Se utilizó una solución madre de éste compuesto a una concentración 1000 mg/L, a partir de ella se prepararon diluciones estándar en un intervalo de concentración de 0-50 mg/L. Se obtuvo la curva de calibrado que se muestra en la Figura (16). Cabe mencionar que las muestras de la fase pancreática fueron acidificadas evitar lecturas de falso-positivo debido a la inestabilidad del reactivo a valores de pH básicos (Ozgen *et al.*, 2006)

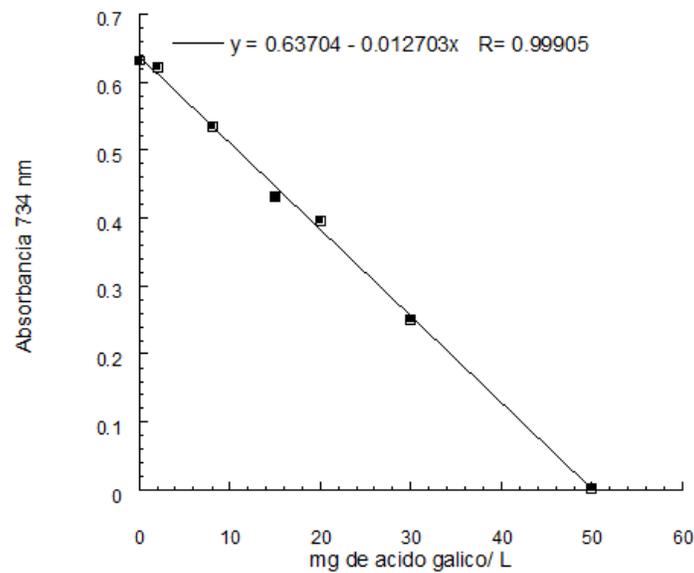


Figura 16: Curva de calibrado para la medición de actividad antioxidante del radical $ABTS^+$.

7.14 Determinación de Humedad

El ensayo de humedad se realizó de acuerdo a la AOAC 934.06 (AOAC, 1995). Se pesó un gramo de la muestra y se colocó en un crisol previamente puesto a peso constante. Se colocó en la estufa (programada a una temperatura de 100 °C) por un periodo de 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo se sacaron los crisoles de la estufa y se colocaron en un desecador hasta que alcanzaron la temperatura ambiente, se pesaron y se registró el peso. Para calcular el contenido de humedad se utilizó la ecuación (5).

$$\% \text{ de Humedad} = \left(\frac{(W_1 + W) - W_2}{W} \right) \times 100 \text{ Ecuación (5)}$$

Donde:

W= peso de la muestra húmeda

W₁= Peso constante del crisol

W₂= Peso del crisol con la muestra seca

Determinación de sólidos totales

El porcentaje de sólidos totales se obtuvo empleando la ecuación (6) AOAC 934.08 (AOAC, 1995)

$$\% \text{ de sólidos totales} = 100 - \% \text{ de humedad} \quad \text{Ecuación (6)}$$

7.15 Análisis de resultados

Se realizó un diseño de experimentos completamente al azar en cada fase de la simulación gastrointestinal para cada uno de los tratamientos. Los resultados obtenidos se analizaron con un análisis de varianza (ANOVA) y cuando existieron diferencias significativas de ($P < 0.05$) se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey.

8. RESULTADOS Y DISCUSIONES

8.1 Obtención de los polvos de pulpa de xoconostle

Para la obtención de las microcápsulas de pulpa de xoconostle se sometieron a un proceso de secado bajo las condiciones mencionadas anteriormente, se mezcló con goma arábica y maltodextrina con el objetivo de mejorar las condiciones de encapsulamiento mediante el secado por aspersion (Fang y Bhandari 2010). De acuerdo a lo reportado, el encapsulamiento de compuestos fenólicos provenientes de distintas fuentes (granada, zanahoria negra, semillas de uva, betabel, entre otras), se destaca el uso de maltodextrinas y goma arábica como materiales de pared para asegurar la estabilidad de los compuestos activos presentes (Fang y Bhandari 2010). Las razones por las que se utiliza la maltodextrina son por que exhibe una baja viscosidad en concentraciones altas de sólidos, además de que provee estabilidad a la oxidación, pero posee una pobre capacidad emulsificante (Fang y Bhandari 2010). Por otra parte la goma arábica posee excelentes propiedades emulsificantes, aunque en algunos estudios (Bertoloni *et al.*, 2001) han demostrado su baja eficiencia contra procesos de oxidación, por lo que se ha sugerido la mezcla de maltodextrina y goma arábica como materiales de pared para poder aprovechar los beneficios que ofrecen cada compuesto por separado (Fang y Bhandari 2010). Adicionalmente se escogió la goma arábica debido al estudio realizado por Pitalua *et al.* (2010), quienes emplearon dicho material de pared para el encapsulamiento de betalainas presentes en jugo de betabel, igualmente encontradas en el xoconostle.

Con el uso de la maltodextrina y goma arábica en el secado por aspersion de la pulpa de xoconostle se obtuvo un polvo fino (Figura 17). Las condiciones que se utilizaron para la obtención de las microcápsulas fueron las mismas de acuerdo a lo realizado por Morales-Luna *et al.* (2012)^b, tomando en cuenta las propiedades morfológicas halladas por mencionados autores, se justifica el uso de mezclas binarias de biopolímeros como materiales de pared para evitar fenómenos de aglomeración que impacten directamente en el tamaño de partícula, esto debido a que la aglomeración puede presentarse debido a la formación de nuevos enlaces

irreversibles entre las partículas del material de pared, los cuales forman partículas más grandes (Morales-Luna 2012)



Figura 17. Imagen de los polvos obtenidos después de la operación de secado de la solución de extracto de xoconostle con goma arábica y maltodextrina (50:50)

8.2 Medición del rendimiento de la microencapsulación de los compuestos fenólicos

Los rendimientos de encapsulamiento de los polifenoles en las microcápsulas obtenidas fueron de un 91.07 ± 0.27 % siendo un valor alto en comparación con lo reportado por Sáenz *et al.* (2009) que encapsularon compuestos bioactivos presentes en *Opuntia ficus-indica* originaria de Chile obteniendo un rango del 39.41-74.8% de rendimiento usando solo maltodextrina como material de pared, mientras que usando inulina llegó a obtener un 45.93-78.37 % de rendimiento. Los mismos autores encapsularon un extracto etanólico del mismo fruto obteniendo en esta ocasión un rendimiento del 49.71-80.79 %. (Sáenz *et al.*, 2009). Además el porcentaje de eficiencia de encapsulación se encuentra mayor al reportado por Robert *et al.* 2010 quienes reportan un 51.4-82.8 % para el encapsulamiento de compuestos fenólicos provenientes de la granada (*Punica granatum*).

El rendimiento de encapsulación obtenido puede explicarse debido a que los componentes de la pulpa (mucilago y fibra) ayudan en el proceso del secado (Sáenz *et al.*, 2009; Desobry *et al.*, 1999), junto con la aplicación de la combinación de la maltodextrina y goma arábica como materiales de pared. Parte de las variaciones que se pueden tener en el tamaño de partícula, es el radio

empleado para cubrir el agente para encapsular con respecto al material de pared y el contenido de agua haciendo quizá que la interacción entre el compuesto bioactivo y el material de pared sea más significativo (Morales-Luna, 2102)^a.

Por otra parte Sáenz *et al.* (2009) reportaron una eficiencia de encapsulación promedio con valores mayores al 95% para las betalaínas presentes en *Opuntia ficus indica*, aunque si bien en el presente trabajo no se midió el rendimiento de encapsulación para las betalaínas, puede servir como un marco de referencia para posteriores estudios.

8.3 Contenido de fenoles totales en la pulpa de xoconostle

Se determinó en la pulpa de xoconostle el contenido de fenoles totales obteniendo una concentración de 1485.44 ± 11.85 mg EAG/L de muestra, el cual es superior a lo obtenido por Sáenz *et al.* (2009) ya que ellos reportan una concentración de 909.47 mg EAG/L en pulpa natural de *Opuntia ficus indica*, por otra parte Robert *et al.* (2010) reportaron una concentración de 2128.6 ± 0.01 mg EAG/L para un jugo de granada (*Punica granatum*) valor que se encuentra superior a lo obtenido en el presente trabajo para la pulpa de xoconostle, de igual forma los mismos autores reportan una concentración de 1717.9 ± 5.05 mg EAG/L de un extracto etanólico del mismo fruto valor que se encuentra superior presente trabajo. La diferencia tan grande en la concentración de fenoles totales con la granada (Robert *et al.*, 2010) con respecto al xoconostle, puede ser debido a que el primer fruto además de poseer una rica variedad de ácidos fenólicos, su pigmento mayoritario son las antocianinas, pigmentos con poderoso poder antioxidante (Bouyed *et al.*, 2012).

8.4 Contenido de fenoles totales en las microcápsulas de xoconostle

Al evaluar el contenido de fenoles totales en las microcápsulas de xoconostle se obtuvo una concentración de 2.33 ± 0.036 mg EAG/g de polvo, este valor es superior al reportado por Robert *et al.* (2010) para las microcápsulas de granada, ya que ellos reportan una concentración de 1.84 ± 0.03 mg EAG/ g de polvo. La comparación con lo obtenido por Sáenz *et al.* (2009) para *Opuntia ficus indica*,

queda fuera de rango ya que ellos reportan una concentración 2135 mg EAG/g para las microcápsulas usando maltodextrina como material de pared.

8.5 Bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos durante la digestión *in vitro*

El ensayo de bioaccesibilidad se llevó a cabo en dos fases: fase gástrica y fase pancreática. Por lo que los resultados obtenidos se discutirán para cada etapa de la simulación gastrointestinal *in vitro*.

8.5.1 Compuestos fenólicos totales durante la fase gástrica

En la figura 18, se muestra el efecto del tiempo en la concentración de fenoles totales expresados en mg de ácido gálico equivalentes por cada 100 g de muestra en cada uno de los tratamientos.

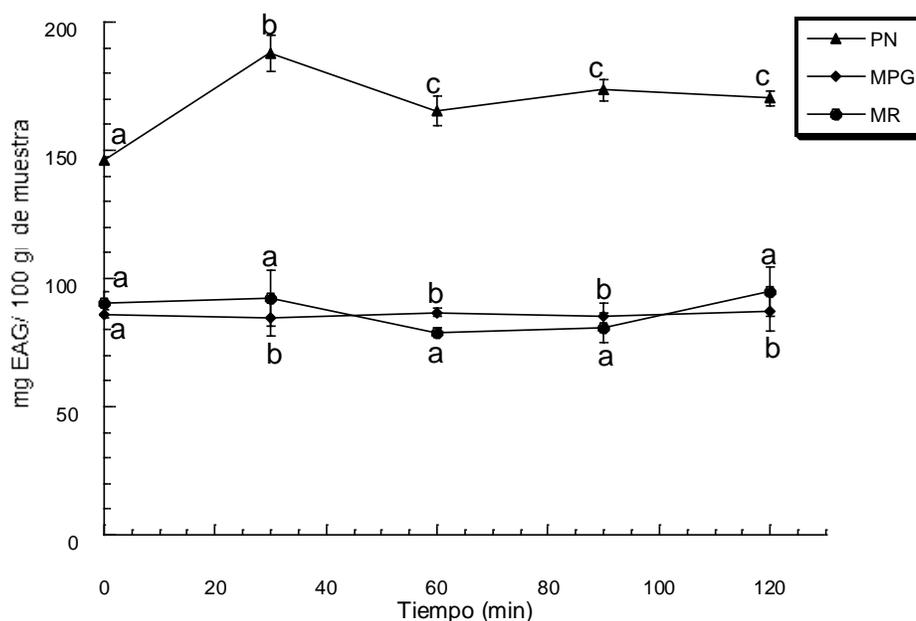


Figura 18: Efecto del tiempo en la concentración de fenoles totales expresados en mg equivalentes de ácido gálico/ 100 gr de muestra; durante la fase gástrica en cada tratamiento. PN (pulpa natural), MBG (mezcla biopolímeros y pulpa natural antes del secado) y MR (microcápsulas reconstituidas).

Letras idénticas en minúsculas arriba de las barras de error no demuestran diferencia significativa en cada uno de los tratamientos (nivel de significancia $p < 0.05$)

En el tratamiento PN, después de 30 min, se observó un incremento estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en comparación con el tiempo cero en el contenido de fenoles, además de que la concentración se mantuvo constante durante el resto de ésta etapa alcanzando una concentración final de 170.24 ± 2.62 mg EAG/100 g, un comportamiento distinto se obtuvo para MPB ya que no hubo cambios en la concentración de polifenoles, siendo estable la concentración de estos compuestos. En el caso de la evaluación de MR, se observó que la concentración alcanzada al final de los 120 minutos fue de 95.03 ± 9.62 mg EAG/100 g, siendo estadísticamente diferente ($p < 0.05$) al valor del tiempo cero. La estabilidad de polifenoles presentes en la etapa gástrica ha sido atribuida al bajo valor de pH del medio que se encuentra alrededor de 2-3, en donde varios compuestos fenólicos pueden ser estables durante la digestión gástrica sin tener cambios. El aumento en la concentración de fenoles durante esta etapa puede explicarse al menos en parte, por la liberación de compuestos con actividad antioxidante (principalmente polifenoles) de la matriz alimentaria debido a la acción de las enzimas digestivas, tal como lo demuestra Cilla 2010

En la comparación entre el efecto de los tratamientos con respecto al tiempo se obtuvo que al tiempo cero los tres tratamientos fueron estadísticamente diferentes entre ellos, como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4: Efecto de los tratamientos sobre la concentración fenoles totales en cada tiempo de la fase gástrica.

Tratamiento	Tiempo (min)				
	0	30	60	90	120
PN	146.13 ± 1.17^a	187.56 ± 7.07^a	165.46 ± 6.04^a	173.51 ± 4.40^a	170.24 ± 2.62^a
MPG	86.07 ± 1.61^b	84.81 ± 7.24^b	86.76 ± 1.78^b	85.27 ± 4.97^b	87.42 ± 7.74^b
MR	90.33 ± 4.49^c	92.35 ± 10.92^b	79.11 ± 1.78^b	80.75 ± 6.02^b	95.03 ± 9.62^b

Concentración expresada en mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra. PN (pulpa natural), MPG (Mezcla de pulpa de xoconostle con gomas antes del secado) y MR (microcápsulas reconstituidas). Letras idénticas en minúsculas como superíndice no demuestran diferencia significativa entre tratamientos (nivel de significancia $p < 0.05$)

A partir del minuto treinta y hasta los ciento veinte minutos, se observó que el tratamiento PN mostró una diferencia de concentración significativa mayor con respecto a MPG y MR ($p < 0.05$), mientras estos dos últimos tratamientos mencionados no mostraron diferencias significativas entre ellos ($p > 0.05$). El hecho de que el tratamiento PN sea mayor en comparación con los otros dos tratamientos se explica de la misma forma que se hizo anteriormente, debido a la acción de las enzimas digestivas, además de que el factor pH se ve involucrado en la capacidad que tienen algunos polifenoles al incrementarse la cantidad de cationes en solución, dependiente del pKa que posea el ácido (Bermúdez-Soto *et al.*, 2007; Cilla, 2010).

8.5.2 Actividad antioxidante contra el radical DPPH⁺ durante la fase gástrica

La actividad antioxidante se puede medir por la medición de inhibición del radical DPPH⁺, ya que permite cuantificar la cantidad de compuestos bioactivos de naturaleza hidrofóbica (Sharma y Bhat, 2009).

En la figura 19 se muestra el efecto del tiempo en la capacidad antioxidante del radical DPPH⁺ expresada como mg equivalentes de ácido ascórbico por cada 100 g de muestra (mg EAA/ 100 g de muestra) en cada uno de los tratamientos. El comportamiento que mostró este experimento fue muy similar al observado en fenoles totales durante la fase gástrica.

Al final de la esta etapa el tratamiento PN obtuvo una actividad antioxidante de 114.90 ± 9.06 mg EAA/100 g de muestra, este valor es estadísticamente superior al encontrado al tiempo cero 91.27 ± 0.93 mg EAA/100 g ($p < 0.05$). También se puede observar que para el tratamiento MPG la concentración alcanzada al final fue de 81.06 ± 6.62 mg EAA/100 g de muestra, un valor que es significativamente mayor al observado al tiempo cero 49.94 ± 5.94 mg EAA/100 g, ya que aumento en casi un 50 % su actividad antioxidante. En tanto que para MR se alcanzó una actividad antioxidante de 90.57 ± 4.76 mg EAA/100 g de muestra al final de esta fase, que también es un valor significativamente mayor al observado al tiempo cero 61.23 ± 2.48 mg EAA/100 g

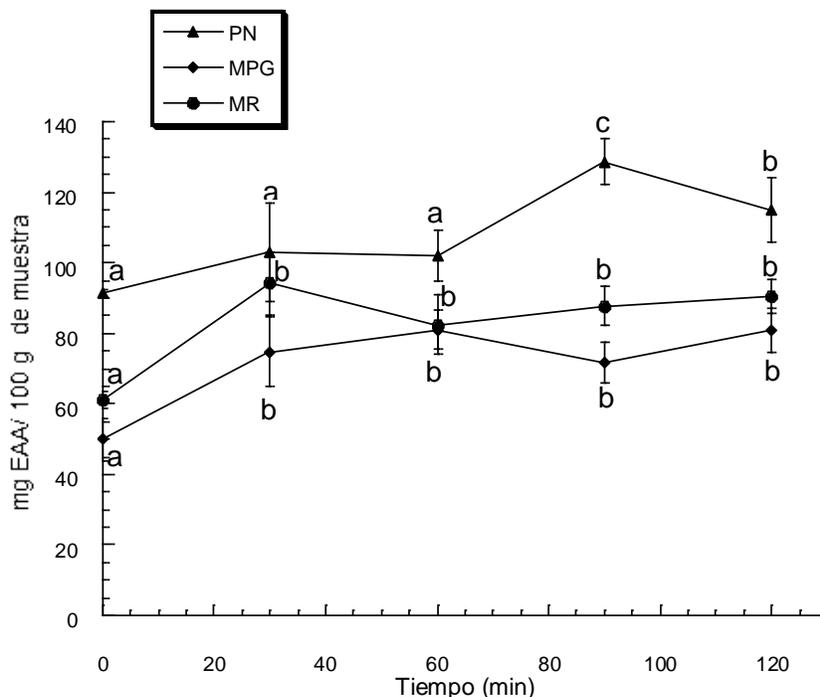


Figura 19: Efecto del tiempo en la actividad antioxidante contra radical DPPH⁺ expresados en mg equivalentes de ácido ascórbico / 100 gr de muestra; durante la fase gástrica en cada tratamiento. PN (pulpa natural), MBG (mezcla biopolímeros y pulpa natural antes del secado y MR (microcápsulas reconstituidas). Letras idénticas en minúsculas arriba de las barras de error no demuestran diferencia significativa en cada uno de los tratamientos (nivel de significancia p<0.05)

En la comparación de los tres tratamientos con respecto al tiempo se obtuvieron los valores que se muestran en la tabla 5

Tabla 5: Efecto de los tratamientos en la actividad antioxidante contra radical DPPH en cada tiempo de la fase gástrica

Tratamiento	Tiempo (min)				
	0	30	60	90	120
PN	91.27±0.93 ^a	102.99±14.06 ^a	102.11±7.18 ^a	128.56±6.57 ^a	114.90±9.06 ^a
MPG	49.94±5.94 ^b	74.83±9.97 ^{ab}	81.06±5.67 ^b	71.88±5.85 ^b	81.06±6.62 ^b
MR	61.23±2.48 ^c	94.17±8.97 ^b	82.49±8.27 ^b	87.83±5.76 ^c	90.57±4.76 ^b

Capacidad antioxidante contra el radical DPPH expresada en mg equivalentes de ácido ascórbico/100 g de muestra. PN (pulpa natural), MPG (Mezcla de pulpa de xoconostle con gomas antes del secado) y MR (microcápsulas reconstituidas). Letras idénticas en minúsculas como superíndice no demuestran diferencia significativa entre tratamientos (nivel de significancia p<0.05)

Al tiempo cero los tres tratamientos resultaron ser estadísticamente diferentes en cuanto a su actividad antioxidante ($p < 0.05$). Durante el transcurso de la fase se mostraron algunas diferencias en la actividad antioxidante entre los tres tratamientos, y al final de esta etapa el tratamiento PN mostró una mayor actividad antioxidante con respecto a los tratamientos MPG y MR ($p < 0.05$), mientras que estos dos últimos tratamientos no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$).

Existen pocos estudios de la evaluación de la actividad antioxidante por medio de la prueba de DPPH⁺ de polifenoles en condiciones gastrointestinales simuladas, al respecto Tagliazuchi *et al.* (2010) y Cilla (2010) emplearon otros métodos de medición de actividad antioxidante (FRAP y ORAC respectivamente) éstos protocolos tienen un fundamento similar al DPPH⁺, ya que se basan en la reacción que implica el otorgamiento de un protón o la transferencia de electrones (Cilla 2010).

Al respecto los resultados obtenidos se encuentran en concordancia con lo obtenido por los mencionados autores, ya que ellos reportan que durante la fase gástrica existe un aumento de la actividad antioxidante en comparación las muestras antes del proceso gastrointestinal simulado, Tagliazucchi *et al.* (2010) explican éste comportamiento a que la actividad secuestradora de radicales libres de los polifenoles es fuertemente pH-dependiente, además de la presencia de más cationes en solución (Bermúdez-Soto *et al.*, 2007)

8.5.3 Actividad antioxidante contra el radical ABTS durante la fase gástrica

La medición de la actividad antioxidante por medio de la técnica ABTS ofrece una ventaja sobre la de DPPH, ya que en ésta técnica es posible cuantificar los compuestos bioactivos tanto de naturaleza hidrofílica e hidrofóbica (Kuskoski *et al.*, 2005), ésta técnica es muy sensible al pH del medio en el que se lleve a cabo, ya que a pH ligeramente básicos el radical tiende a desestabilizarse (Ozgen *et al.*, 2006).

En la evaluación de la actividad antioxidante contra el radical ABTS, se analizó el efecto del tiempo en cada uno de los tratamientos, como se muestra en la figura 20.

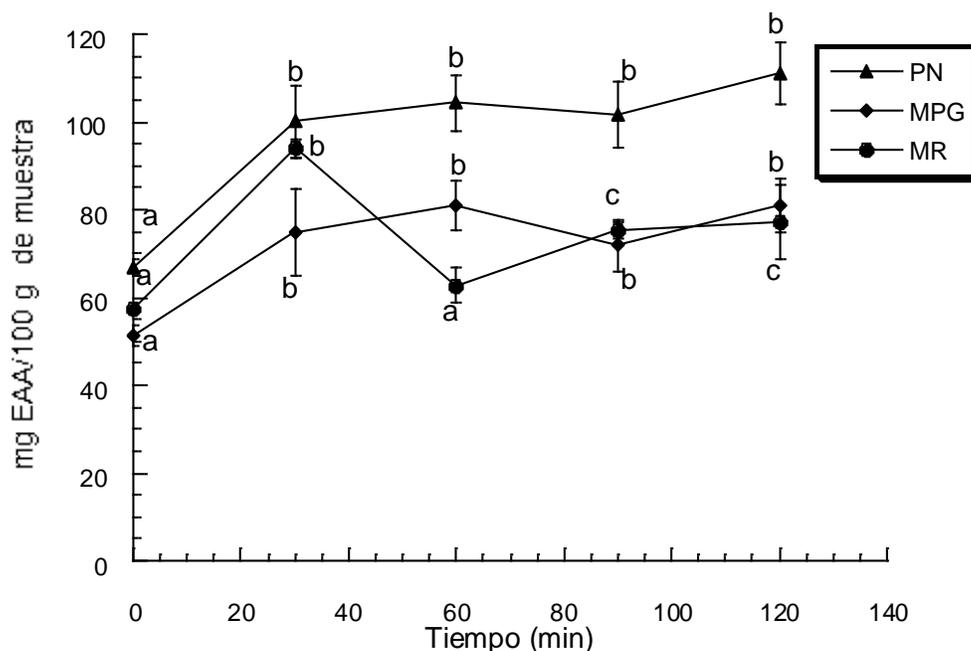


Figura 20: Efecto del tiempo en la actividad antioxidante contra radical ABTS expresados en mg equivalentes de ácido ascórbico / 100 gr de muestra; durante la fase gástrica en cada tratamiento. PN (pulpa natural), MBG (mezcla biopolímeros y pulpa natural antes del secado) y MR (microcápsulas reconstituidas). Letras idénticas en minúsculas arriba de las barras de error no demuestran diferencia significativa en cada uno de los tratamientos (nivel de significancia $p < 0.05$)

El tratamiento PN mostró un aumento en la capacidad antioxidante contra el radical ABTS a partir del minuto treinta y manteniéndose estable durante el transcurso de los 120 min alcanzando una concentración final de 110.98 ± 6.99 mg EAA/100 g de muestra. El tratamiento MPG mostró un comportamiento similar al observado para PN, un aumento en la capacidad antioxidante al minuto treinta y un comportamiento constante durante el resto de la etapa, la actividad antioxidante encontrada para MPG fue de 70.28 ± 3.4499 mg EAA/100 g de muestra. Para MR también se observó un aumento en la capacidad antioxidante a

partir del minuto treinta pero se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre cada tiempo, posiblemente estos valores se deban a errores experimentales, pero de igual manera se observó un aumento en la actividad antioxidante.

Al evaluar el efecto de los tratamientos con respecto al tiempo se obtuvieron los valores que se muestran en la tabla 6.

Tabla 6: Efecto de los tratamientos en la actividad antioxidante contra el radical ABTS en cada tiempo de la fase gástrica

Tratamiento	Tiempo (min)				
	0	30	60	90	120
PN	66.73±1.96 ^a	100.07±8.24 ^a	104.33±6.34 ^a	101.57±7.45 ^a	110.98±6.99 ^a
MPG	51.45±2.40 ^b	72.40±1.41 ^b	75.66±1.41 ^b	70.81±3.60 ^b	70.28±3.44 ^b
MR	57.27±0.59 ^c	94.00±2.02 ^a	62.83±3.89 ^c	75.35±1.76 ^b	77.13±8.34 ^b

Capacidad antioxidante contra radical ABTS expresada en mg equivalentes de ácido ascórbico/100 g de muestra. PN (pulpa natural), MPG (Mezcla de pulpa de xoconostle con gomas antes del secado) y MR (microcápsulas reconstituidas). Letras idénticas en minúsculas como superíndice no demuestran diferencia significativa entre tratamientos (nivel de significancia $p < 0.05$)

Al tiempo cero los tres tratamientos mostraron una diferencia significativa en cuanto a su actividad antioxidante ($p < 0.05$) siendo PN el que mostró una mayor actividad antioxidante con respecto a MPG y MR, siendo así hasta el final de esta etapa, mientras que a los 120 minutos los tratamientos MPG y MR no mostraron diferencias significativas en la actividad antioxidante contra el radical ABTS ($p > 0.05$). Existen pocos estudios sobre la actividad antioxidante contra el radical ABTS en condiciones gastrointestinales simuladas, al respecto Tagliazucchi *et al.* (2010) observó que durante la fase gástrica los compuestos bioactivos presentes en uvas también aumentaron su capacidad antioxidante contra el radical ABTS en comparación con el tiempo cero.

8.5.4 Compuestos fenólicos totales durante la fase pancreática

En la fase pancreática se observó una disminución en la concentración de compuestos fenólicos en comparación con la fase gástrica, ya que desde los treinta minutos de iniciada esta etapa la disminución fue evidente para los tres

tratamientos, siendo más drástico el descenso de concentración para PN, como se puede ver en la figura 21. Al final de esta etapa el tratamiento PN alcanzó una concentración del 61.61 mg EAG/ 100 g de muestra. Para MPG y MR también se observó una disminución significativa ($p<0.05$) al minuto treinta con respecto del tiempo cero, pero esta disminución no fue tan drástica en comparación con PN, las concentraciones alcanzadas al final de esta etapa fueron: 54.40 ± 2.31 mg EAG/100 g y 74.19 ± 1.45 mg EAG/100 g para MPG y MR respectivamente.

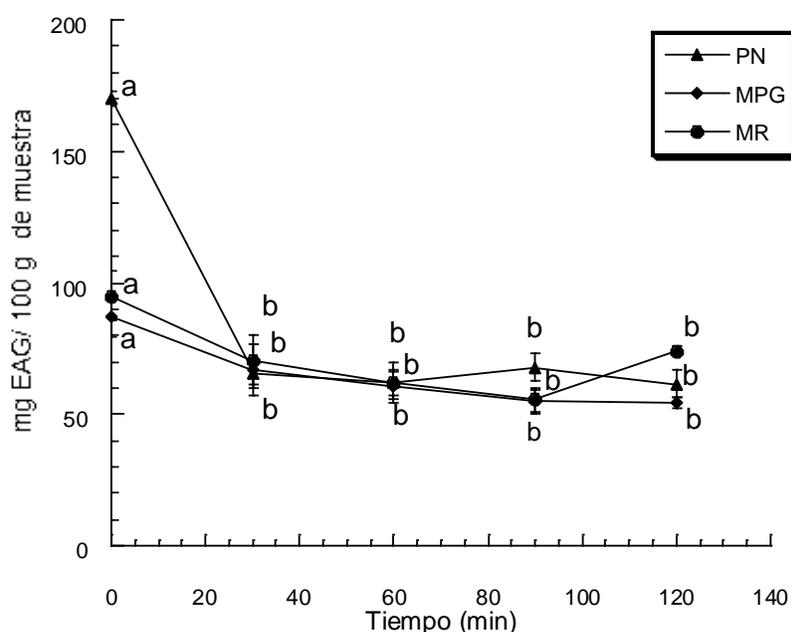


Figura 21: Efecto del tiempo en la concentración de fenoles totales expresados en mg equivalentes de ácido gálico/ 100 gr de muestra; durante la fase pancreática en cada tratamiento. PN (pulpa natural), MBG (mezcla biopolímeros y pulpa natural antes del secado y MR (microcápsulas reconstituidas).

Letras idénticas en minúsculas arriba de las barras de error no demuestran diferencia significativa en cada uno de los tratamientos (nivel de significancia $p<0.05$)

De acuerdo con varias investigaciones, afirman que los compuestos fenólicos que se consumen en la dieta son altamente sensibles a las condiciones medianamente alcalinas que se encuentran en el intestino, por lo que se sugiere que en ésta etapa una porción de estos compuestos debe ser transformado en compuestos de

diferente forma estructural que posean diferentes propiedades químicas (Bermúdez-Soto et al., 2007).

Al evaluar el efecto de los tratamientos con respecto al tiempo se obtuvieron los resultados que se muestran en la tabla 7

Tabla 7: Efecto de los tratamientos sobre la concentración de fenoles totales en cada tiempo de la fase pancreática

Tratamiento	Tiempo (min)				
	0	30	60	90	120
PN	170.24±2.62 ^a	65.61±5.63 ^a	61.89±4.94 ^a	67.94±5.44 ^a	61.61±5.13 ^a
MPG	87.42±7.74 ^b	66.62±9.74 ^a	60.92±5.00 ^a	54.96±4.43 ^a	54.40±2.31 ^a
MR	95.03±9.62 ^c	70.60±9.34 ^a	62.26±7.55 ^a	55.73±4.57 ^a	74.19±1.45 ^b

Concentración de los compuestos fenólicos expresada en mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra. PN (pulpa natural), MPG (Mezcla de pulpa de xoconostle con gomas antes del secado) y MR (microcápsulas reconstituidas). Letras idénticas en minúsculas como superíndice no demuestran diferencia significativa entre tratamientos (nivel de significancia $p < 0.05$)

De acuerdo a la tabla anterior se puede observar que, al tiempo cero los tres tratamientos mostraron diferencias significativas en la concentración de fenoles totales ($p < 0.05$), mientras que del minuto treinta al 90 no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Al minuto 120 se observó que el tratamiento MR mostró una concentración de 74.19±1.45 mg EAG/100 g de muestra, este valor es significativamente mayor a los tratamientos MPG y MR ($p < 0.05$). Con los resultados anteriormente mostrados, se puede observar que el secado por aspersión tuvo un efecto positivo en la protección de los compuestos fenólicos durante el proceso de la simulación gastrointestinal *in vitro*.

En el estudio realizado por Bouayed *et al.* (2012) cuantificaron la cantidad de fenoles totales mediante UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) en diferentes variedades de manzana después de un ensayo de simulación gastrointestinal *in vitro*, ellos reportaron la concentración final como la suma de todos los compuestos fenólicos encontrados, encontrándose las siguientes concentraciones para las variedades Golden Delicious (20.99 ± 1.63 mg/100 g),

Jonaprinz (27.45 ± 1.62 mg/100 g) y Jonagold (20.88 ± 1.14 mg/100 g) al final de la fase intestinal, con los datos anteriormente dados pueden servir como un marco de referencia para la comparación con las concentraciones de fenoles totales encontradas en los tres tratamientos propuestos en el presente trabajo, siendo éstas de mayor magnitud (61.61 ± 5.13 , 54.40 ± 2.3 y 74.19 ± 1.45 mg EAG/100 g para PN, MPG y MR respectivamente).

8.5.5 Actividad antioxidante contra el radical DPPH⁺ durante la fase pancreática

Durante la fase pancreática se observó que la actividad antioxidante también disminuyó significativamente a partir de los 30 minutos de iniciada esta etapa ($p < 0.05$) para los tres tratamientos como se puede observar en la figura 22.

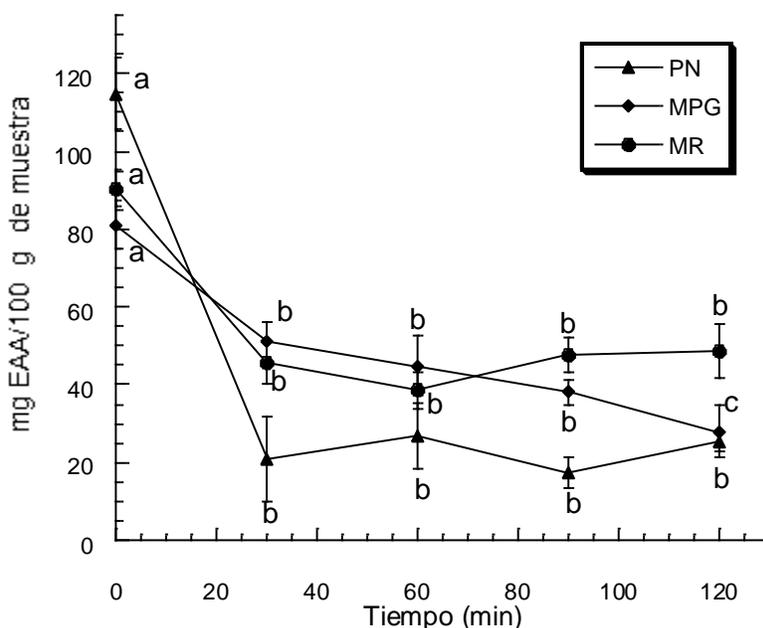


Figura 22: Efecto del tiempo en la actividad antioxidante contra radical DPPH⁺ expresados en mg equivalentes de ácido ascórbico / 100 gr de muestra; durante la fase gástrica en cada tratamiento. PN (pulpa natural), MBG (mezcla biopolímeros y pulpa natural antes del secado) y MR (microcápsulas reconstituidas).

Letras idénticas en minúsculas arriba de las barras de error no demuestran diferencia significativa en cada uno de los tratamientos (nivel de significancia $p < 0.05$)

En el tratamiento PN se observó un descenso drástico en la capacidad antioxidante al transcurrir los primeros 30 minutos de esta etapa y su actividad antioxidante se mantuvo constante hasta el final, obteniéndose valor de 25.54 ± 2.46 mg EAA/g de muestra. Para el caso de MPG también se observó un descenso en su capacidad antioxidante parecido al de PN, aunque la disminución fue gradual con respecto al tiempo, alcanzándose un valor de actividad antioxidante de 27.98 ± 6.54 mg EAA/g a los 120 minutos. El tratamiento MR mostró un descenso del 50% en su actividad antioxidante en los primeros 30 min de iniciada esta fase y se mantuvo constante durante el resto de la misma, alcanzando un valor de actividad antioxidante de 48.60 ± 6.99 mg EAA/g al concluir ésta fase.

Al realizar la comparación de los tratamientos con respecto al tiempo se obtuvieron los resultados que se muestran en la tabla 8.

Tabla 8: Efecto de los tratamientos en la actividad antioxidante contra radical DPPH en cada tiempo de la fase pancreática

Tratamiento	Tiempo (min)				
	0	30	60	90	120
PN	114.90 ± 0.93^a	21.0 ± 10.8^a	26.85 ± 8.56^a	17.51 ± 4.02^a	25.54 ± 2.46^a
MPG	81.06 ± 6.26^b	51.32 ± 4.99^b	44.92 ± 7.84^a	38.03 ± 3.04^b	27.98 ± 6.54^a
MR	90.57 ± 4.76^b	45.69 ± 5.36^b	38.50 ± 4.87^a	47.67 ± 4.65^b	48.60 ± 6.99^b

Capacidad antioxidante contra el radical DPPH expresada en mg equivalentes de ácido ascórbico/100 g de muestra. PN (pulpa natural), MPG (Mezcla de pulpa de xoconostle con gomas antes del secado) y MR (microcápsulas reconstituidas). Letras idénticas en minúsculas como superíndice no demuestran diferencia significativa entre tratamientos (nivel de significancia $p < 0.05$)

En el tiempo cero el único tratamiento que mostro diferencia significativa ($p < 0.05$), en cuanto a su valor de actividad antioxidante fue PN, ya que MPG y MR no mostraron diferencia significativa ($p > 0.05$). Al término de la fase pancreática el tratamiento MR mostró un incremento en la capacidad antioxidante total, siendo estadísticamente superior a lo observado para MPG y MR, por lo que se puede deducir que el encapsulamiento por secado por aspersion evito la disminucion de las propiedades antioxidantes del xoconostle.

Como se mencionó anteriormente existen pocos estudios para la evaluación de la actividad antioxidante del radical DPPH⁺ de polifenoles en condiciones gastrointestinales simuladas. Al respecto Cilla (2010), realizó un estudio de bioaccesibilidad en zumos de fruta de fruta adicionados con leche, y encontró que el descenso de de la actividad antioxidante se debía a la disminución de compuestos fenólicos, mientras que el aumento de la capacidad antioxidante se relaciona con la formación de productos finales de la reacción de Maillard.

8.5.6 Actividad antioxidante contra el radical ABTS durante la fase pancreática

Los resultados que se obtuvieron al evaluar el efecto del tiempo para cada uno de los tratamientos se muestra en la figura 23.

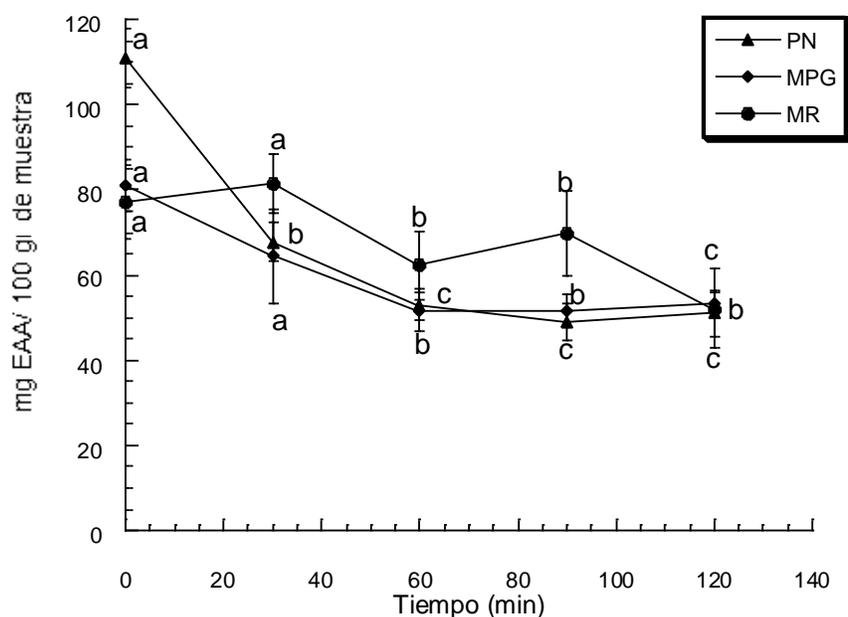


Figura 23: Efecto del tiempo en la actividad antioxidante contra radical ABTS expresados en mg equivalentes de ácido ascórbico /100 gr de muestra; durante la fase pancreática en cada tratamiento. PN (pulpa natural), MBG (mezcla biopolímeros y pulpa natural antes del secado) y MR (microcápsulas reconstituidas). Letras idénticas en minúsculas arriba de las barras de error no demuestran diferencia significativa en cada uno de los tratamientos (nivel de significancia $p < 0.05$)

Para los tratamientos PN y MPG se observó una disminución en la actividad antioxidante a partir del minuto treinta de la fase pancreática, posterior a ese tiempo la disminución fue gradual en ambos tratamientos, la actividad antioxidante alcanzada para cada uno de los tratamientos anteriormente mencionados fue de 51.07 ± 5.42 y 53.38 ± 2.36 mg EAA/100 g de muestra respectivamente. El tratamiento MR mostró un comportamiento atípico al minuto treinta con respecto al tiempo cero, ya que se observó un aumento en la actividad antioxidante, durante el resto de la etapa pancreática se obtuvo una disminución en la actividad antioxidante, alcanzando un valor de actividad antioxidante final de 52.21 ± 9.34 mg EAA/100 g de muestra.

Al evaluar el efecto entre los tratamientos con respecto al tiempo, se obtuvieron los resultados que se muestran en la tabla 9. En ella se puede observar que al tiempo cero el tratamiento PN mostró una mayor actividad antioxidante contra el radical ABTS en comparación con los tratamientos MPG y MR, mientras que en estos últimos tratamientos mencionados no existieron significativas entre su actividad antioxidante ($p > 0.05$). A los 30 minutos existió una disminución significativa con respecto al tiempo cero ($p < 0.05$), en tanto que MR mostró un incremento en su actividad antioxidante y ser mayor significativamente en éste intervalo de tiempo, mientras que en el resto de esta fase su actividad tendió a disminuir. Al final de ésta etapa se puede observar que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tres tratamientos ($p > 0.05$).

Tabla 9: Efecto de los tratamientos en la actividad antioxidante contra el radical ABTS en cada tiempo de la fase pancreática

Tratamiento	Tiempo (min)				
	0	30	60	90	120
PN	110.98 ± 6.99^a	67.75 ± 4.49^a	52.72 ± 3.38^a	49.03 ± 4.47^a	51.07 ± 5.42^a
MPG	81.06 ± 6.26^b	64.44 ± 10.94^a	51.73 ± 4.98^a	51.62 ± 3.92^a	53.38 ± 2.36^a
MR	77.13 ± 8.54^b	81.56 ± 6.80^a	62.26 ± 7.89^a	69.71 ± 10.08^b	52.21 ± 9.34^a

Capacidad antioxidante contra el radical ABTS expresada en mg equivalentes de ácido ascórbico/100 g de muestra. PN (pulpa natural), MPG (Mezcla de pulpa de xoconostle con gomas antes del secado) y MR (microcápsulas reconstituidas). Letras idénticas en minúsculas como superíndice no demuestran diferencia significativa entre tratamientos (nivel de significancia $p < 0.05$)

La medición de la actividad antioxidante de polifenoles en ensayos de bioaccesibilidad por medio de ABTS, ha sido descrita anteriormente por Tagliazucchi *et al.* (2010), sus resultados difieren a lo obtenido en el presente trabajo, ya que reportan un aumento de la actividad antioxidante durante la fase pancreática, ellos justifican su resultado por la desprotonización del grupo hidroxilo del anillo que forma parte de los polifenoles. Al igual que lo mencionado anteriormente, la disminución de la actividad antioxidante para el presente trabajo se puede relacionar con la disminución de la cantidad de fenoles totales Cilla (2010).

Al contrastar las técnicas de actividad antioxidante se puede observar que los valores obtenidos al final del proceso digestivo, existe una mayor actividad por medio de ABTS que por el método de DPPH⁺, esto se encuentra relacionado con la sensibilidad de cada una de las técnicas, el estudio realizado por Kuskoski *et al.* (2005) muestra también un aumento de la actividad antioxidante por medio ABTS que por DPPH⁺ para los frutos de su estudio, un caso similar lo reporta Bruijn *et al.* (2009) al evaluar la actividad antioxidante en diversos extractos de *Grifola garcal* que es una especie de hongo. Por lo anteriormente mencionado queda de manifiesto la importancia de realizar al menos dos técnicas para medir la actividad antioxidante de cualquier muestra.

8.7 Porcentajes de pérdidas de compuestos fenólicos para la evaluación de de la bioaccesibilidad

La bioaccesibilidad se puede evaluar mediante el porcentaje de pérdida que se tiene durante todo el proceso, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 10. Al respecto se obtuvo, que, el porcentaje de pérdida para los tres tratamientos del PN y MPB fueron nulos durante la fase gástrica, ya que se observó un incremento en la concentración de compuestos fenólicos. En un estudio realizado a la frambuesa (*Aronia melanocarpa*) (Bermúdez-Soto *et al.*, 2007), también evaluaron la estabilidad en condiciones de digestión simuladas de polifenoles presentes en

mencionado fruto, y reportaron pérdidas por arriba del 50% para la catequina durante la fase gástrica.

Tabla 10: Concentración de compuestos fenólicos y porcentajes de pérdida de pulpa de xoconostle natural, pulpa de xoconostle con biopolímeros y pulpa de xoconostle microencapsulada reconstituida, al inicio, después de la fase gástrica y pancreática in vitro.

Tratamiento	Inicial	Fase Gástrica	% de pérdida	Fase Pancreática	% de pérdida
PN	146.13±1.17	170.24±2.62	0.0	61.61±5.13	57.83
MPG	86.06±1.61	87.42± 7.74	0.0	54.40±2.31	36.78
MR	90.33±4.49	95.03±9.62	0.0	74.19±1.45	17.86

mg de ácido gálico equivalentes/100 g muestra; PN (pulpa natural), MPG (mezcla pulpa con gomas antes del secado) y MR (microcápsulas reconstituidas).

Por otra parte el porcentaje de pérdida durante la fase pancreática en los tratamientos fue similar a la que se obtuvieron en un ensayo donde evaluaron la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos para el brócoli, en donde obtuvieron de un 80-85% de pérdida (Bermúdez-Soto et al., 2007), otro estudio con cebollas y manzanas reportaron hasta un 75% de pérdida (Bermúdez-Soto et al., 2007).

Tomando en cuenta la concentración de compuestos fenólicos y el porcentaje de pérdida al final del ensayo de bioaccesibilidad, se observa que el tratamiento MR obtuvo una concentración significativamente mayor ($p < 0.05$) que PN y un porcentaje de pérdida significativamente menor que PN ($p < 0.05$), lo que sugiere que el encapsulamiento, resultó ser una buena alternativa para la protección de los compuestos fenólicos.

8.8 Porcentaje de bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos

Tomando en cuenta las concentraciones finales obtenidas, es posible determinar el porcentaje de compuestos fenólicos bioaccesibles al final del proceso de simulación gastrointestinal in vitro, en la figura 24 se puede apreciar el comportamiento del porcentaje bioaccesible de compuestos fenólicos al final del proceso. El mayor porcentaje de compuestos fenólicos bioaccesibles se observó para el tratamiento MR encontrándose un valor de 82.13±1.61% significativamente

mayor ($p < 0.05$) en comparación con los tratamientos PN y MPG (42.16 ± 3.51 y $63.41 \pm 2.70\%$ respectivamente).

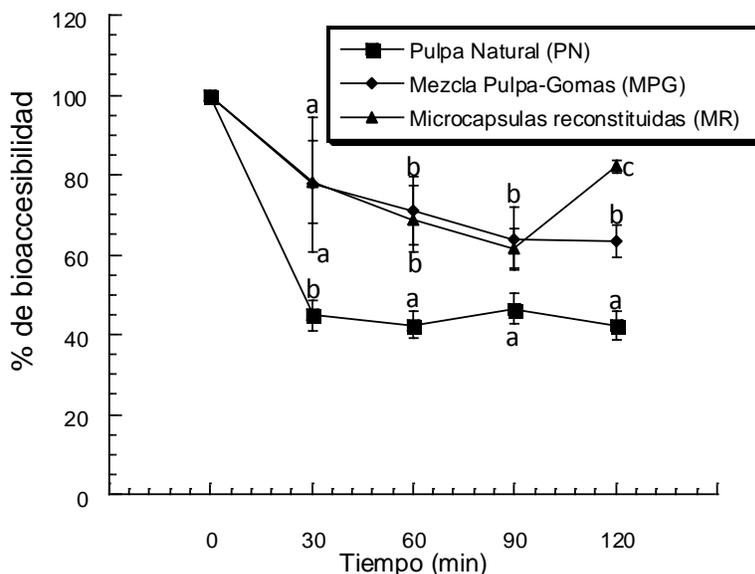


Figura 24: Porcentaje de bioaccesibilidad de compuestos fenólicos para pulpa natural (PN), mezcla pulpa con gomas antes del secado (MPG) y microcápsulas reconstituidas (MR) Letras idénticas en minúsculas arriba de las barras de error no demuestran diferencia significativa entre los tres tratamientos con respecto al tiempo (nivel de significancia $p < 0.05$)

Los porcentajes obtenidos pueden ser comparados con los obtenidos por Ortega *et al.* (2009), ya que ellos reportan un valor cercano al 75% de ácidos fenólicos bioaccesibles en licor de cocoa y en polvo de cocoa un valor cercano al 85%. En el estudio realizado por Tagliazucchi *et al.* (2010) reportan un valor del 62.4% de polifenoles bioaccesibles en uva. Ellos atribuyen que estos valores obtenidos pueden ser a que parte de los compuestos fenólicos pudieron ser degradados o transformados en otros. Otro estudio realizado por Coe *et al.* (2013) reportan porcentajes de bioaccesibilidad en diferentes infusiones por arriba del cien por ciento, por ejemplo reporta para la menta marroquí un 124.3%, perlas de Jazmín 204%, y té blanco *Clipper* un porcentaje del 176.6%.

Aunque si bien en el presente trabajo no se midieron las cantidades de betalaínas, existe un estudio donde evaluaron el porcentaje bioaccesible de betanina presente en jugo de cactus rojo (*Opuntia ficus indica* L. Mill. cv. gialla y rossa) mostrando un valor de 44 ± 2.2 %, dato que es de utilidad ya que se sabe que en el xoconostle es uno de los pigmentos principales (Tesoriere *et al.*, 2008).

Las investigaciones concernientes a la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos son importantes, ya que no todos los polifenoles presentes en el alimento son bioaccesibles durante su liberación en el tracto gastrointestinal (Tagilazucchi *et al.*, 2010). Ya que las cantidades de polifenoles bioaccesibles difieren cuantitativamente y cualitativamente de los polifenoles extraídos con métodos químicos (Tagilazucchi *et al.*, 2010).

8.9 Correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante

La evaluación de la correlación de la actividad antioxidante con el contenido de fenoles totales, se realizó comparando los dos métodos realizados DPPH⁺ y ABTS, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 8.

Tabla 11: Correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante empleando DPPH y ABTS

Tratamiento	Correlación de actividad antioxidante entre contenido de fenoles y actividad antioxidante	
	DPPH	ABTS
PN	0.9740	0.9017
MPG	0.8819	0.7310
MR	0.7862	0.3210

PN: Pulpa natural; MPG: Mezcla pulpa con gomas antes del secado y MR: Microcápsulas reconstituidas

Se puede observar que existe una mejor correlación empleando el método de DPPH para los tres tratamientos, en tanto que para ABTS solo se obtuvo una buena correlación para PN y MPG (0.9017 y 07310), ya que para MR la correlación es menor en comparación con los dos tratamientos anteriormente mencionados. Los coeficientes de correlación para PN se encuentran en concordancia con lo observado por Kuate *et al.*, (2010) al evaluar una especia

(*Dicrhostachys glomerata*) teniendo un valor de correlación para DPPH⁺ de r 0.989 y 0.965 para ABTS. Un estudio realizado por Anagnostopoulou *et al.*, (2006) evaluaron la correlación entre la capacidad antioxidante por DPPH⁺ y el contenido de fenoles totales presentes en una especie de naranja, mostraba que las fracciones analizadas presentaban una relación entre el contenido de fenoles y la actividad antioxidante, ya que a mayor contenido de fenoles totales se observó una mayor actividad, pero al realizar una correlación entre ambos parámetros no se obtuvieron buenos valores de correlación teniendo r entre 0.651 y 0.612, que en comparación con lo obtenido para MPG y MR son menores. La explicación que ellos argumentan es que el contenido de fenoles totales y el método de actividad antioxidante siguen mecanismos de reacción muy diferentes. Además se puede suponer que la baja correlación obtenida para MR es debido a que los compuestos bioactivos presentes en la pulpa natural pudieron haber sufrido un cambio debido al proceso de secado. Por ejemplo en el estudio realizado por Pitalua *et al.* (2010), demuestran que después del encapsulamiento de jugo de betabel, la actividad antioxidante aumento con respecto a la pulpa natural, ellos explican éste cambio debido a que la parte proteica de la goma arábica favorece la interacción con los azúcares presentes en la estructura de la betanina (especie de betalaina que también se encuentra en el xoconostle), favoreciendo así reacciones de Maillard, generando así precursores de polifenoles causantes del incremento de la actividad antioxidante.

Para la correlación entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante por ABTS, los resultados para PN y MPG se encuentran en concordancia para lo realizado por Amensour *et al.* (2010) ellos reportan una correlación positiva r de 0.972 para un extracto de *Myrtus*, también el estudio de Molina-Quijada *et al.* (2010) mostró una buena correlación obteniendo una r de 0.996 para la uva (*Vitis vinífera* L.).

9. CONCLUSIONES

El encapsulamiento mostró una protección hacia los compuestos bioactivos (fenoles totales) en el proceso gastrointestinal simulado en comparación a los tratamientos PN y MPG

La mayor concentración de los compuestos bioactivos (fenoles totales) después del ensayo de bioaccesibilidad se encontró con la microcápsula reconstituida (MR) en comparación PN y MPG.

La mayor actividad antioxidante (DPPH) después de ensayo de digestibilidad se observó con MR, mientras en la actividad antioxidante con ABTS no se observaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre los tratamientos.

10. RECOMENDACIONES

Realizar un perfil cromatográfico de los fenoles totales presentes en el xoconostle y compararlos con los perfiles después del secado por aspersión y proceso de digestión gastrointestinal simulada.

Realizar un análisis de los demás compuestos bioactivos presentes en el xoconostle, como las betalaínas y flavonoides, antes y durante el proceso gastrointestinal simulado.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Amensour M., Sendra E., Abrini J., Pérez-Alvarez J.A. y Fernández-López J.(2010). Antioxidant activity and total phenolic compounds of Myrtle extracts. *Journal of Food*. 8 (2): 95-101.
2. Anagnostopoulou M.A., Kefalas P., Papageorgiou V.P., Assimopoulou N.A. y Boskou D. (2006). Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food Chemistry*. 94. 19-25.
3. AOAC. (1995). Official methods of analysis of AOAC (16th ed.). Arlington, VA. Association of Official Analytical Chemistry. 12-14
4. Archivio D'M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., y Masella R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali Dell Istituto Superiore di Sanita*. 43 (4): 348-361.
5. Arias M.C.G y Martínez C.M.A. (1988). Jardín de introducción de procedencia del nopal (*Opuntia sp.*). En: Memoria de la III reunión nacional y I reunión internacional. El nopal. 10-14 de octubre. Saltillo Coah. México: 81-86.
6. Barras A., Mezzetti A., Richard A., Lazzaroni S., Roux S., y Melnyk P. (2009). Formulation and characterization of polyphenol-loaded lipid nanocapsules. *International Journal of Pharmaceutics*. 379: 270-277.
7. Bermúdez-Soto M.J., Tomás-Barberán F.A. y García-Conesa M.T. (2007). Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* gastric and pancreatic digestion. *Food Chemistry*. 102: 865-874.
8. Borowska J. (2003). Fruits and vegetables as source of natural antioxidants. *Przemysl Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 1, 11–12.
9. Bouyed J., Deußer H., Hoffman L. y Bohn T.(2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected Apple varieties following *in vitro* digestion vs their native patterns. *Food Chemistry*. 131: 1466-1472.
10. Bravo H.H. (1978). Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Volumen 1.

11. Bruijn de J., Loyola C., Aqueveque P., Cañumir J., Cortéz M. y France A. (2009). Antioxidant properties of extracts obtained from *Grifola Gargal* mushrooms. *Microbiología Aplicada Internacional*. 21 (1): 11-18
12. Cai Y.Z., y Corke H. (1999). Amaranthus betacyanin pigments applied in model food systems. *Journal of Agricultural Food chemistry*. 64: 869-873.
13. Castellar R., Obón J.M., Alacid M. y Fernandez J.A. (2003). Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia Frutis*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 51: 2772-2776
14. Chang Q., Zhong Z., Chow M.S.S., y Walter K.K.H. (2006). Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. major) fruits and a hawthorn drink. *Food Chemistry*. 98 (3): 426-430.
15. Cilla T.A. (2010). Tesis: "Actividad antioxidante y biodisponibilidad mineral de zumos de frutas adicionados de minerales y/o leche. Universitat de València, Facultad de Farmacia.
16. Coe S., Fraser A. y Ryan L. (2013). Polyphenol Bioaccessibility and sugar reducing capacity of black, green and White teas. *International Journal of Food Science*. 1-6.
17. Deladino L., Anbinder P.S., Navarro A.S., y Martino M.N. (2008). Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydrate Polymers*. 71: 126-134.
18. Delgado-Vargas F., Jiménez A.R., y Paredes-López O. (2000). Natural pigments: Carotenoids, Anthocyanins and betalains – Characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical reviews in food science and nutrition*. 40 (3): 251-279.
19. Desai K.G.H., y Park H.J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*. 23: 1361-1394.
20. Desobry S., Netto F. & Labuzza T. (1997). Comparison of Spray-drying, drum-drying and freeze drying for β -carotene encapsulation and preservation. *Journal of Food Science*. 62 (6): 1158-1162.

21. Eisen B., Ungar Y., y Shimoni E. (2003). Stability of isoflavones in soy milk stored at elevated and ambient temperatures. *Journal of Agricultural Food chemistry*. 51: 5501-5506.
22. Ersus S., y Yurdagel U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*. 80: 805-812.
23. Fang Z., y Bhandari B. (2010). Encapsulation of polyphenols- a review. *Trends in Food Science & Technology*. 21: 510-523.
24. Fennema R. Owen. 2004. *Química de los Alimentos*. España. Acribia. Pp: 1-1238
25. Filardo K. S., Peña R. M. Scheinvar L., Cruz M. B.R., Tapia A. J.T., y Estrada Z. (2006). Validación de una mermelada elaborada con xoconostle (*Opuntia matudae sheinvar*). *Tecnología*. Alfa editores. México.. 18-19.
26. Gandía-Herrero F., Escribano J., y García-Carmona F. (2010). Structural implications on color, fluorescence, and antiradical activity in betalains. *Planta*. 232 (2): 449-460
27. García-Pedraza L.G., Reyes-Agüero J.A., Aguirre-Rivera J.R., Pinos-Rodríguez J.M. (2005). Preliminary nutritional and organoleptic assessment of xoconostle fruit (*Opuntia* spp.) as a condiment or appetizer. *Italian Journal Food Science*. 17 (3): 333-340.
28. Guzmán-Maldonado S.H., Morales-Montelongo A.L., Mondragón-Jacobo C., Herrera-Hernández G., Guevara-Lara Fidel y Reynoso-Camacho R. (2010). Physicochemical, nutritional, and functional characterization of fruits Xoconostle (*Opuntia matudae*) Pears from central-México region. *Journal of Food science*. 75 (6): 485-492.
29. Guzmán U., Arias S., y Dávila P. (2003). Catálogo de cactáceas mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México.pp. 315.
30. Harborne J.B., Williams C.A. (2000). Advances in flavonoid research since. *Phytochemistry*. 55: 481-504

31. Herbach K.M., Stinzing F.C., y Carle R. (2004). Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Journal of Food Science*. 69, 491-498.
32. Henrirtte M.C. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science and Technology*. 44: 2365-2376.
33. Hodges, D.M., & Forney, C.F. (2003). Postharvest ascorbate metabolism in two cultivars of spinach differing in their senescence rates. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 128: 930–935.
34. Hosein E.A., y Hasan Z.M. (2012) Thermal stability of some flavonoids and phenolic in sheep tallow olein. *European Journal of lipid science and technology*. DOI: 10.1002/ejlt.201100240
35. Klepacka J., Gujska E., Michalack J. (2011). Phenolic compounds as cultivar-and variety-distinguishing factors in some plant products. *Plants Foods and Human Nutrition*. 66: 64-69.
36. Kosajaru S.L., Labbett D., Emin M., Konczak I., y Lundin L. (2008). Delivering polyphenols for healthy ageing. *Nutrition and Dietetics*. 65: 48-52.
37. Kuate D., Etoundi B.C.O., Soukontoua Y.B., Ngondi J.L. y Oben J.E. (2010). Antioxidant characteristics of *Dichrostachys glomerata* spice extracts. *Journal of food*. 8 (1): 23-37.
38. Kuskoski M.E., Asuero G.A., Troncoso A.M., Mancini-Filho J., Fett R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, 25 (4): 726-732.
39. Jiratanan T. y Rui H.L. (2004). "Antioxidant activity of processed table beets (*Beta vulgaris* var. *conditiva*) and green beans (*Phaseolus vulgaris* L.)". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 2659-2670.
40. Kuti J.O. (2004). Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chemistry*. 85 (4): 527-533
41. McClements D.J. y Li Y. (2010). Review of in vitro digestion models for rapid screening of emulsions-based systems. *Food & Function*. 1: 32-59

42. Magalhaes L.M., Segundo M.A., Reis S., Lima J.L.F.C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*. 613: 1-19.
43. Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., y Rémésy C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 230S–242S.
44. Molina-Quijada D.M.A., Medina-Juárez L.A., González-Aguilar G.A., Robles-Sánchez R.M., y Gámez-Meza N. (2010). Phenolic compounds and antioxidant activity of table grape (*Vitis vinífera* L.) skin from northwest Mexico. *Journal of food*. 8 (1): 57-63.
45. Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science and Technology*. 26: 211-216
46. Morales P., Ramírez-Moreno E., Sánchez-Mata M. de C., Carvalho A. M., y Ferreira I. C.F.R. (2012). (Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International*. 46: 279-285.
47. Morales-Luna E. (2012)^a. Tesis: “Evaluación de las propiedades funcionales de pulpa de xoconostle (*Opuntia oligacantha*) y su conservación mediante microcápsulas. Universidad Autónoma de Hidalgo. México.
48. Morales-Luna E., Hernández-Fuentes A.D., Pérez-Alonso C., Guevara-Arauz J.C., Reyes-Munguía A. y Pimentel-González D. (2012)^b. Memorias del XXXIII encuentro nacional y II encuentro internacional AMIDIQ. México. Pp. 3457.
49. Naqui A., Britton C. y Cadenas E. (1996). Reactive oxygen intermediates in biochemistry. *Annual Review Biochemistry*, 55, 137-166.
50. Ortega N., Reguant J., Romero María-Paz., Maciá A. y Motilva María-José. (2009) Effect of fat content on the digestibility and Bioaccessibility of cocoa

- polyphenol by an in vitro digestion model. *Journal of Agricultural Food Chemistry*.57, 5743-5749
51. Osorio-Esquivel O., Ortiz-Moreno A., Álvarez V.B., Dorantes-Álvarez Lidia y Giusti M. M. (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*. 44: 2160-2168.
52. Ovando-Chacón S.L. y Waliszewski K.N. (2005). Preparativos de celulosas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. *Universidad y Ciencia*. 21:111-120
53. Ozgen M., Neil R.R., Artemio Z.T.J., Scheerens J.C y Miller R. (2006). Modified 2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) Method to Measure Antioxidant Capacity of selected Small fruits and comparison to Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.54: 1151-1157
54. Perez-Jimenez J. y Saura-Calixto F. (2005). Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 53: 5036-5040.
55. Pimienta- Barrios E., Méndez-Morán L., Ramírez-Hernández B.C., García de Alba-García J.E., Domínguez-Arias R. (2008). Efecto de la ingestión del fruto xoconostle (*Opuntia joconostle* web.) sobre la glucosa y lípidos séricos. *Agrociencia* 42: 645-653.
56. Pitalua E., Jimenez M., Vernon-Carter E.J., Beristain C.I. (2010). Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. *Food and Bioproducts processing*. 88: 253-258.
57. Pool H., Quintanar D., Figueroa J.D., Bechara H.J.E., McClements D.J. y Mendoza S. (2012). Polymeric nanoparticles as oral delivery systems for encapsulation and release of polyphenolic compounds: Impact on quercetin antioxidant activity & bioaccessibility. *Food Biophysics*. 7:276–288
58. Rao A.V. y Balachandran B. (2002). Role of oxidative stress and antioxidants in neurodegenerative diseases. *Nutritional Neuroscience*. 5: 291-309.

59. Rayner P.B. (1993). Food and drink colors from natural sources. *Food marketing technology*. 7 (1): 9-11.
60. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical action decolonization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26: 1231–1237.
61. Reyes-Agüero J.A., Aguirre R. J.R., Valiente-Banuet A. (2006). Reproductive biology of *Opuntia*: A review. *Journal of Arid Environments*. 64: 549-585.
62. Reyes-Munguía A., Azúara-Nieto E., Beristain C.I., Cruz-Sosa F. y Vernon-Carter E.J. (2009). *CyTA- Journal of Food*. 7 (3): 209-216.
63. Robert P., Gorena T., Romero N., Sepulveda E., Chavez J. y Saénz C. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica Granatum*) by spray drying. *International Journal of Food Science and Technology*. 45: 1386-1394.
64. Rojas-Barquera D.R., Narváz Cuenca E.C., Restrepo-Sánchez L.P. (2008). Evaluación del contenido de vitamina C, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) de las variedades pera, regional roja y regional blanca. *Memorias de Red- Alfa Lagrotech*. 49-60.
65. Saénz C., Tapia S., Chávez J. y Robert P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*), *Food Chemistry*. 114: 616-622.
66. SAGARPA. (2010). Descubre INIFAP diversas propiedades nutricionales en la tuna de xoconoxtle. Publicado y disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/boletines2/Paginas/2010-B089.aspx>. Vista por última vez el 10/09/13
67. Scheinvar L. (1988). Los nopales silvestres del estado de Querétaro en sus tipos de vegetación. En: Memoria de la III reunión nacional y I reunión internacional. El nopal. 10-14 de octubre. Saltillo. Coah. México: 39.

68. Sharma O.P. y Bhat T.K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*. 113: 1202-1205.
69. Singleton V.L. (1987). Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: Observations and practical implications. *American Journal of Enology and Viticulture*. 38 (1): 69-77
70. Singleton V.L., Orthofer L., Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods enzymology*. 299: 152-178.
71. Skoog D.A., Leary J.J. (1997). *Análisis Instrumental*. Barcelona: McGraw-hill. Pag. 654-680.
72. Stinzing F.C., Conrad J., Klaiber I., Beifuss U., y Carle R. (2003). Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research and Technology*. 216: 303-311.
73. Strack D., Vogt T., y Schliemann W. (2003). Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*. 62: 247-269.
74. Tagliacruzchi D., Verzelloni E., Bertolini D. (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*. 120. 599-606.
75. Tesoriere L., Butera D., Allegra M., Fazzari M., y Livrea M.A. (2005). Distribution of betalains pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex Vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural Food chemistry*. 53. 1266-1270.
76. Tesoriere L., Fazzari M., Angileri F., Gentile C. y Livrea Ma. A. (2008). In Vitro digestion of betalainic foods. Stability and bioaccessibility of betaxanthins and betacyanins and antioxidative potential of food digesta. *Journal of agricultural and food chemistry*. 56: 10487-10492
77. Tonon V.R., Freitas S.S., y Hubinger D.M. (2011). Spray drying of AÇAI (*Euterpe Oleraceae* Mart.) Juice: effect of inlet air temperature and type of carrier agent. *Journal of Food Processing and Preservation*. 35: 691-700.

78. Vega-Gálvez A., Kong Ah-Hen., Chacana M., Vergara J., Martínez-Monzo J., García-Segovia P., Lemus-Mondaca R. y Di Scala K. (2012). Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of Apple. *Food Chemistry*. 132: 51-59
79. Versantvoort C.H.M., Oomen A.G., Van de Kamp E., Rompelberg C.J.M., Sips A.J.A.M. (2005). Applicability of an in vitro digestion model in assessing bioaccessibility of micotoxins from food. *Food Chemical Toxicology*. 43: 31-40
80. Zabaleta-Beckler P., Olivares-Orozco L., Montiel-Solero D., Chimal-Hernández A., y Scheinvar L. (2001). Fertilización orgánica en xoconostle (*Opuntia joconostle* y *O. matudae*) *Agrociencia*. 35: 609-614.
81. Zhang L., Mou D., y Du Y. (2007). Procyanidins: extraction and micro-encapsulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 87: 2192-2197.

12. ANEXOS

La Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, A.C.

“La Ingeniería Química en la Biotecnología y la Energía”

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a:

Emmanuel Martínez Ramirez, Juan Carlos Guevara Arauza, Abigail Reyes Munguía,
Rafael Germán Campos Montiel, Diana Jaqueline Pimentel González

Por la presentación del trabajo:

“Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos encapsulados provenientes del Xococonostle”

ID: 85

XXXIV Encuentro Nacional y III Congreso Internacional de la AMIDIQ
llevado a cabo del 7 al 10 de mayo de 2013 en el Puerto de Mazatlán, Sinaloa, México.

Dr. Rubén González Núñez
PRESIDENTE DE AMIDIQ

Dr. Jesús Alberto Ochoa Tapia
PRESIDENTE DEL COMITÉ TÉCNICO

Dr. Jorge Milán Carrillo
PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR