



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**

---

**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO SOBRE LA ACTIVIDAD  
ANTIOXIDANTE Y AZÚCARES REDUCTORES DEL JUGO DE TUNA  
DURANTE SU ALMACENAMIENTO**

**TESIS**

Que para obtener el título de  
Licenciadas en Nutrición

**P R E S E N T A N**

Cervantes Elizarrarás Alicia  
Morales Ramírez Alma Verónica

Bajo la Dirección de:  
Dra. Nelly del S. Cruz Cansino

Codirectora: Dra. María Teresa Sumaya Martínez

Pachuca de Soto, Hgo., 2011



## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS .....	IV
ÍNDICE DE TABLAS .....	V
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VI
RESUMEN .....	1
SUMMARY .....	2
1. MARCO TEÓRICO .....	3
1.1 Nopal ( <i>Opuntia ficus</i> ).....	3
1.2 Descripción de la planta .....	3
1.3 Tipos y características de <i>Opuntia</i> spp. ....	4
1.4 Tuna ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ) .....	5
1.4.1 Características .....	5
1.4.2 Producción mundial, nacional y estatal .....	5
1.4.3 Consumo y subproductos.....	7
1.4.4 Composición química y nutricional .....	7
1.5 Radicales libres, antioxidantes y estrés oxidativo .....	10
1. 6 Tipos de antioxidantes.....	11
1.6.1 Antioxidantes sintéticos .....	11
1.6.2 Antioxidantes naturales .....	11
1.7 Importancia de los antioxidantes en la salud.....	12
1.8 Actividad antioxidante y compuestos funcionales de la tuna.....	13
1.8.1 Ácido ascórbico .....	13
1.8.2 Betalaínas .....	13

1.8.3 Compuestos fenólicos .....	15
1.8.4 Compuestos quelantes.....	15
1.8.5 $\beta$ -caroteno .....	15
1.8.6 Tocoferoles.....	15
1.9 Almacenamiento y procesado de la tuna.....	16
1.9.1 Reacción de Maillard.....	16
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	19
3. JUSTIFICACIÓN .....	20
4. HIPÓTESIS .....	21
5. OBJETIVOS .....	22
5.1 Objetivo general .....	22
5.2 Objetivos específicos .....	22
6. METODOLOGÍA .....	23
6.1 Tipo de estudio.....	24
6.2 Obtención y preparación de la muestra.....	24
6.3 Aplicación de tratamientos .....	24
6.4 Equipo .....	24
6.5 Determinación de compuestos fenólicos totales .....	25
6.6 Determinación de ácido ascórbico .....	26
6.7 Determinación de betalaínas.....	27
6.8 Determinación de actividad quelante .....	28
6.9 Determinación de la actividad antioxidante por ABTS <sup>•+</sup> .....	29
6.10 Determinación de la actividad antioxidante por DPPH <sup>•</sup> .....	30
6.11 Determinación de azúcares reductores.....	31
6.12 Determinación de compuestos pardos .....	32

6.13 Determinación de compuestos fluorescentes.....	32
6.14 Análisis estadístico.....	32
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
7.1 Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT).....	33
7.2 Concentración de ácido ascórbico .....	36
7.3 Determinación de betalaínas.....	39
7.3.1 Concentración de betacianinas .....	39
7.3.2 Concentración de betaxantinas.....	40
7.4 Determinación de actividad quelante .....	43
7.5 Análisis de la actividad antioxidante por ABTS <sup>•+</sup> .....	45
7.6 Análisis de la actividad antioxidante por DPPH <sup>•</sup> .....	47
7.7 Contenido de azúcares reductores.....	49
7.8 Resultados de pardeamiento.....	51
7.9 Resultados de fluorescencia .....	54
8. CONCLUSIONES .....	56
9. REFERENCIAS.....	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Reacción de Maillard.....	17
<b>Figura 2.</b> Diagrama del diseño metodológico .....	23
<b>Figura 3.</b> Curva estándar de ácido gálico .....	25
<b>Figura 4.</b> Curva estándar de ácido ascórbico .....	26
<b>Figura 5.</b> Curva estándar de ácido ascórbico .....	29
<b>Figura 6.</b> Curva estándar de Trolox .....	30
<b>Figura 7.</b> Curva estándar de glucosa.....	31
<b>Figura 8.</b> Contenido de CFT (mg EAG/L) en jugos de tuna púrpura.....	35
<b>Figura 9.</b> Contenido de CFT (mg EAG/L) en jugos de tuna verde .....	35
<b>Figura 10.</b> Contenido de ácido ascórbico (mg/L) en jugos de tuna púrpura .....	38
<b>Figura 11.</b> Contenido de ácido ascórbico (mg/L) en jugos de tuna verde.....	38
<b>Figura 12.</b> Concentración de betacianinas (mg EB/L) en jugos de tuna púrpura .....	39
<b>Figura 13.</b> Concentración de betaxantinas (mg EI/L) en jugos de tuna púrpura.....	42
<b>Figura 14.</b> Concentración de betaxantinas (mg EI/L) en jugos de tuna verde .....	42
<b>Figura 15.</b> Porcentaje de actividad quelante en jugos de tuna púrpura.....	44
<b>Figura 16.</b> Porcentaje de actividad quelante en jugos de tuna verde .....	44
<b>Figura 17.</b> Actividad antioxidante por ABTS <sup>•+</sup> en jugos de tuna púrpura.....	46
<b>Figura 18.</b> Actividad antioxidante por ABTS <sup>•+</sup> en jugos de tuna verde .....	46
<b>Figura 19.</b> Actividad antioxidante por DPPH <sup>•</sup> en jugos de tuna púrpura .....	48
<b>Figura 20.</b> Actividad antioxidante por DPPH <sup>•</sup> en jugos de tuna verde.....	48
<b>Figura 21.</b> Porcentaje (p/v) de azúcares reductores en jugos de tuna púrpura .....	50
<b>Figura 22.</b> Porcentaje (p/v) de azúcares reductores en jugos de tuna verde .....	50
<b>Figura 23.</b> Compuestos pardos en jugos de tuna púrpura.....	53
<b>Figura 24.</b> Compuestos pardos en jugos de tuna verde .....	53
<b>Figura 25.</b> Compuestos fluorescentes en jugos de tuna púrpura .....	55
<b>Figura 26.</b> Compuestos fluorescentes en jugos de tuna verde.....	55

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Producción agrícola de tuna de los estados más representativos .....	6
<b>Tabla 2.</b> Contenido nutrimental de la porción comestible de <i>Opuntia ficus</i> (100 g) ....	9
<b>Tabla 3.</b> Contenido de betalaínas (mg/L) en variedades de <i>Opuntia ficus-indica</i> .....	14

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ABTS<sup>•+</sup>**: 2, 2'azinobis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico)

**CFT**: Contenido de compuestos fenólicos totales

**DCPI**: 2,6 diclorofenolindofenol sal disódica

**DNS**: Ácido 3,5 dinitrosalicílico

**DPPH<sup>•</sup>**: 1,1-Difenil-2-Picrilhidracil

**EAA**: Equivalentes de ácido ascórbico

**EAG**: Equivalentes de ácido gálico

**EB**: Equivalentes de betaninas

**EDTA**: Ácido etilenodiaminotetracético

**EI**: Equivalentes de indicaxantinas

**ERO**: Especies reactivas de oxígeno

**ET**: Equivalentes de Trolox

**Ha**: Hectárea

**nm**: Nanómetro

**p/v**: Peso Volumen

**PVDF**: Polifluoruro de vinilideno

**rpm**: Revoluciones por minuto

**SIAP**: Sistema de Información Agropecuaria de consulta

**μL**: Microlitro

**μm**: Micrómetro

## RESUMEN

El nopal, ícono representativo de México, pertenece a la familia de las cactáceas (*Cactaceae*) y al género *Opuntia*, es endémico del continente americano y se desarrolla en regiones áridas y semiáridas. La tuna, es considerada un alimento funcional por los antioxidantes que posee, los cuales, protegen al organismo contra las enfermedades relacionadas con los radicales libres. Con la finalidad de aportar información que permita un mejor conocimiento sobre el contenido nutrimental del jugo de tuna procesado, se estudió el efecto del tratamiento térmico y el almacenamiento sobre la concentración de compuestos fenólicos totales, ácido ascórbico, betalaínas, actividad quelante, actividad antioxidante (ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>); contenido de azúcares reductores, fluorescencia y pardeamiento no enzimático. Se preparó jugo de tuna verde y púrpura y se trató térmicamente a 60, 70 y 80 °C por 30 minutos. El jugo sin tratamiento se utilizó como control, se almacenaron a 4°C y se analizaron en los días 1 y 12. Debido al tratamiento térmico, disminuyó el contenido de ácido ascórbico en el jugo verde al igual que las betaxantinas en el jugo púrpura, los compuestos fenólicos aumentaron y se generaron compuestos pardos con capacidad antioxidante. La actividad antioxidante total se mantuvo estable. El almacenamiento a 4 °C no modificó la concentración de compuestos funcionales, excepto el ácido ascórbico el cuál disminuyó en los jugos tratados 60 y 80 °C en ambas variedades. Los tratamientos térmicos aplicados y el almacenamiento a 4 °C pueden ser una alternativa de conservación para el jugo de tuna, ya que no afectan el contenido de componentes antioxidantes.

**Palabras clave:** Jugo de tuna, *Opuntia ficus-indica*, actividad antioxidante, almacenamiento, reacción de Maillard.

## SUMMARY

The cactus, a representative plant of Mexico, belongs to the cactus family (*Cactaceae*) and the genus *Opuntia*, is endemic to America and grows in arid and semiarid regions. The prickly pear is considered a functional food mainly due to the antioxidants, which serve to protect the body against diseases related to free radicals. In order to provide information that allows a better understanding of the nutritional content of processed prickly pear juice, it was studied the effect of heat treatment and storage on the concentration of total phenolic compounds, ascorbic acid, betalains, chelating activity, antioxidant activity (ABTS<sup>•+</sup> and DPPH<sup>•</sup>) reducing sugar content, fluorescence and non-enzymatic browning. To carry out the study was prepared green and purple prickly pear juice and heat treated at 60, 70 and 80 °C for 30 minutes. The unheated juice was used as control; samples were stored at 4 °C and analyzed on days 1 and 12. Due to heat treatment, ascorbic acid in the green juice and betaxanthins content in purple juice decreased, phenolic compounds were increased and new brown compounds with antioxidant capacity were generated. The total antioxidant activity remained stable. Storage at 4 °C did not affect the concentration of functional compounds, except ascorbic acid which decreased in heat treated juices at 60 y 80 °C in both varieties. The thermal treatments and storage at 4 °C may be an alternative for the conservation of prickly pear juice because they don't affect the antioxidant compounds.

**Key words:** prickly pear juice, *Opuntia ficus-indica*, antioxidant activity, storage, Maillard reaction.

## **1. MARCO TEÓRICO**

### **1.1 Nopal (*Opuntia ficus*)**

El nopal es originario de América y se encuentra distribuido en todo el continente, desde Canadá hasta Argentina; además, se ha difundido a África, Asia, Europa y Oceanía. Se desarrolla en zonas áridas y semiáridas en una gran variedad de condiciones agroclimáticas. Pertenece a la familia de las cactáceas (*Cactaceae*) y al género *Opuntia*; es utilizado como alimento, bebida alcohólica, dulce, producto medicinal e industrial, forraje, entre otros (Medina-Torres y col., 2008).

México es el país donde existe la mayor diversidad de nopales, tanto silvestres como cultivados, motivo por el cual es considerado centro de origen de los nopales. Actualmente se han reconocido 377 especies en el mundo, 104 de éstas se encuentran en México, el cual cuenta con una superficie aproximada de 65,000 Ha. de plantaciones especializadas en nopal para consumo humano (Reyes y col., 2005; Ruiz y col., 2006; Padrón y col., 2008).

### **1.2 Descripción de la planta**

La planta *Opuntia* se desarrolla en suelos sueltos, arenosos calcáreos y en tierras poco fértiles y superficiales, los suelos altamente arcillosos y húmedos no son convenientes para su cultivo. Debido a sus características morfológicas y fisiológicas que presenta, le permite soportar desde escasa precipitación hasta altas y bajas temperaturas (Cerezal y Duarte, 2005; Guzmán y Chávez, 2007).

La raíz es un sistema radicular perenne, extenso y con pequeñas raíces secundarias provistas de pelos absorbentes no permanentes, su presencia se limita a la época de lluvias, su función es captar el agua y nutrientes del medio. Cuando se inicia la sequía, las raíces comienzan a contraerse de manera radial contribuyendo a disminuir la pérdida de agua (INE, 1994).

Los tallos son conocidos también como palas, pencas o cladodios, son articulados, aplanados y con tejido carnosos; en el centro de la penca se encuentra una red bilateral de tejido celulósico que, con el transcurso del tiempo, se endurece, dándole a ésta una constitución rígida, alcanzando hasta 60-70 cm de longitud, dependiendo del agua y de los nutrientes disponibles. Cuando miden 10-12 cm son tiernos y se pueden consumir como verdura. La forma y el grosor de las pencas son variables, así como su color, que varía desde verde claro hasta gris ceniza, según la edad de la planta.

Las flores son diurnas, hermafroditas, nacen en la base de la planta y funcionan indistintamente como yemas florales o vegetativas. Constan de un cáliz con tubo oval, soldado con el ovario y el limbo; con muchos pétalos y numerosos estambres persistentes, con los filamentos largos, coloridos y anteras longitudinalmente dehiscentes; presentan colores vivos y brillantes (INE, 1994; Guzmán y Chávez, 2007).

La forma y el tamaño de los frutos son variables, los hay ovoides, redondos, elípticos y alargados, con los extremos aplanados, cóncavos o convexos. Los colores son diversos: rojos, anaranjados, púrpuras, amarillos y verdes, con pulpas también de los mismos colores. La epidermis presenta abundantes gloquidios y espinas. La cáscara difiere mucho en grosor, siendo también variable la cantidad de pulpa (Sáenz, 2000).

### **1.3 Tipos y características de *Opuntia* spp.**

Se conocen casi 300 especies del género *Opuntia*. Sin embargo, solo 10 o 12 de estas son utilizadas por el hombre. La especie que más se cultiva en el mundo es *Opuntia ficus-indica*. Las características de estas especies son variables, diferenciándose en la forma de los cladodios, en la presencia o ausencia de espinas y en el tamaño y color de los frutos. Entre las especies cultivadas para producción de fruta, se encuentran, *Opuntia ficus-indica* (frutos dulces, jugosos, de distintos colores y cáscara generalmente delgada); *Opuntia amyclaea*; *Opuntia xocconostle* (frutos pequeños, ácidos, exteriormente de color verde-púrpura y rosados en el interior); *Opuntia megacantha* y *Opuntia streptacantha* (frutos de color púrpura, jugosos y

dulces no muy resistentes para su manejo, de fácil descomposición y maduración, especie utilizada para producir bebidas fermentadas). Como especies silvestres se encuentran, *Opuntia hyptiacantha*, *Opuntia leucotricha* y *Opuntia robusta* (Sáenz, 2000).

#### **1.4 Tuna (*Opuntia ficus-indica*)**

##### **1.4.1 Características**

La tuna tiene forma ovalada y alargada, presenta diversos tamaños y colores, pudiendo ser, blanca, verde, amarilla, naranja, roja, púrpura e incluso café. Puede llegar a pesar desde 100 a 150 gramos, dependiendo del origen, variedad y las condiciones de cultivo (Maglorie y col., 2006).

La cáscara (o pericarpio) representa entre un 33 a 55%, es una capa gruesa que cubre a la pulpa; contiene en su cubierta externa las espinas y gloquidios, espinas muy delgadas, pequeñas, rígidas, por lo general muy numerosas dispuestas en la superficie del fruto (Cerezal y col., 2005; García, 2008). La pulpa (45 a 67%), una vez madura, es jugosa, viscosa, dulce y muy aromática, es ahí donde se encuentran un gran número de semillas, de 100 a más de 400 por fruta. Las semillas son pequeñas, lenticulares y de consistencia dura, con un diámetro de 3 a 4 mm (Sáenz, 2000; Piga, 2004). La gran variabilidad en los porcentajes depende de la técnica de cultivo, de las prácticas culturales, del número de semillas fecundadas y en formación, de la cantidad de frutas por plantas, del clima y de la estación de cosecha (Piga, 2004).

##### **1.4.2 Producción mundial, nacional y estatal**

Los principales países productores son Italia, Chile, Israel, Colombia, Estados Unidos y México, éste último es el mayor productor a nivel mundial y el que cuenta con la mayor variabilidad genética; ocupando el primer lugar mundial en superficie cultivada y consumo de tuna (Corrales y Hernández, 2005).

La genética del nopal, le da a México una gran ventaja en la producción de tuna, la diversidad de cultivos brinda frutos con diferentes características, como la forma, el

sabor (ácidos y dulces), el tamaño, la composición química y ofrece al mercado frutos con una diversidad de tonalidades (Méndez y García, 2006).

México aporta poco más del 45% de la producción mundial de tuna, en la que participan alrededor de 20 mil productores, ocupando una superficie aproximada de 65,000 ha. La producción en el ámbito nacional de tunas de pulpa blanca y cáscara verde corresponde a casi el 95% de la producción. La tuna se cosecha en 90 días y las pérdidas poscosecha alcanzan hasta un 60%, debido principalmente a problemas de comercialización, tales como la falta de un mercado asegurado, la carencia de espacios de acopio y almacenamiento adecuados para la conservación de la tuna, la ausencia de infraestructura de transporte para movilizar el producto y la desarticulación de la cadena productiva, en donde los procesos de producción y comercialización se dan por separados (Mandujano y col., 2002). La mayor parte de la producción total en México se concentra principalmente en los estados de Aguascalientes, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Puebla, San Luis Potosí y Zacatecas. En la tabla 1 se puede observar la producción agrícola de tuna por estado (Méndez y García, 2006).

Tabla 1. Producción agrícola de tuna de los estados más representativos

Ubicación	Siembra (Ha)	Cosecha (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)
Aguascalientes	862	747	2,817	3.77	2,247
Hidalgo	5,420	4,617	35,791	7.75	2,167
Jalisco	2,268	2,165	12,452	5.75	2,058
Edo. de México	16,255	16,040	165,165	10.30	2,950
Puebla	2,847	2,847	52,475	18.43	3,266
San Luis Potosí	4,552	1,835	14,590	7.95	1,580
Zacatecas	19,428	15,731	99,988	6.36	2,278

Fuente: SIAP, 2008

### **1.4.3 Consumo y subproductos**

En México, la tuna se consume principalmente en estado fresco y maduro, siendo las de color verde las de mayor consumo. Actualmente, a partir de la tuna se fabrican productos artesanales como fruta en almíbar, mermeladas, jaleas, salsas, frutas glaseadas, dulces, helados, yogurt, quesos, bebidas alcohólicas, aceites (extraídos de la semilla), pigmentos, edulcorantes, fibra dietética, vinagre y jugos gasificados y saborizados.

El jugo de tuna es un producto reciente que se elabora utilizando este fruto como materia prima y se considera que tiene un potencial productivo muy alto. Si se desarrolla el mercado de este producto, la rentabilidad obtenida sería de las más altas. Sin embargo, los problemas que se presentan en la elaboración de jugos son la fermentación (aromas y sabores indeseables) y la sedimentación (Sáenz, 2000).

### **1.4.4 Composición química y nutricional**

La pulpa de tuna está constituida principalmente por agua (85%), tiene un pH de 5.3 a 7.1 y posee un alto contenido de sólidos solubles (10-15%) de los cuales, la mayoría son azúcares reductores, cerca del 53% en forma de glucosa y 47% fructosa, este último cumple la función de potencializar el sabor. El valor de acidez del fruto es bajo (0.03–0.12%) y está dado principalmente por el ácido cítrico y los ácidos oxálico, málico y succínico (Kabas y col., 2006).

Posee componentes volátiles los cuales se encuentran presentes en mínima cantidad, sin embargo, son importantes ya que son estos los que le brindan el sabor característico. El etanol es el compuesto que se presenta en mayor proporción (76.33%) (Sáenz, 2000).

La tuna aporta a la dieta una importante cantidad de nutrientes, principalmente proteínas (0.73 g), grasas (0.51 g), carbohidratos (9.57 g) y fibra (3.6 g) por cada 100 g de pulpa; el valor calórico varía entre 31-50 kcal/100 g.

Dentro de las vitaminas presentes en este fruto destacan la vitamina E o tocoferoles y el  $\beta$ -caroteno, encontrándose en la fracción lipídica de las semillas y en la pulpa de la fruta; es fuente importante de ácido ascórbico y en menor cantidad se encuentran también vitaminas del complejo B, niacina, tiamina y riboflavina.

La pulpa de tuna, aporta cantidades considerables de minerales, principalmente calcio, magnesio, potasio, fósforo, entre otros. Contiene aminoácidos esenciales, lisina, alanina, arginina, glutamina, histidina, serina, metionina y valina (Tesoriere y col., 2005; Kuti, 2004; Stintzing y col., 2005). La tabla 2 resume el valor nutricional por 100 g de porción comestible.

En la pulpa del fruto se encuentran las semillas, las cuales contienen polisacáridos, principalmente celulosa (35%), lignina (20%), así como, proteína (1.5%), minerales (2.5%) y aceite (10.9%), destacando una gran cantidad de ácidos grasos insaturados (Wei y col., 2009). El aceite de las semillas contiene minerales (2.5%), proteínas (5.4%) principalmente aminoácidos azufrados y lípidos: linoleico (12.8%), oleico (12.8%), palmítico (7.2%) y esteárico (3.11%) (Monia y col., 2005; Habibi y col., 2008).

Es considerada un fruto con una gran capacidad antioxidante debido a su importante contenido de compuestos funcionales, tales como, ácido ascórbico, betalaínas, compuestos fenólicos y carotenoides (Tesoriere y col., 2005; Kuti, 2004; Stintzing y col., 2005).

Tabla 2. Contenido nutrimental de la porción comestible de *Opuntia ficus*(100 g)

<b>Nutriente</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor tuna</b>
<b>Energía</b>	Kcal	31-50
<b>Agua</b>	g	87.55
<b>Proteínas</b>	g	0.73
<b>Lípidos</b>	g	0.51
Grasas saturadas	g	0.067
Grasas monoinsaturadas	g	0.075
<b>Carbohidratos totales</b>	g	9.57
Fibra dietética	g	3.60
<b>Minerales</b>		
Calcio	mg	56.00
Hierro	mg	0.30
Magnesio	mg	85.00
Fósforo	mg	24.00
Potasio	mg	220.00
Sodio	mg	5.00
Zinc	mg	0.12
Cobre	mg	0.08
<b>Vitaminas</b>		
Vitamina C	mg	40.00
Tiamina	mg	0.014
Riboflavina	mg	0.06
Niacina	mg	0.46
Vitamina B6	mg	0.06
β-caroteno	μg	1.2-3.0
Tocoferoles	μg	111-115

Fuente:Kabas y col., 2006

### **1.5 Radicales libres, antioxidantes y estrés oxidativo**

Los radicales libres son especies químicas que poseen un electrón desapareado en su último orbital, lo que les permite reaccionar con un elevado número de moléculas de todo tipo, primero oxidándolas y después atacando sus estructuras. Las formas parcialmente reducidas del oxígeno se denominan especies reactivas de oxígeno (ERO) y se producen en el metabolismo normal del hombre, específicamente se generan en la mitocondria como parte del metabolismo celular, generalmente son más reactivas que la molécula de oxígeno en su estado fundamental (Van y col., 2003). Entre ellas, el radical hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ ), el radical superóxido ( $\bullet\text{O}_2$ ), el radical peróxido ( $\text{ROO}\bullet$ ) y otros metabolitos reactivos como el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) que no es propiamente un radical sin embargo, también puede originar daño celular (Lahoz y col., 2000; Combs, 2001).

Un antioxidante es una molécula que previene la formación descontrolada de radicales libres o inhibe sus reacciones con estructuras celulares (proteínas, carbohidratos, lípidos y ADN). Muchas de estas moléculas actúan por un único mecanismo, mientras que otros pueden tener acciones combinadas, tal es el caso de los compuestos fenólicos, que estabilizan los radicales libres al ceder un hidrógeno de sus grupos hidroxilo, formándose un puente de hidrógeno entre dos grupos cercanos (Chihuailaf y col., 2002).

Los antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas: endógeno y exógeno; los cuales pueden actuar tanto en el espacio intracelular como en el extracelular (Fitó, 2003).

El primer sistema de defensa corresponde a las enzimas antioxidantes endógenas como la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, tioredoxina reductasa y glutatión reductasa. También se incluyen los antioxidantes no enzimáticos como el glutatión, el ácido lipoico, la bilirrubina, las ubiquinosas, los flavonoides, las vitaminas A, E, C y los carotenoides (Zamora, 2007).

El sistema de antioxidantes exógeno, es paralelo al primero y especialmente útil cuando éste se satura. La mayoría de estos antioxidantes provienen de la dieta y se les considera antioxidantes naturales (Ramos y col., 2006).

De manera normal existe un equilibrio entre la formación de radicales libres y la actividad antioxidante, por consiguiente si los sistemas antioxidantes fracasan, se produce lo que se conoce como estrés oxidativo, el cual se define como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de ERO y radicales libres, provocando daño oxidativo a las macromoléculas, tales como, las proteínas, los fosfolípidos poliinsaturados de las membranas celulares, los hidratos de carbono y los ácidos nucleicos, provocando gran variedad de cambios bioquímicos y fisiológicos en la célula, ocasionados por la activación de una reacción en cadena. Este daño se relaciona con diversas enfermedades crónicas no transmisibles (Monroy-Vázquez y col., 2007).

## **1. 6 Tipos de antioxidantes**

### **1.6.1 Antioxidantes sintéticos**

Los antioxidantes sintéticos más usados en la industria de los alimentos son los compuestos fenólicos como el hidroxianisolbutilado (BHA), el hidroxitoluenobutilado (BHT), la butilhidroquinona terciaria (TBHQ) y los ésteres de ácido gálico, como el galato de propilo (PG). Los antioxidantes fenólicos sintéticos contienen sustituciones alquílicas para mejorar su solubilidad en grasas y aceites. Sin embargo, los productos naturales son sustancias generalmente más saludables y seguras, por lo que son una alternativa frente al uso de antioxidantes sintéticos (Frankel y Meyer, 2000; Pokorny y col., 2001).

### **1.6.2 Antioxidantes naturales**

El término antioxidantes naturales, hace referencia a aquellas sustancias que se presentan o pueden ser extraídos de las plantas y los animales y a aquellas que se forman durante el cocinado o el procesado de alimentos de origen animal o vegetal. La mayoría de las sustancias presentes en los vegetales son componentes fenólicos,

principalmente flavonoides, ácidos fenólicos y tocoferoles. Así mismo, se encuentran presentes vitaminas con capacidad antioxidante como las vitaminas A y C (Frankel y Meyer, 2000; Pokorny y col., 2001). Las melanoidinas son otro grupo de sustancias con actividad antioxidante que está presente de forma importante en determinados alimentos (café, malta, bollería, cerveza); son unos pigmentos marrones, polímeros formados principalmente a partir de las interacciones entre azúcares reductores y compuestos que poseen un grupo amino libre (aminoácidos, péptidos y proteínas) a través de la reacción de Maillard (Demirkol y col., 2004).

Los péptidos, los aminoácidos y los carotenoides son antioxidantes presentes en los productos animales, de su musculatura se pueden obtener enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa, la superóxido dismutasa y la catalasa, sin embargo, el costo que genera el aislamiento de estas enzimas es muy costoso. En la actualidad se ha estudiado también, la actividad antioxidante que tienen algunos extractos provenientes de microorganismos; el acetato de etilo, la micotrienina II, la trienomicina B, el ácido corvúlico y algunos carotenos como la astaxantina y la luteína son solo algunos de los antioxidantes extraídos de especies de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*, los cuales poseen capacidad antirradical (Pokorny y col., 2001).

### **1.7 Importancia de los antioxidantes en la salud**

Se ha documentado científicamente que los antioxidantes son potenciadores de la salud y que una dieta alta en estos compuestos, supone, entre otras cosas, la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles, tales como diabetes, aterosclerosis, enfermedad de Alzheimer, Parkinson, diversos tipos de cáncer, cataratas, depresión, entre otras (Demirkol y col., 2004; Magloire y col., 2006; Zamora, 2007; Fraternali y col., 2009).

Las personas que consumen regularmente dietas ricas en antioxidantes tienen menos probabilidad de presentar manifestaciones severas de estas enfermedades. Por el contrario personas cuyo estilo de vida está expuesto a altas concentraciones

de radicales libres, como los fumadores, son susceptibles a contraer enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Drisko y col., 2003).

### **1.8 Actividad antioxidante y compuestos funcionales de la tuna**

La actividad antioxidante, (equivalente a Trolox), para el jugo de *Opuntia ficus*, se puede comparar con la actividad antioxidante del vino tinto y de las infusiones de té verde (Stintzing y col., 2005).

En un estudio que llevó a cabo Tesoriere y col. (2004) en 18 personas sanas, se realizó una comparación entre la suplementación con tuna roja y la vitamina C, los resultados que obtuvieron señalan que las personas que recibieron suplementación con tuna disminuyeron el estrés oxidativo mientras que las personas que recibieron suplementación con vitamina C no presentaron una reducción de éste, por lo que se concluyó que la tuna contiene compuestos antioxidantes que fueron responsables de la disminución del estrés oxidativo.

#### **1.8.1 Ácido ascórbico**

El ácido ascórbico también conocido como vitamina C se encuentra de forma abundante en los frutos del género *Opuntia* (40-100 mg), es una vitamina hidrosoluble que se oxida reversiblemente en medio ácido formando el ácido dehidroascórbico. Es un aceptor de radicales libres, puede actuar de forma sinérgica con otros compuestos y se le atribuye también capacidad quelante (Pokorny y col., 2001; Kuti, 2004; Tesoriere y col., 2005). Las concentraciones de ácido ascórbico son superiores a la de frutas como manzana, pera, uva y plátano (Sáenz, 2000).

Estudios realizados por Galati y col. (2003), Kuti (2004) y Stintzing y col. (2005) mencionan que el 15% de la actividad antioxidante total de la tuna es debida a la vitamina C y el resto a los compuestos polifenólicos, flavonoides y betalainas.

#### **1.8.2 Betalainas**

Las betalainas son pigmentos que abundan en los frutos de *Opuntia*, son moléculas solubles en agua, derivadas del ácido betalámico, su estructura química es diferente a la de otros pigmentos encontrados en el reino vegetal por contener nitrógeno. Se

clasifican en dos grupos: los rojos o betacianinas y los amarillos o betaxantinas (Viloria y col., 2002; Tesoriere y col., 2004; Stintzing y col., 2005).

En la tabla 3 se muestra la cantidad de pigmentos que fueron extraídos de diferentes cultivos de *Opuntia ficus-indica*.

Tabla 3. Contenido de betalaínas(mg/L) en variedades de *Opuntia ficus-indica*

<b>Cultivo</b>	<b>Betaxantinas</b>	<b>Betaninas</b>
<b>Verdes</b>	0.4 ± 0.20	0.1 ± 0.01
<b>Naranjas</b>	76.3 ± 0.38	6.6 ± 0.04
<b>Roja</b>	67.9 ± 0.19	120.0 ± 0.44
<b>Púrpura</b>	195.8 ± 0.04	431.0 ± 1.04

Fuente: Stintzing y col., 2002

Dentro de las betacianinas se encuentra la betanina, pigmento estable en comparación con la betaxantina, debido a que en su composición el ácido betalaínico, se une fuertemente a la estructura de la dopamina (Castellar y col., 2003).

Las betaxantinas fueron aisladas por primera vez del género *Opuntia ficus-indica* por Piatelli y Minale en 1964. Dependiendo del aminoácido que tengan en su estructura principal, se denominan indicaxantinas cuando contienen prolina, vulgaxantinas si es glutamina, miraxantinas si se unen a la tiramina, entre otros.

Tesoriere y col. (2003) realizaron estudios con betalaínas, encontrando que estos pigmentos están involucrados en la protección de la oxidación celular. Otros estudios relacionan la actividad antioxidante con la concentración y tipo de betalaína presente en el fruto, demostrando que las tunas de color púrpura, presentan una mayor capacidad antioxidante en comparación con las tunas amarillas y verdes (Stintzing y col., 2005; Maglorie y col., 2006)

### **1.8.3 Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos o polifenoles, son fitoquímicos presentes de forma amplia en todas las variedades de tuna. Algunos estudios han reportado mayor cantidad de estos compuestos en las variedades de tuna púrpura (Martínez-Valverde y col., 2000; Pokorny y col., 2001; Kuti, 2004). En la pulpa del género *Opuntia* se han encontrado principalmente quercetina (0.98-9.0 g), kemferol (0.11-0.38 g) e isorhamnetin (0.19-2.41) por cada 100 g de pulpa (Kuti, 2004; Maglorie y col., 2006). Se han señalado correlaciones significativas entre la concentración de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante en este fruto (Stintzing y col., 2005).

### **1.8.4 Compuestos quelantes**

El género *Opuntia* contiene elementos que actúan como quelantes de metales: compuestos fenólicos y ácido ascórbico, principalmente, y en menor cantidad ácido málico, oxálico y succínico (Sáenz, 2000). Estos ejercen un potente efecto estabilizante a la oxidación a través del bloqueo de iones metálicos prooxidantes, lo que limita el inicio de la cadena al prevenir la homólisis de hidroperóxidos inducida por metales. Así mismo, los quelantes forman complejos con los metales evitando así su acción como promotores de la oxidación (Pokorny y col., 2001).

### **1.8.5 $\beta$ -caroteno**

El  $\beta$ -caroteno, un precursor de la vitamina A, es el carotenoide más estudiado y está presente en la tuna y en otros vegetales. Su estructura molecular incluye una cadena larga de dobles enlaces de la que proviene su propiedad antioxidante (Pokorny y col., 2001), sin embargo, su importancia nutricional en la tuna es escasa, debido a que se presenta en bajas concentraciones (1.2-3.0  $\mu\text{g}$ ) (Maglorie y col., 2006).

### **1.8.6 Tocoferoles**

Los tocoferoles se encuentran presentes en la tuna en bajas concentraciones (111-115  $\mu\text{g}$ ) (Kuti, 2004; Maglorie y col., 2006). Estos compuestos son muy estables frente al calor, actúan como antioxidantes donando un hidrógeno del grupo hidroxilo al radical peroxilo (Pokorny y col., 2001).

## **1.9 Almacenamiento y procesado de la tuna**

El valor de pH, la baja acidez y el alto contenido de sólidos solubles hacen que la pulpa de tuna sea un medio propicio para el desarrollo de microorganismos (Sáenz, 2000; Cassano y col., 2007), es por esto, que se le considera de carácter perecedero y sin ningún tipo de acondicionamiento, su tiempo de vida media es corto, por lo que para aumentarla, es necesario el almacenamiento en condiciones adecuadas o someterla a un tratamiento térmico y con esto obtener un buen control microbiano (Cassano y col., 2007).

Se ha demostrado que a diferencia del almacenamiento a temperatura ambiente, el almacenaje a temperaturas de refrigeración (4 a 7 °C) disminuye la pérdida de nutrientes significativamente y por consiguiente, su actividad antioxidante no se ve alterada (Gil y col., 2006).

Durante el almacenaje y procesado de los alimentos, el pardeamiento no enzimático es una de las reacciones más importantes que origina cambios químicos de sus componentes (Somoza, 2005).

### **1.9.1 Reacción de Maillard**

La reacción de Maillard, también conocida como pardeamiento no enzimático, es una de las reacciones que se llevan a cabo durante el procesado de alimentos, principalmente con el calentamiento y el almacenamiento, a temperatura ambiente e incluso a temperaturas bajas aunque de forma moderada (Somoza, 2005). Se origina entre el grupo amino de un aminoácido, péptido o proteína y el grupo carbonilo de un azúcar reductor o lípido oxidado, de estas reacciones químicas se originan los productos de la reacción de Maillard. Esta reacción está influenciada por parámetros como la estructura química de los reactantes, sus concentraciones, la temperatura, el pH, la presión, el tiempo y la actividad de agua.

Como se puede observar en la figura 1, la reacción se divide en tres etapas:

Etapa temprana: sin producción de pardeamiento. Existe un bloqueo del grupo amino, el producto resultante se llama compuesto de Amadori y se han detectado en alimentos calentados, liofilizados y almacenados.

Etapa intermedia: a temperatura más alta, se produce fragmentación de azúcares y degradación de aminoácidos, formándose compuestos coloreados y fluorescentes. El pH es fundamental en esta reacción.

Etapa final: envuelve una serie de reacciones de condensación que dan lugar a pigmentos pardos llamados melanoidinas, difíciles de aislar, su estructura depende de las condiciones en las que se haya dado la reacción (Andriot y col., 2004).

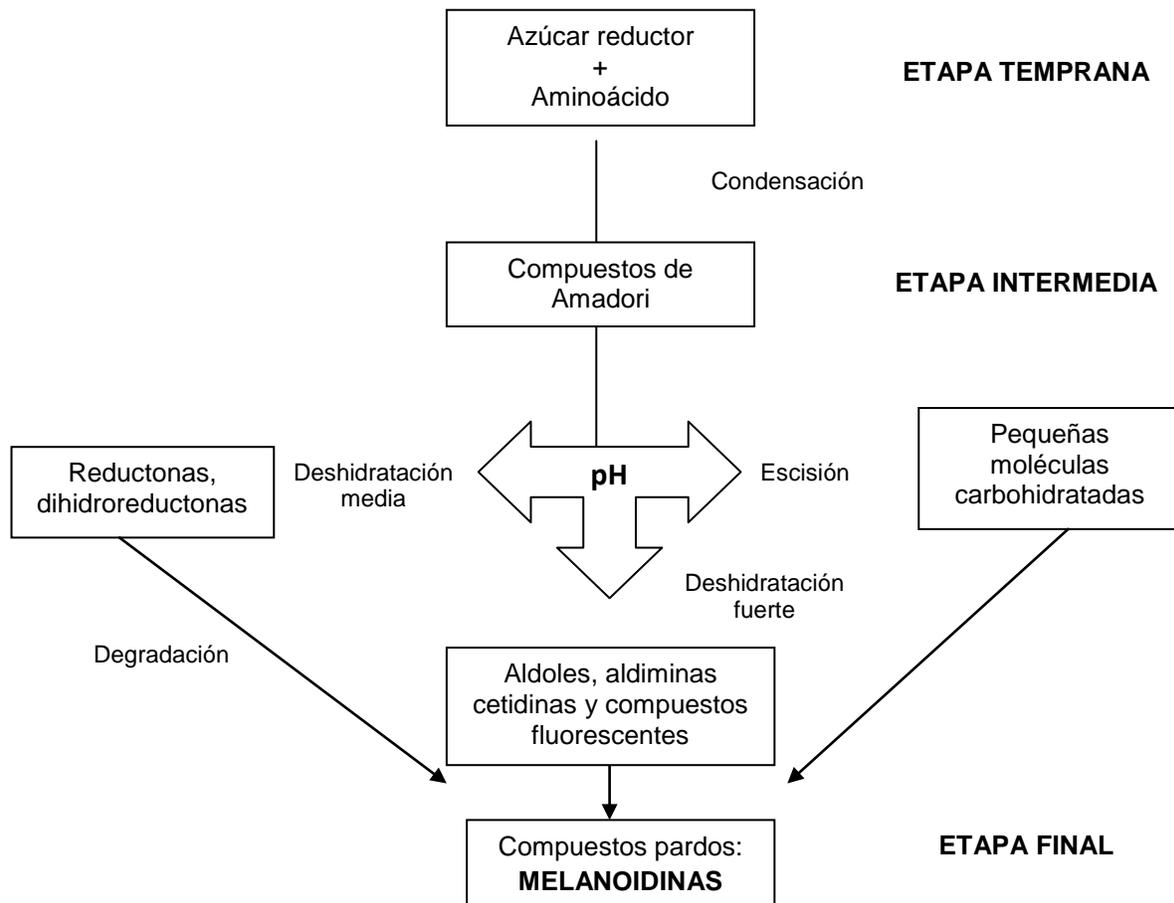


Figura 1. Reacción de Maillard.

Los productos obtenidos en la reacción de Maillard tras el calentamiento de glucosa son más coloridos que los que contienen fructosa, esto debido a que el grupo carbonilo aldehídico de la glucosa está hidratado y es más reactivo que el grupo cetónico de la fructosa (Morales y Jiménez, 2001), sin embargo otras investigaciones realizadas por Leong y Wedzicha (2000) y Jing y Kitts (2002) mencionan que la fructosa puede ser más reactiva.

En cuanto a la cantidad de reactantes, existen evidencias de que un elevado contenido de azúcares reductores con respecto a los aminoácidos presentes, favorece y promueve el desarrollo de la reacción. Así mismo, la naturaleza de los aminoácidos afecta el desarrollo del pardeamiento, siendo la lisina el más sensible al calor y más reactivo en la reacción. Por otro lado, los aminoácidos azufrados son capaces de inhibir esta reacción (Delgado-Andrade y col., 2004).

La presencia de cationes metálicos como el cobre y el hierro incrementan el desarrollo del pardeamiento mediante reacciones de oxidación. Sin embargo, en algunos casos se inhibe la reacción en presencia de metales como el manganeso o el selenio, y se minimiza con calcio (Kwak y Lim, 2004).

Por otro lado, se ha sugerido que los productos de la reacción de Maillard tienen capacidad antioxidante, debido a que estos se comportan como polímeros aniónicos capaces de formar complejos con ciertos iones metálicos como el hierro, cobre y zinc (Delgado-Andrade y col., 2001; Navarro y col., 2000; Seiquer y col., 2000).

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

México es considerado el principal productor de tuna a nivel mundial, aportando aproximadamente el 45% de la producción. Actualmente se ha buscado la forma de industrializar el jugo de tuna, una alternativa ha sido la aplicación de tratamientos térmicos para aumentar la vida de anaquel del fruto, debido a que las pérdidas poscosecha son hasta de un 60% (Reyes y col., 2005; Ruiz y col., 2006; Padrón y col., 2008).

La tuna es considerada un alimento funcional debido a los componentes bioactivos que este fruto posee, principalmente antioxidantes, los cuales brindan grandes beneficios a la salud protegiendo al organismo contra el incremento los radicales libres que provocan enfermedades causantes de muerte o deterioro de la calidad de vida de la población, entre ellas, el cáncer, la diabetes y cardiopatías (Tesoriere y col., 2003; Stintzing y col., 2005; Zamora, 2007).

Las investigaciones relacionadas con la actividad antioxidante de la tuna se han incrementado de manera significativa, sin embargo, la mayoría de estos estudios se han realizado en el fruto fresco, por lo que la información respecto a la estabilidad de los antioxidantes en el jugo tratado térmicamente y por acción de su almacenamiento se desconoce completamente.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Como ya se mencionó existen diversos estudios relacionados con la concentración de nutrimentos del jugo de tuna fresco, sin embargo, prácticamente no existen evidencias claras del efecto que ejerce el almacenaje y el tratamiento térmico sobre los antioxidantes en el jugo de tuna.

Por lo que la principal justificación para realizar este estudio es el de aportar información que permita un mejor conocimiento sobre el comportamiento de los antioxidantes presentes en el jugo de tuna tratado térmicamente, así como el efecto que tiene el almacenamiento en condiciones de 4° C sobre dicha actividad antioxidante y los azúcares reductores. Finalmente, el análisis de los resultados permitirá seleccionar tratamientos térmicos adecuados, optimizarlos y estudiar la posibilidad de aplicación en otros sistemas.

#### **4. HIPÓTESIS**

La aplicación de tratamiento térmico y el almacenamiento a 4° C provocarán la pérdida parcial de los componentes bioactivos presentes en el jugo de tuna verde y púrpura, por tanto la actividad antioxidante se verá afectada negativamente.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo general**

Estudiar el efecto del tratamiento térmico y el almacenamiento de refrigeración sobre la actividad antioxidante y los azúcares reductores presentes en el jugo de tuna verde y púrpura.

### **5.2 Objetivos específicos**

- Obtener los jugos de tuna (verde y púrpura) mediante homogenización y someterlos a un tratamiento térmico para su posterior almacenamiento a 4°C durante 12 días.
- Cuantificar la concentración de compuestos fenólicos, ácido ascórbico, betalainas, actividad quelante y azúcares reductores.
- Evaluar la actividad antioxidante con base en el atrapamiento de los radicales libres ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>.
- Determinar los compuestos pardos y fluorescentes producidos durante el tratamiento térmico y su posterior almacenamiento a 4 °C.

## 6. METODOLOGÍA

Las tunas estudiadas se obtuvieron en la central de abasto de la ciudad de Pachuca de Soto, Hidalgo, se lavaron con agua potable y se retiró la cáscara manualmente, la pulpa entera se homogenizó y filtró para la obtención del jugo el cual fue tratado térmicamente para su posterior análisis (figura 2).

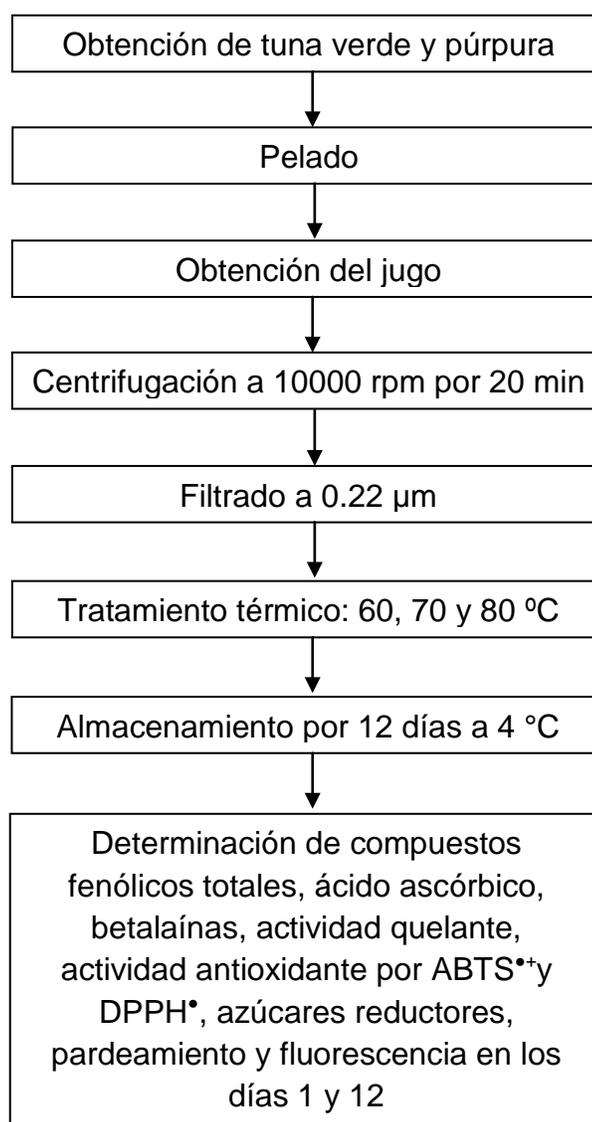


Figura 2. Diagrama del diseño metodológico

### **6.1 Tipo de estudio**

Se aplicó un diseño experimental de tipo factorial y se llevó a cabo por triplicado. Se estudiaron dos tipos de jugo de tuna, púrpura y verde de la especie *Opuntia ficus-indica*. Se analizaron 9 variables: compuestos fenólicos, ácido ascórbico, betalainas, actividad quelante y antioxidante por ABTS<sup>•+</sup>, y DPPH<sup>•</sup>, azúcares reductores, pardeamiento y fluorescencia; en dos diferentes tiempos de almacenamiento día 1 y día 12. Posteriormente, se realizó una comparación entre los tratamientos y el control de cada variedad y su comportamiento después del almacenamiento.

### **6.2 Obtención y preparación de la muestra**

El jugo se obtuvo licuando la pulpa de 9 tunas con semilla en una licuadora industrial durante 4 minutos, posteriormente, se centrifugó durante 20 minutos a 4 °C y se filtró a través de una membrana de PVDF millipore de 0.22 µm.

### **6.3 Aplicación de tratamientos**

Se colocaron 2 mL de jugo púrpura y verde previamente filtrado en tubos de vidrio color ámbar herméticamente cerrados y se trataron térmicamente en un baño de calentamiento a 60, 70 y 80 °C durante 30 minutos. Posteriormente, los jugos fueron sometidos a choque térmico sumergiéndolos en hielo durante 10 minutos. El jugo sin tratamiento se utilizó como muestra control. Las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 4 °C y en los días 1 (24 hrs después de la producción) y 12 se distribuyeron en alícuotas de 150 µL en viales eppendorf ámbar para cada determinación y día de almacenamiento, las cuales se mantuvieron a -74 °C para su posterior análisis.

### **6.4 Equipo**

Licuadora industrial (Bendler, BL 38-52, USA); Baño de calentamiento (Sheldon, 300N26 Th, USA); Lector de microplacas espectrofotométrico (Power Wave XS UV-Biotek, software KCjunior, USA); Vortex (Genie 2, Daigger, USA); Microcentrífuga (Mikro 22R, Hettich, Alemania); Balanza analítica (Adventurer, Ohaus, China); Lector de microplacas de fluorescencia (Lamda Fluoro, 320 FLX800t, Biotek, USA).

### 6.5 Determinación de compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos totales se determinaron de acuerdo al método de Stintzing y col. (2005), el cual utiliza el reactivo Folin-Ciocalteu. Este reactivo es una mezcla de ácido fosfotúngstico y fosfomolibdico, la cual es reducida a óxidos azules de tungsteno y molibdeno durante la oxidación fenólica que ocurre en condiciones alcalinas. La coloración azul refleja la cantidad total de polifenoles.

Los factores de dilución utilizados fueron 1:50 en los jugos púrpura y 1:20 en los jugos verdes en agua desionizada. La técnica se inició colocando 100  $\mu\text{L}$  de muestra en viales, se agregaron 500  $\mu\text{L}$  de solución de Folin-Ciocalteu (1:10 en agua desionizada) y 400  $\mu\text{L}$  de solución de carbonato de sodio al 7.5%. Las muestras se agitaron en vortex y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 30 minutos, al término de este tiempo, se realizó la lectura de absorbancia en un lector de microplacas a una longitud de onda de 765 nm. La concentración de compuestos fenólicos totales se obtuvo a partir de una curva estándar (figura 3) preparando una solución con 400 mg de ácido gálico por litro de agua desionizada. A partir de esta solución se realizaron las siguientes concentraciones: 0, 100, 200, 300 mg/L, posteriormente se tomaron 100  $\mu\text{L}$  de cada concentración aplicando el método antes descrito. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por litro (mg EAG/L).

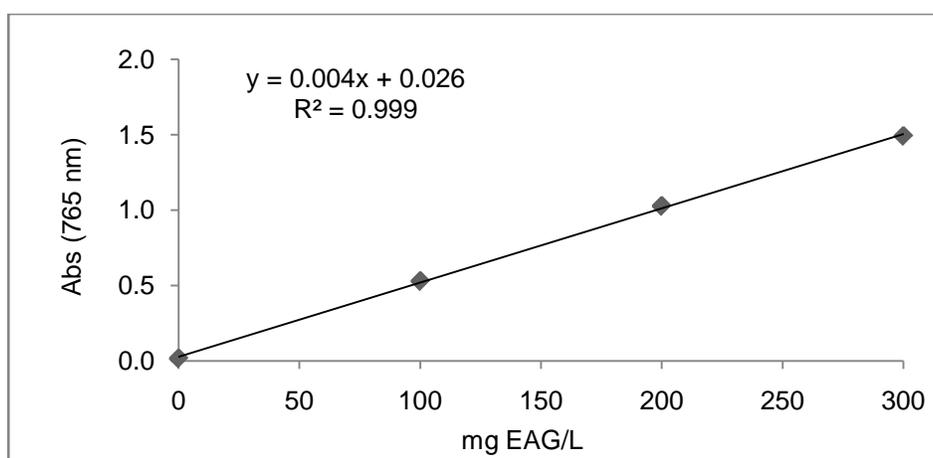


Figura 3. Curva estándar de ácido gálico

## 6.6 Determinación de ácido ascórbico

El contenido de ácido ascórbico se determinó mediante el método colorimétrico descrito por Durust y col. (1997) el cual utiliza el reactivo DCPI que tiene una coloración azul-violeta y al reaccionar con ácido ascórbico ocurre una decoloración a rosa o incoloro. Inicialmente, se realizó una dilución de 1:10 en ácido oxálico al 4% en ambos tipos de jugo y se prepararon las siguientes soluciones: 12 mg de DCPI en 1 L de agua desionizada, amortiguador de acetatos (3 g de acetato de sodio, 7 mL de agua desionizada y 10 mL de ácido acético glacial), solución con 6 mg de ácido ascórbico en 100 mL de ácido oxálico. La técnica se realizó de la siguiente manera, se colocaron en viales 100  $\mu$ L de muestra diluida, 100  $\mu$ L de amortiguador y 800  $\mu$ L de DCPI. Se determinó la absorbancia a 520 nm, utilizando como blanco ácido oxálico, en un lector de microplacas. Para disminuir la interferencia del color de los jugos púrpura, se llevó a cabo un factor de corrección tomando 100  $\mu$ L de cada una de las diluciones y 900  $\mu$ L de ácido oxálico, el resultado de la lectura espectrofotométrica se restó a la absorbancia de las muestras. Para realizar la curva estándar (figura 4), se realizaron concentraciones a partir de la solución de ácido ascórbico: 0, 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L, se tomaron 100  $\mu$ L de cada concentración y se aplicó el método antes descrito. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido ascórbico por litro (mg EAA/L).

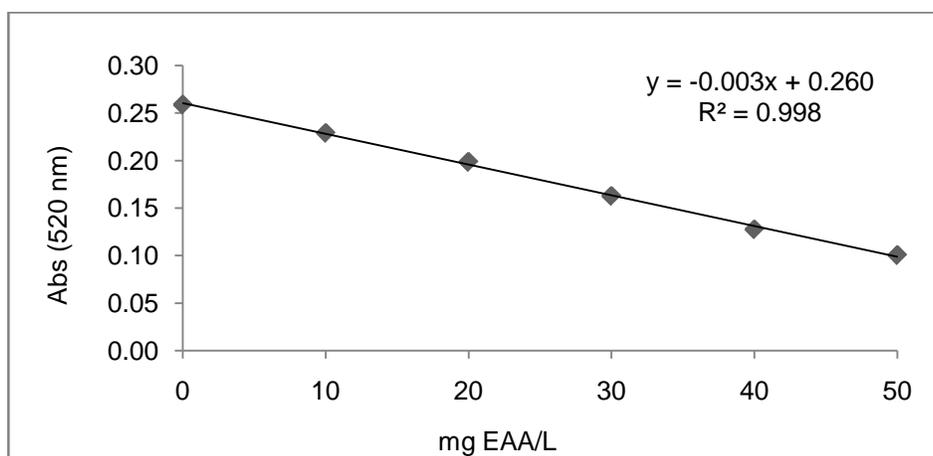


Figura 4. Curva estándar de ácido ascórbico

### **6.7 Determinación de betalaínas**

El contenido de betalaínas se determinó mediante el método reportado por Stintzing y col. (2005) el cual se basa en la absorción de luz que tienen los pigmentos. Se utilizó una longitud de onda de 535 nm para la cuantificación de betacianinas (pigmentos rojos-purpura) y de 480 nm para cuantificar la concentración de betaxantinas (pigmentos amarillos). Los factores de dilución utilizados fueron 1:50 en los jugos púrpura y 1:10 en los jugos verdes en agua desionizada. La absorbancia se leyó en un lector de microplacas.

El contenido de betaxantinas y betacianinas se reportó como mg equivalentes de betaninas por litro (EB/L) y mg equivalentes de indicaxantinas por litro (EI/L) respectivamente y se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{mg/L} = [(A * FD * PM * 1000 / \epsilon * I)]$$

En donde:

A: Absorbancia a 535 o 480 nm

FD: Factor de dilución

PM: Peso molecular

$\epsilon$ : Coeficiente de extinción molar

I: Volumen de celda (0.316 cm<sup>3</sup>)

Coeficientes de extinción molar:

Betaninas:  $\epsilon = 60000 \text{ L} / (\text{mol cm})$ . PM = 550 g/mol

Betaxantinas:  $\epsilon = 48000 \text{ L} / (\text{mol cm})$ . PM = 308g/mol

### **6.8 Determinación de actividad quelante**

La actividad quelante se determinó por el método reportado por Guicin y col. (2003), el cual se basa en la reacción de la molécula quelante de referencia con el ion ferroso ( $\text{Fe}_2^+$ ), posteriormente el ion ferroso que no fue quelado reacciona con la ferrozina generando color.

Se preparó una solución de cloruro férrico II tetrahidratado al 2 mM, una solución de ferrozina a 5 mM y una solución de EDTA a 0.1 M. Para la realización de la técnica, se colocaron 100  $\mu\text{L}$  de muestra sin diluir en viales eppendorf, posteriormente se agregaron 50  $\mu\text{L}$  de la solución de cloruro férrico y 450  $\mu\text{L}$  de metanol. Se agitaron en vortex y después de 5 minutos, se adicionaron 400  $\mu\text{L}$  de ferrozina, se volvieron a agitar y se dejaron reposar por 10 minutos, al transcurrir este tiempo se realizó la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 520 nm en el lector de microplacas. Como agente quelante de referencia se empleó EDTA a 0.1 M y como muestras control se utilizó agua desionizada bajo las mismas condiciones.

Para disminuir la interferencia del color de los jugos púrpura, se llevó a cabo un factor de corrección de la siguiente manera: se tomaron 100  $\mu\text{L}$  de muestra y se agregaron 900  $\mu\text{L}$  de agua desionizada, el resultado de la lectura espectrofotométrica se restó a la absorbancia de las muestras.

La actividad quelante fue calculada utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Actividad quelante} = [(\text{AC}-\text{AM}) / \text{AC}] * 100$$

En donde:

AC: Absorbancia de la muestra control

AM: Absorbancia de la muestra

### 6.9 Determinación de la actividad antioxidante por ABTS<sup>•+</sup>

La actividad antioxidante en base al catión libre de ABTS<sup>•+</sup>, se realizó de acuerdo al método descrito por Kuskoski, y col. (2004). El ABTS<sup>•+</sup> es un radical con un nitrógeno central que presenta un color característico azul-verde, cuando este catión radical es reducido por un antioxidante a la forma no radical, presenta una pérdida de color.

Inicialmente, se realizó una dilución de 1:10 en los jugos púrpura y 1:5 en los jugos verdes. Se preparó una solución de ABTS<sup>•+</sup> al 7 mM con persulfato de potasio al 2.45 mM, se incubó 18 horas a temperatura ambiente en la oscuridad y transcurrido el tiempo, se realizó una dilución en agua desionizada hasta obtener una lectura de absorbancia de  $0.7 \pm 0.1$ . Para la realización de la técnica, se tomaron 20  $\mu\text{L}$  de muestra y 980  $\mu\text{L}$  de la dilución de ABTS<sup>•+</sup>, se dejó reposar 7 minutos y posteriormente se realizó la lectura espectrofotométrica a 754 nm en el lector de microplacas. Se utilizó una curva estándar (figura 5), para la cual, se preparó una solución con 20 mg de ácido ascórbico diluido en 50 mL de agua desionizada. A partir de esta solución, se realizaron las siguientes concentraciones: 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L de agua desionizada y se aplicó el método antes descrito. La actividad antioxidante se expresó como mg equivalentes de ácido ascórbico por litro (mg EAA/L).

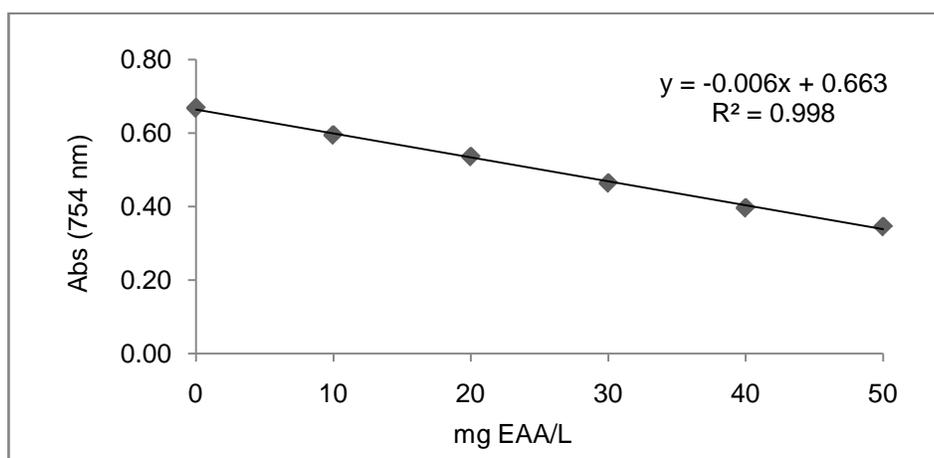


Figura 5. Curva estándar de ácido ascórbico

### 6.10 Determinación de la actividad antioxidante por DPPH•

La actividad antioxidante en base al radical DPPH• se evaluó de acuerdo al procedimiento reportado por Morales y Jiménez-Pérez (2001). El reactivo DPPH• es un radical libre estable, que en solución etanólica presenta una coloración violeta. Si se adiciona a este medio una sustancia susceptible de atrapar radicales libres, el electrón no apareado del DPPH• se aparea e inmediatamente se presenta una decoloración de la solución que puede ir hasta amarillo en razón del número de electrones apareados.

Se realizó una dilución de 1:50 en los jugos púrpura y 1:20 en los jugos verdes. El procedimiento se inició preparando una solución con 7.4 mg de DPPH• en 100 mL en etanol. Para la realización de la técnica, se colocaron 100 µL de las muestras y 500 µL de la solución de DPPH•, se agitaron en vortex y se dejaron reposar durante una hora. Transcurrido el tiempo, se centrifugaron en una microcentrífuga a 10,000 rpm por 5 min a temperatura ambiente y se midió la absorbancia del sobrenadante a 520 nm utilizando el lector de microplacas. Se utilizó una curva estándar de Trolox (figura 6) con las siguientes concentraciones en etanol: 0, 100, 200, 300 µmol Trolox/L aplicando el método antes descrito. La actividad antioxidante se expresó en µmol equivalente de Trolox por litro (µmol ET/L).

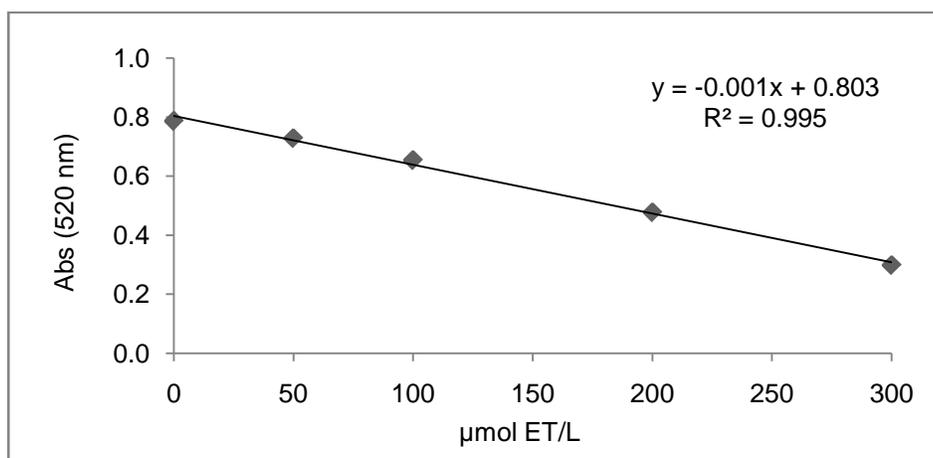


Figura 6. Curva estándar de Trolox

### 6.11 Determinación de azúcares reductores

Los azúcares reductores se determinaron de acuerdo al método utilizado por García (2008), el cual se basa en la utilización de DNS para provocar la oxidación de los azúcares y, al mismo tiempo, su propia reducción dando lugar a una reacción colorimétrica, el DNS es de color amarillo, mientras que la formación del ácido 3-amino, 5-nitrosalicílico se torna a color marrón, cuya intensidad será proporcional a la cantidad de azúcares reductores. Los factores de dilución utilizados fueron 1:50 en los jugos púrpura y 1:40 en los jugos verdes en agua desionizada. El procedimiento se inició preparando una solución de DNS con 1 g de ácido 3,5 dinitrosalicílico, 1 g de hidróxido de sodio, 20 g de tartrato de sodio y potasio, 0.05 g de metabisulfito de sodio y 0.4 g de fenol, se agitó durante 15 minutos. Para la realización de la técnica se colocaron 30  $\mu\text{L}$  de muestra, 180  $\mu\text{L}$  de DNS y se incubaron a 94  $^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos, posteriormente se les agregó 1,230  $\mu\text{L}$  de agua desionizada y se realizó la lectura espectrofotométrica a 540 nm en el lector de microplacas. Los resultados se expresaron como porcentaje de azúcares reductores en peso/volumen (p/v). La concentración de azúcares reductores se obtuvo a partir de una curva estándar de glucosa 10 mg/mL en agua desionizada (figura 7). A partir de esta solución se realizaron las siguientes concentraciones: 0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mg/mL, posteriormente se tomaron 30  $\mu\text{L}$  de cada concentración y se aplicó el método antes descrito.

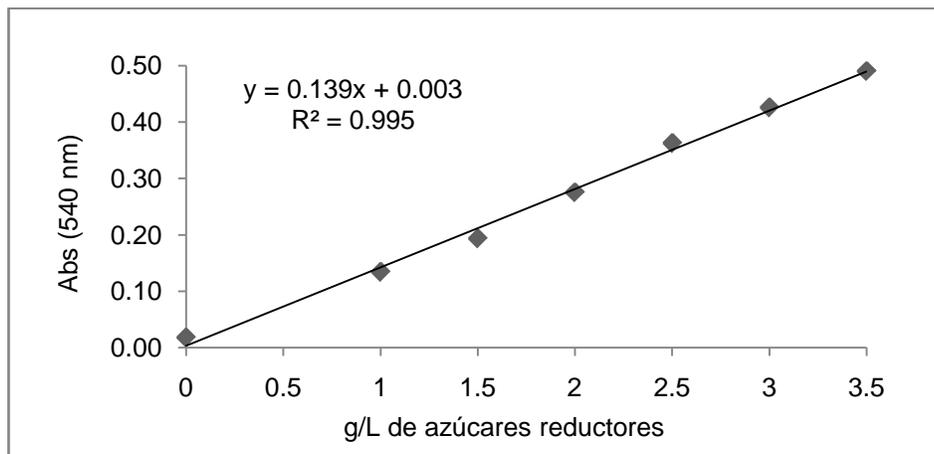


Figura 7. Curva estándar de glucosa

### **6.12 Determinación de compuestos pardos**

Los compuestos pardos absorben luz a una longitud de onda de 420 nm, para la realización de la técnica, se colocaron 200 µL de cada uno de los jugos sin diluir en una microplaca, posteriormente se realizó la lectura espectrofotométrica en el lector de microplacas (Jarillo, 2008).

### **6.13 Determinación de compuestos fluorescentes**

Se determinó la formación de compuestos fluorescentes en un espectrofotómetro de fluorescencia a una longitud de onda de excitación de 360/40 nm y de emisión a 420/40 nm una sensibilidad de 50. Se tomaron 200 µL de cada uno de los jugos sin dilución y se colocaron en una microplaca de color negro (Birlouez-Aragon y col., 1998).

### **6.14 Análisis estadístico**

Una vez obtenidos los resultados se integraron en una base de datos y se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) con el paquete estadístico SPSS versión 12.0.1, para Windows (SPSS Inc. Chicago, Illinois) y se les aplicó el test de Duncan con un nivel de significancia del 95%. Se comparó cada una de las variables con cada tratamiento y posteriormente los dos días almacenamiento de cada tratamiento.

## **7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **7.1 Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT)**

En la figura 8 se presentan los resultados correspondientes al contenido de compuestos fenólicos de los jugos de tuna púrpura. No se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los jugos tratados térmicamente y la muestra control en ambos días de análisis. Con respecto a estos resultados, existen evidencias que indican que los flavonoides, muestran una alta estabilidad molecular y soportan temperaturas hasta de 300 °C debido a la elevada resonancia conferida por los anillos bencénicos presentes en su estructura química (Badui, 1996; Kuti, 2004; Tesoriere y col., 2005; Magloire y col., 2006), esta característica hace suponer que debido a esto, los compuestos fenólicos de los jugos púrpura se mantuvieron sin modificaciones. Cabe mencionar que el tratamiento térmico en los alimentos puede fomentar la formación de compuestos fenólicos formados durante las reacciones de Maillard y de caramelización, sin embargo, dicha formación puede inhibirse por la presencia de compuestos con actividad antirradical (Jarillo, 2008), y dado que ya ha sido reportado la actividad antirradical en el jugo de tuna púrpura (Kuti, 2004; Tesoriere y col., 2005; Magloire y col., 2006) es muy probable que en este caso la inhibición de formación de compuestos fenólicos por el tratamiento térmico en los jugos de tuna púrpura se llevó a cabo. Por otro lado, después del periodo de almacenamiento se observó que dichos componentes permanecieron estables, debido a que tampoco se presentaron cambios significativos entre la lectura de absorbancia del día 1 y el día 12 ( $p < 0.05$ ); de acuerdo a las investigaciones llevadas a cabo por Igual y col. (2010) y Tavirini y col. (2008), el efecto que tiene el almacenamiento de 0 a 4 °C en los compuestos fenólicos presentes en la pulpa de uva y kiwi no es significativo ya que se mantuvieron sin cambios estadísticos después de 25 días en refrigeración, esta tendencia se observa en los resultados de este estudio después de 12 días de almacenamiento a 4 °C, por lo que se podría suponer que el almacenamiento es un factor que brinda estabilidad a dichos componentes.

La concentración de CFT en los jugos de tuna verde se pueden observar en la figura 9. En comparación a la muestra control, la cantidad de CFT de los jugos tratados térmicamente aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ), efecto que probablemente sea debido a las reacciones de Maillard y caramelización que se llevan a cabo en jugos pasteurizados por la alta concentración de azúcares reductores que presentan. En el caso de los jugos de tuna verde, dado que presentan una menor actividad antirradical en comparación a los jugos púrpura (Sumaya-Martinez y col), dichas reacciones no se inhibirían de manera importante. Estos resultados son similares a los realizados por Scalzo y col. (2004), Choi y col. (2006) y Horváthová y col. (2007), quienes informaron que el tratamiento térmico aumentó la cantidad de CFT en el jugo de naranja, en hongos *Shiitake* y en un extracto de pimienta negra; alimentos que al igual que la tuna presentan cantidades considerables de fenoles en su composición química. En relación a los 12 días de almacenamiento, al igual que en los jugos púrpura, el contenido de fenoles se mantuvo sin cambios significativos en todos los grupos experimentales.

La cantidad de CFT reportada en las gráficas 8 y 9 expresa la totalidad de componentes fenólicos sin hacer diferencia de su origen. De acuerdo a los resultados obtenidos en ambas variedades de jugo, se observó que los CFT están presentes en mayor concentración en los jugos de tuna púrpura que en los jugos verdes, hecho que coincide con lo reportado por Sumaya-Martinez y col. (2011) quienes estudiaron la actividad antioxidante de 18 variedades de tuna de 6 estados de la República Mexicana reportando mayor cantidad de CFT en tunas púrpura que en las variedades de tuna verde. A su vez investigaciones realizadas en pulpa de tuna por Martínez-Valverde y col. (2000) y Kuti (2004) mencionan que las variedades de tuna púrpura contienen mayor cantidad de estos fitoquímicos en comparación a las verdes y amarillas.

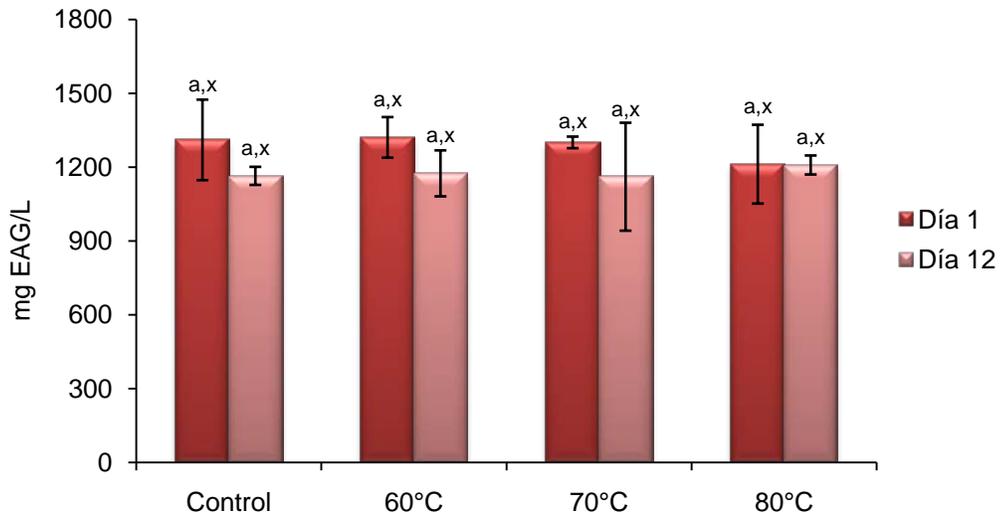


Figura 8. Contenido de CFT (mg EAG/L) en jugos de tuna púrpura.

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

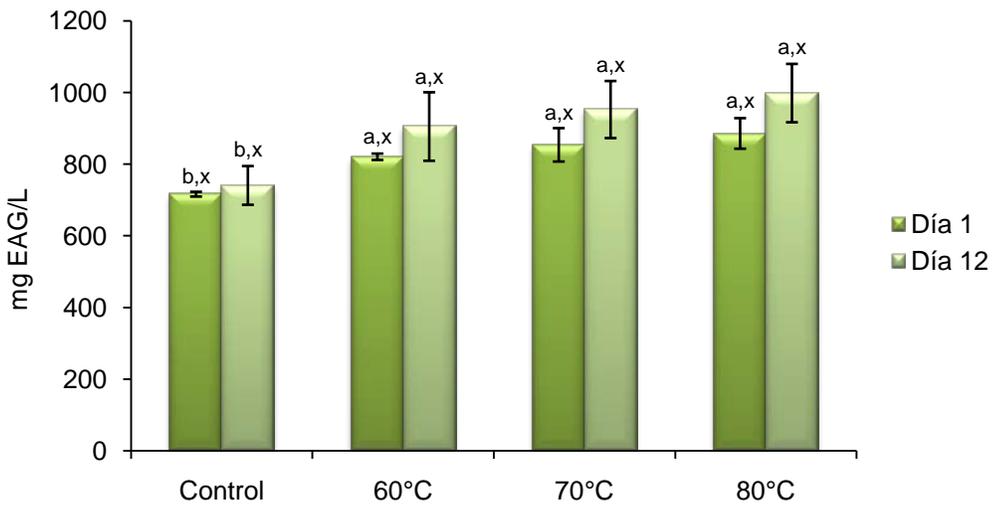


Figura 9. Contenido de CFT (mg EAG/L) en jugos de tuna verde

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

## **7.2 Concentración de ácido ascórbico**

Los resultados del contenido de ácido ascórbico en el jugo de tuna púrpura se presentan en la figura 10. Se puede observar una mayor concentración en las muestras tratadas con respecto al control, tanto en el día 1 como en el 12 ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, esta concentración va reduciendo conforme avanza el tiempo de almacenamiento tanto en la muestra control como en las tratadas a 60 y 80 °C. La muestra tratada a 70 °C se mantiene estable.

Los valores obtenidos en este estudio son similares a los reportados por Sumaya-Martinez y col. (2011), quienes estudiaron la concentración de ácido ascórbico en la misma variedad de tuna en fresco (395 mg/L). Así mismo, la tendencia que presentó este antioxidante en las muestras coincide con lo reportado por Kasetstart (2010) y por Agar y col. (1997) quienes analizaron el contenido de esta vitamina en frutas almacenadas y manifiestan que el tiempo de almacenamiento ejerce un efecto negativo sobre el contenido de ácido ascórbico.

Por otro lado, la disminución para el día 12 en la muestra control y en la tratada a 60 °C, probablemente se debe a la acción de enzimas como la citocromo oxidasa y la ácido ascórbico oxidasa, las cuales oxidan al ácido ascórbico durante el almacenamiento (Sánchez-Mata y col., 2003; Kasetstart 2010). Dichas enzimas se inactivan a temperaturas mayores a 60 °C, esto explica la estabilidad de la muestra tratada a 70 °C, de esta manera, a 80 °C no debería ocurrir disminución por oxidación, sin embargo, se trata de una vitamina termolábil (Pokorni, 2001; Díaz y col., 2007) por lo que se puede pensar que dicha temperatura afectó negativamente la estabilidad en esta muestra.

En la figura 11 se presentan los resultados de ácido ascórbico en los jugos de tuna verde. En el día 1 la muestra control obtuvo valores mayores ( $p < 0.05$ ) en comparación con los tratados térmicamente; el mismo comportamiento se observó en el día 12, con excepción del jugo tratado a 70 °C. Así mismo, durante el almacenamiento, se observó una reducción significativa en las muestras, con excepción, nuevamente, de la tratada a 70 °C. Los resultados del presente trabajo son similares a los reportados en otros estudios realizados en el fruto fresco (Galati y col., 2003; Ángeles y García, 2008; Sumaya-Martinez y col., 2011).

En esta variedad de tuna, la disminución de ácido ascórbico debido al tratamiento térmico, pudo deberse, como se mencionó anteriormente, a la sensibilidad térmica de este antioxidante y a la acción oxidativa de las enzimas durante el almacenamiento. Al igual que en el jugo de tuna púrpura, la muestra tratada a 70 °C presentó mejor estabilidad durante el almacenamiento.

A diferencia de lo observado en el jugo de tuna verde, en el jugo de tuna púrpura el tratamiento térmico no provocó la pérdida de este compuesto, debido quizás al efecto protector que ejercen los compuestos fenólicos al evitar la oxidación de ácido ascórbico (Miller y Rice-Evans, 1997; Piga y col., 2003), cuya concentración es considerablemente mayor en esta variedad de jugo (figuras 8 y 9).

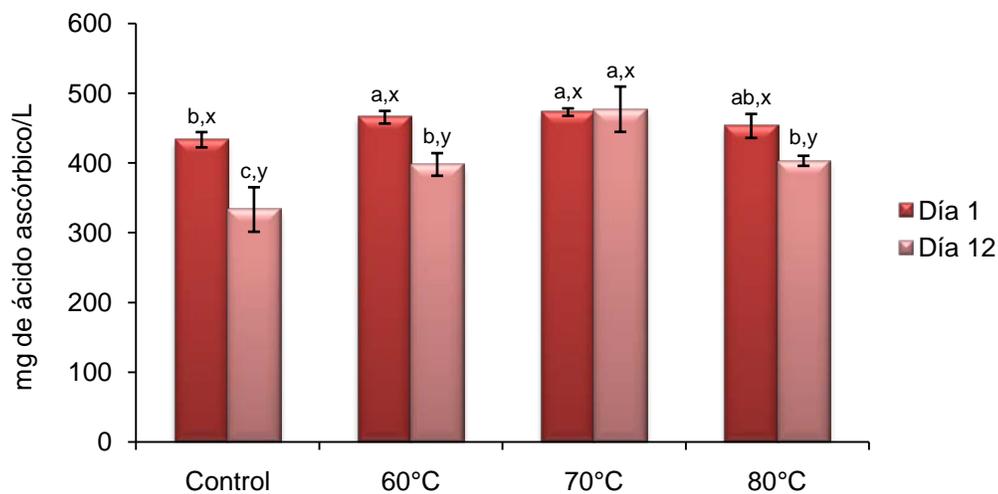


Figura 10. Contenido de ácido ascórbico (mg/L) en jugos de tuna púrpura

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

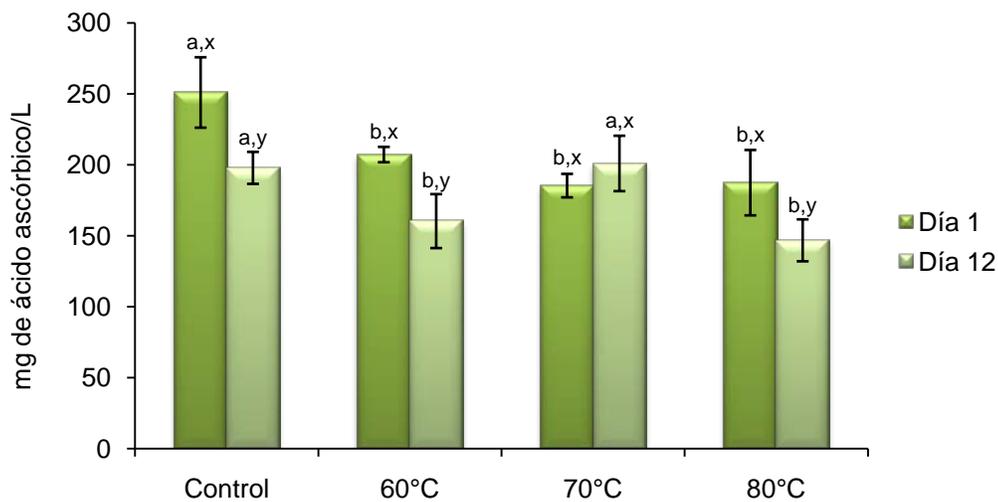


Figura 11. Contenido de ácido ascórbico (mg/L) en jugos de tuna verde

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

### 7.3 Determinación de betalaínas

#### 7.3.1 Concentración de betacianinas

Dentro de las betacianinas, la betanina es la más abundante en la variedad de tuna púrpura estudiada (Stintzing y col., 2002; Castellar y col., 2003), la figura 12 muestra el contenido de este pigmento en los jugos púrpura. Se observó que la concentración de EB, fue menor ( $p<0.05$ ) en los jugos tratados que en el jugo control, fenómeno que se presentó en ambos días de análisis. Como se sabe, la betanina, es una molécula termolábil y su velocidad de degradación se incrementa con la temperatura, la cual provoca una hidrólisis produciendo ácido betalámico y ciclodopa-5-0-glucósido (Acosta, 2000), por lo que la temperatura probablemente influyó en la degradación del pigmento.

Con respecto a los días de almacenaje, se puede decir que el efecto del almacenamiento sobre los jugos no fue significativo debido a que la muestra control y las tratadas se mantuvieron sin cambios ( $p<0.05$ ).

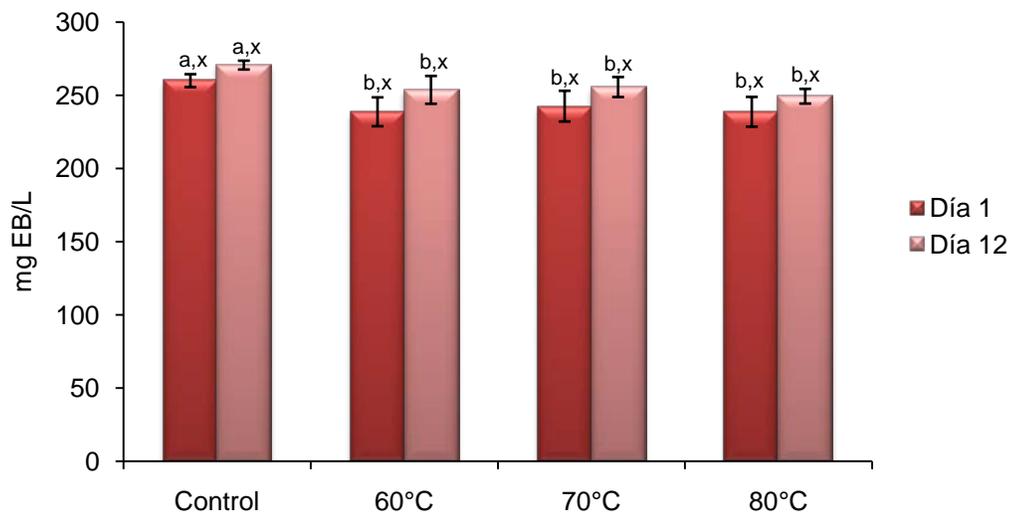


Figura 12. Concentración de betacianinas (mg EB/L) en jugos de tuna púrpura

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p<0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

### **7.3.2 Concentración de betaxantinas**

En la figura 13 se presentan los resultados correspondientes a la cantidad de betaxantinas encontradas en los jugos de tuna púrpura. En el día 1 de análisis, se observó una reducción de dicho pigmento en los jugos tratados a 70 °C y 80 °C, en comparación al jugo control ( $p < 0.05$ ).

Investigaciones previas, han reportado que este pigmento se vuelve más sensible a partir de 70 °C, y que el tiempo de exposición térmica es relevante, ya que después de 30 minutos, éste puede degradarse (Coskuner y col., 2000; Fernández-López y Almella, 2001), motivo por el cual, la temperatura probablemente influyó en la disminución del pigmento en los jugos ya mencionados; sin embargo, esta disminución, no se observó en las muestras del 12 debido a que no se encontraron cambios significativos entre ellas, al respecto, la reacción de degradación de las betaxantinas puede ser reversible después del tratamiento térmico, y se puede volver a asociar con su aminoácido precursor, que como ya se mencionó es la prolina (Torrez y col., 2000; Castellar y col., 2003), lo cual posiblemente influyó para que el pigmento pudiese recuperarse después de 12 días en refrigeración en las muestras tratadas a 70 y 80 °C.

En relación al periodo de almacenamiento, las betaxantinas se mantuvieron sin cambios ( $p < 0.05$ ) después de los días de estudio, fenómeno que pudiera explicarse con lo reportado por García y col. (1998), Reynoso y col. (1997) y Castellar y col., (2003), quienes mencionan que dichos pigmentos tienen su máxima estabilidad a 4 °C, por lo que las condiciones de almacenamiento aplicadas pudiera ser un factor importante que interviene en la estabilidad.

La concentración de betaxantinas (equivalentes de indicaxantinas) presentes en los jugos de tuna verde, se muestra en la figura 14. En ambos días de análisis, el contenido de este pigmento, fue mayor en los jugos tratados a temperaturas más altas (70 y 80 °C) en comparación al tratado a 60 °C y al control ( $p < 0.05$ ), así mismo, estos últimos presentaron valores similares, oscilando entre 1.2 y 1.5 mg EI/L. El aumento observado, pudiera deberse a la formación de pigmentos pardos obtenido en las muestras estudiadas consecuentes al tratamiento térmico (figura 24), este supuesto, puede fundamentarse de acuerdo a las investigaciones de Von-Elbe y Goldman (2000), quienes informaron que la temperatura inicia reacciones de Maillard y caramelización de los azúcares reductores presentes, dando lugar a una polimerización que genera productos pardos denominados melanoidinas, los cuales absorben luz a longitudes de onda similares a las utilizadas para la determinación de betaxantinas en este trabajo. Posterior a los días de almacenamiento, y al igual que en los jugos de tuna púrpura, no se encontraron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) en el contenido de indicaxantinas.

De acuerdo a las figuras 13 y 14 se observó que los valores de betaxantinas obtenidos en esta investigación, son superiores en los jugos púrpura en comparación a los obtenidos en los jugos verdes, esto es similar con el estudio realizado por Stintzing y col. (2005), quienes mencionaron que las tunas de color púrpura, presentan una mayor cantidad de betaxantinas en comparación con la tuna verdes.

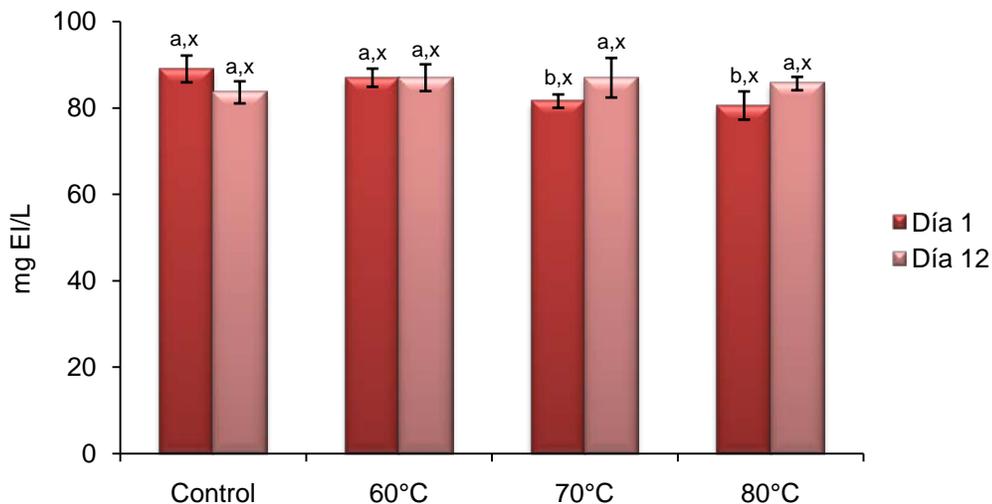


Figura 13. Concentración de betaxantinas (mg EI/L) en jugos de tuna púrpura  
 Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

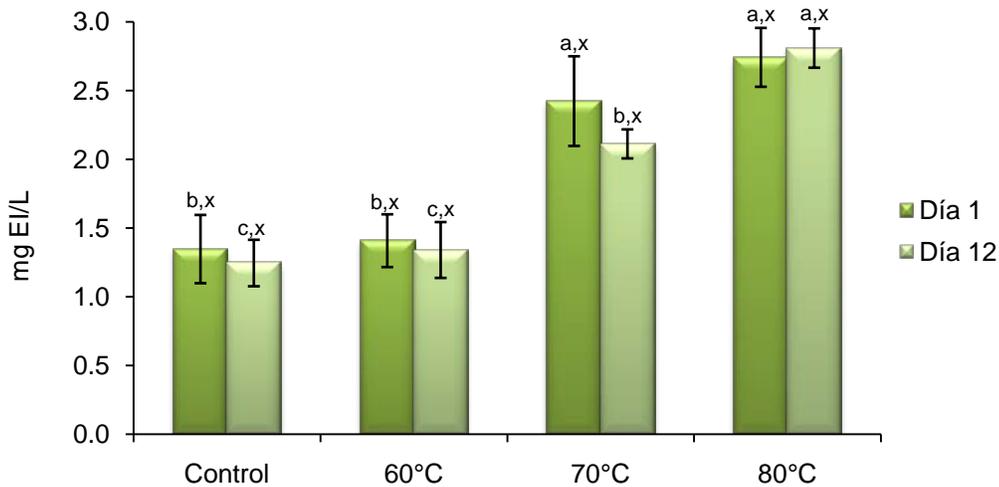


Figura 14. Concentración de betaxantinas (mg EI/L) en jugos de tuna verde  
 Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

#### **7.4 Determinación de actividad quelante**

La actividad quelante del jugo de tuna es el resultado de la suma de su contenido de ácido ascórbico, compuestos fenólicos, betalainas y productos de la reacción de Maillard, a los cuales se les atribuye la capacidad de quelar el ion hierro (Pedreño y Escribano, 2001; Pokorny y col., 2001; Ángeles y García, 2008). En el día 1 de almacenamiento (figura 15), el jugo de tuna púrpura tratado a 80 °C presentó el menor porcentaje de actividad quelante, sin embargo, para el día 12 se observó un aumento en esta muestra, mientras que las tratadas a 60 y 70 °C disminuyeron significativamente. La pérdida de actividad quelante en las muestras podría ser explicada con lo reportado por Pokorny y col (2001), quien explica que la capacidad quelante de los compuestos fenólicos se ve reducida en pH menores a 7, y de acuerdo a un estudio realizado por Piga y col. (2003), el pH de los jugos de tuna disminuye después de 9 días de almacenamiento a 4 °C. Por otro lado, el aumento de la actividad quelante en jugo tratado a 80 °C en el día 12 podría estar relacionado con la concentración de betaxantinas que aumentó en este día de almacenamiento (figura 13) y como ya se mencionó, esta tiene la capacidad de quelar metales. Como se puede observar en la figura 16, tanto en el día 1 como en el 12, los jugos de tuna verde tratados a 60 y 70 °C reportaron menor actividad quelante con respecto a las demás muestras. El jugo tratado a 80 °C presentó estabilidad de dicha actividad durante el almacenamiento a diferencia de las demás muestras ( $p < 0.05$ ), lo cual se puede relacionar con una mayor cantidad de betaxantinas y mayor formación de compuestos pardos obtenidas en esta muestra (figuras 14 y 24), esto, a su vez, pudo haber compensado la disminución de ácido ascórbico (figura 10) y contribuido a mayor actividad quelante.

Al comparar ambos jugos se observa que el jugo de tuna verde presentó mayor porcentaje de actividad quelante que el de tuna púrpura. Respecto a esto, Sumaya-Martinez y col. (2011) encontraron la misma tendencia entre ambas variedades, además, la formación de compuestos pardos en los jugos de tuna verde tratados térmicamente pudo haber contribuido de forma significativa a la actividad quelante de éste.

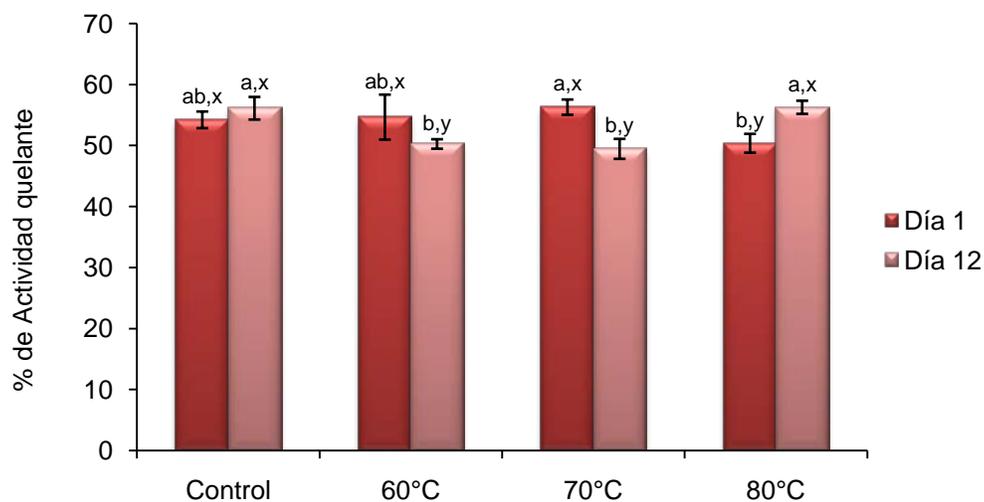


Figura 15. Porcentaje de actividad quelante en jugos de tuna púrpura

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

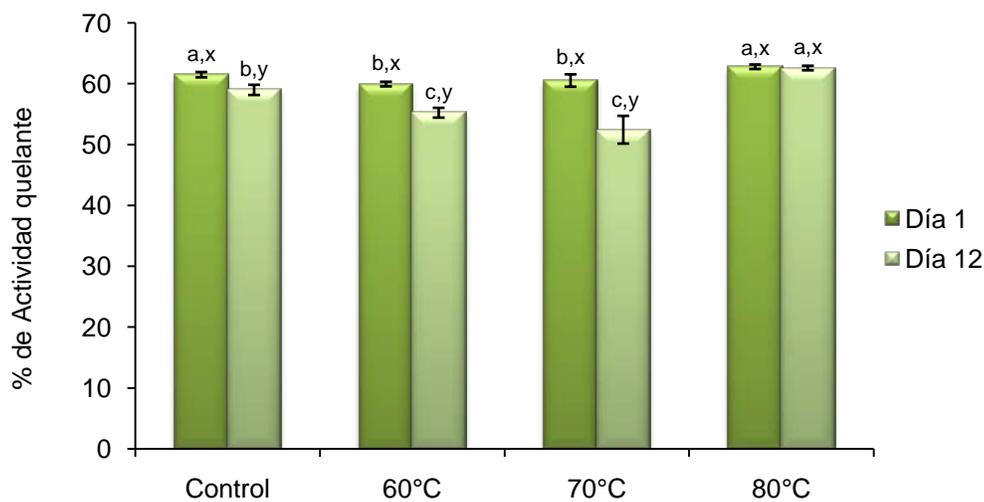


Figura 16. Porcentaje de actividad quelante en jugos de tuna verde

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

### **7.5 Análisis de la actividad antioxidante por ABTS<sup>•+</sup>**

En cuanto a la actividad antioxidante expresada como equivalente de ácido ascórbico, determinada por el método con ABTS<sup>•+</sup>, en el jugo de tuna púrpura (figura 17), se puede observar que en el día 1 no hubo diferencias significativas entre las muestras con respecto al control. Este último presentó una disminución de dicha actividad para el día 12, mientras que las muestras con tratamiento se mantuvieron sin cambios significativos. Estudios científicos reportan que la actividad antioxidante determinada por este método, está relacionada con la cantidad de compuestos fenólicos totales (Pokorny y col., 2001; Kuti, 2004; Kasetstart, 2010) y con la cantidad de ácido ascórbico (Pokorny y col., 2001; Kuti, 2004), sin embargo, Kasetstart (2010) no encontró correlación con este último compuesto, aunque supone que la forma oxidada de éste (ácido dehidroascórbico), contribuye de cierto modo, con los compuestos fenólicos.

Al parecer, la pérdida parcial de ciertos compuestos antioxidantes, debidos al tratamiento térmico y al almacenamiento, no afectó de manera significativa la actividad antioxidante total del jugo.

En cuanto a la actividad antioxidante en el jugo de tuna verde (figura 18), las muestras no presentaron diferencias significativas entre sí. En términos generales, las mismas permanecen sin cambios durante los 12 días de almacenamiento. A pesar de que en este jugo disminuyó el contenido de ácido ascórbico (figura 11), la actividad antioxidante total de las muestras podría estar incluyendo los compuestos originados en la reacción de Maillard obtenidos en este estudio (figura 24), los cuales se ha demostrado que contribuyen a la actividad antioxidante de los alimentos (Delgado-Andrade y col., 2001; Navarro y col., 2000; Seiquer y col., 2000). En este sentido, se podría decir que la pérdida de ácido ascórbico en los jugos de tuna verde se ve compensada con la aparición de otros compuestos con actividad antioxidante.

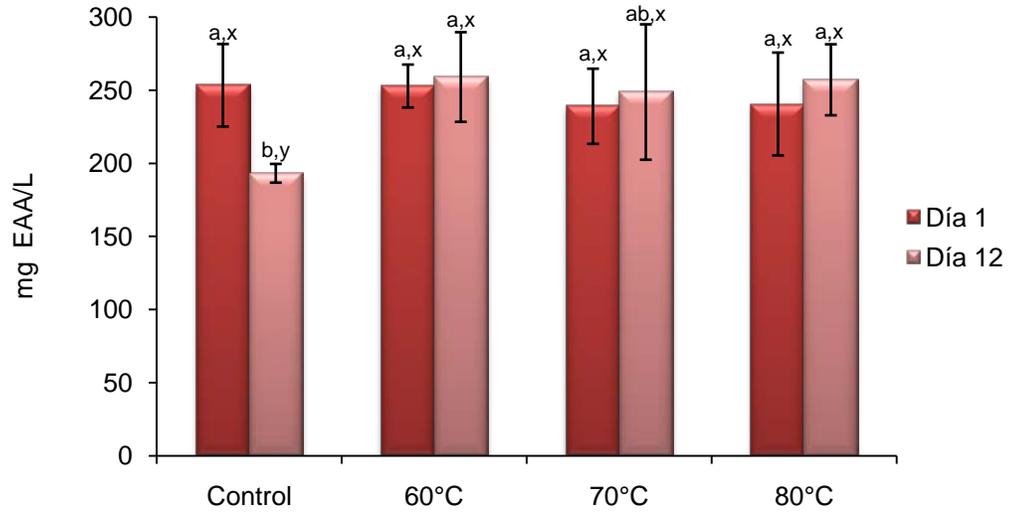


Figura 17. Actividad antioxidante por ABTS<sup>•+</sup> en jugos de tuna púrpura

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

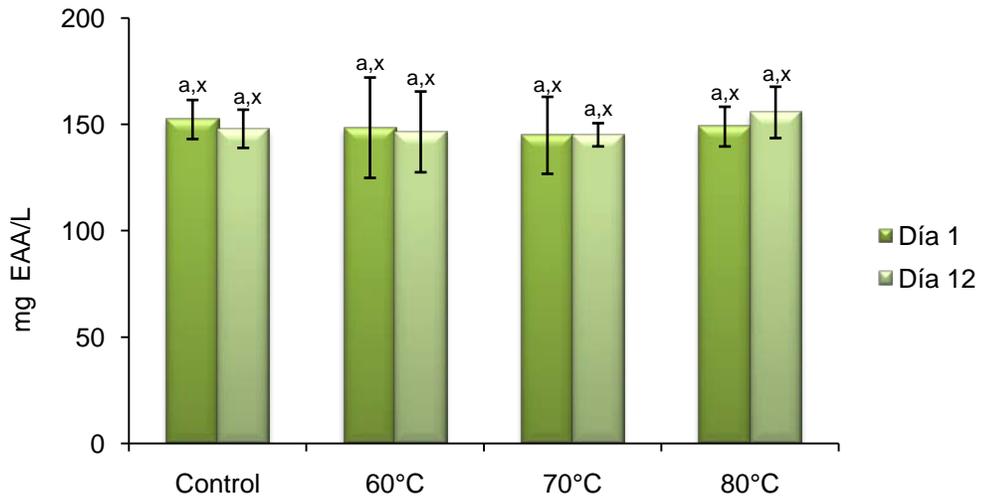


Figura 18. Actividad antioxidante por ABTS<sup>•+</sup> en jugos de tuna verde

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

## **7.6 Análisis de la actividad antioxidante por DPPH\***

De acuerdo a los estudios llevados a cabo por Castellar y col. (2003) y a Butera y col. (2002), las propiedades antioxidantes de la tuna, se han relacionado con los compuestos funcionales presentes en ella, puesto que estos componentes poseen gran facilidad para ceder átomos de hidrógeno a un radical libre; siendo los compuestos fenólicos, los principales responsables de dicha actividad según las investigaciones realizadas por Murillo y col. (2000) y Kuti (2004), de igual forma, Galati y col. (2003), Kuti (2004) y Stintzing y col. (2005), mencionan que el ácido ascórbico aporta el 15% de la actividad antioxidante total en la tuna, a su vez, se ha demostrado que las betalaínas poseen actividad antioxidante incluso mayor al ácido ascórbico según lo informado por Maglorie y col. (2006). En la figura 19 se muestran los resultados los jugos de tuna púrpura; en el día 1 de análisis no se encontraron cambios significativos entre las muestras, mientras que en el día 12, el valor de dicha actividad fue mayor en los jugos tratados en comparación a la muestra control, esto se pudiera relacionar con el incremento de ácido ascórbico que se observó en los resultados de este estudio (figura 10). Con respecto al tiempo de almacenamiento, el jugo control y los tratados se mantuvieron sin cambios después de los días de estudio ( $p < 0.05$ ). La actividad antioxidante correspondiente a los jugos de tuna verde (figura 20), presenta la misma tendencia que los jugos púrpura. No se observaron cambios estadísticos en el día 1, a diferencia del día 12 en donde la concentración equivalente a Trolox de los jugos tratados fue mayor en comparación al jugo control, esto podría tener relación con la formación de compuestos pardos (figura 24) probablemente originados durante la reacción de Maillard, ya que se ha indicado que estos componentes también tienen propiedades antioxidantes por la habilidad que tienen de quelar metales y reducir compuestos carbonílicos (Borrelli y col., 2002 Turkmen y col., 2006); por consiguiente, la actividad antioxidante obtenida en las muestras, pudiera atribuirse a la formación de estos compuestos y a los antioxidantes presentes en el jugo. De modo similar a las muestras de jugo púrpura, a lo largo del almacenamiento, los jugos permanecieron sin cambios ( $p < 0.05$ ) después de doce días en refrigeración.

De acuerdo a los resultados de actividad antioxidante medida por ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup> obtenidos, se observó que los jugos de la variedad púrpura presentaron mayor actividad antioxidante, posiblemente porque la concentración de compuestos fenólicos, betalainas y ácido ascórbico es significativamente superior (Maglorie y col., 2006). Así mismo, estos resultados son similares a los reportados por Sumaya-Martinez y col. (2011), quienes reportaron mayores cifras en las variedades púrpuras.

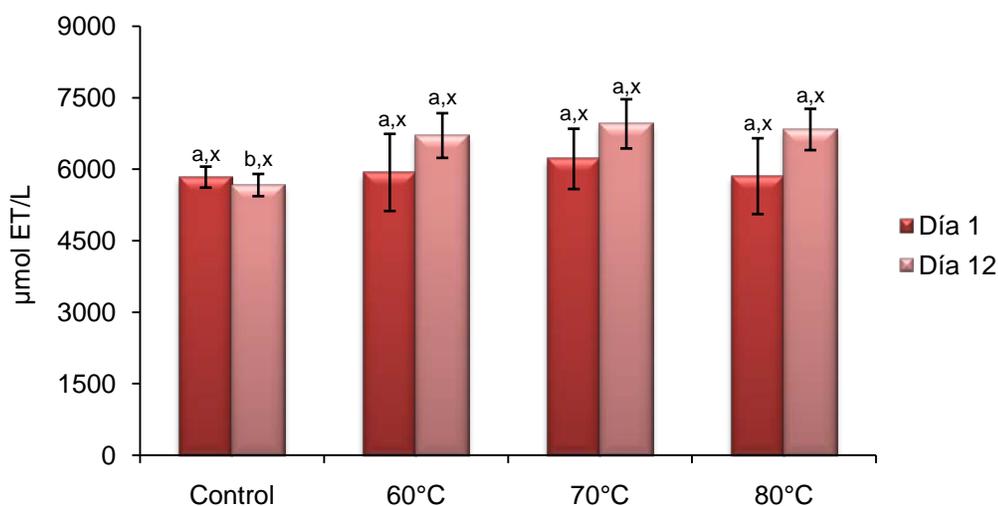


Figura 19. Actividad antioxidante por DPPH<sup>•</sup> en jugos de tuna púrpura

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

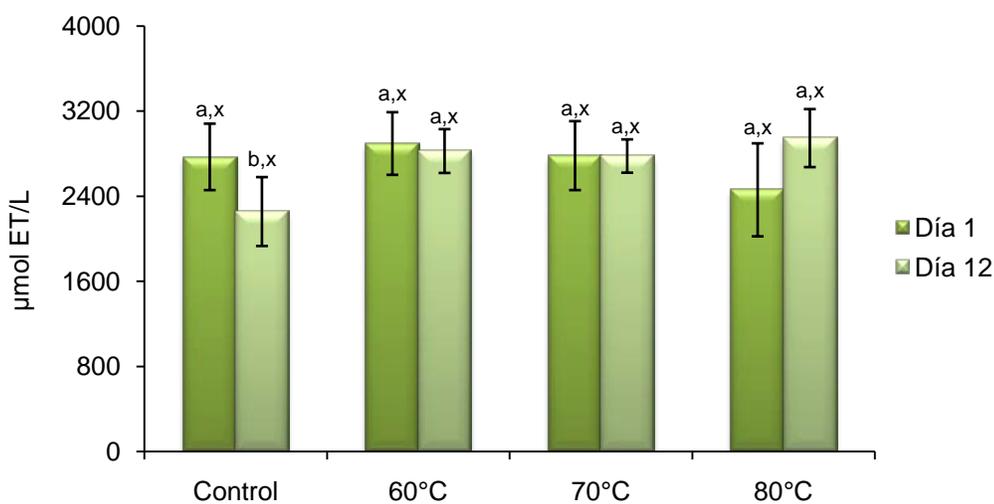


Figura 20. Actividad antioxidante por DPPH<sup>•</sup> en jugos de tuna verde

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

### **7.7 Contenido de azúcares reductores**

El azúcar reductor presente en mayor proporción en el jugo de tuna es la glucosa, seguido de la fructosa (Sáenz, 2000; Cassano y col., 2007). En la figura 21, se presentan los resultados del contenido de estos azúcares en el jugo púrpura, en donde se puede apreciar que las muestras no presentan diferencias significativas entre sí en los dos días de análisis, y que durante el almacenamiento estos compuestos se mantuvieron estables. De manera general, estos valores son similares a los reportados por Rodríguez y col. (1996) y Piga (2004) quienes obtuvieron valores similares de 8.71%, y de 10 a 15% respectivamente, ambos estudios se realizaron en el fruto fresco.

La figura 22 muestra los resultados de azúcares reductores obtenidos en el jugo de tuna verde. En todas las muestras se observaron valores similares ( $p < 0.05$ ) en el día 1 y 12 de análisis. Durante el almacenamiento, se observó un aumento en el jugo tratado a 80 °C, mientras que las demás muestras no presentaron diferencias significativas. Cerezal y Duarte (2005) realizaron estudios en el fruto fresco de la misma variedad y reportan valores inferiores (8.07%). Esta diferencia podría ser debida a un mayor grado de madurez que tenían los frutos usados en este estudio al momento de su cosecha, ya que, según Willis y col. (1998), un mayor grado de madurez está relacionado con un mayor porcentaje de azúcares reductores.

En cuanto al aumento ocurrido durante el almacenamiento en el jugo tratado a 80 °C en el jugo de tuna verde Ferreyra y col. (2009) encontraron la misma tendencia en el jugo de naranja pasteurizado.

No hay disminución de azúcares reductores durante el almacenamiento en ninguna de las dos variedades, lo que podría ser favorable ya que varios autores relacionan fuertemente a esta reducción con la presencia de microorganismos, al servirles a estos de sustrato (Reynolds y col., 2001; Nurgel y col., 2002; Ferreyra y col., 2009); por esta razón se podría esperar que no haya crecimiento microbiano.

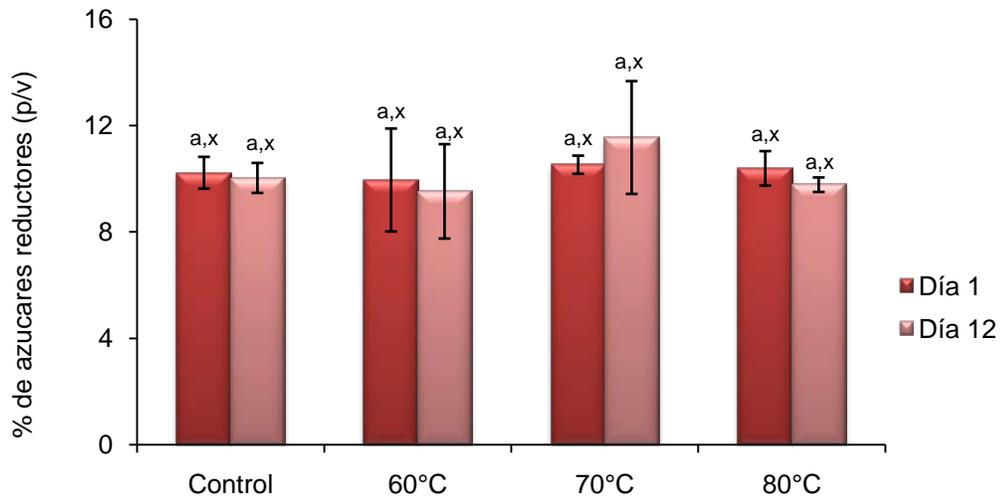


Figura 21. Porcentaje (p/v) de azúcares reductores en jugos de tuna púrpura  
Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

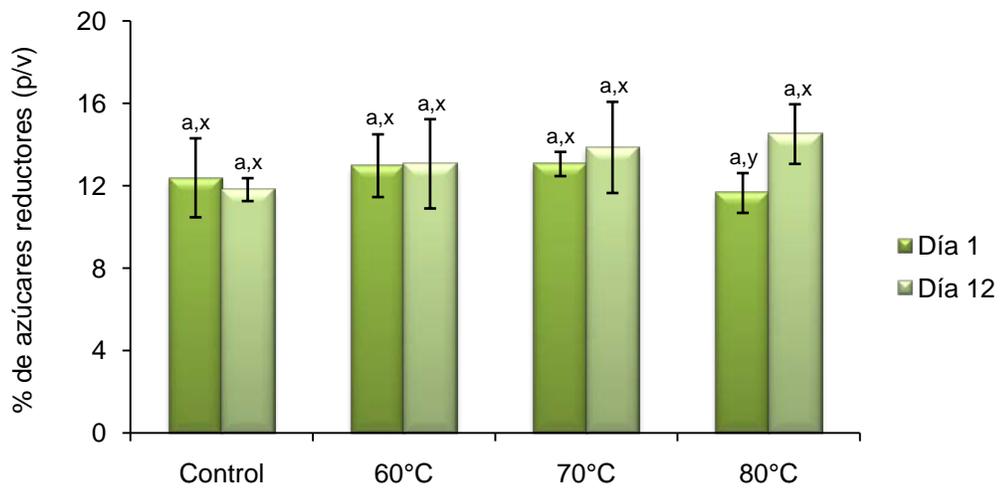


Figura 22. Porcentaje (p/v) de azúcares reductores en jugos de tuna verde  
Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

## **7.8 Resultados de pardeamiento**

Los resultados correspondientes al pardeamiento obtenido en los jugos púrpura se muestran en la figura 23. No se encontraron cambios significativos entre los jugos tratados y el jugo control en ambos días de análisis. En relación al periodo de almacenamiento, los jugos se comportaron de manera similar, sin observarse cambios estadísticos entre el día 1 y el día 12 de estudio ( $p < 0.05$ ).

Tomando como referencia la muestra control, se podría suponer que no se generó pardeamiento en las muestras sometidas a tratamiento térmico por la similitud en las lecturas de absorbancias que se observa.

El pardeamiento no enzimático o reacción de Maillard puede inhibirse por la presencia de componentes con actividad antioxidante, tales como los compuestos fenólicos y el ácido ascórbico (Chi-Hao y Gow-Chin, 2005), por esta razón, el que no se hayan generado compuestos pardos, pudiera deberse a la importante cantidad de antioxidantes presentes en el jugo de tuna púrpura.

En la figura 24 se pueden observar los resultados de pardeamiento de los jugos verdes. En comparación a la muestra control, los jugos tratados a 70 °C y a 80 °C presentaron diferencias significativas en ambos días de análisis ( $p < 0.05$ ).

El efecto del almacenamiento a 4 °C no fue significativo, ya que después de 12 días en refrigeración, los jugos permanecieron estables.

Estos resultados indican que la temperatura pudo haber influido en la formación de compuestos pardos en las muestras tratadas a 70 y a 80 °C, debido a la diferencia estadística mencionada; fenómeno que podría ser consecuente a las reacciones de Maillard y caramelización, ya que ambas generan polímeros de elevado peso molecular que causan pardeamiento (Somoza, 2005), a su vez, estas reacciones se favorecen con el aumento de la temperatura, la alta concentración de azúcares reductores (Selen y Karadeniz, 2003; Salamatdoust y col., 2010) y la presencia de ciertos aminoácidos, como la lisina, considerado de los más sensibles al tratamiento

térmico (Delgado-Andrade y col., 2004), por lo que se podría sugerir que estos factores pudieron contribuir al desarrollo de compuestos pardos.

La tendencia encontrada coincide con el estudio realizado por Selen y Karadeniz (2002), quienes evaluaron el pardeamiento no enzimático en jugos de manzana, sus resultados indican que la temperatura es un factor importante para el desarrollo de pardeamiento, ya que conforme ésta aumentaba el pardeamiento generado era mayor.

Como se puede observar en las figuras 23 y 24 únicamente se generó pardeamiento en los jugos de tuna verde sometidos a temperaturas mayores a 60 °C, hecho que probablemente se deba a la mayor concentración de azúcares reductores que existen en esta variedad, característica importante que favorece el desarrollo de las reacciones de pardeamiento.

Por otro lado, la estabilidad encontrada en los jugos de tuna púrpura pudiera deberse a su alta actividad antioxidante, motivo que pudo inhibir las reacciones de Maillard y caramelización.

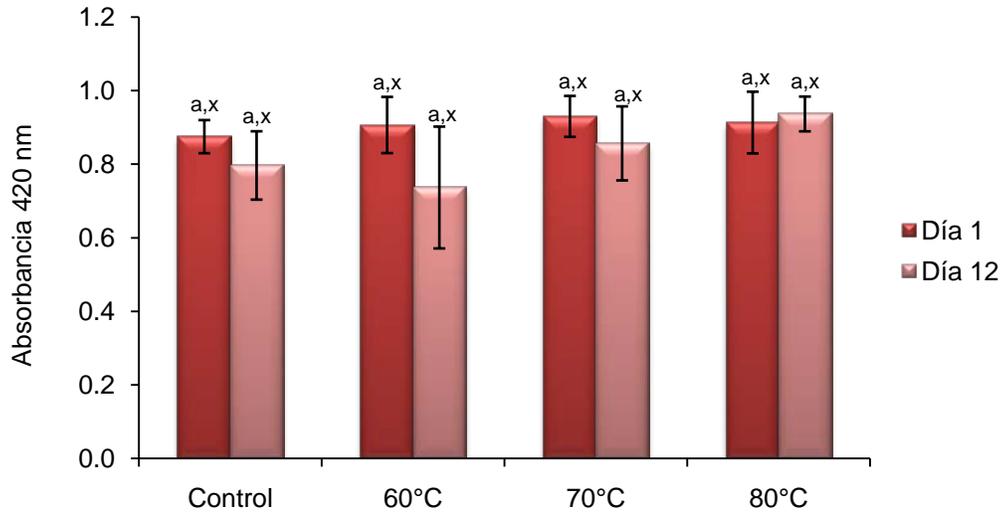


Figura 23. Compuestos pardos en jugos de tuna púrpura

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

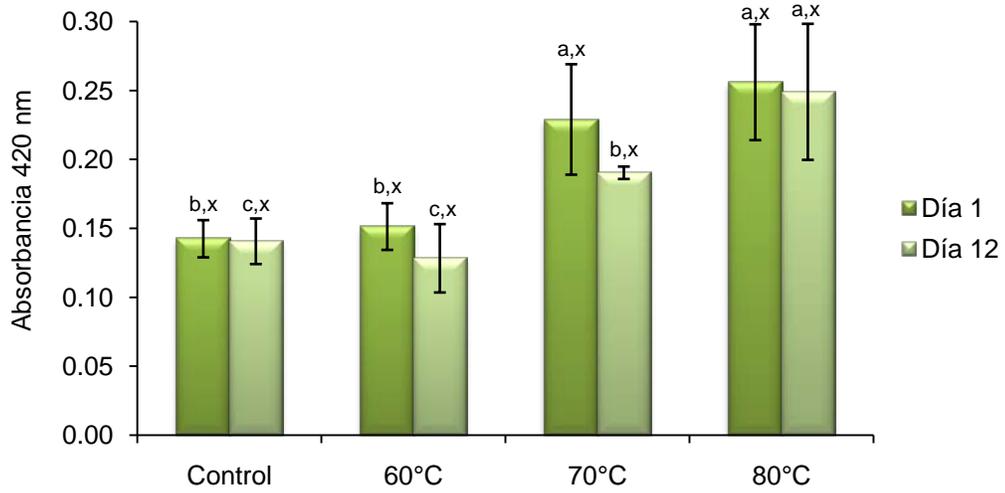


Figura 24. Compuestos pardos en jugos de tuna verde

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

## **7.9 Resultados de fluorescencia**

Los resultados correspondientes a la determinación de compuestos fluorescentes en los jugos púrpura se presentan en la figura 25. Se puede observar que ni la temperatura ni el almacenamiento provocaron cambios, debido a que los jugos tanto control como tratados, se mantuvieron estables en ambos días de análisis y después de los días de almacenamiento ( $p < 0.05$ ), de acuerdo a estos resultados y tomando en cuenta el jugo control, se podría indicar que no se generaron compuestos fluorescentes en las muestras, dichos componentes se forman en la etapa intermedia de la reacción de Maillard (Ames, 1990; Davies y Labuza, 1997), por lo que se podría suponer que esta reacción no se llevó a cabo en las muestras tratadas, de igual forma, los compuestos fenólicos presentes en el jugo de tuna (ver figura 7) pudieron inhibir o retardar dicha reacción, ya que según lo reportado por Kim y Kim (2003) y Chi-Hao y Gow-Chin (2005), estos compuestos ejercen un efecto inhibitorio sobre la formación de los productos fluorescentes.

Con respecto a los jugos de tuna verde (figura 26), se encontraron diferencias significativas entre los jugos tratados y el control en el día 1, mientras que en el día 12 de análisis, las muestras permanecieron sin cambios ( $p < 0.05$ ). En relación al periodo de almacenamiento, las muestras permanecieron sin cambios estadísticos con excepción de la tratada a 70 °C, la cual en comparación al día 1, presentó un valor menor de fluorescencia. Estos resultados podrían indicar que se formaron compuestos fluorescentes en las muestras del día 1 de análisis. Existe evidencia de que estos componentes son precursores de los compuestos pardos (Ames, 1990; Davies y Labuza, 1997; Morales y col., 2000), lo cual podría relacionarse con los resultados de pardeamiento obtenidos en este estudio (ver figura 23).

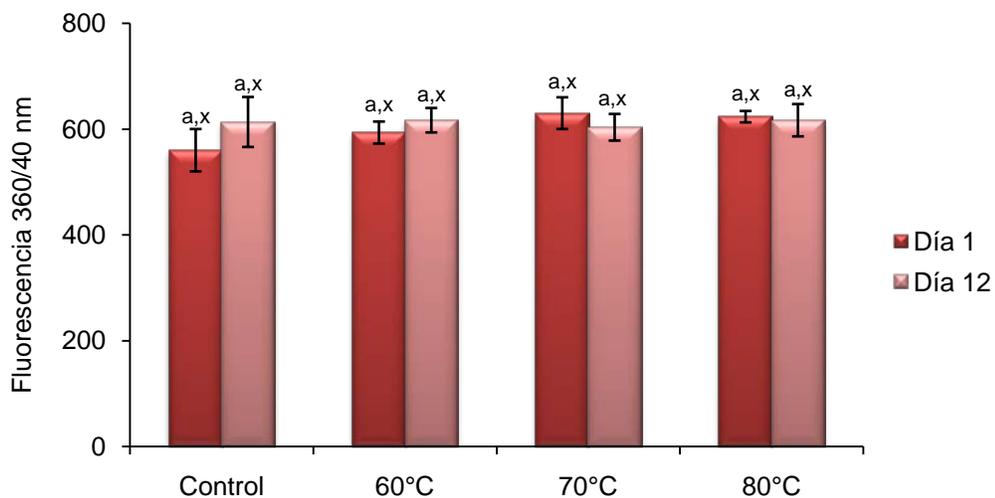


Figura 25. Compuestos fluorescentes en jugos de tuna púrpura

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

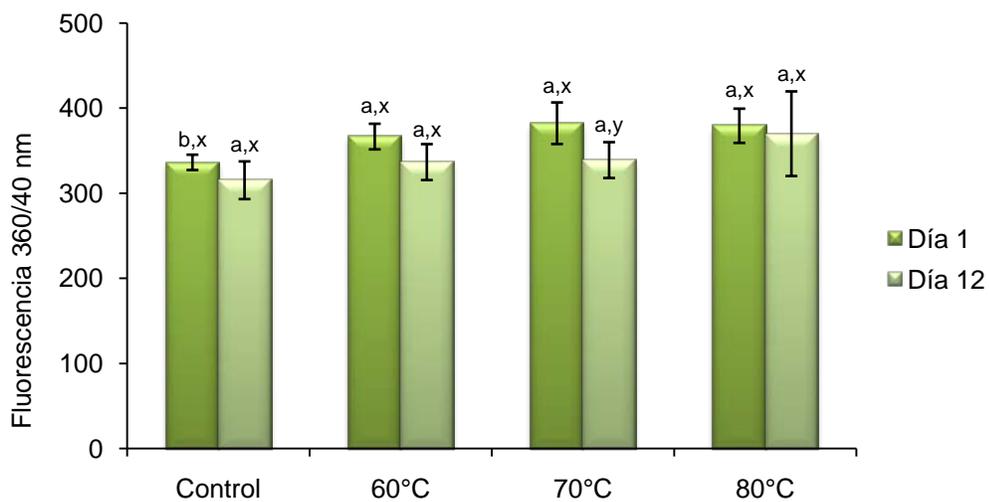


Figura 26. Compuestos fluorescentes en jugos de tuna verde

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (a,b,c) y entre sus días de almacenamiento (x,y)

## **8. CONCLUSIONES**

Las temperaturas aplicadas a los jugos generan cambios en los componentes antioxidantes, la concentración de ácido ascórbico en el jugo de tuna verde y las betaxantinas en el púrpura disminuye, mientras que los compuestos fenólicos aumentan y se generan compuestos pardos con capacidad antioxidante. A pesar de estas modificaciones, la actividad antioxidante total se mantiene estable, por lo que, de manera general, se podría utilizar cualquiera de las temperaturas aplicadas en este estudio para mantener la capacidad antioxidante del jugo de tuna en su estado fresco.

Durante el almacenamiento a 4 °C, únicamente se genera disminución en el contenido de ácido ascórbico en las muestras tratadas a 60 y a 80 °C en ambas variedades de jugo, sin embargo, la actividad antioxidante total no se ve afectada. Los azúcares reductores no presentan disminución y se supone la ausencia de microorganismos por este hecho, no obstante, se recomienda un análisis microbiológico que lo pudiera corroborar.

En términos de apariencia, el jugo de tuna púrpura presenta un color atractivo, el cual no se ve modificado de manera significativa por el tratamiento térmico, además, presenta una mayor actividad antioxidante que el jugo de tuna verde, hecho que podría conferirle ventajas sobre este último ante el consumidor, por lo que se sugiere aplicar un análisis sensorial para fundamentar esta suposición.

## 9. REFERENCIAS

Acosta, G. L. 2000. Fermentación Microbiana de la pulpa de pitaya (*Stenocereus queretaroensis*) para la liberación del pigmento hidrosoluble. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. 46-54.

Agar, L.T., Streif, J. y Bangerth, E. 1997. Effect of high CO<sub>2</sub> and controlled atmosphere on the ascorbic and dehydroascorbic acid content of some berry fruits. *Postharvest Biol Technol.* 11 (47)

Ames, J. M. 1990. Control of the Maillard reaction in food systems. *Trends Food Sci Technol.* 1(3): 150-154.

Andriot, I., Quéré, J. L. y Guichard, E. 2004. Interactions between coffee melanoidins and flavor compounds: impact of freeze-drying (method and time) and roasting degree of coffee on melanoidins retention capacity. *Food Chem.* 85(2): 289-294.

Ángeles, C. J. y García, M. A. 2008. Estudio de la actividad antioxidante de 18 variedades de tuna de 6 estados de la República Mexicana: Jalisco, Guanajuato, Puebla, Hidalgo, Zacatecas y Estado de México. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Estado de Hidalgo. 45-67.

Badui, S. D. 1996. Vitaminas. En: *Química de los alimentos*. Tercera edición. Logman-Alhambra. México, DF. 645.

Birlouez-Aragon, I., Nicolás, M., Metais, A., Mar-Chond, N., Grenier, J. y Calvo, D. 1988. A rapid fluorometric method to estimate the heat treatment of liquid milk. *Int Dairy J.* 8(9): 771-777.

Borrelli, R., Fogliano, V., Monti, S. y Ames, J. 2002. Characterization of melanoidins from a glucose glycine model system. *Eur Food Res Technol.* 215(3): 210-215.

Bravo, L. 1998. Polyphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr Rev.* 56(11): 317-333.

Butera, D., Tesoriere, L. y Di Gaudio, F. 2002. Antioxidant activities of sicilian prickly pear (*Opuntia Ficus-Indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxantina. *J Agric Food Chem.* 50(23): 6895-6901.

Cassano, A., Conidi, A., Timpone, R., D'Avella, M. y Drioli, E. 2007. A membrane-based process for the clarification and the concentration of the cactus pear juice. *J Food Eng.* 80(3): 914-917.

Castellar, R., Obón, J. M., Alacid, M. y Fernández-López, J. A. 2003. Color Properties and Stability of Betacyanins from *Opuntia* fruits. *J Agric Food Chem.* 51(9): 2772-2776.

Cerezal, P. y Duarte, G. 2005. Some Characteristics of Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica* L. Miller) Harvested in the andean altiplane of region 2 of chile. *G J PACD.* 7(1): 35-40.

Chi-Hao, W., y Gow-Chin, Y. 2005. Inhibitory effect of naturally occurring flavonoids on the formation of advanced glycation end products. *J Agric Food Chem.* 53(8): 3167-3173.

Chihuailaf, R., Contreras, P. y Wittwer, F. 2002. Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. *Vet Méx.* 33(3): 265-283.

Choi, Y., Lee, S. M., Chun, J., Lee, H. B. y Lee, J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinusedodes*) mushroom. *Food Chem.* 99(2): 381-387.

Combs, G. 2001. Vitaminas. En: *Nutrición y Dietoterapia de Krause*. Décima Edición. México D.F. Mc. Graw-Hill. 73-88.

Corrales, G. J. y Hernández, S. J. L. 2005. Cambios en la calidad postcosecha de variedades de tuna con y sin semilla. *Rev Fitotec Mex.* 28(1): 9-16.

Coskuner, Y., Turker, N., Ekiz, H.I., Aksay, S y Karababa, E. 2000. Effect of pH and temperature on the thermostability of prickley pear (*Opuntia ficus-indica*) yellow-orange pigments. *Nahrung*. 44(4):261-263.

Davies, C. y Labuza, T. 1997. The Maillard reaction: application to confectionery products. *Confect Scienc*. 35-66.

Delgado-Andrade, C., Seiquer, I. y Navarro, M. P. 2001. Cambios en la solubilidad del Fe y el Zn debidos a la presencia de mezclas de glucosa-lisina calentadas. *Nutr Hosp*. 16(1): 203.

Delgado-Andrade, C., Seiquer, I., Nieto, R. y Navarro, M. P. 2004. Effects of heated glucose-lysine and glucose-methionine model systems on mineral solubility. *Food Chem*. 87(3): 329-337.

Demirkol, O., Adams, C. y Ercal, N. 2004. Biologically important tilos in various vegetables and fruits. *J Agric Food Chem*. 52(1): 8151-8154.

Díaz, M. E., Rodríguez, R. E. y Díaz, R. C. 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica* fruits. *Food Chem*. 103(1): 38-45.

Drisko, J., Chapman, J. y Hunter, V. 2003. The use of antioxidants with first-line chemotherapy in two cases of ovarian cancer, use of antioxidants during chemotherapy and radiotherapy should be avoided. *J Am Coll Nutr*. 22(2): 118-123.

Dürüst, N., Dogan, S. y Dürüst, Y. 1997. Ascorbic acid and element contents of foods of Trabzon (Turkey). *J Agric Food Chem*. 45(6): 2085-2087.

Fernández-López, J.A. y Almella, L. 2001. Application of high performance liquid chromatography to the characterization of betalain pigments in pear fruits. *J Chromatogr A*. 913(1-2): 415-420.

Fitó, C. M. 2003. Efectos antioxidantes del aceite de oliva y de sus compuestos fenólicos. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. 47-52.

- Frankel, E. y Meyer, A. 2000. The problems of using one dimensional methods to evaluate multidimensional food and biological antioxidants. *J Agric Food Chem.* 80(1): 1925-1941.
- Fraternale, D., Giamperi, L., Bucchini, A. y Ricci, D. 2009. Antioxidant activity of *Prunus spinosa* fruit juice. *J Food Sci.* 3(21): 126-134.
- Galati, E. M., Mondello, M. R., Giuffrida, D., Dugo, G., Miceli, N.; Pergolizzi, S. y Taviano, M. F. 2003. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus-indica* (L.) fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *J Agric Food Chem.* 51(17): 4903-4908.
- García-Barrera, F., Reynoso, C., y González de Mejía, E. 1998. Stability of betalains extracted from garambullo (*Myrtillo cactus geometrizans*). *Food Sci Technol Int.* 4(2): 115-120.
- García, G. V. 2008. Evolución de compuestos funcionales durante la maduración de frutos de *Opuntia stricta*. Tesis de licenciatura. Universidad Politécnica de Cartagena. 125-136.
- Gil, M. I., Aguayo, E. y Kader, A. A. 2006. Quality changes and nutrient retention in fresh cut versus whole fruits during storage. *J Agric Food Chem.* 54(12): 4284-4296.
- Guicin, I., Buyukokuroglu, M. E. y Kufrevioglu, O. I. 2003. Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. *J Pineal Res.* 34(4): 278-281.
- Guzmán, L. D. y Chávez, J. 2007. Estudio bromatológico del cladodio del nopal (*Opuntia ficus-indica*) para el consumo humano. *Rev Soc Quim Perú.* 73(1): 41-45.
- Habibi, Y., Heux, L., Mahrouz, M. y Vignon, M. 2008. Morphological and structural study of seed pericarp of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydr Polym.* 72(1): 102-112.
- Horváthová, J., Suhaj, M., Šimko, P. 2007. Effect of thermal treatment and storage on antioxidant activity of some spices. *J Food Nutr Res.* 46(1): 20-27.

Igual, M., García-Martínez, E., Camacho, M. M. y Martínez-Navarrete, N. 2010. Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice. *Food Chem.* 118(2): 291-299.

INE, Instituto Nacional De Ecología. 1994. Nopal Verdura: cultivo alternativo para las zonas áridas y semiáridas de México. Editorial INE, CONAZA. México.

Jarillo, A. D. 2008. Estudio de la actividad antioxidante de un extracto acuoso de cilantro (*Coriandrum sativum*) sobre la inhibición de compuestos fluorescentes durante la glicación de proteínas en función del pH. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Estado de Hidalgo. 55.

Jing, H. y Kitts, D. D. 2002. Chemical and biochemical proprieties of casein-sugar Maillard reaction products. *Food ChemToxicol.* 40(7): 1007-1015.

Kabas, O., Ozmerzi, A. y Akinci, I. 2006. Physical properties of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.) grown wild in Turkey. *J Agric Food Chem.* 73(1): 198-202.

Kasetstart, J. 2010. Changes in ascorbic acid, total polyphenol, phenolic acid and antioxidant activity in juice extracted from coated kiew wan tangerine during storage at 4, 12 and 20 °C. *Nat Sci.* 44(1): 280-289.

Kim, H. Y., y Kim, K. 2003. Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts in vitro. *J Agric Food Chem.* 5(6): 1586-1591.

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., García-Parilla, M. C. y Fett, R. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Rev Bras Cienc Tecnol Alim.* 24(4): 691-693.

Kuti, J. O. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *J Food Chem.* 85(4): 527-533.

Kwak, E. J. y Lim, S. I. 2004. The effect of sugar, aminoacid, metal ion and stability of low moisture and intermediate moisture foods. *Food Technol.* 24(6): 543-548.

Lahoz, C., Peña, R. y Mostaza, J. 2000. ¿Se deben de recomendar antioxidantes para la prevención cardiovascular? *Rev Clin Española*. 4(1): 36-41.

Leong, L. P. y Wedzicha, B. L. 2000. A critical appraisal of the kinetic model for the Maillard browning of glucose with glycine. *Food Chem*. 68(1): 21-28.

Magloire, F. J., Konarski, P., Zou, D., Conrad, S. F. y Zou, C. 2006. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia spp.*) cladodes and fruits. *Front Biosci*. 11(1): 2474-2589.

Mandujano, M., Golubov, J. y Reyes, J. 2002. Lo que usted quiso siempre saber sobre las cactáceas y nunca se atrevió a preguntar. *Biodiversitas*. 40(1): 4-7.

Martínez-Valverde, I., Periago, M. y Ros, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *SciELO*. 50(1): 5-18.

Medina-Torres, L., Gallegos-Infante, J. A., Gonzalez-Laredo, R. F. y Rocha-Guzmán, N. E. 2008. Drying kinetics of nopal (*Opuntia ficus-indica*) using three different methods and their effect on their mechanical properties. *Food Sci Technol*. 41(7): 1183-1188.

Mendez, G. S. y García, H. J. 2006. La tuna: producción y diversidad. *Biodiversitas*. 68: 1-5

Miller, N. J. y Rice-Evans, C. A. 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolics antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chem*. 60(3): 331-337.

Monia, E., Bourret, E., Mondolot, L. y Attia, H. 2005. Fatty acid composition and rheological behavior of prickly pear seed oils. *Food Chem*. 93(3): 431-437.

Monroy-Vazquez, A., Totosaus, A., Gonzalez, G, L., De la Fuente, S. K. y García-Martinez, I. 2007. Antioxidantes I. chile ancho (*Capsicum annum L. grossum sendt.*) y romero (*Rosmarinu sofficialis L.*) como fuentes naturales de antioxidantes. *CienciaTecnol*. 6(1): 112-116.

Morales, F. J. y Jiménez-Pérez, S. 2001. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chem.* 72(1): 1119-1125.

Murillo E., Carrasquilla L. e Islam M. 2000. Actividad Antioxidante de Frutas Tropicales. *Rev Latinoam Quim.* 28(1): 84-85.

Navarro, M. P., Aspe, T. y Seiquer, I. 2000. Zinc transport in Caco-2 cells and zinc balance in rats: Influence of the heat treatment of a casein-glucose-fructose mixture. *J Agric Food Chem.* 48(8): 3589-3596.

Nurgel, C.; Erten, H., Canbas, A., Cabaroglu, T. y Selli, S. 2002. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* strain on fermentation flavor compounds of white wine made from c.v. Emir grown in central Anatolia. *J. Ind. Microb. Biotech.* 29: 28-33.

Padron, P. C., Moreno, A. M. y Medina, M. C. 2008. Composición química, análisis estructural y factores antinutricionales de filocladios de *Epiphyllum Phyllanthus* (L.): Haw. Var. Hookeri (link & otto) kimn. (*Cactaceae*). *INCl.* 33(6): 443-448.

Pedreño, M. A. y Escribano, J. 2001. Correlation between antiradical activity and stability of betanin from *Beta Vulgaris* L. roots under different pH, temperature and light conditions. *J Sci Food Agric.* 81: 627-631.

Piga, A. 2004. Cactus Pear: A Fruit of Nutraceutical and Functional Importance. *J PACD.* 6(1): 9-22.

Piga, A., Del Caro, A., Pinna, I. y Agabbio, M. 2003. Changes in ascorbic acid, polyphenol content and antioxidant activity in minimally processed cactus pear fruits. *Food Sci Technol.* 36(2): 257-262.

Pokorny, J., Yanishlieva, N. y Gordon, M. 2001. Funcionalidad de los antioxidantes naturales durante el procesado de los alimentos. En: *Antioxidantes de los alimentos, aplicaciones prácticas*. Primera edición. Acribia. Zaragoza, España. 311-325

- Ramos, I. M., Batista, G. C., Gómez, M. B. y Zamora, P. A. 2006. Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Medigraphic*. 8(1): 7-15.
- Rapisarda, P., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Bonina, F., De Pasquale, A. y Saija, A. 1999. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *J Agric Food Chem*. 47(11): 4718-4723.
- Reyes-Aguirre, J., Aguirre-Rivera, J. y Hernandez, H. 2005. Notas sistemáticas y descripción detallada de *Opuntia ficus-indica* (L) Mill. (*Cactaceae*). *Agrociencia*. 39(4): 395-908.
- Reynolds, A. G., Edwards, C. G., Cliff, M. A.; Thorngate, I. y Marr, J. C. 2001. Evaluation of Yeast strains during fermentation of riesling and cheninblanc musts. *Am J Enol Vitic*. 52 (4): 336-344.
- Reynoso, R., García, F., Morales, D. y González de Mejia, E. 1997. Stability of betalain pigments from a *Cactaceae* fruit. *J Agric Food Chem*. 45(8): 2984-2988.
- Rodríguez, S., Orphee, C., Macias, S., Generoso, S. y Gomes, L. 1996. Tuna: Propiedades físico-químicas de dos variedades. *SciELO*. 210(1): 34-37.
- Pérez-Cacho, R., Galán-Soldevilla, M. P., Corrales, G. J. y Hernández, M. A. 2006. Sensory characterization of nopalitos (*Opuntia spp*). *Food Res Int*. 39(3): 285-293.
- Sáenz, C. 2000. Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia spp.*) fruits and cladodes. *J Arid Environ*. 46(3): 209-225.
- Salamatdoust, N. R., Mohammad, C., Ali-Asghar, S. A., Gorbani, K., Nazeradi, J., Giyasi, Ghaleh, K. J y Zadeh, A. E. 2010. Effect of non-enzymatic browning reaction on the treated soybean meal proteins degradation. *Global Veter*. 5(1): 22-25.
- Sánchez-Mata, M.C., Cámara, M. y Díez-Marqués, M. 2003. Extending shelf-life and nutritive value of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.), by controlled atmosphere storage: micronutrients. *Food Chem*. 80: 317-322.

- Scalzo, R. L., Iannocari, T., Summa, C., Morelli, R y Rapisarda, P. 2004. Effect of thermal treatments on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice. *Food Chem.* 85(1): 41-47.
- Selen, B. H. y Karadeniz, F. 2003. Effect of storage on non-enzymatic browning of apple juice concentrates. *Food Chem.* 80(1): 91-97
- Seiquer, I., Delgado-Andrade, C. y Navarro, P. 2000. Effects of the heat treatment of casein on Zn transport and uptake by Caco-2 cells. *Proc Nutr Soc.* 59(2): 134-139.
- SIAP. 2008. Sistema de Información Agropecuaria de consulta; [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=351](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351). Fecha de consulta: 28 de julio de 2010.
- Somoza, V. 2005. Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: an update. *Mol Nutr Food Res.* 49(7): 663-672.
- Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellapan, S., Akoh, C. C., Bunch, R. y Felker, P. 2005. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia spp.*) clones. *J Agric Food Chem.* 53(2): 442-451.
- Stintzing, F. C., Schieber, A. y Carle, R. 2002. Identification of betalains from Bellow beet (*Beta vulgaris L.*) and cactus pear (*Opuntia ficus-indica L.Mill.*) by high performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *J Agric Food Chem.* 50(8): 2302-2307.
- Sumaya-Martínez, M. T., Cruz-Jaime, S., Madrigal-Santillán, E., García-Paredes, J. D., Cariño-Cortés, R., Cruz-Cansino, N., Valadez-Vega, C., Martinez-Cardenas, L. y Alanís-García, E. 2011. Betalain, Acid Ascorbic, Phenolic Contents and Antioxidant properties of purple, red, yellow and white cactus pears. *In J Mol Sci.* 12: 6452-6468.
- Tavirini, S., D'Innocenti, E., Remorini, D., Massai, R., y Guidi, L. 2008. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chem.* 107(1): 282-288.

Tesoriere, L., Butera, D., D' Arpa, D., Di Gaudio, F., Allegra, M., Gentile, C. y Livrea, M. A. 2003. Increases Resistance to oxidation of betalain-enriched human low-density lipoproteins. *Free Radical Res.* 37(6): 689-696.

Tesoriere, L., Fazzari, M., Allegra, M. y Livrea, M. A. 2005. Biothiols, taurine, and lípido-soluble antioxidants in the edible pulp of Silician cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruits and changes of bioactive juice components upon industrial processing. *J Agric Food Chem.* 53(20): 7851-7855.

Torrez, V., Avalo, B. y Moreno-Alvarez, M. J. 2000 Estabilidad de carotenoides provenientes del pericarpio de lechosa *Carica papaya* L. sometido a liofilización parcial. *Unllez Cien Tec.* 18(1):12-22.

Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E. S. y Sedat, V. Y. 2006. Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chem.* 95(4): 653-657.

Van, H. R., Haenen, G. y Evelo, C. 2003. Effect of vitamin E on glutathione-dependent enzymes. *Drug Metab Rev.* 35: 215-253.

Viloria-Matos, A., Corbelli-Moreno, D., Moreno-Alvarez, J. M. y Belén, C. D. 2002. Estabilidad de betalaínas en pulpa de tuna (*Opuntia boldinghii* Br. et R.) sometidas a un proceso de liofilización. *Rev Fac Agron.* 19(4): 324-331.

Von-Elbe, J. H. y Goldman, I.L. 2000. The betalains. En: *Natural food colorants*. Primera edición. Basic Symposium Series. Marcel Dekker, Nueva York. 87-91.

Wei, L., Yu-Jie, F., Mei-Hong, T., Nan, W., Xiao-Lei, L. y Su, Z. 2009. Super critical carbon dioxide extraction of seed oil from *Opuntia dillenii* Haw. and its antioxidant activity. *Food Chem.* 114(1): 334-339.

Willis, R., Mc Glasson, B., Graham, D. y Joyce, D. 1998. Efecto de la temperatura. En: *Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales*. Segunda edición. Acribia. Zaragoza, España. 53.

Zamora, S, J. 2007. Antioxidantes micronutrientes en lucha por la salud. *Rev Chil Nutr.* 1(34): 17-26.