



---

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

“Microencapsulación de pigmentos naturales obtenidos de la  
cáscara y pulpa de frutos de *Opuntia* spp.”

PRESENTA:

L.Q. Karla Guadalupe López Pastrana

TESIS

Para obtener el grado de  
Maestra en Ciencia de los Alimentos

Directora:

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Asesores:

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Dr. Rubén Jiménez Alvarado



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

**COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO DEL ICAP**

Actas de la reunión de comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos

**Apertura:**

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis titulada "**Microencapsulación de pigmentos naturales obtenidos de la cáscara y frutos de *Opuntia spp***" que desarrolla la estudiante, L.Q. Karla Guadalupe López Pastrana.

**Asistentes**

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes  
Dr. Rafael Germán Campos Montiel  
Dr. Rubén Jiménez Alvarado

**A. Revisión de Trabajo de tesis**

**Observaciones:**

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la L.Q. Karla Guadalupe López Pastrana, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

**B. Acuerdos**

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

ATENTAMENTE  
"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"  
Tulancingo de Bravo Hidalgo a 24 de agosto del 2016.

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Dr. Rubén Jiménez Alvarado



## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitirme concluir este trabajo de tesis y sobre todo por guiarme hacia todas las personas que se involucraron en la realización de este trabajo, a quienes también agradezco profundamente. En especial a mi asesora de tesis, la Dra. Alma Delia Hernández Fuentes a quién admiro y respeto, le agradezco por la confianza y por compartirme sus conocimientos. Al revisor de tesis el Dr. Rafael Germán Campos Montiel, por invertir su tiempo y ayudarme a nutrir este proyecto. Al revisor de tesis el Dr. Rubén Jiménez Alvarado, por la ayuda y paciencia, ya que gracias a sus comentarios y conocimientos fue un gran guía hasta el término del proyecto. A mis amigas y compañeras de maestría Arely León López y Geraldine Paulin Yañez, gracias por acompañarme en todo momento, por el apoyo y por cuestionarme sobre el tema de investigación y sobre todo gracias por no soltarme. Gracias a mi amiga Delia Jazmín Reyes Acosta por siempre estar al pendiente del proyecto, por escuchar mil veces sobre el tema y siempre continuar dándome sus puntos de vista.

Agradezco a todos los lectores por tomarse el tiempo de ojear esta tesis, esperando les sea de gran ayuda.

## AGRADECIMIENTOS

**AGRADEZCO AL FONDO MIXTO CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA, HIDALGO (FOMIX-CONACYT-HGO), POR EL APOYO RECIBIDO DE LOS REACTIVOS PARA LA REALIZACION DE LA PRESENTE INVESTIGACIÓN DENTRO DEL PORYECTO CON CLAVE 195462.**

## DEDICATORIAS

Este trabajo de tesis tiene una especial dedicatoria a mi familia, quienes lejos o cerca, creyeron en mí y me tuvieron presente siempre en sus oraciones.

Principalmente a mis padres que tanto amo, Janette Pastrana Hernández y Braulio López Pérez, esto es de ustedes por nunca titubear ante mis decisiones y por siempre impulsarme a seguir en la investigación, a quienes les estoy agradecida por hacer de mí una mujer tenaz y comprometida, gracias por el apoyo desmedido, ustedes son quienes conocen el tema de investigación tanto como yo, gracias por siempre escucharme, el mérito es de ustedes. Para mi hermano José Alfonso López Pastrana, quien es mi gran amor, a quien admiro y respeto. Todo lo hago pensando en ser un buen ejemplo para ti. A mi compañero de vida Víctor René Miranda Cervantes te agradezco por el apoyo, por desvelarte conmigo los días de trabajo arduo, por ayudarme a limpiar tunas y xoconostles, por alentarme a continuar, por siempre confiar y creer en mí, este mérito es tanto mío como tuyo. Te amo.

## ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	3
DEDICATORIAS.....	5
RESUMEN.....	vii
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 Cactáceas.....	3
2.2 Distribución de las cactáceas.....	3
2.3 Importancia de las cactáceas.....	3
2.4 Nopal.....	3
2.5 Tuna.....	4
2.6 Xoconostle.....	5
2.7 Importancia de los frutos de <i>Opuntia</i> en la salud.....	7
2.8 Color.....	8
2.8.1 Colorantes.....	8
2.9 Compuestos Bioactivos.....	9
2.10 Betalaínas.....	10
2.11 Capacidad antioxidante.....	12
2.12 Ensayo de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo).....	14
2.13 Ensayo de ABTS (Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6- sulfónico).....	15
2.14 Fenoles Totales.....	17
2.15 Flavonoides.....	18
2.16 Microencapsulación.....	19
2.17 Técnicas de encapsulación.....	20

2.18	Secado por aspersión .....	21
2.19	Material encapsulante .....	22
2.20	Goma de Mezquite ( <i>Prosopis laevigata</i> ).....	23
3	JUSTIFICACIÓN.....	24
4	OBJETIVOS.....	25
4.1	Objetivo General.....	25
4.2	Objetivos Específicos .....	25
4.3	Hipótesis .....	25
5	MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
5.1	Material vegetal .....	26
5.2	Reactivos.....	27
5.3	ETAPA I. Preparación de las muestras y análisis de extractos.....	27
5.3.1	Obtención de extractos acuosos de <i>Opuntia</i> spp. ....	27
5.3.2	Reducción de tamaño de partícula de la cáscara de <i>Opuntia</i> spp. ....	28
5.4	Análisis realizados a los extractos .....	29
5.4.1	Potencial de Hidrógeno (pH).....	29
5.4.2	Sólidos solubles totales (°Brix) .....	30
5.4.3	Acidez titulable.....	30
5.4.4	Color .....	30
5.4.5	Cuantificación de betalainas.....	31
5.4.6	Contenido de fenoles totales.....	32
5.4.7	Contenido de flavonoides.....	32
5.4.8	Determinación de actividad antioxidante por el método de ABTS [2,2'-azino- bis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)] .....	32
5.4.9	Determinación de actividad antioxidante por el método DPPH (2,2-difenil-1- picrilhidrazilo) .....	33

5.5	ETAPA II. Diseño de tratamientos .....	34
5.5.1	Selección de las mezclas de extractos de los frutos de <i>Opuntia</i> spp. más adecuadas para su microencapsulación .....	34
5.5.2	Selección de la relación entre el material de pared y el material a encapsular	34
5.5.3	Microencapsulación de extractos de los frutos de <i>Opuntia</i> spp.....	35
5.6	ETAPA III. Análisis de las microcápsulas. ....	35
5.6.1	Cuantificación de los compuestos bioactivos microencapsulados .....	35
5.7	Eficiencia de encapsulación.....	36
5.8	Caracterización física de las microcápsulas.....	36
5.8.1	Análisis de estabilidad térmica.....	37
5.9	Análisis estadístico .....	37
6	RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	38
6.1	ETAPA I. Análisis de extractos.....	38
6.1.1	Rendimiento de obtención de extractos.....	38
6.1.2	Análisis fisicoquímicos de extractos .....	39
6.1.3	Determinación de color en los extractos .....	41
6.1.4	Contenido de betalaínas en extractos.....	43
6.1.5	Compuestos bioactivos en extractos.....	45
6.2	ETAPA II. Resultados de microencapsulación.....	48
6.2.1	Establecimiento de las relaciones entre material de pared y material a encapsular .....	48
6.2.2	Obtención de microcápsulas.....	52
6.2.3	Eficiencia de encapsulación.....	56
6.3	ETAPA III. Resultados de apariencia de las microcápsulas de extractos.....	56
6.3.1	Color en microcápsulas. ....	56



6.3.2	Análisis de estabilidad térmica.....	58
7	CONCLUSIONES.....	60
8	REFERENCIAS .....	61

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Morfología de la Tuna púrpura variedad 'orejón' ( <i>Opuntia megacantha</i> ). .....	5
<b>Figura 2.</b> Morfología del xoconostle 'Ulapa' ( <i>Opuntia oligacantha</i> ). .....	7
<b>Figura 3.</b> Estructura general de ácido betalámico (a), betacianica (b) y betaxantina (c), Betanina: R1 = R2 = R3 = H. amina o grupo amino ácido (Azeredo, 2009) .....	11
<b>Figura 4.</b> Principales estructuras de betalainas en el nopal (Moßhammer, 2006).....	12
<b>Figura 5.</b> Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.....	15
<b>Figura 6.</b> Estructura del ABTS·+ antes y después de la reacción con el antioxidante .....	16
<b>Figura 7.</b> Reacción de transferencia de electrones con el reactivo de Folin Ciocalteu .....	17
<b>Figura 8.</b> Estructuras químicas de los diferentes flavonoides (Samprieto et al., 2009). ...	18
<b>Figura 9.</b> Complejo Flavonoide- Aluminio (Amaya y Portillo., 2013).....	19
<b>Figura 10.</b> Esquema de los diferentes procesos de encapsulación (Pedroza, 2002).....	20
<b>Figura 11.</b> Proceso de Secado por aspersión (Morales, 2012). .....	22
<b>Figura 12.</b> Reducción de tamaño de partícula de la cáscara de tuna y xoconostle.....	28
<b>Figura 13.</b> Espacio de color (Konica minolta, 2015).....	31
<b>Figura 14.</b> Rendimiento de obtención de extractos. ....	38
<b>Figura 15.</b> Apariencia macroscópica de las microcápsulas para elegir la relación de material de pared más adecuada. <b>A) 2:1</b> Microcápsulas de la relación de 2 partes de goma de mezquite por 1 de $E_{T,1:0}$ <b>B) 4:1</b> Microcápsulas de la relación de 4 partes de goma de mezquite por 1 de $E_{T,1:0}$ y <b>C) 6:1</b> Microcápsulas de la relación de 6 partes de goma de mezquite por 1 de $E_{T,1:0}$ . .....	49
<b>Figura 16.</b> Eficiencia de encapsulación de las formulaciones $ME_{T,0:1}$ ; $ME_{T,3:7}$ ; $ME_{X,1:0}$ y $ME_{X,3:7}$ .....	56
<b>Figura 17.</b> Microcápsulas de extractos de frutos de <i>Opuntia spp.</i> A) $ME_{T,0:1}$ ; B) $ME_{T,3:7}$ ; C) $ME_{X,1:0}$ y D) $ME_{X,3:7}$ . .....	57
<b>Figura 18.</b> Microcápsulas observadas con microscopía electrónica de barrido; a) $ME_{T,0:1}$ , antes del tratamiento térmico; b) $ME_{T,3:7}$ , antes del tratamiento térmico; c) $ME_{X,1:0}$ , antes del tratamiento térmico; d) $ME_{X,3:7}$ , antes del tratamiento térmico; e) $ME_{T,0:1}$ , después del tratamiento térmico; f) $ME_{T,3:7}$ , después del tratamiento térmico; g) $ME_{X,1:0}$ , después del tratamiento térmico; h) $ME_{X,3:7}$ , después del tratamiento térmico. ....	59

**Índice de Tablas**

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de los distintos ensayos utilizados para determinar la capacidad antioxidante según su modo de reacción ET o HAT (Tovar, 2013).	14
<b>Tabla 2.</b> Relación entre extracto de pulpa y extracto de cáscara de los frutos de <i>Opuntia</i> spp.	29
<b>Tabla 3.</b> Proporciones con la mayor concentración de compuestos bioactivos de acuerdo a los análisis realizados a los extractos	34
<b>Tabla 4.</b> Caracterización fisicoquímica de extractos (pulpa, cáscara y sus mezclas) de frutos de <i>Opuntia</i> spp.	40
<b>Tabla 5.</b> Determinación de color en extractos (pulpa, cáscara y mezclas) de frutos de <i>Opuntia</i> spp.	42
<b>Tabla 6.</b> Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalaínas totales en extractos (pulpa, cáscara y mezclas) de frutos de <i>Opuntia</i> spp.	44
<i>Tabla 7. Compuestos bioactivos en extractos (pulpa, cáscara y mezclas) de frutos de <i>Opuntia</i> spp.</i>	47
<i>Tabla 8. Análisis de color en microcápsulas para seleccionar la relación del material de pared y el material a encapsular.</i>	50
<b>Tabla 9.</b> Contenido de compuestos bioactivos en microcápsulas para seleccionar la relación del material de pared y el material a encapsular.	51
<b>Tabla 10.</b> Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalaínas totales en microcápsulas.	53
<b>Tabla 11.</b> Compuestos bioactivos en microcápsulas de extractos.	55
<b>Tabla 12.</b> Análisis de color a microcápsulas de extractos.	58
<b>Tabla 13.</b> Contenido de betalaínas antes y después del análisis de estabilidad térmica	58

**RESUMEN**

En este trabajo se evaluó el efecto del secado por aspersion sobre la bioactividad y el color de extractos (pulpa, cáscara y/o sus mezclas) de frutos de *Opuntia* spp. y sus mezclas. Las microcápsulas fueron obtenidas con una temperatura de entrada de 175 °C, usando goma de mezquite como material de pared. Se determinó que el secado por aspersion tuvo un efecto estadísticamente significativo ( $P \leq 0.05$ ) sobre el contenido de Betalaínas totales, siendo las formulaciones  $E_{T,0:1}$  y  $E_{X,3:7}$  las que presentaron un contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ). Los contenidos de fenoles totales, flavonoides, actividad antioxidante por ABTS y DPPH, así como el color, en las formulaciones  $E_{T,3:7}$  y  $E_{X,3:7}$  fueron influenciados por la presencia del material de pared en las microcápsulas. Los extractos de xoconostle fueron menos susceptibles a degradación mediante secado por aspersion comparados con los extractos de tuna. Mientras que las betalaínas pueden ser un buen indicador la degradación de los extractos microencapsulados con goma de mezquite.

## 1 INTRODUCCIÓN

La familia Cactaceae es considerada como un grupo botánico del nuevo mundo, siendo México el país que contiene el mayor centro de diversidad. Está representada por especies del tipo columnares, redondeadas y trepadoras, las cuales son utilizadas como fuente de alimento de animales como murciélagos y pájaros, así como para humanos (Moreno, *et al.*, 2008).

Los cactus son recursos importantes de las zonas semiáridas, los cuales son utilizados como forrajes, y son consumidos de forma fresca tanto los frutos como los cladodios (Moreno, *et al.*, 2008).

El nopal pertenece a la subfamilia *Opuntioideae*, representa el recurso vegetal más importante, desde el punto de vista económico social, para los habitantes de las zonas áridas y semiáridas de México. Esta planta promueve el arraigo de los campesinos a sus tierras, ya que mediante la producción, la recolección y la venta, tanto de frutos como de brotes tiernos obtienen un ingreso adicional que complementa el gasto familiar (Márquez, *et al.*, 2012).

Uno de los frutos derivado del nopal es la tuna, se sabe que México es el país con la mayor producción de éste fruto en el mundo, ya que presenta la mayor área cultivada y la más grande diversidad de colores del fruto. Sin embargo, existe poca información que determine el uso potencial como colorante natural en productos alimenticios (Aquino, *et al.*, 2012).

El xoconostle, es otro de los frutos derivados del nopal, este fruto no se consume en fresco, el término xoconostle proviene del nombre náhuatl nochtli= tuna y de xoco= agria, es decir tunas ácidas; es originario de América donde es conocido por diferentes nombres tales como: higo chumbo, chumbera, higuera de moro, cacto pinelo, higuera de tuna (Torres, *et al.*, 2014).

La importancia de ambos frutos en este trabajo, radica en los pigmentos naturales que se encuentran presentes. Muchos de los colorantes naturales de alimentos, como los producidos por frutas, son empleados para restaurar las pérdidas de color producidas durante el proceso de los alimentos. Los colorantes naturales presentan desventajas cuando se comparan con los colorantes sintéticos, incluyendo mayor costo en uso y menor

estabilidad. No obstante, se ha evitado cada vez más el uso de colorantes sintéticos, prefiriendo los pigmentos naturales, que se consideran inofensivos o incluso saludables (Azeredo, 2009).

Debido a la menor estabilidad que presentan los pigmentos naturales es que se implementa la utilización de técnicas que mejoren la protección de este tipo de compuestos contra las condiciones medioambientales. Una de ellas es la microencapsulación mediante secado por aspersión, la cual con ayuda de un material encapsulante adecuado puede mejorar la estabilización de betalaínas y los demás compuestos bioactivos presentes, tales como los polifenoles (Desai y Park, 2005).

Para llevar a cabo una microencapsulación adecuada, es necesario elegir el o las mezclas de material encapsulante o de pared más adecuado, estos pueden ser polisacáridos (almidones, maltodextrina, goma arábiga, etc.), proteínas (gelatina, caseína, proteína de soya, proteína de trigo, etc.) o lípidos (ácido esteárico, mono y diglicéridos) (Orozco, 2003).

También existen algunos otros materiales que han sido propuestos como alternativas a los materiales encapsulantes más comunes, entre ellos se encuentra la goma exudada del árbol de mezquite (*Prosopis laevigata*), la cual comparte muchas propiedades con la goma arábiga, y ha sido propuesta como su sustituto, pero que presenta una mejor protección contra la degradación de pigmentos (Orozco, *et al.*, 2003).

Por todo lo anterior es que surge el objetivo de esta investigación que fue obtener microcápsulas mediante secado por aspersión que protejan a los pigmentos obtenidos de la cáscara y/o de la pulpa de tuna púrpura variedad 'Orejón' y xoconostle variedad 'Ulapa' contra su degradación usando goma de mezquite como material de pared. Ya que el principal objetivo de la microencapsulación es proteger el material del núcleo de las condiciones ambientales desfavorables, tales como la luz, humedad y oxígeno.

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1 Cactáceas

La familia Cactaceae agrupa a una gran diversidad de plantas, entre las que destacan los cactus columnares (viejitos); los cactus candelabriformes (cardones, órganos y pitayas); las biznagas y biznaguitas (chilitos); algunas trepadoras como los nopalillos (*Heliocereus* spp.) y las pitahayas (*Hylocereus* spp.), además de una gran variedad de nopales, entre otras. La familia es originaria del continente americano y se estima que apareció hace aproximadamente 80 millones de años (Jiménez, 2011).

### 2.2 Distribución de las cactáceas

El grupo de las cactáceas constituye cerca de 2,000 especies, las cuales se encuentran distribuidas en el continente americano, desde el norte de Canadá hasta la Patagonia, y desde el nivel del mar, en dunas costeras, hasta los 5,100 msnm, en Perú. La mayoría de las cactáceas se desarrollan en ambientes áridos y semiáridos, y en México las zonas secas abarcan cerca del 60% de la superficie del país (Jiménez, 2011).

### 2.3 Importancia de las cactáceas.

Las cactáceas son consideradas como recursos importantes de las zonas semiáridas, los cladodios son utilizados como forrajes y algunos de los frutos son consumidos en fresco. Su importancia radica en el potencial que representa en la actualidad para la industria alimentaria y farmacéutica. Moreno, *et al.*, (2008) hacen referencia al uso potencial de las especies del género *Opuntia* destacando su utilización en la elaboración de productos tales como: mermeladas, harinas deshidratadas, conservas, jugos, confituras, bebidas alcohólicas además de ser fuentes importantes de pigmentos naturales como betalainas que presentan efecto antioxidante, anticancerígeno y antimicrobiano. El género *Opuntia* presenta propiedades antioxidantes, relacionados con la presencia de ácido ascórbico, compuestos fenólicos, contenido de flavonoides, y una mezcla de pigmentos amarillos (betaxantinas) y rojos (betacianinas) (Stinzing, *et al.*, 2005).

### 2.4 Nopal

El nopal pertenece al género *Opuntia* de la familia Cactaceae. El género *Opuntia* comprende plantas perennes, suculentas, simples o cespitosas, arborescentes, arbustivas o rastreras. Presentan tronco bien definido o con ramas desde la base, erectas, extendidas o

postradas. El género se subdivide en dos subgéneros: *Cilindropuntia* y *Platyopuntia* (CONAZA, 1994). El nopal pertenece al subgénero *Platyopuntia*, el cual presenta artículos planos denominados cladodios. Las especies principalmente cultivadas en México son: *O. megacantha*, *O. streptacantha*, *O. albicarpa*, *O. amyclaea*, *O. robusta*, *O. hyptiacantha*, *O. cochenillifera* (sin. *Nopalea cochenillifera*) y *O. ficus indica*, siendo esta última la especie más difundida y de mayor importancia económica (Márquez, *et al.*, 2012).

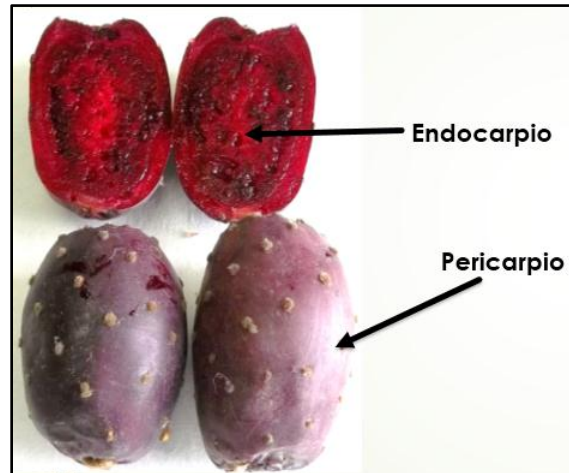
Una característica importante acerca de los nopales es el tipo particular de fotosíntesis que presentan, ya que corresponde al metabolismo del ácido crasuláceo (plantas CAM). Lo cual presenta la apertura nocturna de los estomas que permite la toma de CO<sub>2</sub>, lo que conduce a una acidificación gradual del tallo. Los estomas, en condiciones de déficit hídrico extremo, permanecen cerrados durante el día y la noche, evitando la transpiración y la entrada del CO<sub>2</sub>. En este caso, el agua y el CO<sub>2</sub> producidos por la respiración son utilizados para la fotosíntesis, situación que explica la lenta deshidratación y degradación que sufren los cladodios durante un periodo prolongado de sequía extrema. La interrelación entre la anatomía y la fisiología para la conservación del agua de las plantas CAM es crucial para su éxito ecológico e incrementa su potencialidad agrícola en terrenos áridos y semiáridos (Sáenz, 2006).

El cultivo del nopal tunero se inició en el nororiente del Estado de México como un recurso para el control de la erosión. Ahora es una buena alternativa económica para los productores, una de las actividades más importantes y una de las pocas opciones agrícolas, debido a las condiciones edáficas y climáticas de la zona (Márquez, *et al.*, 2012).

## **2.5 Tuna**

La tuna es un fruto que morfológicamente está constituido por una cáscara gruesa y espinosa (pericarpio) y abundantes semillas distribuidas heterogéneamente en la pulpa (endocarpio) como se muestra en la Figura 1. Es considerado como un alimento con un gran valor nutritivo, ya que aporta vitaminas, proteínas y minerales; es muy jugosa, saludable y presenta excelentes propiedades para la digestión ya que contiene fibra en sus semillas, presenta un sabor exquisito con un índice glucémico bajo y contenido nutrimental excepcional debido a la cantidad de calcio, fósforo, potasio y magnesio (Tomás, *et al.*, 2012).





**Figura 1.** Morfología de la Tuna púrpura variedad 'orejón' (*Opuntia megacantha*).

Este fruto se consume en fresco, contiene altos niveles de agentes antioxidantes tales como ácido ascórbico, compuestos fenólicos y pigmentos, así como altas concentraciones de calcio, magnesio, prolina y taurina, que le confieren características de un alimento funcional (Ochoa y Guerrero, 2010).

La tuna presenta una amplia gama de colores, la coloración del fruto está determinada por la presencia de pigmentos entre los cuales se encuentran las betalaínas y los carotenoides. Los pigmentos pueden estar presentes en la cáscara y en la pulpa de las distintas variedades. Los colores del fruto incluyen el blanco, amarillo, naranja, rojo y púrpura (Figuroa, *et al.*, 2010; Aquino, *et al.*, 2012). En el estado de Hidalgo se cultivan dos tipos de tuna: la llamada “blanca” y la “roja”. La tuna blanca ha sido clasificada como *Opuntia albicarpa* y la tuna roja como *Opuntia megacantha* (Márquez, *et al.*, 2012).

El principal inconveniente de la tuna es la corta estacionalidad de su cosecha, siendo un fruto perecedero que se abarata en las épocas de mayor producción (Ochoa y Guerrero, 2010).

## 2.6 Xoconostle

El xoconostle es el fruto ácido del nopal y se utiliza como ingrediente en la elaboración de alimentos artesanales, sin embargo no se ha aprovechado ampliamente a nivel industrial (Torres, *et al.*, 2014).

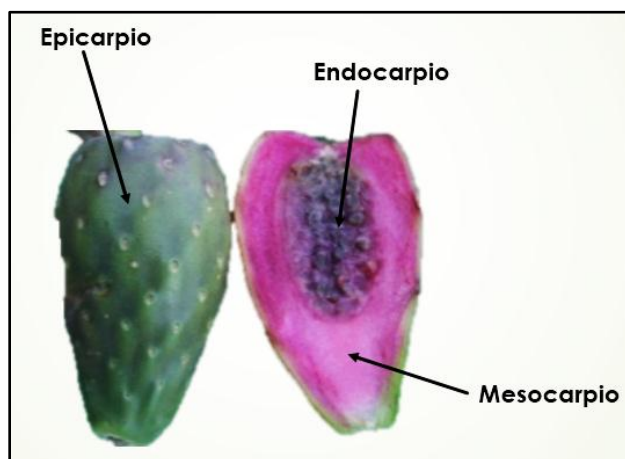
Este fruto se desarrolla principalmente en las zonas áridas y semiáridas, demanda cantidades muy bajas de agua, por sus propiedades nutrimentales era parte de la dieta tradicional de la población, desafortunadamente su consumo disminuyó siendo sustituido por otros productos de alto contenido calórico (García, 2009). El xoconostle es más tolerante a la sequía y a las heladas que el fruto de otro tipo de cactáceas, se adapta bien a los suelos pobres y delgados, propios del altiplano y del semidesierto, y es muy resistente a los daños de las plagas propias del nopal (SAGARPA, 2011).

Entre las propiedades que tiene este fruto son: un alto contenido de vitamina C (ácido ascórbico), calcio, hierro y pectinas en comparación con otros frutos como el plátano, el durazno y la pera, así como un considerable aporte de fibra y pigmentos hidrosolubles característicos como las betalaínas y los compuestos fenólicos los cuales son responsables del color del fruto y la actividad antioxidante (Torres, *et al.*, 2014). La combinación de fenoles solubles, vitamina C y las betalaínas que contiene éste fruto, lo ubica como un fruto rico en antioxidantes que supera a la fresa, mora azul y la cereza (SAGARPA, 2011). Además que, debido a su acidez y a la presencia de sus pigmentos característicos, es capaz de conservarse varios días evitando la contaminación microbiana y el deterioro oxidativo (Torres, *et al.*, 2014).

Los Xoconostles se distinguen por presentar paredes interiores anchas, ácidas, pared exterior delgada, semillas dispuestas en el centro del fruto, con funículos semisecos e insípidos, con la característica particular de que sus frutos permanecen sobre los cladodios durante todo el año o más probablemente por sus bajas tasas de producción de etileno al madurar (Gallegos, *et al.*, 2014)

En cuanto a su morfología (Figura 2) los xoconostles presentan una cáscara o piel (epicarpio) con un color entre rosa-rojo ligero y una succulenta pulpa (mesocarpio) con una coloración entre amarillo-rosa, en el centro se localizan las semillas (endocarpio) de color café, estas se encuentran embebidas formando así un compuesto mucilaginoso de color rojo (Osorio, *et al.*, 2011; Morales, *et al.*, 2014).

La cáscara de los xoconostles aporta un tercio del requerimiento mínimo diario de vitamina C para un adulto, es decir, 60 miligramos. La piel de xoconostle contiene siete veces más antioxidantes que la pulpa (SAGARPA, 2011).



**Figura 2.** Morfología del xoconostle 'Ulapa' (*Opuntia oligacantha*).

## 2.7 Importancia de los frutos de *Opuntia* en la salud

Los frutos de *Opuntia*, además de los nutrientes esenciales y de una serie de micronutrientes tales como minerales, fibras y vitaminas, aportan diversos componentes como metabolitos secundarios de naturaleza fenólica, denominados polifenoles. El consumo de frutas y verduras está asociado al bajo riesgo de incidencias y mortalidad de cáncer así como enfermedad coronaria. Los fenoles, especialmente los flavonoides y las antocianinas, muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, atribuyéndoseles a su vez un efecto benéfico en la prevención de enfermedades; cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas y neurológicas. Poseen actividades anti-inflamatoria, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana y antineoplásica (Kukoski, *et al.*, 2005). Por tanto, un aumento en la ingesta de estos antioxidantes en la dieta puede proteger de enfermedades crónicas. Además, la industria de alimentos incorpora antioxidantes naturales de tejidos vegetales debido a las restricciones legales para usar colorantes sintéticos (Figueroa, *et al.*, 2010).

En los últimos años se han realizado algunos estudios respecto al consumo de tuna, donde se han encontrado efectos benéficos contra diabetes mellitus (DM2). Pimienta, *et al.*, (2008) reportaron que el consumir la cáscara de *O. joconostle* podría ser útil para controlar los niveles de glucosa en suero en individuos con DM2, así como en personas sanas,

ayudando a prevenir las condiciones de la hiperglucemia y la alteración en la concentración de colesterol y triglicéridos.

## **2.8 Color**

El color es uno de los atributos de los alimentos, considerado como un indicador de la calidad y determina con frecuencia su aceptación en el mercado (Azeredo, 2009).

Actualmente son relativamente pocos los alimentos industrializados que no contienen colorantes. Debido a que el color es considerado como un atributo que aumenta el atractivo de los alimentos y está vinculado con su calidad. A raíz de la creciente preocupación por los posibles efectos tóxicos de los colorantes sintéticos, se proponen como posibles reemplazantes a los pigmentos de origen natural, que son percibidos por los consumidores como inocuos y saludables (González, *et al.*, 2014).

### **2.8.1 Colorantes**

La FDA es un organismo encargado de la Administración de Drogas y Alimentos en Estados Unidos, define como aditivo colorante a cualquier pigmento o sustancia fabricada u obtenida de vegetales, animales o minerales capaces de colorear alimentos, drogas, cosméticos o alguna parte del cuerpo humano. Existen colorantes artificiales que son producidos a partir de una síntesis química y los colorantes naturales denominados “pigmentos” que son extraídos de fuentes naturales.

Los colorantes se utilizan en la elaboración de alimentos por determinadas razones que pueden ser una o más de las siguientes: 1) Pueden restaurar el color original del alimento, cuando éste se haya destruido como efecto de algún proceso o condiciones de almacén a las que se someta; 2) Se emplean para corregir variaciones naturales de color, para asegurar la uniformidad en apariencia y por ende la aceptabilidad. Sin embargo enmascarar unidades de inferior calidad, es una práctica inaceptable; 3) Se puede intensificar el color propio del alimento cuando éste sea débil, poco uniforme y deje de ser atractivo a los consumidores; 4) Se emplea para brindar al alimento un color que lo identifique y le dé una apariencia atractiva para el consumidor; 5) Al agregar colorantes a los alimentos se busca que éstos ayuden a mejorar la aceptabilidad, otorgando color definido, uniforme y constante para un mismo producto, aún en distintos lotes de fabricación y épocas del año (Parra, 2004).

Los colorantes artificiales son ampliamente utilizados debido a que su poder colorante es más intenso que el de los naturales, así, se requieren cantidades menores para lograr el mismo efecto de color. Además, estos colorantes son más estables, proveen mejor uniformidad de color y se mezclan más fácilmente, resultando en una amplia gama de tonalidades. Los colorantes artificiales, generalmente no imparten sabores extraños a los alimentos que se agregan, mientras que los que se derivan de otros alimentos, pueden producir este efecto indeseado (Parra, 2004; Sánchez, 2013). Sin embargo, el consumo de este tipo de sustancias se ha visto relacionado con toxicidad en órganos humanos.

Los pigmentos de origen natural, se clasifican en clorofilas, carotenoides, fenoles y betalaínas, estos últimos son alcaloides derivados de la tirosina que pueden ser de dos tipos: las betacianinas que son de color rojo-violeta y las betaxantinas con tonalidades amarillas-naranjas, ambas con el cromóforo común del ácido betalámico (González, *et al.*, 2014). El uso de estos pigmentos requiere del conocimiento químico de sus moléculas y de su estabilidad, con el fin de optimizar su funcionalidad en las condiciones de procesamiento, empaque y distribución. La industria requiere de tecnologías que protejan a los pigmentos naturales del ambiente, debido a su inestabilidad con la presencia de luz, aire, humedad y altas temperaturas. Actualmente, una alternativa es la tecnología de la microencapsulación (Parra, 2010).

### **2.9 Compuestos Bioactivos**

Los compuestos bioactivos se definen como aquellos compuestos químicos que ejercen un efecto benéfico para alguna función corporal del individuo, produciendo una mejora en su salud y bienestar o reduciendo un riesgo de enfermedad. Son compuestos que exhiben propiedades farmacológicas; para el caso específico de los vegetales comestibles se les denomina fitoquímicos. Recientes trabajos de investigación científica han permitido clasificar a los compuestos bioactivos presentes en los alimentos de origen vegetal, en grupos según las funciones de protección biológica que ejercen y sus características físicas y químicas (Sainz, 2006).

Los alimentos están compuestos por un gran número de sustancias que se clasifican principalmente en tres tipos: nutrientes, compuestos indeseables o antinutricionales y compuestos bioactivos. Los alimentos funcionales han tomado gran importancia en la

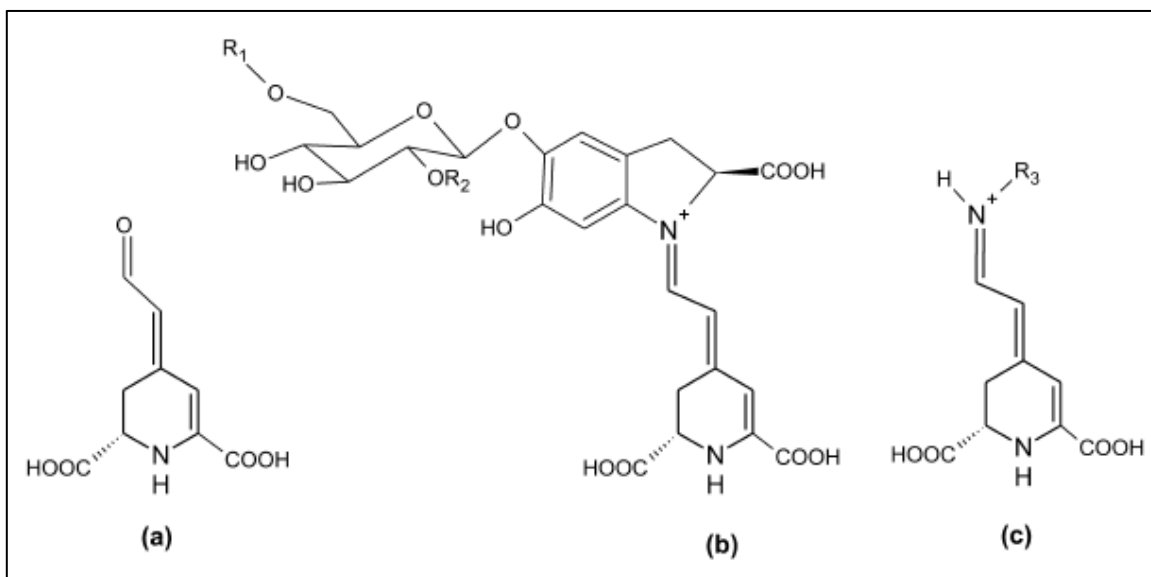
alimentación actual, pues además de nutrir, aportan algunos compuestos bioactivos. Para que un alimento sea declarado como funcional, por sus propiedades nutricionales y saludables en función de sus nutrientes, debe comprobarse con una evidencia científica válida y suficiente para justificar las declaraciones (Urango, *et al.*, 2008). Algunos de los compuestos bioactivos que se les da una mayor importancia son los polifenoles y antocianinas, los cuales tienen efectos benéficos para la salud debido a su elevada capacidad antioxidante (Gorena, *et al.*, 2010).

Existen evidencias de que la lista de compuestos bioactivos presentes en la dieta tiene un rol importante en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles, como obesidad, hipertensión, enfermedades cardio cerebro vasculares y cáncer (Gorena, *et al.*, 2010).

Por lo tanto se ha observado un creciente interés en el estudio de frutas y hortalizas que aporten compuestos bioactivos antioxidantes, con el fin de potenciar su consumo debido a su efecto positivo en la prevención de ciertas enfermedades crónicas (Gorena, *et al.*, 2010).

### **2.10 Betalaínas**

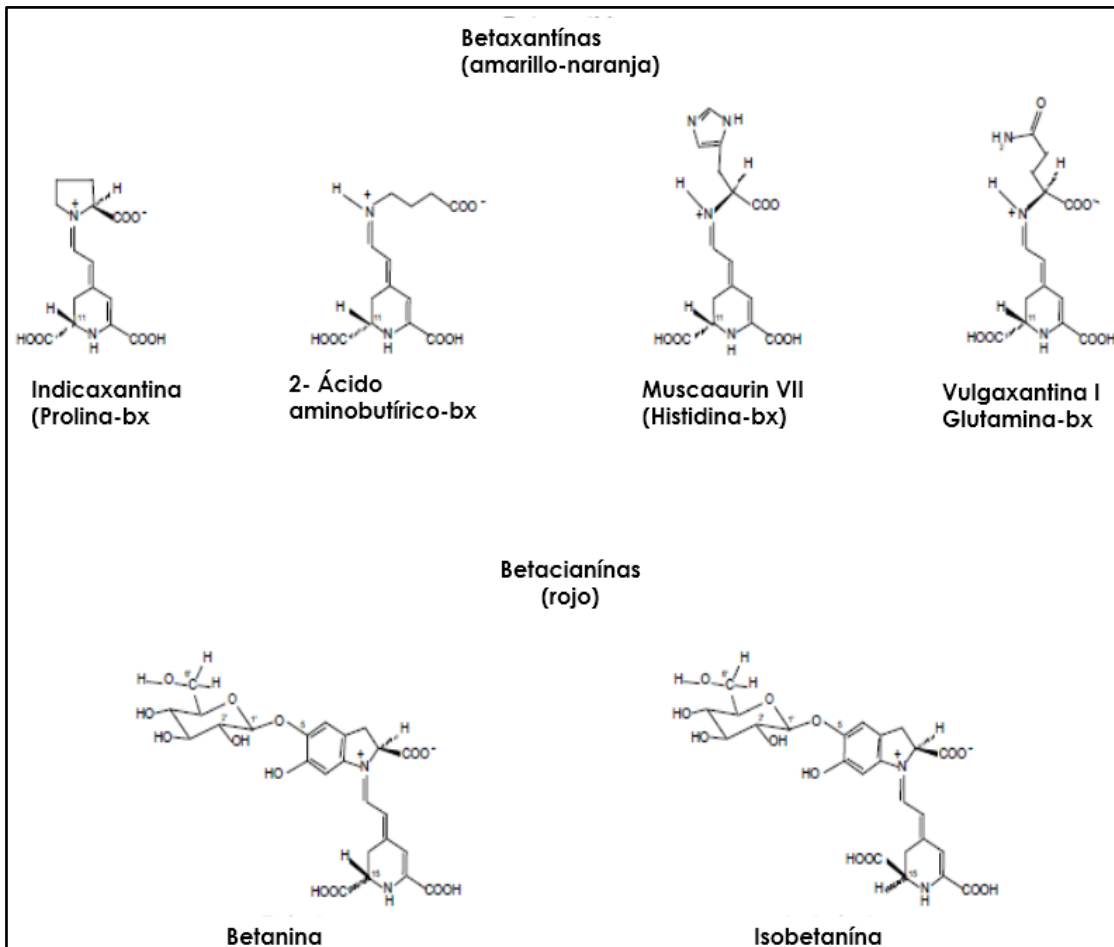
Las betalaínas son pigmentos solubles en agua derivadas del ácido betalámico e incluyen a las betacianinas de color rojo-violeta y las betaxantinas de color amarillo (Figura 3); por lo tanto, el color del fruto depende de la concentración y el tipo de betalaínas que se encuentren presentes (Figura 4). Estos compuestos presentan altos coeficientes de extinción molar con un poder de tinción comparable al de los colorantes sintéticos (Viloria, *et al.*, 2002 y Aquino, *et al.*, 2012).



**Figura 3.** Estructura general de ácido betalámico (a), betacianina (b) y betaxantina (c), Betanina: R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H. amina o grupo amino ácido (Azeredo, 2009)

Las betalainas son considerados fitoquímicos por su potente actividad antioxidante, la inducción de la quinona reductasa, potente enzima de detoxificación en la quimio prevención del cáncer y su actividad antiproliferativa de células del melanoma maligno. Sin embargo, la estabilidad del color de estas moléculas está restringida por varios factores como la temperatura, pH, actividad acuosa y la luz (González, *et al.*, 2014).

La importancia biológica de estos compuestos es variada y se ha determinado que pueden presentar actividad antiviral y antibacterial, pueden ser marcadores taxonómicos y filogenéticos, pueden estar involucrados en el papel de atracción de dispersores de semillas y/o polinizadores, además de ser pigmentos naturales de alimentos. Sin embargo por ser moléculas de gran sensibilidad química es limitado su aprovechamiento integral en la industria alimentaria, ya que amerita controles enzimáticos eficientes, procedimientos adecuados de extracción y utilización de atmósferas controladas (Viloria, *et al.*, 2002).



**Figura 4.** Principales estructuras de betalaínas en el nopal (Moffhammer, 2006)

## 2.11 Capacidad antioxidante

Los compuestos antioxidantes se pueden definir como sustancias que, presentes en bajas concentraciones comparadas con el sustrato oxidable, previenen o retardan significativamente la oxidación de ese sustrato (Gorena, *et al.*, 2010).

La importancia del consumo de compuestos antioxidantes se debe a que en el organismo humano se puede crear, en determinadas circunstancias, un desequilibrio entre los compuestos oxidantes (radicales libres) que se producen por el propio metabolismo y los sistemas que existen para neutralizarlos (Gorena, *et al.*, 2010).



Gorena, *et al.*, (2010) describen que el aumento de compuestos antioxidantes en el organismo mediante su aporte desde la dieta, puede ser una medida promotora para la salud, sin embargo, los efectos beneficiosos dependen de la cantidad y biodisponibilidad del compuesto.

Con base a las reacciones químicas, la gran mayoría de los ensayos para determinar la capacidad antioxidante pueden ser divididos en dos categorías: 1) Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT); 2) Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrones (ET).

Los ensayos basados en la transferencia de electrones (ET) involucran una reacción redox con el oxidante como un indicador del punto final de reacción. La mayoría de los ensayos basados en HAT monitorean una reacción cinética competitiva, generalmente están compuestos de un generador de radical libre sintético, una prueba molecular oxidable y un antioxidante. Los ensayos basados en HAT y ET fueron desarrollados para medir la capacidad de atrapar radicales libres, en lugar de la capacidad preventiva antioxidante de una muestra (Tovar, 2013).

En la Tabla 1, se muestran los distintos ensayos utilizados para determinar la capacidad antioxidante mediante la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) o bien por transferencia de electrones (ET).

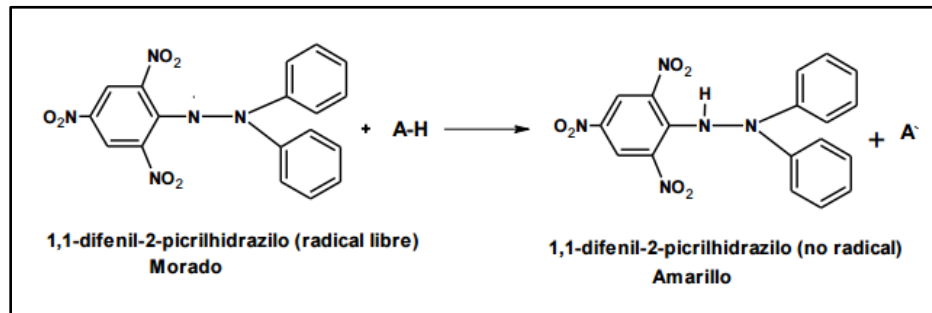
**Tabla 1.** Clasificación de los distintos ensayos utilizados para determinar la capacidad antioxidante según su modo de reacción ET o HAT (Tovar, 2013).

ENSAYO	CATEGORIA
Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonico (ABTS·+)	
Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET) 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH·)	Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)
Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP)	
N,N- dimetil-p-fenilendiamina (DMPD)	
Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)	
Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC)	Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)
Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP)	
Inhibición de la oxidación del ácido linoleico	
Inhibición de la oxidación de los lípido de baja densidad (LDL) L	

### 2.12 Ensayo de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

Este método fue propuesto por Blois (1958) en el cual se demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH· para aceptar un átomo de hidrógeno (H·) proveniente de una molécula de cisteína. La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable, debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría

de los radicales libres. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH· reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno como se muestra en la figura 5, el color violeta se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes. Después de aproximadamente tres décadas este ensayo comenzó a utilizarse rutinariamente para la caracterización de las propiedades antioxidantes. El procedimiento original para el ensayo DPPH· ha sido adoptado por muchos laboratorios y a pesar de que existen modificaciones a conveniencia, una revisión detallada de la literatura ha revelado que la mayoría de los estudios están basados en un tiempo de reacción de 20-30 min en vez de un tiempo de reacción total de 120 minutos requerido para alcanzar el estado estacionario y completar la reacción redox (Tovar, 2013).

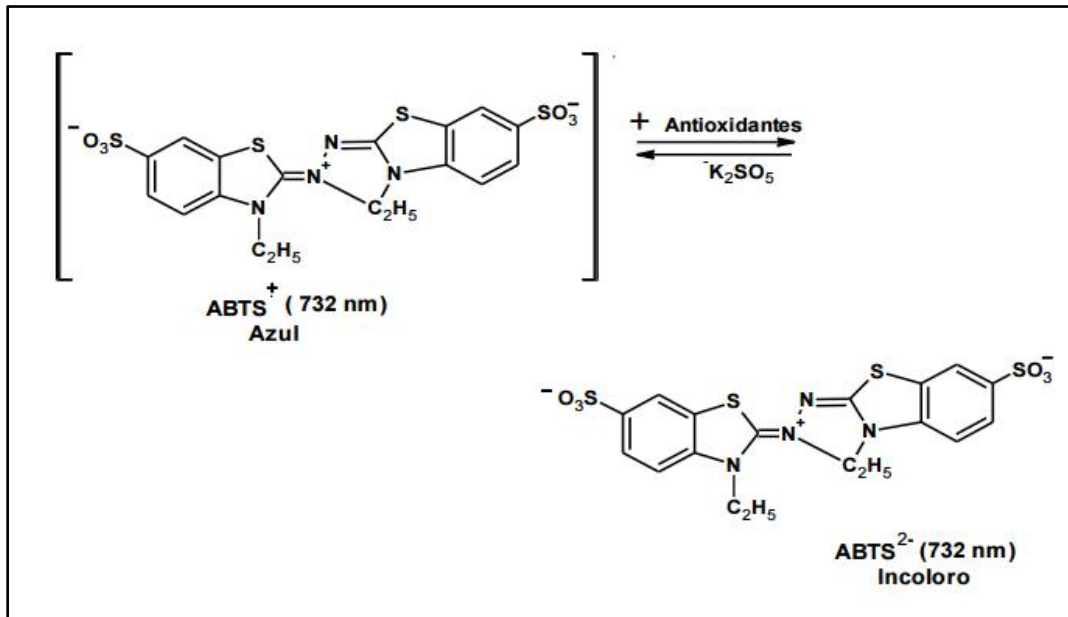


*Figura 5. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.*

### 2.13 Ensayo de ABTS (Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6- sulfónico)

La generación del radical ABTS·+ (Figura 6) constituye la base de uno de los métodos espectrofotométricos que han sido aplicados para medir la actividad antioxidante total de soluciones o sustancias puras y mezclas acuosas. El ensayo original de ABTS·+ estaba basado en la activación de la metilmiloglobina con peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS para producir un radical catión, en presencia o ausencia de antioxidantes. Este fue criticado debido a que la reacción rápida de los antioxidantes, contribuye a la reducción del radical ferrilmiloglobina. Un formato más apropiado para el ensayo consiste en la técnica de

decoloración, en la cual el radical es generado directamente en una forma estable antes de la reacción con los antioxidantes (Re *et al.*, 1998).

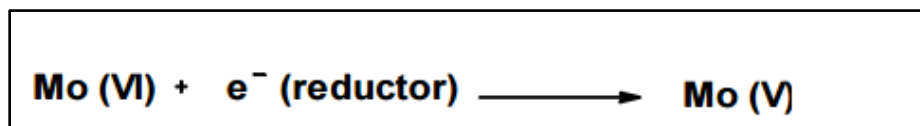


**Figura 6.** Estructura del  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  antes y después de la reacción con el antioxidante

La técnica mejorada para la generación del radical catión  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , implica la producción directa del cromóforo  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  verde-azul a través de la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ). Este presenta tres máximos de absorción a las longitudes de onda de 645 nm, 734 nm y 815 nm. La adición de los antioxidantes al radical pre-formado lo reduce a ABTS. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  está determinado en función de la concentración y el tiempo; así como del valor correspondiente usando el Trolox como estándar, bajo las mismas condiciones (Tovar, 2013).

## 2.14 Fenoles Totales

El ensayo de Folin-Ciocalteu (F-C) es un método comúnmente utilizado en el área de agroquímica e industrias alimenticias, por su simplicidad, por la disponibilidad comercial del reactivo y por ser un procedimiento ya estandarizado (Singleton *et al.*, 1998). Inicialmente, fue aplicado al análisis de 19 proteínas tomando como ventaja la actividad del reactivo frente al residuo de proteína, tirosina (que contiene un grupo fenol). Muchos años después este ensayo se extendió al análisis de fenoles totales en vino y desde entonces se le ha encontrado muchas aplicaciones. El reactivo de F-C utiliza un mecanismo de reacción de oxidación/reducción, que no es específico para fenoles. El ensayo de F-C mide la capacidad para reducir el reactivo de ácido fosfomolibdico/fosfotungstico a un complejo azul que es monitoreado espectrofotométricamente, donde el molibdeno es reducido en el complejo y se da la reacción de transferencia de electrones entre el Mo (VI) y el reductor como se muestra en la figura 7 (Huang *et al.*, 2005). El método implica la oxidación de fenoles en solución alcalina por el heteropolianión molibdotungstosfosfórico amarillo y la medición colorimétrica del molibdotungstosfosfato azul resultante. Este complejo azul tiene su máxima absorción dependiendo de su composición fenólica, además del pH de las soluciones implicadas (Tovar 2013).

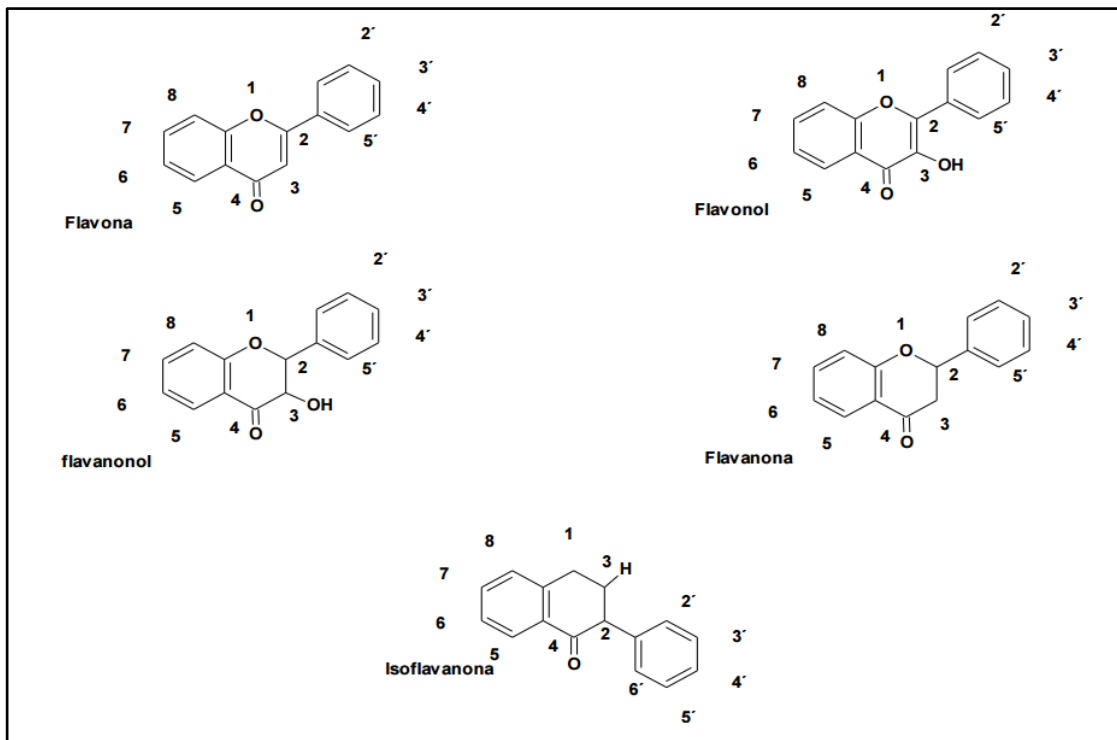


*Figura 7. Reacción de transferencia de electrones con el reactivo de Folin Ciocalteu*

En el ensayo F-C original, se usa el buffer de carbonato para ajustar el pH y el punto final de reacción se alcanza a los 120 min aproximadamente a temperatura ambiente. Aunque es un tiempo demasiado extenso y dificulta la implementación de un análisis de rutina, aún es utilizado por algunos investigadores (Tovar, 2013).

## 2.15 Flavonoides

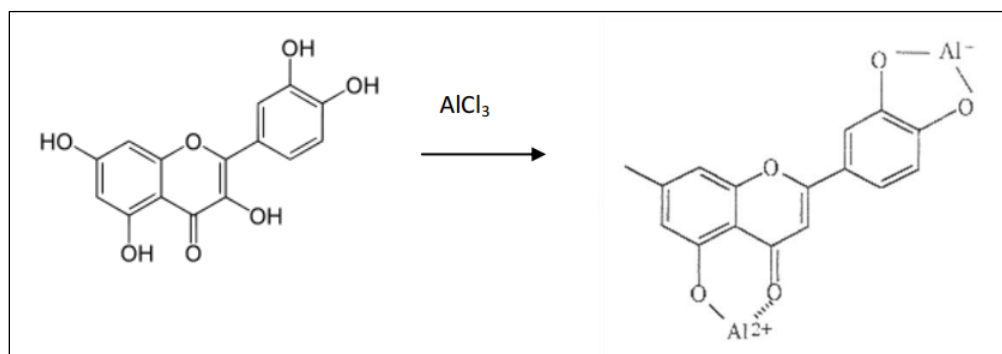
Los polifenoles, las antocianinas y los flavonoides son constituyentes de las plantas muy valiosos en la captura de radicales libres, debido a la gran cantidad de grupos hidroxilos presentes en su estructura (Kumarappan *et al.*, 2012). Los flavonoides pertenecen a la mayor clase de compuestos polifenólicos ampliamente distribuidos en las plantas y entre ellos se pueden encontrar flavonas, flavonoles, isoflavonas, flavonoles, catequinas, flavononas (Heim *et al.*, 2001), sus estructuras se muestran en la Figura 8. Aparecen frecuentemente en forma de O-glicosidos, conteniendo azúcares en su estructura y en forma de agliconas en caso de no presentar azúcares en su estructura (Spácil *et al.*, 2008).



**Figura 8.** Estructuras químicas de los diferentes flavonoides (Samprieto *et al.*, 2009).

Recientemente, se ha propuesto el uso de métodos espectrofotométricos para la determinación de flavonoides totales en las plantas, utilizando  $AlCl_3$ . En 1992 desarrollaron un método para determinar el contenido de flavonoides en una planta mediante la adaptación del método descrito por Dowd en 1959 para quercetina, que se basa en el uso de cloruro de aluminio. El catión de aluminio forma complejos estables con flavonoides en

metanol (Figura 9), que se produce en el análisis espectrofotométrico un desplazamiento hacia longitudes de onda mayores y una intensificación de la absorción. Así, es posible determinar la cantidad de flavonoides, evitando la interferencia de otras sustancias fenólicas, especialmente ácidos fenólicos, que invariablemente acompañan a los flavonoides en los tejidos vegetales (Amaya y Portillo., 2013).



**Figura 9.** Complejo Flavonoide- Aluminio (Amaya y Portillo., 2013)

## 2.16 Microencapsulación

La microencapsulación es definida como una tecnología de empaquetamiento de materiales sólidos, líquidos o gaseosos. Contribuye al incremento de la vida útil y a una liberación controlada del encapsulado. Consiste en la obtención de micropartículas conformadas por una membrana polimérica porosa que contiene a la sustancia activa. El material o las mezclas de los materiales que se van a microencapsular pueden ser cubiertos o atrapados dentro de otro material o sistema. Una microcápsula consiste de una membrana semi-permeable, esférica, delgada y fuerte alrededor de un centro sólido/líquido, con un intervalo que va desde sub-micra hasta varios milímetros de tamaño (Parra, 2010 y Fang, 2010).

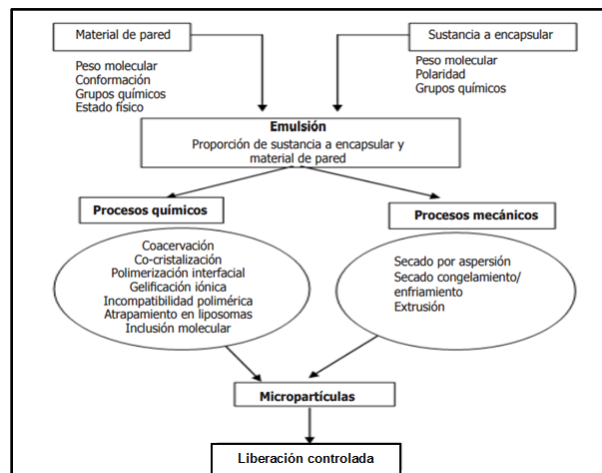
En la industria de los alimentos las microcápsulas, ayudan a que los materiales microencapsulados resistan las condiciones de procesamiento y empaque mejorando sabor, aroma, estabilidad, valor nutritivo y apariencia de sus productos (Parra, 2010).

Algunas de las ventajas de la microencapsulación son: 1) Proteger el material activo de la degradación producida por el medio ambiente (calor, aire, luz, humedad), entre otros; 2) El compuesto microencapsulado puede ser liberado gradualmente del material que lo ha

atrapado en un punto determinado; 3) Las características físicas del material original pueden ser modificadas y hacer más fácil su manejo (un material líquido convertido a polvo), la higroscopicidad puede ser reducida, la densidad se modifica y el material contenido puede ser distribuido de manera uniforme en una muestra; 4) El sabor y olor del material puede ser enmascarado; 5) Se puede emplear para separar componentes, con el fin de que estos no reaccionen, 6) Con un material encapsulante adecuado se puede brindar estabilidad a los principios activos inestables; 7) Se puede llevar a cabo la transformación de líquidos a sólidos (Parra, 2010; Fang, 2010 y Desai y Park 2005).

### 2.17 Técnicas de encapsulación

Las técnicas utilizadas para la encapsulación pueden ser químicas o mecánicas (Figura 10), por mencionar algunas, se incluyen secado por aspersion , liofilización, extrusión, recubrimiento en lecho fluidizado, coacervación, atrapamiento de liposomas, la formación de complejos de inclusión, cocrystalización y la emulsión, etc. La selección del método de encapsulación se basa en los costos, en las propiedades del material a encapsular, en el tamaño deseado de las micropartículas, en la aplicación y en el mecanismo de liberación (Pedroza, 2002; Fang, 2010).



**Figura 10.** Esquema de los diferentes procesos de encapsulación (Pedroza, 2002).

El secado por aspersion es el método de encapsulación más utilizado en la industria de alimentos para microencapsular compuestos bioactivos, de forma económica, simple y continua (Desai y Park, 2005).

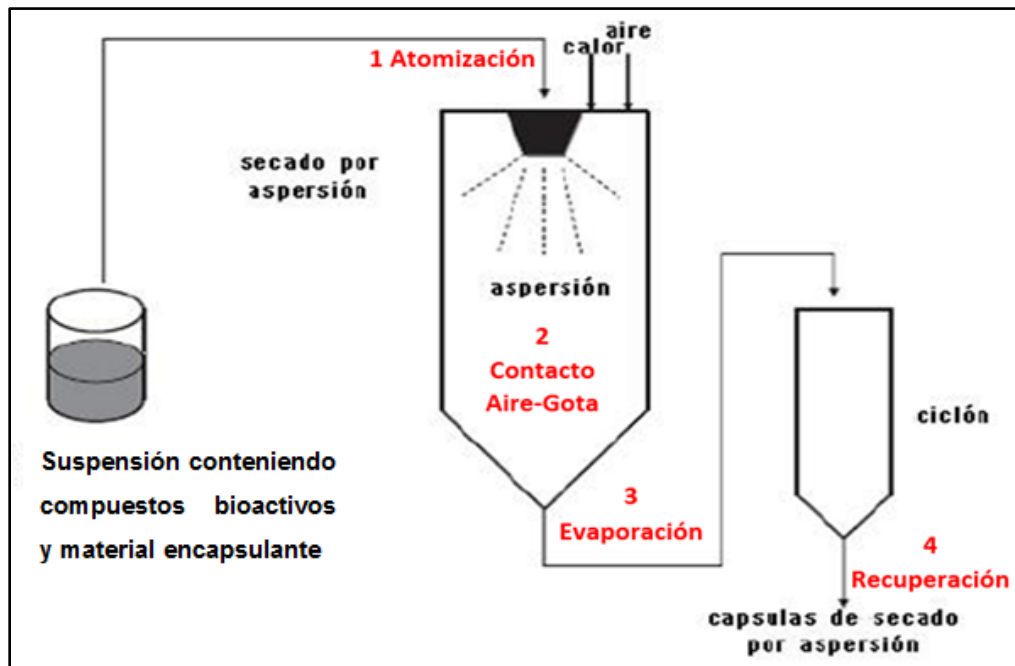


### 2.18 Secado por aspersión

El proceso de secado por aspersión es una técnica utilizada en la industria de alimentos desde la década de 1950, es en sí un método de deshidratación, pero se considera también de microencapsulación ya que se pueden producir partículas que atrapan el material a cubrir. Por definición, el microencapsulado mediante secado por aspersión corresponde a la transformación de un fluido en un material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado en caliente. La distribución del tamaño de las partículas obtenidas por este método es en general de 10 a 100  $\mu\text{m}$ , aunque ello depende de las condiciones del proceso (Pedroza, 2002., Parra, 2010; Fang, 2010).

El proceso consiste en la preparación de la emulsión o suspensión, de una manera sencilla consiste en homogenizar el material del núcleo con el agente encapsulante. Se coloca en el secador por aspersión, donde se llevará a cabo la atomización de la muestra y la deshidratación de las partículas debido a las altas temperaturas empleadas. La adecuada selección del atomizador y el agente encapsulante, son factores críticos. Una de las grandes ventajas de este proceso, además de su simplicidad, es que es apropiado para materiales sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto variando entre 5 y 30 segundos (Pedroza, 2002., Parra, 2010; Fang, 2010).

El proceso de secado por aspersión (Figura 11) conlleva cuatro pasos principales: 1) La atomización, este paso consiste en la formación de una nube de tamaño de partícula pequeño; 2) El contacto aire-gota, este momento ocurre una vez que la muestra está siendo aspersada en la cámara de secado y se pone en contacto con el flujo de aire; 3) La evaporación, se basa en el periodo de velocidad decreciente y velocidad constante de secado, donde se elimina la mayor parte de agua brindando un producto sólido; 4) La recuperación, donde se lleva a cabo la recolección del producto sólido o bien las microcápsulas obtenidas si se ha empleado un material encapsulante en la muestra inicial (Ángeles, 2009).



*Figura 11. Proceso de Secado por aspersión (Morales, 2012).*

### 2.19 Material encapsulante

Los materiales formadores de pared se denominan material encapsulante, material de revestimiento, material de embalaje, cápsula, membrana, portador o concha y estos pueden ser azúcares, gomas, proteínas, polisacáridos naturales y modificados, lípidos y polímeros sintéticos; estos pueden ser utilizados en su forma pura o mezclados (Fang, 2010).

Los materiales encapsulantes más utilizados para el método de secado por aspersión han sido: Carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, ciclodextrinas, carboximetilcelulosa y derivados); gomas (arábiga, mezquite, alginato de sodio); lípidos (ceras, parafinas, grasas) y proteínas (gelatina, proteína de soya, caseinatos, suero de leche, zeína) (Pedroza, 2002).

Se ha estudiado una gran variedad de materiales encapsulantes para aplicaciones en alimentos, sin embargo, es importante considerar características como la solubilidad en agua, permeabilidad, facilidad de aplicación, baja viscosidad en soluciones concentradas y naturaleza hidrofóbica o hidrofílica de los mismos. Todos estos factores influirán en las características del producto final (Vergara, 2013).

### **2.20 Goma de Mezquite (*Prosopis laevigata*)**

Las gomas son generalmente insípidas, pero pueden tener un efecto pronunciado en el gusto y sabor de alimentos, son solubles, de baja viscosidad, poseen características de emulsificación y son muy versátiles para la mayoría de los métodos de encapsulación (Parra, 2010).

Siendo la goma de Mezquite (GM) un polisacárido natural exudado de la corteza del árbol del Mezquite (*Prosopis* spp.), se dice que esta goma es comparada y en ocasiones superior, en ciertas condiciones, a la goma Arábiga (GA) (*Acacia senegal*). En cuanto a su estructura la goma de Mezquite es un polisacárido muy ramificado, de la familia de las galactomananas, presenta una cadena central de unidades de D-galactosa, enlazadas por uniones  $\beta$  (1-3) y  $\beta$  (1-6) a la cual se le unen cadenas laterales en el O (6) de algunos de los residuos de D-galactosa, además presenta una fracción proteica. La GM difiere de la GA en la proporción entre los residuos, así como en el contenido proteico, siendo 2.0 a 4.8% para la GM, y de 1.0 a 2.0% para GA (López-Franco, *et al.*, 2006, Román-Guerrero., *et al.*, 2008).

### 3 JUSTIFICACIÓN

La industria alimentaria utiliza miles de toneladas de colorantes al año, debido a que el color es uno de los atributos más importantes de apariencia de los alimentos y se considera como un indicador de calidad y aceptabilidad, sin embargo, el empleo de colorantes rojos artificiales como aditivos en la industria alimentaria se ha restringido cada vez más debido a los posibles efectos adversos que provocan a la salud humana. Por tal motivo, actualmente existe un creciente interés por encontrar fuentes de pigmentos naturales con aplicaciones potenciales en alimentos, tales como las betalaínas. La fuente comercial actual de betalaínas es el betabel, sin embargo, el betabel tiene ciertas desventajas tales como su aroma residual a tierra impartido por los compuestos geosmina y 3-s-butil-2-metoxipirazina, además de sus altos niveles de nitratos. Por lo tanto, la tuna púrpura 'Orejón' (*Opuntia megacantha*) y xoconostle 'Ulapa' (*Opuntia oligacantha* C. F. Först) constituyen una alternativa muy atractiva para ser utilizada como fuente de betalaínas para la producción de colorantes alimentarios. Además es bien sabido que los compuestos que confieren color a la tuna y xoconostle también proporcionan protección contra enfermedades relacionadas con la oxidación celular debido a su actividad antioxidante. Para proteger su estabilidad, se utilizará la técnica de secado por aspersión, la cual es una técnica de microencapsulación económica, empleando goma de mezquite como material de pared debido a sus propiedades fisicoquímicas en las que se incluye el no aumentar en gran medida la viscosidad de sus soluciones aún a altas concentraciones, con lo que se incrementa la cantidad de material de pared, además de su color oscuro, con lo que se protegen los colorantes de la luz. Por lo tanto las microcápsulas obtenidas con los extractos acuosos de cáscara y/o pulpa de los frutos de *Opuntia* spp. empleados tendrían doble aplicación tecnológica en la industria alimentaria, no sólo como colorantes sino también como antioxidantes.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

Obtener microcápsulas mediante secado por aspersión que protejan a los pigmentos obtenidos de la cáscara y/o de la pulpa de tuna púrpura variedad 'Orejón' y xoconostle variedad 'Ulapa' contra su degradación usando goma de mezquite como material de pared.

### 4.2 Objetivos Específicos

- Obtener extractos acuosos de la pulpa y de la cáscara de los frutos de *Opuntia* spp. y caracterizarlos fisicoquímicamente.
- Microencapsular los extractos acuosos obtenidos de la cáscara, de la pulpa, y sus mezclas, mediante secado por aspersión .
- Evaluar el rendimiento de encapsulación y la estabilidad de las microcápsulas obtenidas de los tratamientos más adecuados.
- Comprobar que las microcápsulas obtenidas mediante secado por aspersión protegieron a los pigmentos contra su degradación.

### 4.3 Hipótesis

Los frutos de *Opuntia megacantha* variedad 'Orejón' y *Opuntia oligacantha* C. F. Först variedad 'Ulapa' pueden ser aprovechados para producir pigmentos naturales extraídos de su cáscara y/o de su pulpa y microencapsulados mediante secado por aspersión , empleando goma de mezquite como material de pared, obteniendo buenos rendimientos de microencapsulación y una buena estabilidad de los pigmentos microencapsulados.

## 5 MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Material vegetal

Se utilizaron frutos de tuna púrpura variedad 'Orejón' (*Opuntia megacantha*) y frutos de xoconostle variedad 'Ulapa' (*Opuntia oligacantha* C. F. Först).

La tuna púrpura variedad 'Orejón' se obtuvo del Banco de Germoplasma del Centro Regional Universitario del Centro Norte (CRUCEN) en Zacatecas, México, de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH). Las coordenadas geográficas del sitio experimental en campo son: 22° 44' 49.6'' latitud norte y 102° 46' 28.2'' longitud oeste; y una altitud de 2,296 msnm. El clima característico de la región se clasifica como BS1kw(w) y corresponde a un clima seco, el menos seco de los BS, con una temperatura media anual que oscila entre 12 y 18°C y una precipitación pluvial que ocurre de junio a agosto (García, 2004).

Las tunas se cosecharon en las primeras horas del día, con un índice de madurez comercial (completamente coloreado), y con ausencia de daños por plagas y/o enfermedades. Se utilizó un muestreo aleatorio. Una vez cosechados los frutos, se refrigeraron a 4 °C hasta la preparación de las muestras.

El xoconostle variedad 'Ulapa' (*Opuntia oligacantha* C. F. Först) se obtuvo de Ulapa de Melchor Ocampo, municipio de Tetepango, estado de Hidalgo. Las coordenadas geográficas del sitio experimental en campo son: 20° 08' 33'' latitud norte y 99° 10' 04'' longitud oeste; y una altitud de 2040 metros sobre el nivel del mar. La región presenta generalmente un clima templado árido, registra una temperatura media anual de 17°C, una precipitación pluvial de 900 milímetros por año, y el período de lluvias es de mayo a septiembre (Pavon, 2009). Se utilizará un muestreo aleatorio. Los xoconostles se cosecharon en las primeras horas del día, con base al índice de madurez; es decir, teniendo como característica indispensable que presenten tonalidades púrpuras y con ausencia de daños por plagas y/o enfermedades. Una vez cosechados los frutos, se refrigeraron a 4 °C hasta la preparación de las muestras. Los análisis se llevaron a cabo en los laboratorios de Tecnología Postcosecha, Taller de Fermentaciones, el Laboratorio Multidisciplinario y el Laboratorio de Aprovechamiento Agroalimentario Integral del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp) de la Universidad Autónoma del estado de Hidalgo.

## 5.2 Reactivos

Para la determinación de Flavonoides se utilizó tricloruro de aluminio adquirido de Fermont (Productos Químicos Monterrey, Monterrey, México), Alcohol metílico adquirido de Química Meyer (Química Suastes, S.A. de C.V., D.F., México).

Para la determinación de fenoles totales se utilizó Alcohol metílico adquirido de Química Meyer (Química Suastes, S.A. de C.V., D.F., México), Reactivo de Folin adquirido de Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich México, Edo. De México, México), Carbonato de sodio adquirido de J.T. Baker (Avantor Performance Materials S.A. de C.V., Ecatepec, Edo. De México) y ácido gálico adquirido de Fermont (Productos Químicos Monterrey, Monterrey, México).

Para la determinación de Betalaínas se utilizó Alcohol metílico adquirido de Química Meyer (Química Suastes, S.A. de C.V., D.F., México) y agua desionizada.

Para la determinación de actividad antioxidante por ABTS se utilizó Alcohol etílico adquirido de Química Meyer (Química Suastes, S.A. de C.V., D.F., México), sal 2,2'-Azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) de di-amonio (ABTS), ácido gálico adquirido de Fermont (Productos Químicos Monterrey, Monterrey, México) y Persulfato de potasio adquiridos de Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich México, Toluca, México).

Para la determinación actividad antioxidante por DPPH se utilizó Alcohol metílico adquirido de Química Meyer (Química Suastes, S.A. de C.V., D.F., México), 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y ácido gálico adquirido de Fermont (Productos Químicos Monterrey, Monterrey, México).

## 5.3 ETAPA I. Preparación de las muestras y análisis de extractos

### 5.3.1 *Obtención de extractos acuosos de Opuntia spp.*

Las tunas fueron cosechadas en su estado de madurez comercial, se desespitaron, se limpiaron y se eliminó la parte basal y la cicatriz estilar. Después se separó manualmente el endocarpio (pulpa y semillas) del pericarpio (cáscara). La pulpa se sometió a un prensado manual utilizando manta de cielo para separar las semillas. Se determinó la concentración de sólidos solubles totales (°Brix) en la pulpa utilizando un refractómetro digital ATAGO PR-101. Posteriormente la pulpa se maceró en agua hasta decolorarse para obtener el

extracto acuoso. Los extractos de pulpa se recolectaron en recipientes oscuros con el fin de protegerlos de la luz y se almacenaron a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  en un ultracongelador (Thermo Scientific Forma 700, E.E.U.U.) hasta su utilización.

Los xoconostles fueron cosechados en su estado de madurez comercial, se desespitaron, se limpiaron y se eliminó la parte basal y la cicatriz estilar. Después se separó manualmente el endocarpio (semillas y mucílago) del epicarpio (cáscara) y mesocarpio (pulpa). La pulpa se sometió a un prensado manual, y la cáscara se homogenizó mediante un molino de cuchillas (Retsch GRINDOMIX GM 300, Alemania). Se determinó la concentración de sólidos solubles totales ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) tanto en la pulpa como en la cáscara utilizando un refractómetro digital (ATAGO PR-101, Japón). Posteriormente la pulpa y la cáscara se maceraron por separado en agua el tiempo necesario y las veces necesarias hasta decolorarse para obtener el extracto acuoso. Los extractos de pulpa y de cáscara se recolectaron por separado en recipientes oscuros con el fin de protegerlos de la luz y se almacenaron a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  en un ultracongelador (Thermo Scientific Forma 700, E.E.U.U.) hasta su utilización.

### 5.3.2 Reducción de tamaño de partícula de la cáscara de *Opuntia spp.*

El pericarpio (cáscara) de la tuna y el epicarpio (cáscara) de los xoconostles fueron secados empleando una liofilizadora (Labconco, Freezone 6, E.E.U.U.). Posteriormente fueron triturados en un molino de cuchillas Retsch (Modelo GM 300, Alemania). El polvo obtenido se tamizó empleando una malla No. 140, como se muestra en la figura 12, (U.S.A. Standard Test Sieve ASTM E-11 No. 140, equivalente a 106 micrómetros, S/N 01399967).



**Figura 12.** Reducción de tamaño de partícula de la cáscara de tuna y xoconostle.

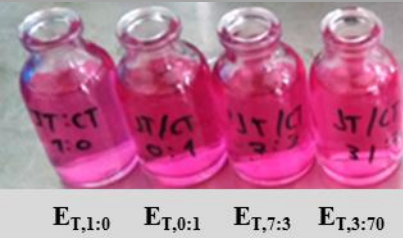



#### 5.4 Análisis realizados a los extractos

Los extractos de pulpa y cáscara de los frutos de *Opuntia* spp. fueron mezclados en diferentes proporciones volumen/volumen, y codificados como E<sub>A,B:C</sub> donde E denota al extracto, el subíndice A denota el tipo de fruto (T=Tuna o X=Xoconostle), y el subíndice B:C es la proporción de extracto de pulpa: extracto de cáscara en la mezcla, resultando las siguientes formulaciones: E<sub>T,1:0</sub>, E<sub>T,0:1</sub>, E<sub>T,7:3</sub>, E<sub>T,3:7</sub>, E<sub>X,1:0</sub>, E<sub>X,0:1</sub>, E<sub>X,7:3</sub> y E<sub>X,3:7</sub> (Tabla 2).

Se llevó a cabo la determinación de potencial de hidrógeno (pH), sólidos solubles totales (°Brix), acidez titulable, color (L\*, a\* y b\*), contenido de betalainas, contenido de fenoles totales, contenido de flavonoides y determinación de actividad antioxidante por las técnicas de ABTS y DPPH a las formulaciones que se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Relación entre extracto de pulpa y extracto de cáscara de los frutos de *Opuntia* spp.

Fruto	Formulación	Apariencia de los extractos
Tuna 'Orejón'	E <sub>T,1:0</sub> , E <sub>T,0:1</sub> , E <sub>T,7:3</sub> , E <sub>T,3:7</sub>	
Xoconostle 'Ulapa'	E <sub>X,1:0</sub> , E <sub>X,0:1</sub> , E <sub>X,7:3</sub> y E <sub>X,3:7</sub>	

##### 5.4.1 Potencial de Hidrógeno (pH)

A los extractos obtenidos de los frutos de *Opuntia* spp. se les determinó el potencial de hidrógeno, con un potenciómetro digital (HANNA HI 2211-01, Italia). Antes de comenzar con las mediciones el electrodo del potenciómetro se enjuagó con agua destilada y se secó

cuidadosamente, posteriormente se calibró con una solución amortiguadora pH 7 y pH 4. Una vez terminada la calibración, el electrodo se introdujo en cada una de las muestras y se realizó la lectura. Antes de pasar a otra muestra el electrodo nuevamente se enjuagó con agua destilada y se tomó la siguiente lectura (Pinedo, 2014). Las determinaciones se hicieron por triplicado.

#### 5.4.2 *Sólidos solubles totales (°Brix)*

Para la determinación de sólidos solubles totales (°Brix) se utilizó un refractómetro digital (ATAGO PR-101, Japón). Se tomó una gota de los extractos (pulpa, cáscara y/o sus mezclas) de los frutos de *Opuntia* spp. La gota se colocó en el sensor óptico del refractómetro para obtener la lectura correspondiente, la cual se expresó como °Brix (Morales, 2012).

#### 5.4.3 *Acidez titulable*

La determinación de acidez titulable se realizó de acuerdo al método descrito por Tosne, *et al.*, (2014). Se tomó una alícuota de 5mL de cada uno de los extractos acuosos (pulpa, cáscara y/o sus mezclas) de los frutos de *Opuntia* spp. Se agregó de 1 a 3 gotas de fenolftaleína al 1% en etanol y se tituló con una solución de hidróxido de sodio al 0.1 N. Los resultados se expresaron como % acidez, considerando al ácido málico como el ácido orgánico predominante en los frutos de *Opuntia* spp. de acuerdo a la siguiente fórmula:

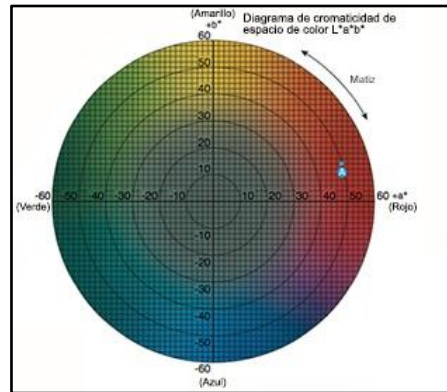
$$\% \text{ acidez} = \frac{mL_{NaOH} \times N_{NaOH} \times Meq_{\text{ácido}}}{mL_{\text{jugo}}} \times 100$$

Donde mL<sub>NaOH</sub> es el volumen de hidróxido de sodio gastado expresado en mililitros; N<sub>NaOH</sub> es la concentración de la solución de hidróxido de sodio expresada en meq/mL (0.1N); Meq<sub>ácido</sub> son los miliequivalentes del ácido málico (0.0670); mL<sub>jugo</sub> es el volumen de muestra expresado en mL.

#### 5.4.4 *Color*

La determinación de color se realizó mediante un colorímetro por reflexión (Hunter Lab Minolta, CM-508D, Japón). El espacio de color Hunter Lab consiste en una rueda de color dividida en 360° con el color rojo situado en el extremo derecho en el ángulo 0°; el amarillo en la parte superior en el ángulo 90°; el verde en el extremo izquierdo en el ángulo 180° y el azul en la parte inferior en el ángulo 270° (Figura 13). L\* mide la luminosidad en una

escala de 0 a 100, siendo 0 para el color negro (más oscuro) y 100 para el blanco (más luminoso),  $a^*$  representa el rojo si el valor es positivo y el verde si es negativo;  $b^*$  corresponde al amarillo si el valor es positivo y al azul en caso de ser negativo (González, 2014).



**Figura 13.** Espacio de color (Konica minolta, 2015).

#### 5.4.5 Cuantificación de betalaínas

La cuantificación de betalaínas se realizó por el método de Nilson descrito por Castellanos y Yahia (2008), donde se describe que las betaxantinas se absorben a una longitud de onda de 483 nm y las betacianinas a 535 nm. Se tomó 1 mL de los extractos acuosos (pulpa, cáscara y/o sus mezclas) de los frutos de *Opuntia* spp. y se aforó a 20 mL con alcohol metílico al 20%. Posteriormente se registraron las lecturas de absorbancia empleando un espectrofotómetro (Jenway 6715 UV/vis, Bibby scientific, RU) a una longitud de onda de 483 nm (betaxantinas) y 535 nm (betacianinas) y se utilizó como blanco alcohol metílico al 80%. La suma de betaxantinas y betacianinas determina la concentración de las betalaínas totales. La concentración de betacianinas y betaxantinas se calculó empleando la siguiente fórmula:

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

Donde A es la absorbancia a 535 nm para betacianinas y a 483 nm para betaxantinas; DF es el factor de dilución; Vd es el volumen de muestra; MW es el peso molecular (550 g/mol para betacianinas y 308 g/mol para betaxantinas);  $\epsilon$  es el coeficiente de extinción molar (60 000 L/mol cm para betacianinas y de 48 000 L/mol cm para betaxantinas).

#### **5.4.6 Contenido de fenoles totales**

La determinación cuantitativa de fenoles totales se llevó a cabo mediante el método de Folin-Ciocalteu (Singleton, 1998). Se tomaron 0.5 mL del extracto acuoso en tubos de ensaye cubiertos con papel aluminio, se mezcló con 2.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu 0.2 N diluido con agua destilada (1:10) (Sigma-Aldrich México, Edo. de México, México) se dejó reposar durante 5min. Posteriormente se agregó 2 mL de solución de carbonato de sodio al 7.5% en agua destilada hasta lograr una mezcla homogénea (Meda *et al.*, 2005). Se dejó reposar durante 2 horas, después de transcurrir el tiempo se tomaron las absorbancias de la mezcla en un espectrofotómetro (Jenway 6715 UV/vis, Bibby scientific, R.U.) utilizando celdas de cuarzo, a una longitud de onda de 760 nm. Los resultados obtenidos fueron expresados en miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG)/mL de extracto.

#### **5.4.7 Contenido de flavonoides**

La cuantificación de flavonoides se realizó mediante el método de Dowd, adaptado por Arvouet-Grand *et al.*, (1994). Se utilizó una solución de tricloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) (Fermont, Productos Químicos Monterrey, Monterrey, México) al 2% en metanol. Posteriormente se adicionaron 2 mL de extracto acuoso (pulpa, cáscara y/o sus mezclas) de los frutos de *Opuntia* spp., posteriormente se agregó 2 mL de solución metanólica de tricloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ), se dejó reposar durante 20 min en la obscuridad, se registraron las absorbancias a una longitud de onda de 415 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6715 UV/vis, Bibby scientific, R.U.). Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de quercetina (mg/EQ)/mL de extracto.

#### **5.4.8 Determinación de actividad antioxidante por el método de ABTS [2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)]**

La determinación de la actividad antioxidante se llevó a cabo por el método descrito por Re *et al.*, (1998) el cual se basa en la decoloración del catión radical ABTS. El radical ABTS (Sigma-Aldrich México, Toluca, México) a una concentración de  $7\mu\text{M}$  (38.4 mg de ABTS aforado a 10 mL con agua destilada) se hizo reaccionar con persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) (Sigma-Aldrich México, Toluca, México)  $2.45\mu\text{M}$  (66.15 mg de  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  aforado a 100 mL con agua destilada), mezclando ambas soluciones en una proporción 1:1. La mezcla se dejó en agitación en una parrilla con agitación magnética (Corning PC 420, E.E.U.U.) y

protegiéndolo de la luz aproximadamente durante 16 horas antes de comenzar las determinaciones para permitir la formación del radical ABTS. Una vez formado el radical ABTS, la mezcla se diluyó con etanol al 20% hasta alcanzar una absorbancia comprendida entre  $0.7 \pm 0.01$  a una longitud de onda de 734 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6715 UV/vis, Bibby scientific, RU) y a 3 mL de esta dilución se le agregaron 100  $\mu$ L del extracto acuoso (pulpa, cáscara y/o sus mezclas) de los frutos de *Opuntia* spp., se agitó, y se dejó reposar durante 6 min en obscuridad. Una vez transcurrido este tiempo se registraron las lecturas de absorbancia. La actividad antioxidante se calculó utilizando una curva estándar de ácido gálico. La solución madre de ácido gálico se obtuvo pesando 0.001g de ácido gálico aforado a 10 mL con agua destilada. A partir de esta solución madre se prepararon diferentes concentraciones (0-200 mg/mL) de ácido gálico. Los resultados obtenidos se expresaron en porcentaje de inhibición (%).

#### ***5.4.9 Determinación de actividad antioxidante por el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)***

La determinación de la actividad antioxidante se llevó a cabo por el método desarrollado por Brand-Williams *et al.*, (1995). Se preparó una solución metanólica de DPPH (Química Suastes, S.A. de C.V., D.F., México)  $6.1 \times 10^{-5}$  M (2.4 mg de DPPH aforado a 100 mL con metanol al 80%) agitando mediante una parrilla con agitación magnética durante 2 horas en obscuridad. La mezcla se diluyó con metanol al 80% hasta alcanzar una absorbancia comprendida entre  $0.7 \pm 0.01$  a una longitud de onda de 515 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6715 UV/vis, Bibby scientific, RU). Posteriormente se tomó 2.7 mL de la mezcla diluida y se hizo reaccionar con 0.3 mL del extracto acuoso (pulpa, cáscara y/o sus mezclas) de los frutos de *Opuntia* spp, la mezcla se dejó reposar en la obscuridad durante 1 hora y se registraron las lecturas de absorbancia (515 nm) en el espectrofotómetro (Jenway 6715 UV/vis, Bibby scientific, RU). Los resultados obtenidos, fueron expresados en porcentaje de inhibición (%).

## 5.5 ETAPA II. Diseño de tratamientos

### 5.5.1 Selección de las mezclas de extractos de los frutos de *Opuntia* spp. más adecuadas para su microencapsulación

Los análisis realizados a los extractos (pulpa, cáscara y/o sus mezclas) de los frutos de *Opuntia* spp. en la ETAPA I, permitieron identificar y seleccionar las mezclas con mayor contenido de compuestos bioactivos, estas relaciones se muestran en la tabla 3, siendo 2 tratamientos para la relación de extracto de pulpa:extracto de cáscara de tuna púrpura 'Orejón' y 2 tratamientos para la relación de extracto de pulpa:extracto de cáscara de xoconostle variedad 'Ulapa' los utilizados para la microencapsulación y análisis de las microcápsulas.

**Tabla 3.** Proporciones con la mayor concentración de compuestos bioactivos de acuerdo a los análisis realizados a los extractos

Fruto	Formulación
Tuna 'Orejón'	E <sub>T,0:1</sub> y E <sub>T,3:7</sub>
Xoconostle 'Ulapa'	E <sub>X,1:0</sub> , y E <sub>X,3:7</sub>

### 5.5.2 Selección de la relación entre el material de pared y el material a encapsular

En la microencapsulación es necesario utilizar un material de pared, en este caso se seleccionó la goma exudada del árbol de mezquite (*Prosopis laevigata*), debido a las propiedades descritas en la sección 2.20. Para determinar la proporción más adecuada entre el material de pared y el material a encapsular, se utilizó el extracto de pulpa de tuna 'Orejón', tomando en cuenta como material a encapsular a la concentración de sólidos presentes en dicho extracto, probando tres diferentes relaciones entre el material de pared y el material a encapsular (2:1, 4:1 y 6:1). Las mezclas de material de pared y material a encapsular fueron homogenizadas con ayuda de un Ultraturrax (IKA T25, Alemania) y posteriormente se microencapsularon de acuerdo a lo descrito por Vernon, *et al.*, (1996). Se utilizó un secador por aspersión (Büchi B-290, Suiza) donde la muestra se hace fluir con ayuda de una bomba peristáltica a una velocidad de flujo de 5 mL/min y es atomizada en el interior de la cámara de secado a una temperatura de entrada de aire de 175 °C y de salida

de 86°C (su tiempo de residencia es de unos segundos), posteriormente pasa por un ciclón donde el polvo formado es recuperado hacia la parte inferior. Para determinar la proporción más adecuada entre el material de pared y el material a encapsular, las microcápsulas fueron analizadas mediante colorimetría, además de hacerles una determinación visual del aspecto macroscópico de los polvos. También se analizó la concentración de compuestos bioactivos en las microcápsulas obtenidas con las diferentes proporciones de material de pared:material a encapsular y se comparó con los resultados obtenidos del extracto de pulpa de tuna 'Orejón' con el fin de evaluar el grado de protección del material encapsulante en las microcápsulas contra la degradación de los compuestos bioactivos.

### **5.5.3 *Microencapsulación de extractos de los frutos de *Opuntia* spp.***

Los extractos (pulpa, cáscara y/o sus mezclas) de los frutos de *Opuntia* spp. se prepararon de acuerdo a las proporciones indicadas en la tabla 3, utilizando únicamente la relación más adecuada entre el material de pared y el material a encapsular. Las mezclas fueron homogenizadas con ayuda de un Ultraturrax (IKA T25, Alemania) y posteriormente se microencapsularon mediante secado por aspersión como se describió en el apartado 5.5.2. Dichas microcápsulas fueron codificadas como ME<sub>A,B:C</sub> donde M denota microcápsula, E denota al extracto, el subíndice A denota el tipo de fruto (T=Tuna o X=Xoconostle), y el subíndice B:C es la proporción de extracto de pulpa: extracto de cáscara en la mezcla, resultando las siguientes formulaciones: ME<sub>T,0:1</sub>, ME<sub>T,3:7</sub>, ME<sub>X,1:0</sub> y ME<sub>X,3:7</sub>.

## **5.6 ETAPA III. Análisis de las microcápsulas.**

### **5.6.1 *Cuantificación de los compuestos bioactivos microencapsulados***

Los compuestos bioactivos contenidos en las microcápsulas se liberaron con el fin de cuantificarlos, para lo cual se preparó una suspensión de 100 mg de microcápsulas por cada 1mL de una mezcla etanol:ácido acético glacial:agua (50:8:42). La suspensión obtenida se agitó durante un minuto en un vortex (Fisher No. 12-812, E.E.U.U.). Posteriormente, la suspensión se colocó en un baño ultrasónico (Branson 3510, E.E.U.U.) aplicando 2 ciclos de sonicación de 20 min cada uno, con el fin de liberar los compuestos bioactivos de las microcápsulas. Una vez liberados los compuestos bioactivos, las muestras fueron sometidas a centrifugación (Centrífuga Hermle Z 36 HK, Hermle Labortechnik, Wehingen, Alemania)

a 7000 rpm durante 5 min, con el fin de eliminar sólidos sedimentables y se filtraron con papel filtro (Whatman No. 2, GE healthcare life sciences, R.U.), este método se llevó a cabo de acuerdo con lo descrito por Sáenz, *et al.*, (2009).

Una vez liberados los compuestos bioactivos de las microcápsulas se llevó a cabo la cuantificación de betalaínas totales, fenoles totales, flavonoides totales y la capacidad antioxidante por las técnicas de ABTS y DPPH, cuya metodología se describe detalladamente en las secciones 5.4.5; 5.4.6; 5.4.7; 5.4.8 y 5.4.9 respectivamente. Estos resultados fueron comparados con los resultados obtenidos de los análisis a los extractos descritos en la sección 5.4.

### 5.7 Eficiencia de encapsulación

La eficiencia de encapsulación ( $E_E$ ) se determinó en base a la relación entre la concentración de betalaínas totales en las microcápsulas ( $B_{TM}$ ) y la concentración de betalaínas totales en los extractos ( $B_{TE}$ ), la cual fue considerada como 100 %, empleando la siguiente fórmula:

$$\left( \frac{B_{TM}}{B_{TE}} \right) \times 100 = E_E$$

### 5.8 Caracterización física de las microcápsulas

Las microcápsulas fueron caracterizadas físicamente mediante la determinación de color y mediante la observación de su morfología por microscopía electrónica de barrido (SEM). Los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  fueron determinados mediante un colorímetro por reflexión (Hunter Lab Minolta, CM-508D, Japón) de acuerdo con la metodología descrita en el apartado 5.4.4. Las microcápsulas fueron caracterizadas morfológicamente utilizando microscopía electrónica de barrido (SEM) tal como lo describe Sáenz, *et al* (2009), la muestra fue recubierta con oro/paladio usando un evaporador a vacío (Varian, PS 10E, E.E.U.U.) y analizados utilizando un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM - 25SII, Japón) operado a 30 kV.



### **5.8.1 *Análisis de estabilidad térmica***

Las microcápsulas fueron colocadas en una estufa a temperatura de 60°C durante 44 días, en completa oscuridad. Al concluir el experimento se realizó nuevamente la caracterización morfológica por microscopía electrónica de barrido tal como se describe en el apartado 5.7, de esta manera se observaron los cambios morfológicos que presentaron las microcápsulas debido al efecto de la temperatura.

### **5.9 *Análisis estadístico***

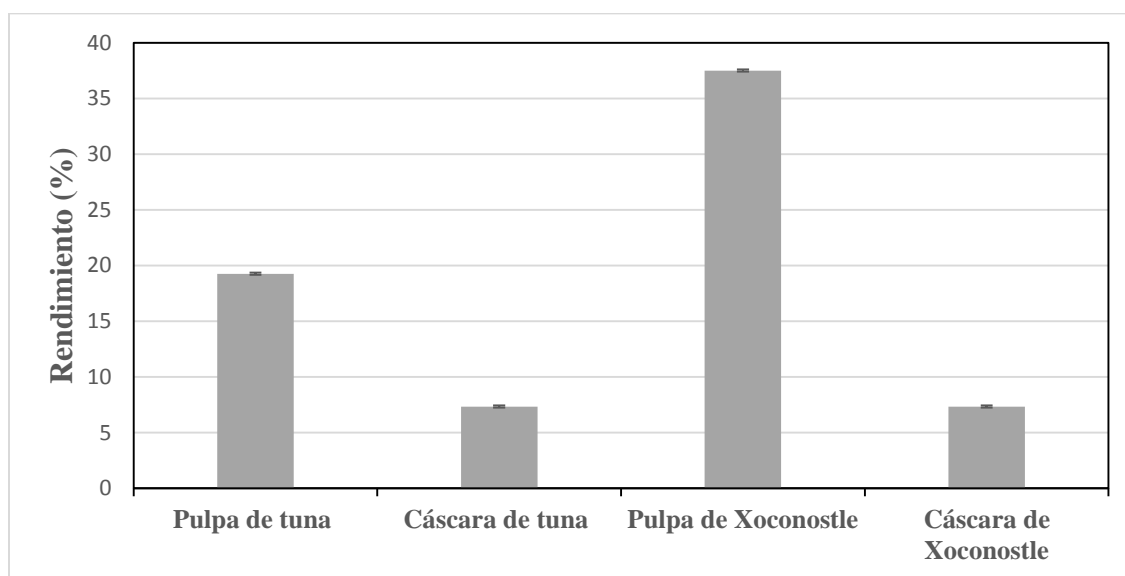
Para el análisis estadístico e interpretación de los resultados se utilizó el paquete estadístico de computación SAS. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), utilizando como estadístico de prueba una comparación de medias múltiples de Tukey a un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ .

## 6 RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 6.1 ETAPA I. Análisis de extractos

#### 6.1.1 Rendimiento de obtención de extractos

Como se mencionó en la sección 5.5.2, la relación entre el material encapsulante y el material a encapsular se basa en el contenido de sólidos solubles totales presentes en los extractos, por lo que es importante conocer el rendimiento de obtención de los extractos de pulpa y cáscara de los frutos de *Opuntia* spp. basándose en el contenido de sólidos solubles totales (Figura 14). Por cada 320 mL de pulpa de tuna 'Orejón' conteniendo 13.5 °Brix se recuperó un volumen final de 1680 mL de extracto, el cual presentó una concentración de sólidos solubles totales de 2.6 °Brix, lo que significa un rendimiento de 19.26 % en función del contenido de sólidos. Por otro lado, por cada 30 g de cáscara de tuna 'Orejón' se recuperó un volumen de 1600 mL de extracto, con una concentración de sólidos solubles totales de 2.2 °Brix, lo que significa un rendimiento de 7.33% en función de los sólidos.



**Figura 14.** Rendimiento de obtención de extractos.

Con respecto al xoconostle 'Ulapa' por cada 48 mL de pulpa conteniendo 3.2 °Brix se recuperó un volumen final de 1880 mL, con una concentración de sólidos solubles totales de 1.2 °Brix, lo que significa un rendimiento de 37.5%; mientras que por cada 42 g de cáscara de xoconostle 'Ulapa' se recuperó un volumen de 1800 mL, con una concentración

de sólidos solubles totales de 1.4 °Brix, lo que significa un rendimiento de 3.33% en función de los sólidos.

### 6.1.2 *Análisis fisicoquímicos de extractos*

En la Tabla 4, se muestran los resultados de la caracterización fisicoquímica de los extractos (pulpa, cáscara y/o sus mezclas) de los frutos de *Opuntia* spp., con base en pH, acidez titulable y el contenido de sólidos solubles totales.

Los extractos de tuna 'Orejón', mostraron valores de pH significativamente mayores ( $P \leq 0.05$ ) que los extractos de xoconostle, siendo de  $6.87 \pm 0.005$  para  $E_{T,3:7}$ ;  $6.72 \pm 0.005$  para  $E_{T,7:3}$ ;  $6.54 \pm 0.005$  para  $E_{T,0:1}$  y  $6.37 \pm 0.005$  para  $E_{T,1:0}$ . Con respecto a los extractos de xoconostle 'Ulapa', el pH mayor fue de  $3.54 \pm 0.005$  para  $E_{X,3:7}$ ; seguido de  $3.34 \pm 0.005$  para  $E_{X,7:3}$ ;  $3.29 \pm 0.005$  para  $E_{X,0:1}$  y  $3.13 \pm 0.005$  para  $E_{X,1:0}$ . Estos resultados son similares a los reportados por otros autores (Cerezal y Duarte, 2005; Repo y Encina, 2008; Morales, 2009; Hernández-Fuentes, *et al.*, 2015) quienes reportan valores de pH cercanos a 6 para pulpa de tuna, cercanos a 5 para cáscara de tuna, y valores de pH cercanos a 3 para pulpa de xoconostle.

Con respecto a la acidez titulable, los resultados de mayor a menor en los extractos de tuna 'Orejón', fueron:  $0.32 \% \pm 0.001$  para  $E_{T,7:3}$ ;  $0.23 \% \pm 0.001$  para  $E_{T,1:0}$ ;  $0.21 \% \pm 0.001$  para  $E_{T,3:7}$  y  $0.19 \% \pm 0.001$  para  $E_{T,0:1}$ . Estos resultados concuerdan con lo publicado por Cerezal y Duarte, (2005) quienes reportan valores de 0.18 % en cáscara de tuna y 0.15 % en la mezcla de pulpa y cáscara de tuna. Mientras que para los extractos de xoconostle 'Ulapa' los valores de acidez titulable fueron de: 0.54 % para  $E_{X,0:1}$ ; 0.43 % para  $E_{X,7:3}$ ; 0.35 % para  $E_{X,3:7}$  y 0.13 % para  $E_{X,1:0}$ . Los resultados encontrados en  $E_{X,1:0}$  (pulpa de xoconostle) se asemejan a los valores de acidez titulable publicados por otros autores (Hernández- Fuentes, *et al.*, 2015; Pinedo, *et al.*, 2015) quienes reportan valores de acidez titulable cercanos a 0.13% en xoconostle.

En los extractos de tuna 'Orejón', la formulación  $E_{T,1:0}$  mostró un valor significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) de sólidos solubles totales, siendo de 2.40 %; mientras que las otras formulaciones no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas ( $p \leq 0.05$ ), siendo de  $2.0 \% \pm 0.001$  para  $E_{T,0:1}$ ;  $1.5 \% \pm 0.001$  para  $E_{T,7:3}$  y  $1.5 \% \pm 0.001$  para  $E_{T,3:7}$ . Con respecto a los extractos de xoconostle 'Ulapa' los valores de mayor a menor

fueron: 1.5 % ± 0.001 para E<sub>X,1:0</sub>; 1.30 % ± 0.001 para E<sub>X,0:1</sub>; 1.20 % ± 0.001 para E<sub>X,3:7</sub> y 1.10 % ± 0.001 para E<sub>X,7:3</sub>. Los valores de sólidos solubles totales publicados por otros autores para tuna y xoconostle (Cerezal y Duarte, 2005; Pinedo *et al.*, 2015) son más elevados que los que se encontraron en este trabajo. Esto se debe a que la determinación de sólidos solubles totales fue realizada por otros autores en pulpa y cáscara del fruto fresco sin adición de agua, únicamente homogenizando el tejido vegetal, mientras que en este trabajo se ocuparon los extractos acuosos (pulpa, cáscara y/o sus mezclas) de frutos de *Opuntia* spp., y la cantidad de agua empleada para obtener dichos extractos influyó en el porcentaje final de sólidos solubles totales.

**Tabla 4.** Caracterización fisicoquímica de extractos (pulpa, cáscara y sus mezclas) de frutos de *Opuntia* spp.

Formulación	pH	Acidez Titulable (%)	Sólidos Solubles Totales (%)
E <sub>T,1:0</sub>	6.4 <sup>dz</sup>	0.23 <sup>e</sup>	2.40 <sup>a</sup>
E <sub>T,0:1</sub>	6.5 <sup>c</sup>	0.19 <sup>g</sup>	2.00 <sup>b</sup>
E <sub>T,7:3</sub>	6.7 <sup>b</sup>	0.32 <sup>d</sup>	1.50 <sup>c</sup>
E <sub>X,3:7</sub>	6.9 <sup>a</sup>	0.21 <sup>f</sup>	1.50 <sup>c</sup>
E <sub>X,1:0</sub>	3.1 <sup>h</sup>	0.13 <sup>h</sup>	1.50 <sup>c</sup>
E <sub>X,0:1</sub>	3.3 <sup>g</sup>	0.54 <sup>a</sup>	1.30 <sup>d</sup>
E <sub>X,7:3</sub>	3.3 <sup>f</sup>	0.43 <sup>b</sup>	1.10 <sup>f</sup>
E <sub>X,3:7</sub>	3.5 <sup>e</sup>	0.35 <sup>c</sup>	1.20 <sup>e</sup>
CV (%)	0.119	3.11x10 <sup>-7</sup>	9.77x10 <sup>-7</sup>
DMS	0.017	3.00x10 <sup>-9</sup>	4.50x10 <sup>-7</sup>

<sup>z</sup> Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey P≤0.05. CV:

Coefficiente de variación; DMS: Diferencia mínima significativa;

Las formulaciones están codificadas como E<sub>A,B:C</sub> donde E denota al extracto, el subíndice A denota el tipo de fruto (T=Tuna o X=Xoconostle), y el subíndice B:C es la proporción de extracto de pulpa: extracto de cáscara en la mezcla.

### 6.1.3 Determinación de color en los extractos

Los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  para los extractos (pulpa, cáscara y de sus mezclas) de frutos de *Opuntia* spp. se presentan en la Tabla 5. Los extractos de xoconostle 'Ulapa' presentaron valores de luminosidad ( $L^*$ ) significativamente mayores ( $p \leq 0.05$ ) que los extractos de tuna 'Orejón'. Las formulaciones de los extractos de tuna 'Orejón' no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) con respecto al parámetro de luminosidad  $L^*$  entre ellas, siendo de:  $9.55 \pm 0.045$  para  $E_{T,1:0}$ ;  $9.37 \pm 0.337$  para  $E_{T,0:1}$ ;  $9.31 \pm 0.044$  para  $E_{T,7:3}$  y  $9.56 \pm 0.100$  para  $E_{T,3:7}$ . Mientras que las formulaciones de los extractos de xoconostle 'Ulapa' presentaron valores significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas, yendo de mayor a menor en el siguiente orden:  $27.21 \pm 0.112$  para  $E_{X,0:1}$ ;  $26.56 \pm 0.262$  para  $E_{X,3:7}$ ,  $25.41 \pm 0.049$  para  $E_{X,7:3}$  y  $24.74 \pm 0.166$  para  $E_{X,1:0}$ . Estos resultados confirman la apariencia que mostraron las formulaciones de los extractos (tabla 2), en donde se observa que las formulaciones de xoconostle 'Ulapa' presentaron un aspecto más claro que las formulaciones de tuna 'Orejón'.

Con respecto a los extractos de tuna 'Orejón', las formulaciones  $E_{T,1:0}$  (pulpa de tuna) y  $E_{T,0:1}$  (cáscara de tuna) no mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas para el parámetro  $a^*$ , presentando los valores más altos entre todas las formulaciones probadas, siendo de  $23.84 \pm 0.103$  y  $23.85 \pm 0.098$  respectivamente. Por otro lado las formulaciones  $E_{T,7:3}$  y  $E_{T,3:7}$  tampoco presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas, presentando valores de  $21.59 \pm 0.028$  y  $21.46 \pm 0.057$  respectivamente. Esto quiere decir que los extractos de la pulpa y la cáscara de tuna por separado son más rojos que sus mezclas. Para los extractos de xoconostle 'Ulapa' las formulaciones  $E_{X,1:0}$ ,  $E_{X,0:1}$  y  $E_{X,7:3}$  no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas, mostrando valores de  $21.84 \pm 0.098$ ,  $19.38 \pm 0.165$  y  $19.71 \pm 0.093$  respectivamente, mientras que la formulación  $E_{X,3:7}$  presentó un valor significativamente menor ( $p \leq 0.05$ ) que los anteriores siendo de  $17.75 \pm 0.382$ , lo que significa que esta fue la muestra que presentó la coloración menos roja de todas las formulaciones probadas.

Aunque el aspecto visual de los extractos de tuna 'Orejón' es de color rojo, estos presentaron valores positivos del parámetro  $b^*$ , lo cual indica que las formulaciones  $E_{T,1:0}$ ,

$E_{T,0:1}$ ,  $E_{T,7:3}$  y  $E_{T,3:7}$  tienden hacia la tonalidad amarilla. De igual forma en el caso de los extractos de xoconostle 'Ulapa' a pesar de que su apariencia visual es de color rojo, las formulaciones  $E_{X,1:0}$ ,  $E_{X,0:1}$ ,  $E_{X,7:3}$  y  $E_{X,3:7}$  tienden hacia la tonalidad azul ya que presentaron valores negativos para el parámetro  $b^*$ , este comportamiento probablemente es debido a que los extractos de xoconostle 'Ulapa' presentan una coloración más tenue. Con respecto a los extractos de tuna 'Orejón', todas las formulaciones presentaron valores similares del parámetro  $b^*$  sin que existiera diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas. Por otra parte, las formulaciones  $E_{X,1:0}$ ,  $E_{X,0:1}$ ,  $E_{X,7:3}$  de los extractos de xoconostle 'Ulapa' tampoco presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas, mostrando valores de  $-2.31 \pm 0.103$ ,  $-2.58 \pm 0.083$  y  $-2.28 \pm 0.083$  respectivamente, mientras que la formulación  $E_{X,3:7}$  presentó un valor significativamente menor ( $p \leq 0.05$ ) que los anteriores siendo de  $-0.73 \pm 0.022$ .

**Tabla 5.** Determinación de color en extractos (pulpa, cáscara y mezclas) de frutos de *Opuntia* spp.

Formulaciones	Parámetros de color		
	L*	a*	b*
$E_{T,1:0}$	9.55 <sup>ez</sup>	23.84 <sup>a</sup>	4.46 <sup>a</sup>
$E_{T,0:1}$	9.37 <sup>e</sup>	23.85 <sup>ab</sup>	4.69 <sup>a</sup>
$E_{T,7:3}$	9.31 <sup>e</sup>	21.59 <sup>bc</sup>	4.52 <sup>a</sup>
$E_{T,3:7}$	9.56 <sup>e</sup>	21.46 <sup>c</sup>	4.32 <sup>a</sup>
$E_{X,1:0}$	24.74 <sup>d</sup>	21.84 <sup>bc</sup>	-2.31 <sup>c</sup>
$E_{X,0:1}$	27.21 <sup>a</sup>	19.38 <sup>d</sup>	-2.58 <sup>c</sup>
$E_{X,7:3}$	25.41 <sup>c</sup>	19.71 <sup>d</sup>	-2.28 <sup>c</sup>
$E_{X,3:7}$	26.56 <sup>b</sup>	17.75 <sup>e</sup>	-0.76 <sup>b</sup>
CV (%)	1.09	2.30	16.00
DMS	0.55	1.37	0.57

<sup>z</sup> Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey  $P \leq 0.05$ .

CV: Coeficiente de variación; DMS: Diferencia mínima significativa;

Las formulaciones están codificadas como  $E_{A,B:C}$  donde E denota al extracto, el subíndice A denota el tipo de fruto (T=Tuna o X=Xoconostle), y el subíndice B:C es la proporción de extracto de pulpa: extracto de cáscara en la mezcla.

#### 6.1.4 Contenido de betalaínas en extractos.

En la tabla 6 se muestra el contenido de betacianinas, betaxantinas y betalaínas totales en los extractos (pulpa, cáscara y mezclas) de frutos de *Opuntia* spp. En los extractos de tuna 'Orejón' la formulación E<sub>T,3:7</sub>, presentó un contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) de betacianinas con respecto a las otras formulaciones, siendo de  $29.167 \pm 0.03$  mg/100g, seguido de  $24.063 \pm 0.05$  mg/100g para E<sub>T,1:0</sub>,  $23.063 \pm 0.05$  mg/100g para E<sub>T,0:1</sub> y  $23.130 \pm 0.05$  mg/100g para E<sub>T,7:3</sub>. Estas últimas tres formulaciones no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas. Con respecto al contenido de betaxantinas en los extractos de tuna 'Orejón', todas las formulaciones presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p \leq 0.05$ ), siendo E<sub>T,3:7</sub> la formulación con la mayor concentración, con un valor de  $13.345 \pm 0.05$  mg/100 g, seguido de  $11.320 \pm 0.03$  mg/100 g para E<sub>T,0:1</sub>,  $10.288 \pm 0.04$  mg/100 g para E<sub>T,7:3</sub> y  $10.131 \pm 0.05$  mg/100 g para E<sub>T,1:0</sub>. En los extractos de la tuna 'Orejón' la formulación E<sub>T,3:7</sub>, presentó un contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) de betalaínas totales con respecto a las otras formulaciones, siendo de  $42.513$  mg/100 g, seguido de  $34.948 \pm 0.05$  mg/100 g para E<sub>T,1:0</sub>,  $34.144 \pm 0.08$  mg/100 g para E<sub>T,0:1</sub> y  $33.419 \pm 0.28$  mg/100 g para E<sub>T,7:3</sub>. Estas últimas tres formulaciones no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas. Los resultados obtenidos de betacianinas, betaxantinas y betalaínas totales en los extractos de tuna 'Orejón' mostraron valores similares a lo reportado por otros autores en distintas variedades de tuna (Sáenz, *et al.*, 2009 y Ramírez, *et al.*, 2015).

Todas las formulaciones probadas de los extractos de xoconostle 'Ulapa', no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el contenido de betacianinas, siendo de  $4.094 \pm 0.032$  mg/100g para E<sub>X,1:0</sub>,  $2.566 \pm 0.05$  mg/100g para E<sub>X,0:1</sub>,  $4.379 \pm 0.043$  mg/100g para E<sub>X,7:3</sub> y  $4.640 \pm 0.05$  mg/100g para E<sub>X,3:7</sub>. Por otro lado, con respecto al contenido de betaxantinas en los extractos del xoconostle 'Ulapa', todas las formulaciones presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p \leq 0.05$ ), siendo  $3.091 \pm 0.082$  mg/100 g la mayor concentración, encontrada en la formulación E<sub>X,3:7</sub>; seguido de  $2.879 \pm 0.053$  mg/100 g para E<sub>X,7:3</sub>;  $2.538 \pm 0.24$  mg/100 g para E<sub>X,1:0</sub> y  $1.240 \pm 0.05$  mg/100 g para E<sub>X,0:1</sub>. Mientras que para el contenido de betalaínas totales, el extractos de xoconostle 'Ulapa' en la formulación E<sub>X,0:1</sub> presentó un contenido significativamente menor ( $p \leq 0.05$ ), siendo de  $3.807 \pm 0.05$  mg/100 g. Por otra parte, las demás formulaciones (E<sub>X,1:0</sub>,

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

$E_{X,7:3}$  y  $E_{X,3:7}$  no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas ( $p \leq 0.05$ ) en cuanto al contenido de betalaínas totales, siendo de  $6.632 \pm 0.033$  mg/100 g,  $7.258 \pm 0.072$  mg/100 g y  $7.732 \pm 0.05$  mg/100 g respectivamente. Los resultados obtenidos de betacianinas, betaxantinas y betalaínas totales en los extractos de xoconostle 'Ulapa' son semejantes a los encontrados en la literatura en otras variedades de xoconostle (Gallegos, *et al.*, 2014 y Hernández, *et al.*, 2015).

**Tabla 6.** Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalaínas totales en extractos (pulpa, cáscara y mezclas) de frutos de *Opuntia* spp.

Formulaciones	Betacianinas (mg/100g)	Betaxantinas (mg/100g)	Betalaínas Totales (mg/ 100g)
$E_{T,1:0}$	24.063 <sup>bz</sup>	10.131 <sup>d</sup>	34.194 <sup>b</sup>
$E_{T,0:1}$	23.063 <sup>b</sup>	11.320 <sup>b</sup>	34.948 <sup>b</sup>
$E_{T,7:3}$	23.130 <sup>b</sup>	10.288 <sup>c</sup>	33.419 <sup>b</sup>
$E_{T,3:7}$	29.167 <sup>a</sup>	13.345 <sup>a</sup>	42.513 <sup>a</sup>
$E_{X,1:0}$	4.094 <sup>c</sup>	2.538 <sup>g</sup>	6.632 <sup>c</sup>
$E_{X,0:1}$	2.566 <sup>c</sup>	1.240 <sup>h</sup>	3.807 <sup>d</sup>
$E_{X,7:3}$	4.379 <sup>c</sup>	2.879 <sup>f</sup>	7.258 <sup>c</sup>
$E_{X,3:7}$	4.640 <sup>c</sup>	3.091 <sup>e</sup>	7.732 <sup>c</sup>
<b>CV (%)</b>	6.263	0.509	4.255
<b>DMS</b>	2.560	0.099	2.564

<sup>z</sup> Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey  $P \leq 0.05$ . CV: Coeficiente de variación; DMS: Diferencia mínima significativa; Las formulaciones están codificadas como  $E_{A,B:C}$  donde E denota al extracto, el subíndice A denota el tipo de fruto (T=Tuna o X=Xoconostle), y el subíndice B:C es la proporción de extracto de pulpa: extracto de cáscara en la mezcla.



### 6.1.5 *Compuestos bioactivos en extractos*

Con respecto al contenido de fenoles totales en los extractos de tuna 'Orejón' todas las formulaciones presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p \leq 0.05$ ), siendo de  $0.866 \pm 0.05$  mg EAG/mL para  $E_{T,0:1}$ ,  $0.696 \pm 0.062$  mg EAG/mL para  $E_{T,3:7}$ ,  $0.574 \pm 0.052$  mg EAG/mL para  $E_{T,7:3}$  y  $0.468 \pm 0.033$  mg EAG/mL para  $E_{T,1:0}$ . En cuanto al contenido de flavonoides en los extractos de tuna 'Orejón' todas las formulaciones presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p \leq 0.05$ ), siendo  $0.118 \pm 0.028$  mg EQ/ mL para  $E_{T,0:1}$ ,  $0.081 \pm 0.032$  mg EQ/mL para  $E_{T,3:7}$ ,  $0.047 \pm 0.044$  mg EQ/ mL para  $E_{T,7:3}$  y  $0.040 \pm 0.05$  mg EQ/ mL para  $E_{T,1:0}$ . En los extractos de la tuna 'Orejón' la formulación  $E_{T,1:0}$  presentó un porcentaje de inhibición significativamente menor ( $p \leq 0.05$ ) para el radical DPPH siendo de  $63.9 \pm 0.05$  %. Las otras formulaciones ( $E_{T,0:1}$ ,  $E_{T,7:3}$  y  $E_{T,3:7}$ ) presentaron un porcentaje de inhibición del radical de DPPH, de  $65.3 \pm 0.083$  %,  $66.2 \pm 0.28$  % y  $65.3 \pm 0.033$  % respectivamente, formulaciones en las que no se muestra diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ). Todas las formulaciones de los extractos de la tuna 'Orejón' no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p \leq 0.05$ ) para el porcentaje de inhibición del radical ABTS, siendo de  $54.8 \pm 0.05$  % para  $E_{T,1:0}$ ,  $56.2 \pm 0.05$  % para  $E_{T,0:1}$ ,  $56.8 \pm 0.07$  % para  $E_{T,7:3}$  y  $58.4 \pm 0.046$  % para  $E_{T,3:7}$  respectivamente.

La concentración de fenoles totales en los extractos de xoconostle 'Ulapa' fue de  $0.823 \pm 0.05$  mg EAG/mL para  $E_{X,0:1}$ ,  $0.749 \pm 0.03$  mg EAG/mL para  $E_{T,7:3}$ ,  $0.675 \pm 0.05$  mg EAG/mL para  $E_{X,3:7}$  y de  $0.443 \pm 0.084$  mg EAG/ mL para  $E_{X,1:0}$ . Mientras que para el contenido de flavonoides en los extractos del xoconostle 'Ulapa' la formulación  $E_{X,3:7}$  presentó un contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ), siendo de  $0.127 \pm 0.023$  mg EQ/mL, seguido de  $0.069 \pm 0.05$  mg EQ/mL para las formulaciones  $E_{X,0:1}$  y  $E_{X,7:3}$ , en estas dos formulaciones no se presentó diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas, mientras que  $E_{X,1:0}$  presentó un contenido de flavonoides significativamente menor ( $p \leq 0.05$ ) siendo de  $0.002 \pm 0.001$  mg EQ/mL. En cuanto al porcentaje de inhibición del radical DPPH, todas las formulaciones de los extractos de xoconostle 'Ulapa' presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p \leq 0.05$ ), siendo de  $73.6 \pm 0.067$  % para  $E_{X,1:0}$ ,  $64.0 \pm 0.082$  % para  $E_{X,0:1}$ ,  $62.2 \pm 0.041$  % para  $E_{X,7:3}$  y  $59.1 \pm 0.065$  % para  $E_{X,7:3}$ . En los extractos de xoconostle 'Ulapa', la formulación  $E_{X,0:1}$  presentó un porcentaje de

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

inhibición del radical ABTS significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) a las de las demás formulaciones, siendo de  $68.6 \pm 0.056$  %, seguido de  $56.0 \pm 0.072$  % para  $E_{X,1:0}$ ,  $60.1 \pm 0.026$  % para  $E_{X,7:3}$  y  $59.8 \pm 0.029$  % para  $E_{X,3:7}$  en estas últimas tres formulaciones no se presentó diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas.

**Tabla 7.** Compuestos bioactivos en extractos (pulpa, cáscara y mezclas) de frutos de *Opuntia* spp.

Formulaciones	Fenoles (mg EAG/mL)	Flavonoides (mg EQ/mL)	Actividad antioxidante DPPH (% Inhibición)	Actividad antioxidante ABTS (% Inhibición)
<b>E<sub>T,1:0</sub></b>	0.468 <sup>fz</sup>	0.004 <sup>d</sup>	63.9 <sup>c</sup>	54.8 <sup>c</sup>
<b>E<sub>T,0:1</sub></b>	0.866 <sup>a</sup>	0.118 <sup>a</sup>	63.3 <sup>b</sup>	56.2 <sup>bc</sup>
<b>E<sub>T,7:3</sub></b>	0.574 <sup>e</sup>	0.047 <sup>c</sup>	63.2 <sup>b</sup>	56.8 <sup>b</sup>
<b>E<sub>T,3:7</sub></b>	0.696 <sup>d</sup>	0.081 <sup>b</sup>	65.3 <sup>b</sup>	58.4 <sup>bc</sup>
<b>E<sub>X,1:0</sub></b>	0.443 <sup>g</sup>	0.002 <sup>d</sup>	73.6 <sup>a</sup>	56.0 <sup>bc</sup>
<b>E<sub>X,0:1</sub></b>	0.823 <sup>b</sup>	0.069 <sup>b</sup>	64.0 <sup>c</sup>	68.6 <sup>a</sup>
<b>E<sub>X,7:3</sub></b>	0.749 <sup>c</sup>	0.069 <sup>b</sup>	59.1 <sup>e</sup>	60.1 <sup>b</sup>
<b>E<sub>X,3:7</sub></b>	0.675 <sup>d</sup>	0.127 <sup>a</sup>	62.2 <sup>d</sup>	59.8 <sup>b</sup>
<b>CV (%)</b>	1.170	8.576	0.659	2.642
<b>DMS</b>	0.022	0.016	1.211	4.394

<sup>z</sup> Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey  $P \leq 0.05$ . CV: Coeficiente de variación; DMS: Diferencia mínima significativa;

Las formulaciones están codificadas como E<sub>A,B,C</sub> donde E denota al extracto, el subíndice A denota el tipo de fruto (T=Tuna o X=Xoconostle), y el subíndice B:C es la proporción de extracto de pulpa: extracto de cáscara en la mezcla.

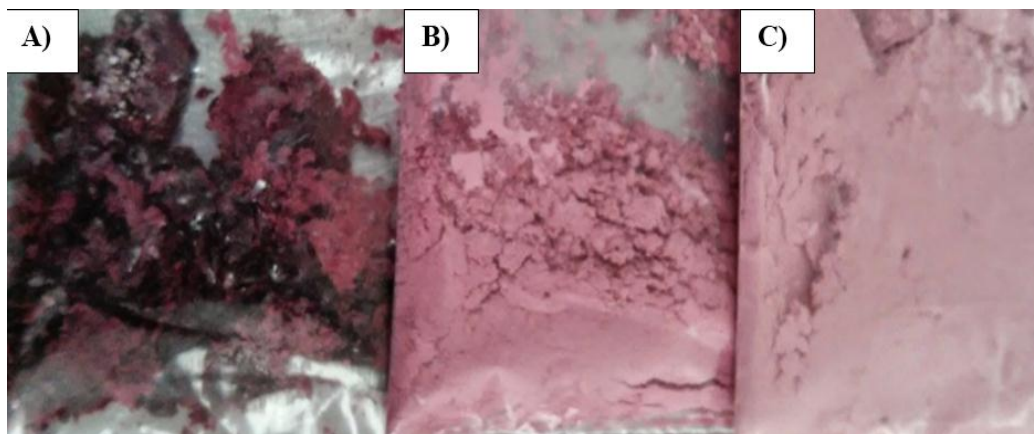
## 6.2 ETAPA II. Resultados de microencapsulación

### 6.2.1 Establecimiento de las relaciones entre material de pared y material a encapsular

Para determinar la relación del material de pared y material a encapsular se consideraron los parámetros de aspecto macroscópico, color y contenido de compuestos bioactivos los cuales se detallan a continuación.

#### 6.2.1.1 Aspecto macroscópico

El aspecto macroscópico de los polvos obtenidos del secado por aspersion se muestra en la figura 15, donde se observa que las relaciones A) 2:1 y B) 4:1 no mostraron una apariencia de partículas individuales, sino que se tiene una apariencia grumosa por la formación de conglomerados e inclusive en la formulación A) 2:1 se puede observar un color más oscuro debido a que esta muestra atrapó agua del medio ambiente, efecto que se atribuye a que los extractos de los frutos de *Opuntia* spp. son altos en azúcares simples, los cuales tienden a atrapar las moléculas de agua fácilmente debido a su naturaleza higroscópica, por lo que se relaciona con los cambios de apariencia de las microcápsulas, además de presentar un bajo contenido de material encapsulante. Sin embargo, la relación C) 6:1, que contiene 6 partes de goma de mezquite por 1 de sólidos de E<sub>T,1:0</sub> fue la que presentó una mejor apariencia, debido a que la proporción de material de pared fue suficiente para microencapsular el extracto de manera eficiente, impidiendo el atrapamiento de agua del medio ambiente ya que a simple vista se aprecia un polvo homogéneo con partículas individuales.



**Figura 15.** Apariencia macroscópica de las microcápsulas para elegir la relación de material de pared más adecuada. **A) 2:1** Microcápsulas de la relación de 2 partes de goma de mezquite por 1 de  $E_{T,1:0}$  **B) 4:1** Microcápsulas de la relación de 4 partes de goma de mezquite por 1 de  $E_{T,1:0}$  y **C) 6:1** Microcápsulas de la relación de 6 partes de goma de mezquite por 1 de  $E_{T,1:0}$ .

#### 6.2.1.2 Color

La apariencia de las microcápsulas (GM:  $E_{T,1:0}$ ) respecto a los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) se presentan en la tabla 8, donde se muestra que las formulaciones (GM:  $E_{T,1:0}$ ) 6:1, 4:1 y 2:1 presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p \leq 0.05$ ) para el parámetro  $L^*$ , siendo de  $39.38 \pm 0.08$ , seguido de  $33.07 \pm 0.08$  y  $16.54 \pm 0.112$  respectivamente. Los valores obtenidos respecto al parámetro  $a^*$ , muestran que las microcápsulas 6:1 y 4:1 son más rojas, siendo de  $19.67 \pm 0.06$  y  $19.49 \pm 0.05$  respectivamente, mientras que la relación 2:1 presentó una coloración menos roja ( $p \leq 0.05$ ) siendo de  $15.14 \pm 0.27$ . Mientras que para la variable  $b^*$  todas las relaciones tienden hacia la tonalidad amarilla presentando valores de  $26.94 \pm 0.07$  para 2:1, seguido de  $14.36 \pm 0.04$  para 4:1 y de  $11.57 \pm 0.03$  para 6:1 valores que presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p \leq 0.05$ ).

Con estos resultados podemos observar que las microcápsulas que son más rojas y luminosas son las de 4:1 y 6:1, que contenían una mayor proporción de material de pared, mientras que la relación 2:1 presenta características diferentes siendo menos luminosas y menos rojas ( $p \leq 0.05$ ), resultado que corroboran lo observado en la figura 15.

**Tabla 8.** Análisis de color en microcápsulas para seleccionar la relación del material de pared y el material a encapsular.

Relación de material de pared: material a encapsular (GM: E <sub>T,1:0</sub> )*	L*	a*	b*
2:1	16.54 <sup>c</sup>	15.14 <sup>b</sup>	26.94 <sup>a</sup>
4:1	33.07 <sup>b</sup>	19.49 <sup>a</sup>	14.36 <sup>b</sup>
6:1	39.38 <sup>a</sup>	19.67 <sup>a</sup>	11.57 <sup>c</sup>
CV (%)	2.822	5.434	5.170
DMS	2.09	2.464	2.282

<sup>z</sup> Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey P≤0.05.

CV: Coeficiente de variación; DMS: Diferencia mínima significativa.

\* GM: E<sub>T,1:0</sub> significa la relación de goma de mezquite: sólidos de extracto de pulpa de tuna.

### 6.2.1.3 Contenido de compuestos bioactivos

El contenido de los compuestos bioactivos presentes en las microcápsulas de las relaciones 2:1, 4:1 y 6:1, se muestra en la tabla 9. Donde se observa que las 3 relaciones de material de pared y material a encapsular presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí (p≤0.05) para todos los análisis. El contenido de fenoles totales fue significativamente mayor (p≤0.05) para la relación 2:1 siendo de 2.00 ± 0.009 mg EAG/100 mg, seguido de 1.90 ± 0.029 mg EAG/100 mg para 6:1 y 1.50 ± 0.029 mg EAG/100 mg para 4:1. Mientras que el contenido significativamente mayor (p≤0.05) de flavonoides fue de 1.90 ± 0.009 mg EQ/100 mg para 6:1, seguido de 1.70 ± 0.055 mg EQ/100 mg para 4:1 y 1.62 ± 0.001 mg EQ/100 mg para 2:1. Así como también la relación 6:1 fue la que presentó un porcentaje de inhibición significativamente mayor (p≤0.05) del radical DPPH, siendo de 50.9 ± 0.002 %, seguido de 40.8 ± 0.002 % para 4:1 y 30.8 ± 0.003 % para 2:1. De igual forma el contenido significativamente mayor (p≤0.05) de capacidad antioxidante por el método de ABTS, se presentó en la relación 6:1 siendo de 56.8 ± 0.001 %, seguido de 46.6 ± 0.001 % para 2:1 y 36.6 ± 0.001 % para 4:1. De acuerdo con los resultados obtenidos se determinó que la relación de 6 partes de material de pared por 1 de sólidos de extractos fue la más adecuada para la microencapsulación, por lo que esta relación fue utilizada para las formulaciones E<sub>T,0:1</sub>, E<sub>T,3:7</sub> E<sub>X,1:0</sub> y E<sub>X,3</sub>.

**Tabla 9.** Contenido de compuestos bioactivos en microcápsulas para seleccionar la relación del material de pared y el material a encapsular.

Relación de material de Pared: material a encapsular (GM: E <sub>T,1:0</sub> ) <sup>*</sup>	Fenoles (mg EAG/g)	Flavonoides (mg EQ/g)	Actividad antioxidante DPPH (% Inhibición)	Actividad antioxidante ABTS (% Inhibición)
2:1	2.00 <sup>a</sup>	1.62 <sup>c</sup>	30.8 <sup>c</sup>	46.6 <sup>b</sup>
4:1	1.50 <sup>c</sup>	1.70 <sup>b</sup>	40.8 <sup>b</sup>	36.6 <sup>c</sup>
6:1	1.90 <sup>b</sup>	1.90 <sup>a</sup>	50.9 <sup>a</sup>	56.8 <sup>a</sup>
CV (%)	0.104	65.067	0.069	0.070
DMS	0.048	0.081	0.007	0.306

<sup>z</sup> Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey  $P \leq 0.05$ .

CV: Coeficiente de variación; DMS Diferencia mínima significativa; EAG: Equivalentes de ácido gálico; EQ: Equivalentes de quercetina.

\* GM: E<sub>T,1:0</sub> significa la relación de goma de mezquite: sólidos de extracto de pulpa de tuna.

### **6.2.2 Obtención de microcápsulas**

Los resultados de las microcápsulas obtenidas con los extractos  $E_{T,0:1}$ ,  $E_{T,3:7}$ ,  $E_{X,1:0}$  y  $E_{X,3:7}$  que se presentan a partir de este apartado fueron microencapsulados con 6 partes de goma de mezquite por 1 de extracto (pulpa, cáscara y/o mezclas) de frutos de *Opuntia* spp. estas microcápsulas fueron obtenidas como se describió en la sección 5.5.3.

#### **6.2.2.1 Contenido de betalaínas en microcápsulas de extractos**

El contenido de betacianinas, betaxantinas y betalaínas totales (mg/100 g) en las microcápsulas se presentan en la tabla 10. Para las microcápsulas de extractos de tuna 'Orejón' la formulación  $ME_{T,3:7}$  presentó un contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) de betacianinas, siendo de  $13.01 \pm 0.021$  mg/100 g, seguido de  $12.55 \pm 0.084$  mg/100g para  $ME_{T,0:1}$ . Mientras que para betaxantinas se observó un contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) en la formulación  $ME_{T,3:7}$  siendo de  $6.49 \pm 0.05$  mg/100 g y de  $4.87 \pm 0.03$  para  $ME_{T,0:1}$ . Con respecto al contenido de betalaínas totales, las formulaciones  $ME_{T,3:7}$  y  $ME_{T,0:1}$  presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p \leq 0.05$ ) siendo de  $19.50 \pm 0.219$  mg/100 g y  $17.43 \pm 0.94$  mg/100 g respectivamente.

Las microcápsulas de extractos de xoconostle 'Ulapa'  $ME_{X,3:7}$  presentaron un contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) de betacianinas siendo de  $2.41 \pm 0.13$  mg/100 g con respecto a  $ME_{X,1:0}$  que presentó un valor de  $1.62 \pm 0.05$  mg/100 g. Sin embargo no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el contenido de betaxantinas, siendo de  $1.77 \pm 0.05$  mg/100 g para  $ME_{X,3:7}$  y  $1.18 \pm 0.03$  mg/100 g para  $ME_{X,1:0}$ . Con respecto al contenido de betalaínas totales, se obtuvo un contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) en  $ME_{X,3:7}$  siendo de  $4.18 \pm 0.103$  mg/100 g con respecto a  $ME_{X,0:1}$  que presentó un valor de  $2.80 \pm 0.160$  mg/100 g.



**Tabla 10.** Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalaínas totales en microcápsulas.

Formulaciones	Betacianinas (mg/100g)	Betaxantinas (mg/100g)	Betalaínas Totales (mg/ 100g)
ME <sub>T,0:1</sub>	12.55 <sup>bz</sup>	4.87 <sup>b</sup>	17.43 <sup>b</sup>
ME <sub>T,3:7</sub>	13.01 <sup>a</sup>	6.49 <sup>a</sup>	19.50 <sup>a</sup>
ME <sub>X,1:0</sub>	1.62 <sup>d</sup>	1.18 <sup>c</sup>	2.80 <sup>c</sup>
ME <sub>X,3:7</sub>	2.41 <sup>c</sup>	1.77 <sup>c</sup>	4.18 <sup>c</sup>
CV (%)	1.284	13.912	5.011
DMS	0.248	1.302	1.438

<sup>z</sup> Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey P≤0.05.

CV: Coeficiente de variación; DMS Diferencia mínima significativa

ME<sub>A,B,C</sub> donde M denota microcápsula, E denota al extracto, el subíndice A denota el tipo de fruto (T=Tuna o X=Xoconostle), y el subíndice B:C es la proporción de extracto de pulpa: extracto de cáscara en la mezcla

### 6.2.2.2 Compuestos bioactivos en microcápsulas

Los resultados del contenido de compuestos bioactivos presentes en las microcápsulas se muestran en la tabla 11. Para las microcápsulas de extractos de tuna 'Orejón' la concentración de fenoles totales significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) fue de  $0.595 \pm 0.003$  mg EAG/ g para ME<sub>T,3:7</sub>, seguido de  $0.565 \pm 0.002$  mg EAG/ g para ME<sub>T,0:1</sub>. Mientras que el contenido de flavonoides en las formulaciones ME<sub>T,0:1</sub> y ME<sub>T,3:7</sub> no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ), siendo de  $1.62 \pm 0.002$  y  $1.66 \pm 0.002$  mg EQ/ g respectivamente. En cuanto al porcentaje de inhibición del radical DPPH el valor significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) fue de  $56.6 \pm 0.086$  % para ME<sub>T,3:7</sub>, seguido de  $49.8 \pm 0.069$  % para ME<sub>T,0:1</sub>. Mientras que el porcentaje de inhibición significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) para el radical ABTS fue de  $58.4 \pm 0.001$  % para ME<sub>T,3:7</sub>, seguido de  $56.2 \pm 0.001$  % para ME<sub>T,0:1</sub>.

Con respecto a las microcápsulas de extractos de xoconostle 'Ulapa' la concentración de fenoles totales significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) se presentó en la formulación ME<sub>X,3:7</sub> siendo de  $0.599 \pm 0.004$  mg EAG/ g, seguido de  $0.546 \pm 0.004$  mg EAG/ g para ME<sub>X,1:0</sub>. Mientras que la concentración de flavonoides significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) fue de  $1.64 \pm 0.003$  mg EQ/ g para ME<sub>X,3:7</sub>, seguido de  $0.960 \pm 0.003$  mg EQ/ g para ME<sub>X,1:0</sub>. Así

mismo el porcentaje de inhibición significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) para el radical DPPH fue de  $65.2 \pm 0.28$  % para  $ME_{X,3:7}$ , seguido de  $54.3 \pm 0.054$  % para  $ME_{X,1:0}$ . Mientras que el porcentaje de inhibición significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) para el radical ABTS fue de  $59.8 \pm 0.001$  para  $ME_{X,3:7}$ , seguido de  $56.0 \pm 0.001$  % para  $ME_{X,1:0}$ .

La formulación  $ME_{T,3:7}$ , fue la relación que presentó un contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) de fenoles totales y actividad antioxidante por el método DPPH. Mientras que en el contenido de flavonoides y actividad antioxidante por el método ABTS no se presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) con la formulación  $ME_{T,0:1}$ . Respecto a los extractos de xoconostle 'Ulapa' la relación que mostró un contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) de fenoles totales, flavonoides, actividad antioxidante por el método de DPPH y ABTS fue la relación  $ME_{X,3:7}$ .

Con los resultados presentados se puede inferir que en las microcápsulas existe la presencia de otras sustancias que proporcionan compuestos bioactivos. Tales como el ácido ascórbico presente en los frutos de *Opuntia* spp. variable que en este trabajo no fue evaluada, o bien, el material de pared, ya que algunos autores (López- Franco., et al 2011) mencionan que la goma de mezquite presenta compuestos que confieren actividad antioxidante, por lo tanto podemos decir que los compuestos bioactivos no son un buen indicador para determinar la degradación, puesto que existen otros factores que intervienen. A diferencia del contenido de betalaínas totales, ya que estos pigmentos fueron otorgados únicamente por los extractos de los frutos de *Opuntia* spp.

*Tabla 11. Compuestos bioactivos en microcápsulas de extractos.*

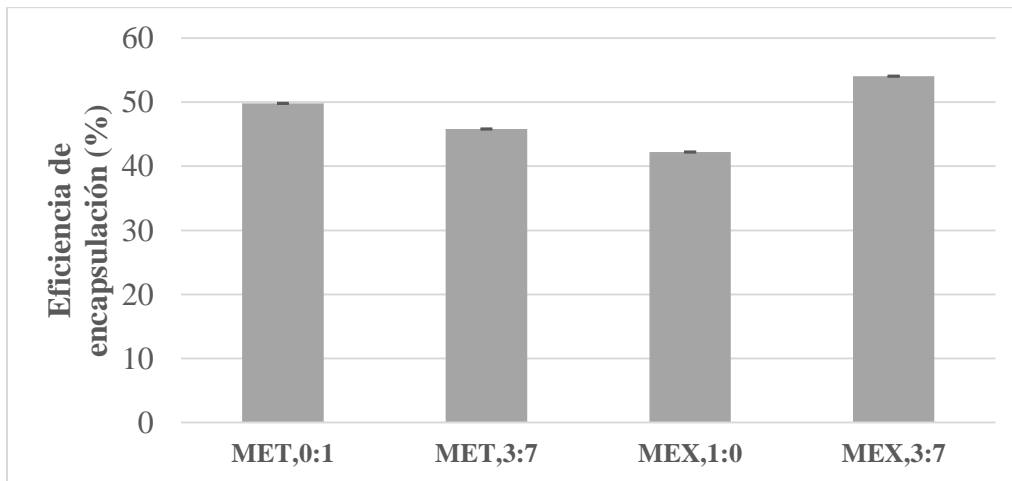
<b>Formulaciones</b>	<b>Fenoles (mg EAG/ g)</b>	<b>Flavonoides (mg EQ/ g)</b>	<b>Actividad antioxidante DPPH (% de Inhibición)</b>	<b>Actividad antioxidante ABTS (% de Inhibición)</b>
<b>ME<sub>T,0:1</sub></b>	0.565 <sup>bz</sup>	1.62 <sup>a</sup>	49.8 <sup>d</sup>	21.1 <sup>d</sup>
<b>ME<sub>T,3:7</sub></b>	0.595 <sup>a</sup>	1.66 <sup>a</sup>	56.6 <sup>b</sup>	22.9 <sup>c</sup>
<b>ME<sub>X,1:0</sub></b>	0.546 <sup>c</sup>	0.96 <sup>b</sup>	54.3 <sup>c</sup>	26.4 <sup>ab</sup>
<b>ME<sub>X,3:7</sub></b>	0.599 <sup>a</sup>	1.64 <sup>a</sup>	65.2 <sup>a</sup>	26.9 <sup>a</sup>
<b>CV (%)</b>	0.515	1.793	0.609	2.355
<b>DMS</b>	0.0078	0.0069	0.9007	3.546

<sup>z</sup> Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey  $P \leq 0.05$ .  
CV: Coeficiente de variación; DMS Diferencia mínima significativa.

ME<sub>A,B:C</sub> donde M denota microcápsula, E denota al extracto, el subíndice A denota el tipo de fruto (T=Tuna o X=Xoconostle), y el subíndice B:C es la proporción de extracto de pulpa: extracto de cáscara en la mezcla; EAG: Equivalente de Ácido Gálico; EQ: Equivalente de Quercetina;

**6.2.3 Eficiencia de encapsulación**

La eficiencia de encapsulación (figura 16) se determinó en base a la concentración de betalaínas totales en las microcápsulas ( $B_{TM}$ ), tal como se describe en el apartado 5.7. En las microcápsulas de extractos de tuna 'Orejón' la eficiencia de encapsulación fue de  $49.8 \pm 0.054$  % para  $ME_{T,0:1}$  y de  $45.8 \pm 0.057$ % para  $ME_{T,3:7}$ . Mientras que para las microcápsulas de extractos de xoconostle 'Ulapa' la eficiencia de encapsulación fue de  $42.2 \pm 0.28$  % para  $ME_{X,1:0}$  y de  $54.07 \pm 0.08$  % para  $ME_{X,3:7}$ . Con lo que podemos observar que las formulaciones  $ME_{T,0:1}$  y  $ME_{X,3:7}$  donde está presente el extracto de cáscara fueron las que presentaron los valores más elevados de eficiencia de encapsulación. Algunos autores (Sáenz, *et al.*, 2009) han reportado que ciertas sustancias presentes en los frutos de *Opuntia* spp. como fibra y mucílago intervienen en el rendimiento de encapsulación. Por lo tanto a partir de los resultados encontrados en este trabajo se puede inferir que en la cáscara de los frutos de *Opuntia* spp. están presentes sustancias que intervienen en la protección de los compuestos bioactivos tales como betalaínas, resultando en valores mayores del rendimiento de encapsulación.

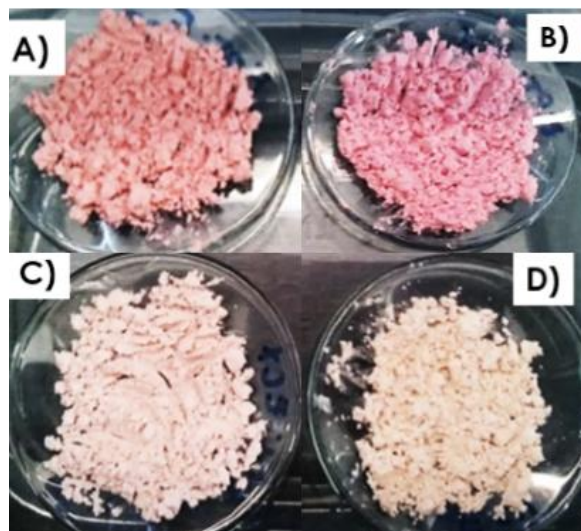


**Figura 16.** Eficiencia de encapsulación de las formulaciones  $ME_{T,0:1}$ ;  $ME_{T,3:7}$ ;  $ME_{X,1:0}$  y  $ME_{X,3:7}$ .

**6.3 ETAPA III. Resultados de apariencia de las microcápsulas de extractos.**

**6.3.1 Color en microcápsulas.**

El aspecto visual de las microcápsulas obtenidas del secado por aspersion se muestra en la figura 17, para las formulaciones  $ME_{T,0:1}$ ,  $ME_{T,3:7}$ ,  $ME_{X,1:0}$  y  $ME_{X,3:7}$ .



**Figura 17.** Microcápsulas de extractos de frutos de *Opuntia* spp. A)  $ME_{T,0:1}$ ; B)  $ME_{T,3:7}$ ; C)  $ME_{X1:0}$  y D)  $ME_{X,3:7}$ .

La apariencia de las microcápsulas respecto a los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) se presentan en la tabla 12, donde se muestra que la microencapsulación mediante secado por aspersión tuvo un efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) sobre dichos parámetros en los extractos de tuna 'Orejón' y xoconostle 'Ulapa'. El parámetro  $L^*$  en las microcápsulas de extractos de xoconostle 'Ulapa' presentó una mayor luminosidad, siendo de  $49.97 \pm 0.24$  para  $ME_{X,3:7}$  y  $44.32 \pm 0.14$  para  $ME_{X1:0}$ , comparadas con las microcápsulas de los extractos de tuna 'Orejón' siendo de  $37.86 \pm 0.21$  para  $ME_{T,3:7}$  y  $34.38 \pm 0.42$  para  $ME_{T,0:1}$ . Los valores obtenidos respecto al parámetro  $a^*$ , muestran que las microcápsulas de los extractos de tuna 'Orejón' son más rojos, siendo de  $19.08 \pm 0.11$  para  $ME_{T,3:7}$  y  $13.84 \pm 0.17$  para  $ME_{T,0:1}$ , comparadas con las microcápsulas de los extractos de xoconostle 'Ulapa' siendo de  $5.76 \pm 0.07$  para para  $ME_{X1:0}$  y  $5.23 \pm 0.01$  para para  $ME_{X3:7}$ . Las microcápsulas de los extractos de tuna 'Orejón', tienden hacia la tonalidad azul ya que presentaron valores negativos para el parámetro  $b^*$ , siendo de  $-8.91 \pm 0.05$  para  $ME_{T,3:7}$  y  $-5.77 \pm 0.11$  para  $ME_{T,0:1}$ . A diferencia de las microcápsulas de los extractos de xoconostle 'Ulapa' que tienden hacia la tonalidad amarilla debido a que presentan valores positivos para el parámetro  $b^*$ , siendo de  $4.52 \pm 0.05$  para  $ME_{X1:0}$  y  $3.91 \pm 0.04$  para  $ME_{X3:7}$ .

**Tabla 12.** Análisis de color a microcápsulas de extractos.

Microcápsulas de Extractos	Color		
	L*	a*	b*
<b>ME<sub>T,0:1</sub></b>	34.38 <sup>d</sup>	13.84 <sup>b</sup>	-5.77 <sup>c</sup>
<b>ME<sub>T,3:7</sub></b>	37.86 <sup>c</sup>	19.08 <sup>a</sup>	-8.91 <sup>d</sup>
<b>ME<sub>X,1:0</sub></b>	44.31 <sup>b</sup>	5.78 <sup>c</sup>	4.52 <sup>a</sup>
<b>ME<sub>X,3:7</sub></b>	49.97 <sup>a</sup>	5.23 <sup>d</sup>	3.91 <sup>b</sup>
<b>CV (%)</b>	0.752	1.126	-5.17
<b>DMS</b>	0.818	0.323	0.211

<sup>z</sup> Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey P≤0.05.

CV: Coeficiente de variación; DMS Diferencia mínima significativa

ME<sub>A,B:C</sub> donde M denota microcápsula, E denota al extracto, el subíndice A denota el tipo de fruto (T=Tuna o X=Xoconostle), y el subíndice B:C es la proporción de extracto de pulpa: extracto de cáscara en la mezcla

### 6.3.2 Análisis de estabilidad térmica

La morfología de las microcápsulas ME<sub>T,0:1</sub>, ME<sub>T,3:7</sub>, ME<sub>X,1:0</sub>, y ME<sub>X,3:7</sub> se muestran en la figura 18. La microscopía electrónica de barrido muestra las características antes y después del análisis de estabilidad térmica al que fueron expuestas dichas microcápsulas. Donde se puede apreciar que el tratamiento térmico no afectó la morfología de las microcápsulas. Aunado a esto, el contenido de betalaínas totales antes y después del tratamiento térmico no presenta diferencias estadísticamente significativas (p≤0.05) tal como se muestra en la tabla 13.

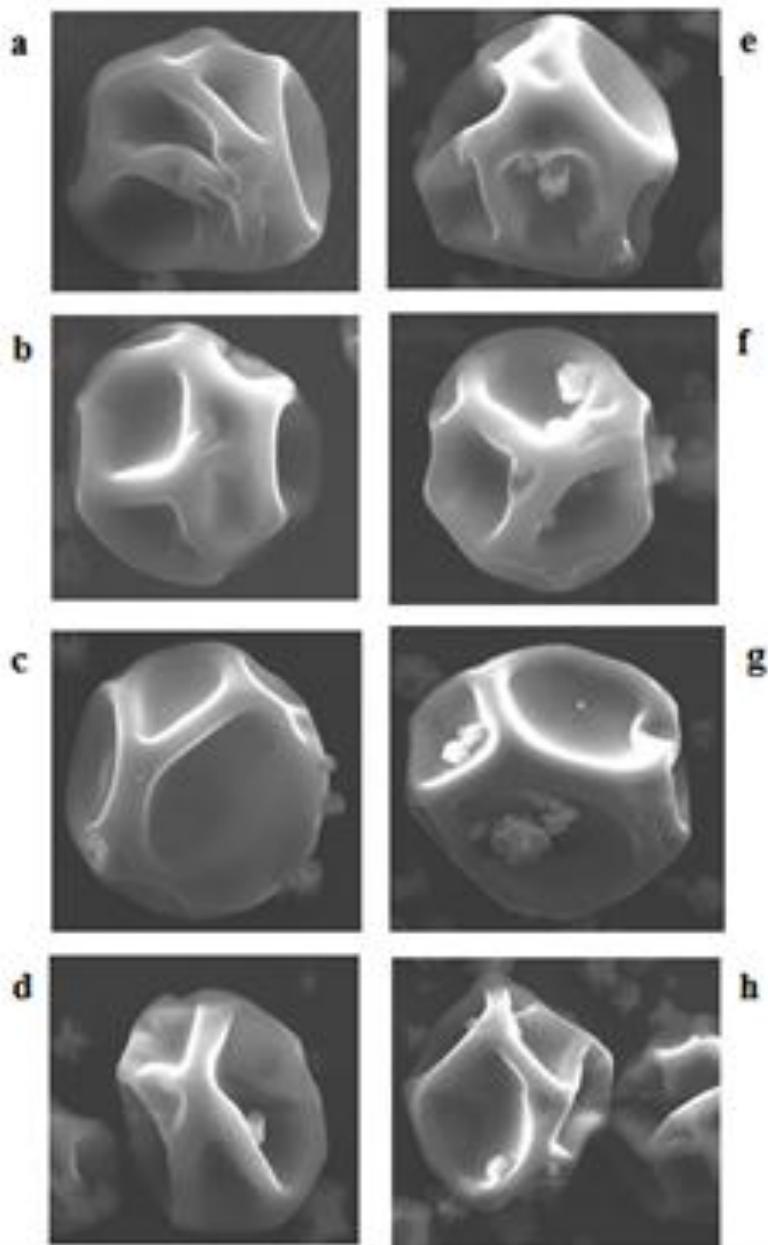
**Tabla 13.** Contenido de betalaínas antes y después del análisis de estabilidad térmica

Formulaciones	Betalaínas totales (mg/100 g)	
	Antes	Después
<b>ME<sub>T,0:1</sub></b>	17.43 <sup>b</sup>	17.13 <sup>b</sup>
<b>ME<sub>T,3:7</sub></b>	19.50 <sup>a</sup>	19.19 <sup>a</sup>
<b>ME<sub>X,1:0</sub></b>	2.80 <sup>c</sup>	2.64 <sup>c</sup>
<b>ME<sub>X,3:7</sub></b>	4.18 <sup>c</sup>	4.06 <sup>c</sup>
<b>CV (%)</b>	5.011	1.121
<b>DMS</b>	1.438	0.315

<sup>z</sup> Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey P≤0.05.

CV: Coeficiente de variación; DMS Diferencia mínima significativa

ME<sub>A,B:C</sub> donde M denota microcápsula, E denota al extracto, el subíndice A denota el tipo de fruto (T=Tuna o X=Xoconostle), y el subíndice B:C es la proporción de extracto de pulpa: extracto de cáscara en la mezcla



**Figura 18.** Microcápsulas observadas con microscopía electrónica de barrido; a)  $ME_{T,0:1}$ , antes del tratamiento térmico; b)  $ME_{T,3:7}$ , antes del tratamiento térmico; c)  $ME_{X,1:0}$ , antes del tratamiento térmico; d)  $ME_{X,3:7}$ , antes del tratamiento térmico; e)  $ME_{T,0:1}$ , después del tratamiento térmico; f)  $ME_{T,3:7}$ , después del tratamiento térmico; g)  $ME_{X,1:0}$ , después del tratamiento térmico; h)  $ME_{X,3:7}$ , después del tratamiento térmico.

## 7 CONCLUSIONES

Los extractos (pulpa, cáscara y mezclas) de frutos de *Opuntia* spp. son una buena fuente de pigmentos naturales (betalaínas totales), sin embargo las formulaciones que presentan un contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) fueron  $E_{T,0:1}$  y  $E_{X,3:7}$ , relaciones en las que cabe resaltar se presenta el extracto de cáscara, siendo en las que se mostró una mayor eficiencia de encapsulación.

Mientras que en cuanto al contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante las formulaciones  $E_{T,3:7}$  y  $E_{X,3:7}$  son en las que permanece la mayor concentración ( $p \leq 0.05$ ) de dichos compuestos. Con lo que se infiere que en las microcápsulas existe la presencia de otras sustancias que proporcionan compuestos bioactivos. Mismos que pueden estar directamente relacionados con propiedades del fruto así como con el material de pared.

Por lo tanto las betalaínas pueden ser un buen indicador de la degradación de los compuestos microencapsulados mediante la técnica de secado por aspersión, ya que su cuantificación no se ve afectada cuando se usa goma de mezquite como material de pared.

En base al color, los extractos y microcápsulas de tuna 'Orejón' son más rojos que los extractos y microcápsulas de xoconostle 'Ulapa'.



## 8 REFERENCIAS

- Amaya, R.L. y Portillo, M.C. (2013). Determinación de Fenoles, Flavonoides y Capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio Chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta- visible. Para optar el grado de Licenciatura en química y Farmacia. Universidad de el Salvador, Facultad que Química y Farmacia. San Salvador, el Salvador, Centro América.
- Ángeles, M.L.; (2009). Dimensionamiento y simulación de un secador por aspersion de nivel piloto. Instituto Politécnico Nacional. Tesis para obtener el grado de Maestro en ciencias de Bioprocesos. México DF.
- Aquino, B. E.; Chavarría, M.Y.; Chávez, S.J.; Guzmán, G.R.; Silva, H.E. & Verdalet, G.I. (2012). Caracterización fisicoquímica de siete variedades de tuna (*Opuntia spp.*) color rojo-violeta y estabilidad del pigmento de las dos variedades con mayor concentración. Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. 55, 3-10.
- Arvouet, G. A.; Vennat B.; Pourrat A. y Legret P. (1994). Standardization d'une extrait de propolis et identification des principaux constituents, Journal de Pharmacie de Belgique, 49, 462-468
- Azeredo, H. (2009). Betalains properties, sources, applications, and stability – a review. Food Science & Technology. 44, 2365–2376.
- Brand, W.; Cuvelier, M. y Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 28.25-30.
- Cai, Y. & Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments. Journal of food science. Vol. 65, No. 6. 1248- 1252.
- Castellanos,S.E. & Yahia,E.M. (2008). Identification and Quantification of Betalains from the Fruits of 10 Mexican Prickly Pear Cultivars by High-Performance Liquid Chromatography and Electrospray Ionization Mass Spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56, 5758-5764.

- Cerezal, P & Duarte, G. (2005). Algunas características de tunas (*Opuntia ficus-índica* (L.) Miller) cosechadas en el altiplano de la 2<sup>da</sup> Región de Chile. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 34-60.
- Desai, K. G. & Park, H. J. (2005). Recent development in microencapsulation of foods ingredients. *Drying Technology*, 23: 1361-1394.
- Fang, Z. y Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols - a review. *Trends in Food Science & Technology* 21, 510-523.
- Figuroa, C.I., Martínez, D.M., Rodríguez, P.E., Colinas, L.A., Valle, G.S., Sweetia, R.R. y Gallegos, V.C. (2010) Pigments content, other compounds and antioxidant capacity in 12 cactus pear cultivars (*Opuntia* spp.) from Mexico. *Agrociencia* 44:763-771
- Gallegos, V. C.; Scheinvar, L.; Silos, E. H.; Fuentes, H. A.; Martínez, G. C.; Olalde, P. G.; Gallegos, L. N. (2014). ‘Sainero’: new variety of xoconostle for the northern region of central Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.5 Núm.6. 1125-1131.
- García, E. (2004). *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen*. México: Instituto de Geografía UNAM.
- García, R.J. (2009). El xoconostle, un fruto con alto valor nutrimental y nutracéutico. *Prácticas básicas para su producción*. Número 6.
- González, A.E., Campos, M.R., Pinedo, E.J., Aguirre, A.G. y Hernández, F.A. (2014). Stability of color in extracts from different genotypes from red prickly pear (*Opuntia* spp.). *Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan* 2(4): 728-735.
- González, A.E. (2014). Aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje en la extracción de pigmentos y compuestos antioxidantes de tunas rojas (*Opuntia* spp.). Tesis para obtener el grado de Maestra en Ciencia de los Alimentos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Gorena, T., Sepúlveda, E., Sáenz, C. (2010). Compuestos Bioactivos y actividad antioxidante de frutos de granado (*Punica granatum* L.). *Ingredientes funcionales. La alimentación Latinoamericana*. N° 285. 48-52.

- Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. (2001). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*; 13: 572–584.
- Hernández, F.A.; Trapala, I.A.; Gallegos, V.C.; Campos, M.R.; Pinedo, E. J. y Guzmán, M.S. (2015). Physicochemical variability and nutritional and functional characteristics of xoconostles (*Opuntia* spp.) accessions from Mexico. *Fruits*. 70(2), p. 109-116.
- Huang D., Ou B., Prior R.L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 53: 1841–1856.
- CONAZA (Comisión Nacional de las Zonas Áridas). (1994). Nopal tunero *Opuntia* spp. cultivo alternativo para las zonas áridas y semiáridas de México. CONAZA, Instituto Nacional de Ecología. 61pp.
- Jiménez, S.C. (2011). Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan. *Revista digital universitaria*. Volumen 12. 1067-6079.
- Konica minolta. Entendiendo El Espacio de Color CIE L\*a\*b\*. Instrumentos de medición. Visita online: 29.09.2015.
- <http://sensing.konicaminolta.com.mx/2014/09/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>
- Kukoski, E., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini-Filho, J., y Fett, R., (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25: 726-732.
- Kumarappan C.T., Thialagam E., Mandal S. (2012). Antioxidant activity of polyphenolic extracts of *Ichnocarpus frutescens*. *Saudi Journal of Biological Sciences*; 19: 349- 355.
- López, F.Y.; Goycoolea, M.F.; Valdéz, V.M. & Calderón. D.A. (2006) Goma de mezquite: una alternativa de uso industrial. *Asociación Interciencia Caracas, Venezuela*. 31 (3). 183-189.

- Márquez, B.S., Torcuato, C.C., Almaguer, V.G., Colinas, L.M., & Khalil, G.A. (2012). El sistema productivo del nopal tunero (*Opuntia albicarpa* Y *Opuntia megacantha*) en Axapusco, estado de México. Problemática y alternativas. Revista Chapingo. Serie Horticultura. 18, 81-93.
- Meda, A.; Euloge, L.C.; Romito, M. Millogo, J. y Germaine, N.O. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in
- Moßhammer, M.R.; Stinzing, C.F. & Carle, R. (2006). Cactus Pear Fruits (*Opuntia spp.*) A Review of Processing Technologies and Current Uses. J. PACD. 1-25.
- Morales, G. J.; Medina, T.M.; Andrade, E.E.; Guzmán, M. S. y Hernández, L.D. (2010). Evaluación de los efectos del secado por aspersion sobre los compuestos fitoquímicos-funcionales y características fisicoquímicas en encapsulados de zarzamora (*Rubus spp.*). XII congreso nacional de ciencia y tecnología de alimentos. Instituto Tecnológico de Celaya. FH 1191- FH 11923
- Morales, L.E. (2012). Evaluación de las propiedades funcionales de pulpa de xoconostle (*Opuntia Oligacantha*) y su concervación mediante microcápsulas. Tesis para obtener el grado de Maestra en Ciencia de los Alimentos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Morales, M.A. (2009). Caracterización fitoquímica funcional del fruto de Xoconostle Cuaresmeño (*Opuntia matudae*) y el efecto de su consumo en parámetros Bioquímicos de ratas diabéticas. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Morales, P.; Barros L.; Ramírez, M.E.; Santos, B.C. y Ferreira, I. (2014). Exploring xoconostle by-products as sources of bioactive compounds. Food Research International 65. 437–444.
- Moreno, A.M.; Medina, C.; Antón, L.; García, D y Belén D. (2003). Uso de pulpa de tuna (*Opuntia boldinghii*) en la elaboración de bebidas pigmentadas. Interciencia, v.28 n.9 539

- Moreno, A.M.; García, P.D.; Camacho, B.D.; Medina M.c. & Muñoz, O.N. (2008). Análisis bromatológico de la Tuna *Opuntia elatior* Miller (Cactaceae). *Revista de la Facultad de Agronomía*, v.25 n.1.
- Obón, J.M.; Castellar, M.R.; Alacid, M. y Fernández, L.J. (2009). Production of a red-purple food *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *Journal of Food Engineering*. 90: 471-479.
- Ochoa, C. E. & Guerrero J. A. (2010). La tuna: una perspectiva de su producción, propiedades y métodos de conservación. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 4 (1): 49-63.
- Orozco, V. J., Cruz S. F., Ponce A. E., & Vernon C. E. (2003). Mesquite gum: fractionation and characterization of the gum exuded from *Prosopis laevigata* obtained from plant tissue culture and from wild trees. *Carbohydrate Polymers*, 54: 327-333.
- Osorio, E. O., Ortiz, M. A., Álvarez V.B., Dorantes, A. L. y Giusti M. M. (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*. 44: 2160-2168.
- Parra, H.R. (2010). Food Microencapsulation: A Review. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 63(2):5669-5684.
- Parra, O.V. (2004). Estudio comparativo en el uso de colorantes naturales y sintéticos en alimentos desde el punto de vista funcional y toxicológico. Tesis como requisito para el grado de Licenciado en Ciencias de los Alimentos. Chile.
- Pavon, P. N. (2009). *Cambio Climático en el esado de Hidalgo: clasificación y tendencias climáticas*. Pachuca, Hidalgo: Ciencia al día, UAEH.
- Pedroza, I.R. 2002. Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos para Larvas de Especies Acuícolas. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. México.
- Pimienta, B. E., Méndez M. L., Ramírez H., B., García, A., & Domínguez A., R. (2008). Efecto de la ingestión del fruto de xoconostle (*Opuntia joconostle* Web.) sobre la glucosa y lípidos séricos. *Agrociencia*, 42, 645–653.

- Pinedo, E.J.; Martínez, R. O.; Pinedo, G.Z.; Franco, B.A.; Gallegos, V.C. y Hernández, F.A. (2015). Comportamiento poscosecha de genotipos de xoconostles del estado de Zacatecas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 16, núm. 1, pp. 75-80
- Pinedo, G.Z. (2014). Compuestos bioactivos en cáscara y pulpa de genotipos de tuna roja. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Agronomía. Universidad Autónoma de Zacatecas.
- Ramírez, R.M.; García, M.M.; Corrales, G.J.; Ybarra, M.C. y Castillo, G.A. (2015). Antioxidant compounds in prickly pear (*Opuntia sp.*) pigmented varieties. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 38 (4) 349 - 357
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A. , Pannala, A., Ynag, M., Rice-Evans, C. (1998). Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26:1231-1237.
- Repo, C.R. & Encina, Z.C. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas Peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 74, N° 2 (108-124).
- Román, G.A.; Orozco, V.J.; Cruz, S.F.; Jiménez, A.R y Vernor, C.E. (2008). Application and evaluation of mesquite gum and its fractions as interfacial film formers and emulsifiers of orange peel-oil. *Food Hydrocolloids* 23. 708-713.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2011). Consultado online <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/boletines2/2011/julio/Documents/2011B371.pdf>.
- Sáenz, C. (2006). Utilización agroindustrial del nopal. *Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO*, 162-186.
- Sáenz, C., Tapia, S., Chávez, J., Robert, P. (2009). Microencapsulation by Spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food chemistry*, **114**: 616-622.

- Sainz, T., Drago, M., López, M. (2006). Componentes bioactivos de los alimentos de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. Vol 37, 58-68.
- Sánchez, J.R. (2013) La química del color en los alimentos. *Química viva*. Número 3, 234-246.
- Samprieto D.A., Catalan C., valtuone M. (2009). Isolation, identification and characterization of allelochemicals/natural products. Science publishers.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1998). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants, Part A*, 299, 152–178.
- Spácil Z., Novóková L., Solich P. (2008). Analysis of phenolic compounds by high performance liquid chromatography. *Talanta*; 76:189-199.
- Stintzing, F., Hebach, K., Mosshammer, M., Carle, R., Yi, W., y Sellappan, S. (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia spp.*) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**(2):442-451.
- Tomás, Ch.G., Huamán, M.J., Aguirre, M.R., Bravo, A.M., León, Q.J., Guerrero, A.M., Orihuela, R.C., Avelés, O.R. y Yanqui, D.E. (2012). Estudio químico y fitoquímico de la *Opuntia ficus-indica* “tuna”, y elaboración de un alimento funcional. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* Vol. 15: 70-74.
- Torres, M.E.; Ramírez, C.C.; Llamas, P.M.; Blancas, N.J.; Jiménez, G.E. & Sánchez, P.M. (2014). Caracterización química y funcional del xoconostle (*Opuntia xoconostle* variedad weber). XIX Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica VIII Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica XII Jornadas Científicas de Biomedicina y Biotecnología Molecular.
- Tovar, J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregión cafetera. Trabajo de grado para obtener el título de Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira. 14-20.

- Urango, M. L., Montoya, P. G., Cuadros, Q.M., Henao, C. D., Zapata, A. P., López, M. L., Castaño, E., Serna, L. A., Venegas, C., Loaiza, M., Davahiva, G. B. (2008). Efecto de los compuestos bioactivos de algunos alimentos en la salud. *Perspectivas en salud humana*. Vol. 11. 29-38.
- Vergara, H.C. (2013) Extracción y estabilización de betalaínas de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) mediante tecnología de membranas y microencapsulación, como colorante alimentario. Tesis para optar el grado de Doctor en Nutrición y Alimentos, Universidad de Chile. FONDECYT N°1110126.
- Vernon, C. y Gómez, S.A. (1996). Color degradation and coalescence kinetics of aztec marigold oleoresin-in-water emulsions stabilized by mesquite or arabic gums and their blends. *Journal of Texture Studies*.
- Viloria, M. A., Corbelli, M.D., Moreno, A.M. y Belén, C.D. (2002) Estabilidad de betalaínas en pulpa de tuna (*Opuntia boldinghii* Br. et R.) sometidas a un proceso de liofilización. *Revista de la Facultad de Agronomía*. V.19 n.4