



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DESARROLLO DE UNA GOLOSINA FUNCIONAL
ADICIONADA CON EXTRACTO DE BETALAÍNAS DE
PITAYA (*STENOCEREUS SPP.*)”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO EN ALIMENTOS**

PRESENTA

JOSE OSVALDO GIL ESCAMILLA

ASESORA

DRA. MARIA DOLORES HERNÁNDEZ NAVARRO



*Viajar es marcharse de casa,
es dejar los amigos
es intentar volar;
volar conociendo otras ramas
recorriendo caminos
es intentar cambiar.*

*Viajar es vestirse de loco
es decir "no me importa"
es querer regresar.
Regresar valorando lo poco
saboreando una copa,
es desear empezar.*

*Viajar en sentirse poeta,
escribir una carta,
es querer abrazar.
Abrazar al llegar a una puerta
añorando la calma
es dejarse besar.*

*Viajar es volverse mundano
es conocer otra gente
es volver a empezar.
Empezar extendiendo la mano,
aprendiendo del fuerte,
es sentir soledad.*

*Viajar es marcharse de casa,
es vestirse de loco
diciendo todo y nada en una postal.
Es dormir en otra cama,
sentir que el tiempo es corto,
viajar es regresar.*

Gabriel García Márquez

El trabajo experimental de esta tesis se realizó en el Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México, bajo la dirección de la Dra. María Dolores Hernández Navarro.

Las pruebas de actividad antioxidante se realizaron en la Escuela de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional bajo la dirección de la Dra. Marcela Hernández Ortega, así como en la Facultad de Química de la UAEMex, Campus Colon.

Las pruebas fisicoquímicas en producto final se realizaron en el Campus El Cerrillo de la Facultad de Química de la UAEMex.

Índice	Pagina
RESUMEN	1
Introducción	
I. Marco Teórico	
1.1 Características del género <i>Stenocereous spp</i>	3
1.1.1 Distribución geográfica	4
1.1.2 Características morfológicas	4
1.2 Betalaínas: Pigmentos funcionales	5
1.2.1 Estructura Química y clasificación	6
1.2.1.1 Betacianinas	7
1.2.1.2 Betaxantinas	7
1.2.2 Biosíntesis de Betalaínas	10
1.2.3 Propiedades fisicoquímicas y estabilidad	13
1.2.4 Propiedades nutraceuticas	15
1.3 Productos alimenticios con funcionalidad biológica	18
1.3.1 Principales características funcionales de los ingredientes seleccionados para el diseño y formulación de alimentos funcionales.	20
1.3.2 Edulcorantes naturales	20
1.3.3 Estevia	21
1.3.3.1 Propiedades funcionales y composición proximal del polvo de hoja de Stevia.	22
1.3.3.2 Constituyentes fitoquímicos	25
1.3.3.3 Propiedades Funcionales y nutraceuticas (beneficios para la salud)	25
1.3.3.4 Capacidad Antioxidante de <i>S. Rebaudiana</i>	27
1.3.4 Jarabe de Agave	29
1.3.4.1 Propiedades funcionales	30
1.3.5 Hidrocoloides	32
1.3.4.5 Propiedades funcionales.	35
Justificación	39
Hipótesis	41
Objetivos	44
II. Materiales y Método	
2. Procedimiento: Diagrama de flujo	48

2.1 Obtención de materia prima	49
2.2 Análisis fitoquímico preliminar	49
2.3 Extracción, cuantificación y caracterización de las betalaínas de la pitaya	51
2.3.1 Obtención de extractos	51
2.3.2 Cuantificación de fenoles totales por el ensayo de Folin- Ciocalteau.	52
2.3.3 Cuantificación de flavonoides totales	52
2.3.4 Cuantificación de betalaínas totales por espectrofotometría	53
2.3.5 Análisis colorimétrico de los frutos	54
2.3.6 Evaluación de la toxicidad aguda	54
2.3.7 Determinación de la capacidad antioxidante por el método del radical DPPH	55
2.3.8 Determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS ⁺	56
2.4 “Desarrollo de Formulaciones de golosinas funcionales”	56
2.4.1 Diseño de formulaciones.	56
2.4.2 Forma de preparación de las golosinas	57
2.4.3 Características fisicoquímicas de las golosinas formuladas (pH, °Brix, color, textura)	57
2.4.4 Evaluación Sensorial	158
2.5 “Evaluación de la funcionalidad de las golosinas”	59
2.6 Análisis Estadístico	59
III. Resultados y Discusión	60
3.1 Composición fitoquímica de la Pitaya	60
3.2 Caracterización y contenido de betalainas, fenoles y flavonoides totales.	64
3.2.1 Colorimetria de la Pitaya	64
3.2.2 Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalaínas totales en extractos de Pitaya	66
3.2.3 Toxicidad Aguda de Extractos de Pitaya	73
3.2.4 Contenido de fenoles y flavonoides totales	74
3.2.5 Actividad antioxidante de los extractos de Pitaya	77
3.3 “Formulacion de golosinas funcionales”	80
3.3.1 Formulaciones de golosinas	80
3.3.2 Perfil de Sabor	82
3.3.3 Perfil de Textura	83
3.3.4 Prueba de preferencia	84

3.3.5 Propiedades fisicoquímicas de las formulaciones desarrolladas (pH, °Brix, color)	85
3.4 Funcionalidad de las golosinas	87
3.4.1 Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalínas en producto terminado	87
3.4.2 Contenido de fenoles y flavonoides totales en producto terminado.	89
3.4.3 Capacidad antioxidante, ensayo DPPH y ABTS en producto terminado	91
IV Conclusiones	94
V Referencias Bibliográficas	95
Anexos	108

Índice de Figuras

Nº de figura	Nombre de la figura	Pág.
1	Cactáceas comestibles (tuna y pitaya)	1
2	Planta de Pitaya	3
3	Fruto de Pitaya	3
4	Estructura general de las betalaínas	4
5	Estructura del ácido betalámico	4
6	Estructura química de las Betacianinas	4
7	Estructura química de las Betaxantinas	4
8	Estructura química de la betanina	5
9	Estructura química de la isobetanina	5
10	Estructura química de la indicaxantina	5
11	Estructura química de la miraxantina	5
12	Estructuras de las diferentes betacianinas y betaxantinas en diferentes tunas del género <i>Opuntia ficus indica</i>	7
13	Esquema general de la síntesis de la betanina	12
14	Degradación de la betanina	14
15	Clasificación de edulcorantes	20
16	Estructura química de los glucosidos mayoritarios en la hoja de <i>Stevia rebaudiana</i>	25
17	Niveles de glucosa en ratones inducidos a diabetes con STZ después de una semana con diferentes tratamientos	27
18	Respuesta glicémica después de la ingesta de diferentes edulcorantes	31
19	Contenido de fenoles y flavonoides en pulpa y cáscara de pitaya	54
20	Contenido de taninos en pulpa y cáscara de pitaya	55
21	Contenido de glucósidos en pulpa y cáscara de pitaya	56
22	Contenido de saponinas en pulpa y cáscara de pitaya	57
23	Análisis colorimétrico para las diferentes partes del fruto de pitaya (Chroma, °h, *L, b, a)	58
24	Espectros de absorción UV-Vis de los extractos de Betalaínas	61
25	Actividad antioxidante de los extractos de pitaya por ABTS y DPPH	70
26	Golosinas desarrolladas con extracto de betalaínas	73
27	QDA para perfil de sabor de las golosinas desarrolladas	74

28	Análisis gráfico de perfil de textura de las golosinas desarrolladas	75
29	Grado de preferencia de las golosinas desarrolladas evaluadas por el consumidor	76
30	Actividad antioxidante de las formulaciones desarrolladas por ABTS y DPPH	84
31	Curva de calibración fenoles totales	102
32	Curva de calibración flavonoides totales	104

ÍNDICE DE CUADROS

1	Betaxantinas y betacianinas identificadas en el jugo de varias tunas del género <i>Opuntia ficus indica</i>	6
2	Comparación del contenido de betalainas en diferentes especies de frutos de cactáceas	8
3	Prominentes tipos de alimentos funcionales	19
4	Propiedades fisicoquímicas del polvo de Stevia	22
5	Análisis proximal de las hojas secas de Stevia	23
6	Vitaminas hidrosolubles de los extractos de hoja y callo de Stevia rebaudiana.	24
7	Actividad antioxidante de Stevia por diferentes técnicas	28
8	Contenido de carbohidratos de diferentes edulcorantes	29
9	Propiedades funcionales de los hidrocoloides aplicados en la industria de alimentos	33
10	Efecto metabólico de hidrocoloides-mecanismo de acción	37
11	Formulaciones basadas en el porcentaje de reducción de azúcar y glucosa	50
12	Análisis fitoquímico preliminar de pulpa y cáscara de Pitaya	54
13	Comparación del contenido de betalaínas en diferentes especies de frutos de cactáceas	62
14	Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en extractos de Pitaya	67
15	Coeficientes de Pearson entre las diferentes actividades antioxidantes y el contenido de betalainas totales y fenoles totales.	71
16	Principales características fisicoquímicas de las golosinas desarrolladas	77
17	Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalainas totales en formulaciones desarrolladas	80
18	Contenido de fenoles y flavonoides totales en formulaciones desarrolladas.	82
19	Curva de calibración para la determinación de fenoles totales	101
20	Datos de absorbancia para la determinación de fenoles totales	101
21	Curva de calibración para la determinación de flavonoides totales	103
22	Datos de absorbancia para la determinación de flavonoides totales	103

Resumen

Las betalaínas juegan un papel importante para la salud humana, debido a su actividad farmacológica como antioxidante, anticancerígeno, antilipídico y antimicrobiano. El objetivo de este trabajo fue cuantificar el contenido de Betalaínas, compuestos fenólicos, y su capacidad antioxidante en las diferentes partes del fruto (*Stenocereus spp*), y previo a un estudio de evaluación de toxicidad aguda del extracto de pitaya, será empleado como un ingrediente para la formulación de una golosina con acción funcional.

La cantidad de betalaínas, fenoles y flavonoides fue significativamente ($P < 0.05$) mayor en pulpa liofilizada en comparación a los extractos cetónicos de pulpa y cáscara.

La actividad antioxidante se realizó con los métodos ABTS y DPPH, los resultados mostraron que la mayor actividad antioxidante se encuentra en el extracto de cáscara, con un 94.05% y 88.28%, de inhibición del radical ABTS y DPPH, respectivamente, dicha actividad se correlaciona al contenido de fenoles ya que la cantidad de Betalaínas fue menor en comparación a la pulpa, donde la actividad antioxidante se relacionó fuertemente tanto al contenido de Betalaínas como al de fenoles.

La DL50 fue mayor a 5000 mg/kg por lo que de acuerdo a la clasificación de toxicidad se considera prácticamente inocua. Se desarrollaron tres formulaciones de golosinas gelificadas, con una reducción de azúcar y glucosa del 0%, (Formulación 1), 60% (Formulación 2) y 100% (Formulación 3), la cual fue sustituida por jarabe de agave y estevia. Se utilizó la pitaya liofilizada al 0.4% (w/w) como colorante alimentario y como agente gelificante grenetina al 7.5% (w/w) en las 3 formulaciones, a pesar del proceso de elaboración de las golosinas se observó un incremento en la cantidad de betalaínas y fenoles cuando se redujo el porcentaje de sacarosa y glucosa.

I. Marco Teórico

1.1. *Stenocereous Spp.*

Las cactáceas son una familia de plantas constituida por alrededor de 1600 especies. Los miembros de estas especies se encuentran en forma nativa desde Chile y Argentina hasta Canadá, se cultivan en más de 30 países (Esquivel, 2001)

México es centro de origen y diversidad de cactáceas, muchas de las cuales pertenecen principalmente a especies de *Opuntia* y *Pachycereae*, que han sido importantes para el desarrollo de algunas zonas de Mesoamérica y Aridoamerica (Luna, 2010).

Estas plantas tienen la característica de que utilizan de manera eficiente el agua, lo que ocasiona que su requerimiento de ésta sea mínimo (Luna, 2010). Por lo tanto, las cactáceas constituyen especies clave para la estabilidad de las comunidades bióticas en las zonas áridas y semiáridas, además de ser recursos de un considerable potencial económico (Bárcenas y Jiménez, 2010).

Las cactáceas comestibles se pueden clasificar en tres tipos: a) las tunas (*Opuntia spp*), b) las pitayas (*Stenocereus spp*) y c) las pereskias. (Fig. 1)



Fig 1. Cactáceas comestibles (tuna y pitaya)

Al ser diversas las especies que engloban a las cactáceas, el presente estudio se enfoca en la especie *Stenocereus spp*, la mayor parte de estas especies produce frutos comestibles llamados Pitayas, con la característica de que al madurar pierden sus espinas, facilitando de este modo su comercialización y consumo (Bárcenas, 2010)

1.1.1 Distribución Geográfica

La pitaya se cultiva en forma comercial principalmente en Vietnam, Tailandia, Israel, Nicaragua, México, Guatemala, Colombia y Ecuador.

En México esta especie se cultiva y comercializa principalmente en: (Flores y Caludio, 2003)

- El Valle de Tehuacán en el Estado de Puebla, esta zona árida cuenta con la mayor diversidad de cactáceas en América del Norte.
- El Estado de Zacatecas, en el municipio de Monte Escobedo.
- El Estado de Hidalgo, en la región de la Barranca de Metztitlan
- En el desierto de Sonorense (península de Baja California y planicie costera de Sonora)
- Chihuahua

Las Pitayas crecen bien en climas tropicales y subtropicales, sobre todo en zonas libres de heladas. Toleran climas frescos o cálidos, siempre que las temperaturas no excedan los 38°C. Se adaptan a sombra parcial y pueden resultar dañadas por la luz solar extrema. Se les considera como cultivo de pleno sol en sus países de origen.

1.1.2. Morfología

La Pitaya corresponde a cactáceas de los géneros *Stenocereus* y *Cereus*, que presentan hábito columnar y frutos comestibles.

Se caracteriza por sus tallos de gran altura, erectos y acanalados, los que presentan 6 costillas (fig 2).

Las flores de la pitaya son generalmente blancas abren en la noche y luego a la mañana siguiente los pétalos se cierran.

El fruto es una baya de forma ovoide, con exuberantes brácteas en la superficie. Al avanzar en la madurez del fruto, la cáscara y la pulpa de algunas variedades cambia

de color a rojo, púrpura o amarillo. Algunas variedades presentan espinas, las cuales se desprenden con un cepillo al momento de madurar la fruta (figura 3).



Fig 2. Planta de Pitaya (*Stenocereus Spp*)



Fig 3. Fruto maduro de Pitaya

1.2. BETALAÍNAS: PIGMENTOS FUNCIONALES

El color característico de la pulpa de la Pitaya se debe a la presencia de betalaínas., pigmentos vegetales hidrosolubles, que se caracterizan del resto por contener nitrógeno en su estructura. Se acumulan en flores, frutas y, de forma ocasional, en el tejido de vegetativo de las familias del orden de las Cariofiales.

Entre las especies comunes que contienen betalaínas está la remolacha roja o (betabel). También se han encontrado en algunas especies de amaranto, flores de bugambilia y en algunas especies de hongos (*Amanita muscaria*); en algunos frutos de cactáceas como las tunas, el garambullo, jiotilla y xoconostle (Franco, 2004).

Hasta el momento se han identificado en la naturaleza más de 50 betalaínas, cifra que aumenta constantemente (García et al., 2011)

Las betalaínas tienen actividad fenólica, los frutos que contienen estos pigmentos también contienen fenoles de diversos tipos, excepto antocianinas, pues estas dos clases de pigmentos son mutuamente excluyentes (Wu et al., 2005).

1.2.1 Estructura Química y clasificación

Químicamente, la definición de betalaínas abarca a todos los compuestos con estructuras basadas en la fórmula general, mostrada en la figura 4, son derivados de la condensación de una amina primaria o secundaria con el Ácido Betalámico (García et al, 2011) (figura 5)

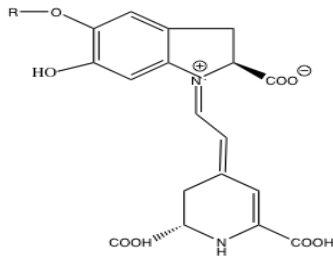


Fig 4. Estructura general de las Betalaínas

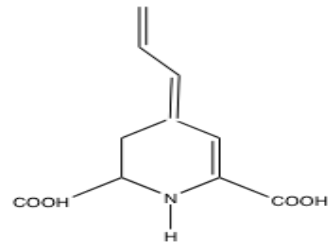


Fig 5. Estructura del Ácido Betalámico

Las betalaínas están formadas por dos tipos de pigmentos, los rojos violetas denominados betacianinas y los amarillos denominados betaxantinas (Fennema, 2005).

Ambos pigmentos comparten estructuralmente como unidad básica, el ácido betalámico, la diferencia radica que en las betacianinas (fig 6) el ácido betalámico se encuentra conjugado con ciclo-dihidroxifenilalanina (ciclo-DOPA) y en las betaxantinas (fig 7) se encuentra condensado con un aminoácido o amina. (García et al, 2011)

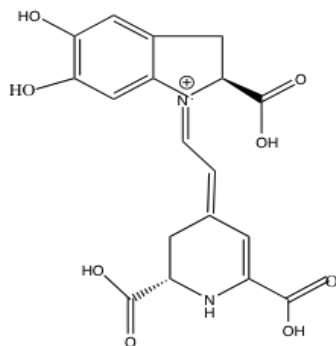


Fig 6. Betacianinas

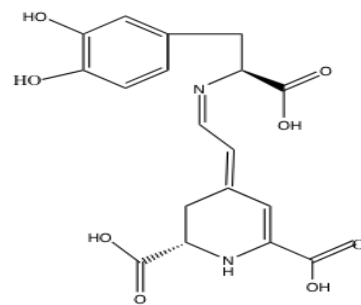


Fig 7. Betaxantinas

1.2.1.1. Betacianinas

Son pigmentos de color rojo-púrpura se consideran glucósidos, su principal componente es la Betanina (hasta un 95% de las betacianinas del betabel). Todas las betacianinas pueden ser derivadas de dos núcleos básicos, la betanina (fig 8) y la isobetanimina (Fig 9), por glicosidación de uno de los grupos hidroxilos localizados en la posición cinco o seis.

Su naturaleza es altamente iónica por contener tres grupos carboxilos, además de un grupo fenólico. Generalmente representan del 75 al 95% de las betalaínas.

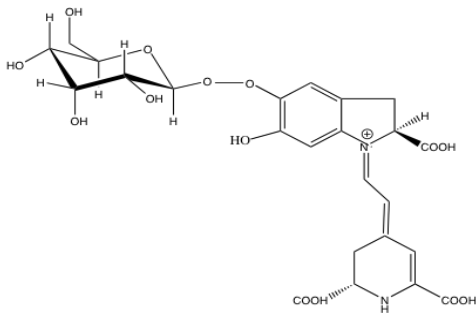


Fig 8 Estructura química de la betanina

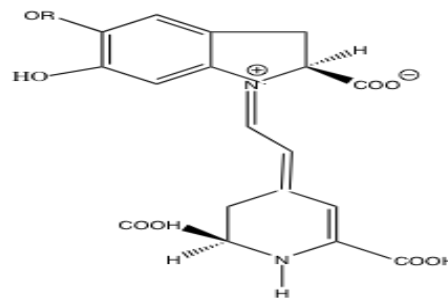


Fig 9 Estructura química de la isobetanimina

1.2.1.2 Betaxantinas

Son pigmentos amarillos, el compuesto prototipo que representa la presencia natural de betaxantinas es la indicaxantina, aislada del fruto del cactus (*Opuntia ficus-indica*), su aislamiento y análisis estructural confirmó la sospecha de una relación estructural entre las dos clases de pigmentos de las cactáceas.

Algunas betaxantinas identificadas son la Indicaxantina (Fig.10), Miraxantina III y IV (Fig 11) entre otras.

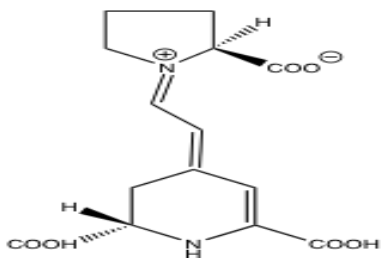


Fig 10 Estructura de la indicaxantina

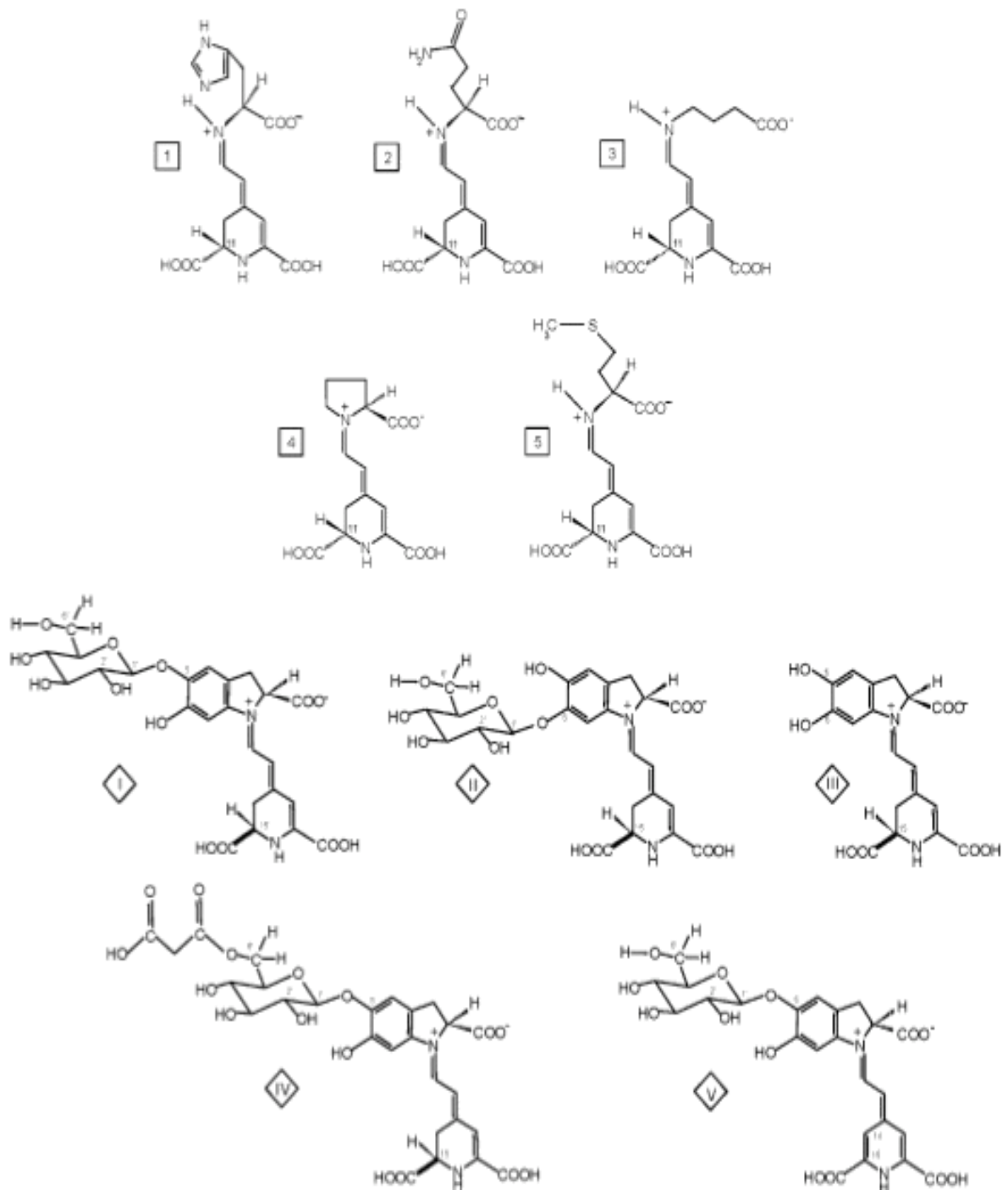


Fig 11 Estructura de la Miraxantina

Las betacianinas y betaxantinas pueden ser separadas y analizadas por HPLC-MS. Estudios anteriores demostraron la presencia de distintas estructuras de betalaínas en tunas del género *Opuntia Spp* (Stintzing et al., 2005), los estudios de estos autores arrojan la presencia de 5 especies de betacianinas y 6 especies de betaxantinas en diferentes tunas (Cuadro 1) y las estructuras se muestran en la Fig. 12. Las betalainas son comúnmente extraídas de plantas y frutas por métodos de extracción sólido-líquido, empleando solventes, en el cuadro 2 se reportan varias fuentes de betalaínas, así como su contenido y método extracción.

Cuadro 1 Betaxantinas y Betacianinas identificadas en el jugo de varias tunas del género *Opuntia Ficus-indica*

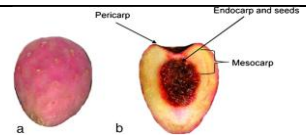




Estructura	Nombre (Nombre trivial)	Tuna		
		Púrpura	Naranja	Roja
betaxantinas		tr	+	+
1	Histidina bx (muscarina VII)	-	+	±
2	Glutamina bx (vulgaxantina I)	-	+	+
3	γ-ácido aminobutírico	-	+	+
4	Prolina bx (indicaxantina)	+	+	+
5	Metionina bx	-	+	-
Betacianinas				
I	Betanidina-5-O-β- glucosido (betanina)	+	+	+
I'	Isobetanidina-5-O-β- glucosido (Isobetanina)	+	-	+
II	Betanidina-6-O-β- glucosido (Groferin 1)	+	-	+
III	Betanidina	+	-	+
IV	6'-O-malonilbetanin (filocactina)	tr	-	-
V	14,15, deshidrobetanina (neobetanina)	+	-	-






+ = Presente, ± presencia ambigua, tr = presente en trazas pequeñas, - = ausente

Fig 12 Estructura de betaxantinas (1-5) y betacyaninas (I-V) en diferentes tunas del género *Opuntia Ficus-indica* (Stintzing et al., 2005)

Cuadro 2. Comparación del contenido de betalainas en diferentes especies de frutos de cactáceas.

Especie	Género	Betacianinas (mg / 100 g)	Betaxantinas (mg / 100 g)	Betalainas Totales (mg / 100 g)	Método o Tecnología de Extracción	Fuente	Imagen
	<i>joconostle</i>	23.03 (endocarpio)	No detectadas	23.03 (endocarpio)	Extracción cetónica	Osorio <i>et al</i> , 2011	
	<i>ficus indica</i> variedad roja	6.47±0.82	4.94±0.26	11.41±1.08	Extracto acuoso	Stingzing, C., 2005	
Opuntia	<i>Ficus indica</i> variedad purpura	28.79±0.73	14.37±0.37	43.16±1.10	Extracto acuoso	Stingzing, C., 2005	
	<i>Ficus indica</i> variedad naranja	1.05±0.0	8.00±0.3	9.05±0.3	Extracto acuoso	Stingzing, C., 2005	
Hylocereous	Undatus	101.04 mg (Base Seca. Cáscara)	No detectadas	101.04 mg (Base Seca. Cáscara)	Extracto Etanolico	Robert F., et al., 2015	

Espece		Betacianinas (mg / 100 g)	Betaxantinas (mg / 100 g)	Betalainas Totales (mg / 100 g)	Método o Tecnología de Extracción	Fuente	Imagen
Hylocereous	Polyrizhus	10.3±0.22	No detectadas	10.3±0.22	Extracto Etanolico	Wu., et. al (2006)	
	Griseous	199.6±24.32	147.61±18.21	347.30±20.98	Extracto metanolico	García Cruz, et al. (2012)	
Stenocereous							
	Stellatus	No Reportada	No Reportada	57.13±6.69	Extracto Etanolico	García Cruz, et al. (2016)	

1.2.2 Biosíntesis de Betalaínas

A diferencia de lo que ocurre con otras familias de pigmentos vegetales, como carotenoides, las antocianinas o las clorofilas, la ruta biosintética de las betalaínas no se conoce aún con detalle.

Una vez conocida la estructura química de las betalaínas y de algunos intermediarios sintéticos, se propuso una primera versión de la ruta biosintética (Gandía et al., 2005).

Las reacciones iniciales fueron elucidadas mediante experimentos de marcaje isotópico con tirosina y DOPA. Se demostró que el esqueleto completo de tirosina era incorporado al ácido betalámico y ciclo-DOPA. Tres enzimas fundamentales participan en esta síntesis: tirosinasa, DOPA 4,5 dioxigenasa y betanidina glucosiltransferasa.

La enzima tirosinasa, o polifenoloxidasa, desempeña una función clave, se trata de una cupoproteína que cataliza dos tipos de reacciones acopladas a expensas de oxígeno molecular: la hidroxilación de monofenoles en posición orto para dar el correspondiente o-difenol (actividad mofenolasa) y la oxidación de o-difenoles a sus correspondientes o-quinonas (actividad difenolasa)

El primer paso de la biosíntesis de las betalaínas corresponde a la hidroxilación, mediada por la tirosinasa, de tirosina a DOPA (3,4-dihidroxifenilalanina). Tras sufrir oxidaciones y ciclaciones espontáneas, se transforma en ácido betalámico, el cromóforo de todas las betalaínas. Otra rama de esta ruta (que parte también de la hidroxilación de la tirosina) conduce a la molécula ciclo-DOPA, que, puede reaccionar con una molécula ácido betalámico por condensación para formar betanidina, la unidad estructural de la mayoría de las betacianinas.

Hasta el año 2005, el esquema biosintético establecido para las betalaínas no contemplaba la existencia de actividades enzimáticas de la tirosinasa sobre betaxantinas, ni la formación final de pigmentos por otro medio distinto al de la condensación del ácido betalámico con aminas, aminoácidos o ciclo-DOPA. Existe cierta actividad de la tirosinasa sobre dopaxantina y dopamina-betaxantina, cuyos

productos derivados corresponden a formas “leuko” generadas por ciclación intramolecular de las correspondientes quinonas, análogas a la betanidina. (Tanaka et al., 2008)

En la actividad difenolasa sobre las betaxantinas, se observa que la dopamina-betaxantina es mejor sustrato que la dopaxantina.

Los pigmentos tiramina-betaxantina y tirosina-betaxantina tienen estructuras monofenólicas apropiadas para ser sustratos de la actividad monofenolasa de la tirosinasa. La actividad sobre estos compuestos resulta en la formación de los mismos productos obtenidos para las betaxantinas difenólicas correspondientes.

La presencia en el medio de reacción de un agente reductor como el ácido ascórbico hace que la o-quinona se transforme en el o-difenol del que provienen, sin ningún efecto sobre las formas “leuko” ya cicladas, de este modo si se encuentra presente ácido ascórbico en el medio durante la reacción, lo que se observa es la conversión del monofenol en difenol.

El establecimiento de la capacidad de la tirosinasa para hidroxilar la tirosina-betaxantina a dopaxantina y su posterior oxidación a dopaxantina-quinona permite proponer un mecanismo alternativo para la biosíntesis de betaláinas. En ausencia de agentes reductores en el medio, la quinona evolucionaria de forma no enzimática hacia especies más estables como la betanidina.

Considerando las dos actividades de la tirosinasa sobre betaxantinas, la tirosina sería el aminoácido de partida para la condensación con el ácido betalámico.

La tirosinasa puede considerarse enzima decisiva en el cambio de color de amarillo a violeta en las estructuras coloreadas de plantas del orden de las cariofiliales (Fig. 13).

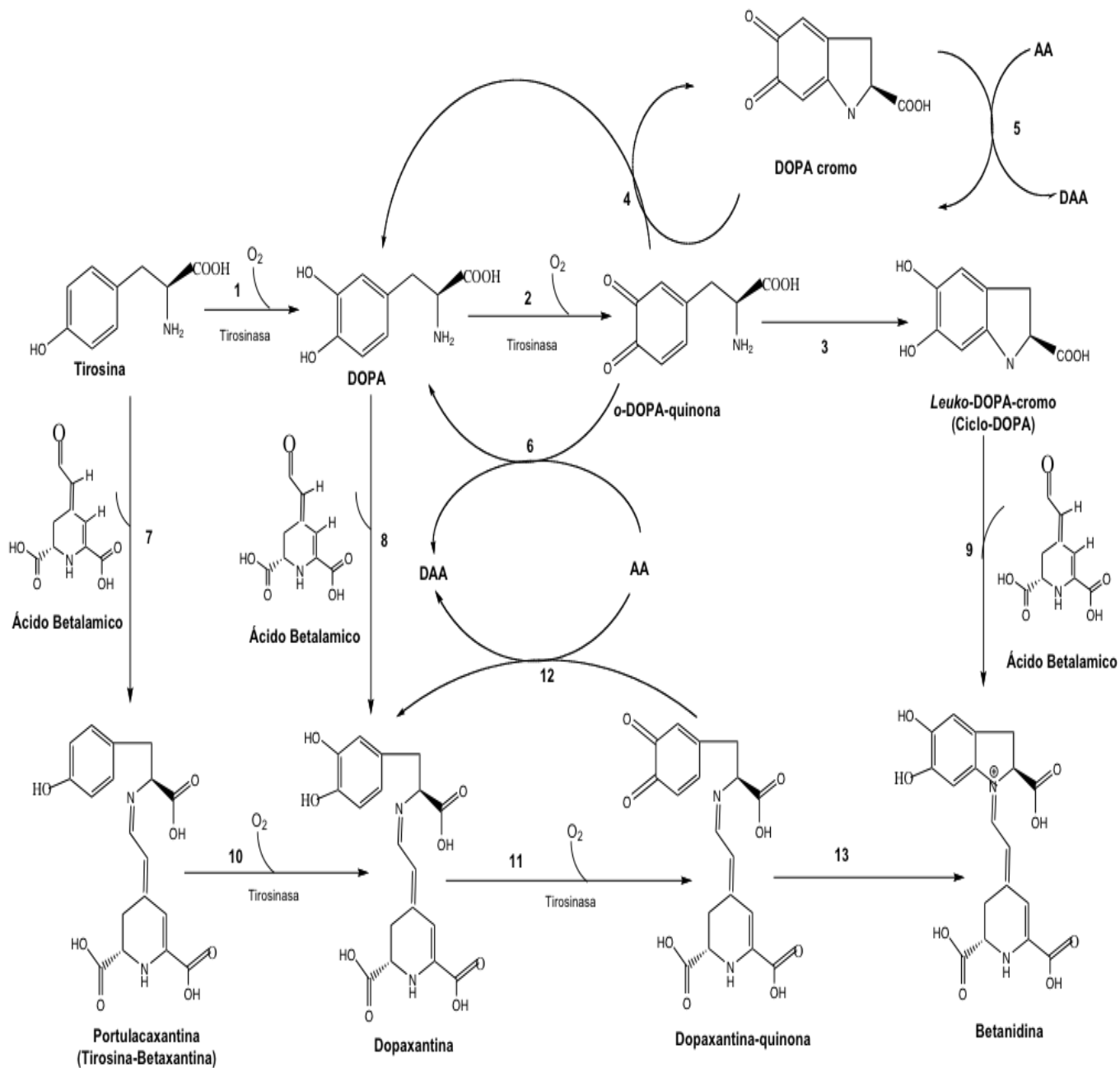


Fig 13 Esquema general de la biosíntesis de betanina (Gandía et al, 2005)

1.2.3 Propiedades Físicoquímicas y estabilidad de las Betalaínas

Dentro de las propiedades físicas, destacan las propiedades ópticas de las betalaínas.

En cuestión a su color y fluorescencia:

El cromóforo de las betalaínas se le puede describir como un compuesto protonado 1,2,4,7,7-pentasustituido y el sistema 1,7-diazaheptametina. Su color se les atribuye a sus dobles enlaces conjugados, en donde el máximo de absorción de luz a 480 nm es para las betaxantinas y si se desplaza a 540 nm es característico de las betacianinas.

Las betalaínas pueden ser explicadas mediante el modelo de Push-Pull. A este modelo se le conoce así debido a que en un extremo de la molécula se encuentra un grupo electro-donador (D), es decir que es rico en electrones, mientras que en el otro extremo de la molécula hay un grupo electro-aceptor (A) que es deficiente en electrones unidos por un sistema π -conjugado (Marañón y Rizo, 2011). Esto significa entonces que un lado de la molécula atrae electrones y el otro lado de la dona electrones.

Además de poseer color, las betaxantinas muestran también fluorescencia: al ser expuestas a la luz, emiten radiación de una longitud de onda superior a la incidente. La intensidad de esta fluorescencia depende del carácter “dador” o “aceptor” electrónico del sustituyente R del grupo amina o aminoácido que se halla unido al ácido betalámico. Cuanto mayor sea su carácter “aceptor”, cuanto más densidad electrónica “absorba” del sistema resonante, más intensa será la fluorescencia de la betaxantina. Las betacianinas en cambio, no presentan fluorescencia. Ello se debe a la conexión que se produce entre los dos sistemas resonantes: el del ácido betalámico y el del anillo aromático del ciclo-DOPA (García et al, 2011).

El valor de la absorptividad es de 1.120 para la betanina y 750 para la bulgaxantina, lo cual sugiere una fuerte capacidad tintórea en estado puro. Los espectros de las disoluciones de betanina a valores de pH comprendidos entre 4 y 7 no cambian y muestran un máximo de absorbancia de la luz a 537-538 nm. A estos valores de pH

no ocurre cambio de color, por debajo de pH 4 el máximo de absorción se desplaza hacia longitudes de onda ligeramente más cortas (535 nm a pH 2), por encima de pH 7, el máximo de absorción se desplaza a longitudes de onda mayor (544 nm a pH 9) (Fenemma, 2005).

a) Propiedades Químicas

Las betalainas son compuestos orgánicos solubles en agua, con peso molecular entre 400 y 500 Daltons. Al igual que otros pigmentos naturales, las betalainas se ven afectadas por diversos factores ambientales.

b) Calor y/o acidez

En condiciones alcalinas suaves la betanina se degrada a ácido betalámico (BA) y ciclodopa-5-O-glucósido (CDG) (Fig 14), también se pueden formar bajo condiciones ácidas o en tratamientos térmicos que involucren a la remolacha roja, esta reacción es parcialmente reversible dependiendo del pH (Fennema, 2005).

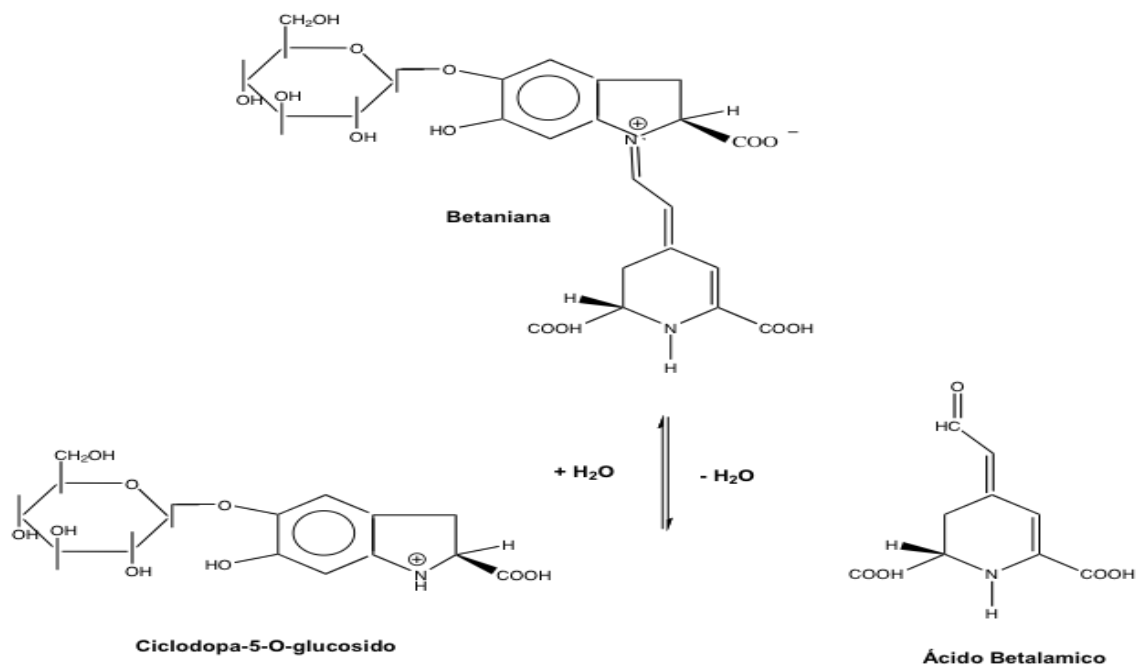


Fig .14 Degradación de la betanina (Fennema, 2005).

c) Efecto del Oxígeno y del pH

La presencia de oxígeno atmosférico en productos de betabel enlatados es conocida por acelerar la pérdida de color del pigmento de betabel. En solución, conteniendo un exceso molar de oxígeno sobre betanina, la pérdida de betanina sigue aparentemente una cinética de primer orden. En ausencia de oxígeno la estabilidad se incrementa, ya que el oxígeno molecular está implicado como el agente activo en la degradación oxidativa de betanina.

El efecto del pH en la degradación de betalaínas, está fundamentado teóricamente en que dentro de un rango de pH de 4 a 6, la menor cantidad de oxígeno fue observado; fuera de este rango el número de moles de oxígeno excede el número de moles de betanina en solución.

d) Efecto de Cationes Metálicos.

Varios estudios han demostrado que los iones ferrosos, férricos y cúpricos promueven la decoloración del pigmento en productos de betabel. La adición de iones cúpricos a betanina en solución resulta inmediatamente en la pérdida del color. Se sugirió que la pérdida del color fue por la posible formación de complejos de betanina con iones Cu^{2+} (Mandujano, 2006).

1.2.4 Propiedades Nutracéuticas

Son innegables los beneficios que acarrea a la salud humana el mantener una dieta elevada en frutas y verduras, beneficios que se atribuyen principalmente al poder antioxidante de los fitoquímicos contenidos en estos alimentos (García Cruz et al., 2012).

a) Propiedades Antioxidantes

Una de las propiedades más estudiadas de las betalaínas es su capacidad para captar radicales libres.

Las betalaínas también son fitoquímicos considerados como potentes antioxidantes (García Cruz et al., 2012).

Estudios realizados en el género *Opuntia* indican que sus beneficios nutracéuticos, derivan de las supuestas propiedades antioxidantes del ácido ascórbico, compuestos fenólicos incluyendo los flavonoides, y la mezcla de betalaínas y betaxantinas (Stinzing et al., 2005).

Este mismo ensayo reveló que la contribución de las betalaínas a la actividad antioxidante *in vitro* observada para los extractos de *Opuntia* era mayor que la del ácido ascórbico. Quedando en segundo lugar, después de los fenoles totales, que son los compuestos que tienen mayor capacidad antioxidante en este género.

Por su parte García Cruz et al., (2012) estudiaron la capacidad antioxidante en el género *Stenocereus griseus* H, en muestras de pitaya roja y naranja, mediante el método del radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracilo). El poder antioxidante del extracto se expresa en función del porcentaje de DPPH reducido, esta investigación encontró que a medida que aumenta la concentración de betalaínas en los extractos de pitaya el porcentaje de DPPH reducido se incrementa. La pitaya roja a una concentración de 135.07 μmol reduce un 76% de DPPH, en tanto que en la pitaya naranja se requiere 307 μmol para lograr una reducción del 67%, esto demuestra que las betacianinas de la pitaya roja son antioxidantes más potentes que las betaxantinas de la pitaya naranja. (Garcia, et al.,2012)

Dado que las betalaínas se encontraron en mayor proporción, que los fenoles en el género *Stenocereus griseus*, a diferencia del género *Opuntia*, se considera que las betalaínas son los compuestos que más contribuyen a la actividad antioxidantes de los frutos, los cuales representan una alternativa como fuente de betalaínas y antioxidantes.

b) Actividad anticancerígena

Gracias al creciente interés de las propiedades antioxidantes de las betalaínas, algunas investigaciones se han enfocado en sus beneficios para la salud.

Azaredo (2009), expone los más recientes estudios sobre el efecto protector de las betalaínas frente a ciertos tipos de cáncer.

Estudios con ratones muestran un efecto inhibitorio significativo del extracto de betabel hacia el cáncer de pulmón y piel.

La betanina demostró eficacia frente la supresión local a largo plazo de tumores de hígado y piel, inducido por diferentes químicos cancerígenos en ratones.

Otra importante actividad biológica de las betalaínas, es la inducción de la quinona reductasa, potente enzima de detoxificación en la quimio prevención del cáncer, y su actividad antiproliferativa de células de melanoma maligno.

La actividad anticancerígena de las betalaínas también fue comprobada sobre tumores de ovario, cervicales y vejiga *in vitro* e *in vivo* en ratones con cáncer de ovario con un extracto de fruto de cactus (*Opuntia*).

Todos estos avances en el campo de la oncología, demuestran la efectividad de las betalaínas contenidas en los frutos de diversas especies de cactáceas como nutraceuticos potentes en la prevención de ciertos tipos de cáncer.

c) Actividad antiinflamatoria

Se ha observado la habilidad de las betalaínas para proteger a un modelo *in vitro* de células endoteliales de la oxidación, relacionadas con la respuesta antiinflamatoria (Azaredo, 2009).

d) Actividad sobre el metabolismo de los lípidos

La actividad antioxidante la de betanina y de su aglicón la betanidina se manifestó también mediante la inhibición *in vitro* de la peroxidación lipídica y de la descomposición de grupo heme logrado con concentraciones muy bajas. También se ha demostrado que a pesar de ser moléculas hidrofílicas tanto la betanina como la indicaxantina se pueden asociar a las LDL humanas *in vitro* e *in vivo* aumentando su resistencia a la oxidación (Tesoriere et al., 2004).

1.3 Productos alimenticios con funcionalidad biológica.

El concepto de “Alimento Funcional” fue propuesto por primera vez en 1984, por científicos japoneses, que estudiaban las relaciones entre nutrición, satisfacción sensorial, fortificación y modulación de sistemas fisiológicos. (Hardy, 2000)

A la fecha, muchas autoridades internacionales, grupos académicos y la industria han propuesto definiciones para alimentos funcionales, desde la más simple hasta la más compleja. “Alimentos que pueden tener beneficios para la salud más allá de la nutrición básica” y “Alimentos similares en apariencia a los alimentos convencionales que son consumidos como parte de una dieta normal, pero han sido modificados para proveer efectos fisiológicos además de los requerimientos básicos de nutrientes”

La mayoría de los primeros prototipos desarrollados de alimentos funcionales eran productos fortificados con vitaminas y/o minerales, como vitamina C, vitamina E, ácido fólico, zinc, hierro, y calcio. Subsecuentemente los alimentos fueron fortificados con varios micronutrientes como ácidos grasos omega 3, fitoesteroles, y fibra soluble para promover una buena salud o prevenir enfermedades como el cáncer. Los alimentos funcionales han sido desarrollados en casi todas las categorías de alimentos como se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 3. Prominentes tipos de alimentos funcionales. (Kotilainen et al., 2006; Spence, 2006)

Tipo de alimento funcional	Definición	Ejemplo
Producto fortificado	Son aquellos a los que se les ha adicionado una o varias vitaminas, minerales o proteínas (aminoácidos) que normalmente NO contiene el producto.	Cereal con calcio y hierro, harina con ácido fólico
Producto enriquecido	Son aquellos a los que se les ha adicionado una o varias vitaminas, minerales o proteínas (aminoácidos) en concentraciones superiores a las que normalmente contiene el producto.	Barras de cereal enriquecida con proteína, leche enriquecida con vitaminas,
Productos alterados	Alimento al cual se le ha quitado, reducido o sustituido algún ingrediente, con fines de proporcionar algún beneficio a la salud.	Fibras como sustitutos de grasas en carnes, o en helados.
Productos básicos mejorados	Alimento al cual uno de sus componentes ha sido naturalmente mejorado a través de condiciones especiales de crecimiento, nueva composición de alimentación, manipulación genética, entre otros.	Huevos con contenido alto de omega 3, alcanzado mediante la modificación de la alimentación de las gallinas.

1.3.1 Principales características funcionales de los ingredientes seleccionados para el diseño y formulación de alimentos funcionales.

1.3.2 Edulcorantes Naturales.

Los edulcorantes son aditivos que se añaden a los alimentos generalmente con propósitos de sabor y como suplementos de la sacarosa, brindan una sensación precisa y óptima al dulzor proveniente de la sacarosa.

Estos aditivos poseen una estructura funcional activa, responsable del dulzor, mejor conocida como glicoforo. Todos los edulcorantes y otros compuestos dulces contienen esta común estructura.

La química de un glicoforo está dada por diferentes configuraciones de átomos, en grupos de átomos con un hidrógeno, cuyos dos átomos vecinales pueden atraer electrones extras lo suficientemente cerca para repeler cargas negativas. Los glicoforos pueden existir en diferentes formas y tamaños dependiendo del compuesto que lo contenga, que pueden ser azúcares, aminoácidos, proteínas, derivados de compuestos orgánicos cíclicos y aromáticos, así como sales metálicas.

La sensación de dulzor es elicitada a través de una simetría bilateral y una interacción dipolar entre un glicoforo y los receptores localizados principalmente en la lengua. (Msagati, 2013)

Relación estructura-actividad.

Los edulcorantes son compuestos dipolares, esta función dipolo es igual en magnitud, pero de cargas opuestas, lo que significa que la molécula es simétrica. Si la molécula fuera asimétrica, resultaría en un balance negativo de cargas y favorecería la mezcla de dulzor y amargor, incluso solo amargor. En la figura 15 se muestra la clasificación de los edulcorantes en base a su poder nutritivo.

Clasificación.

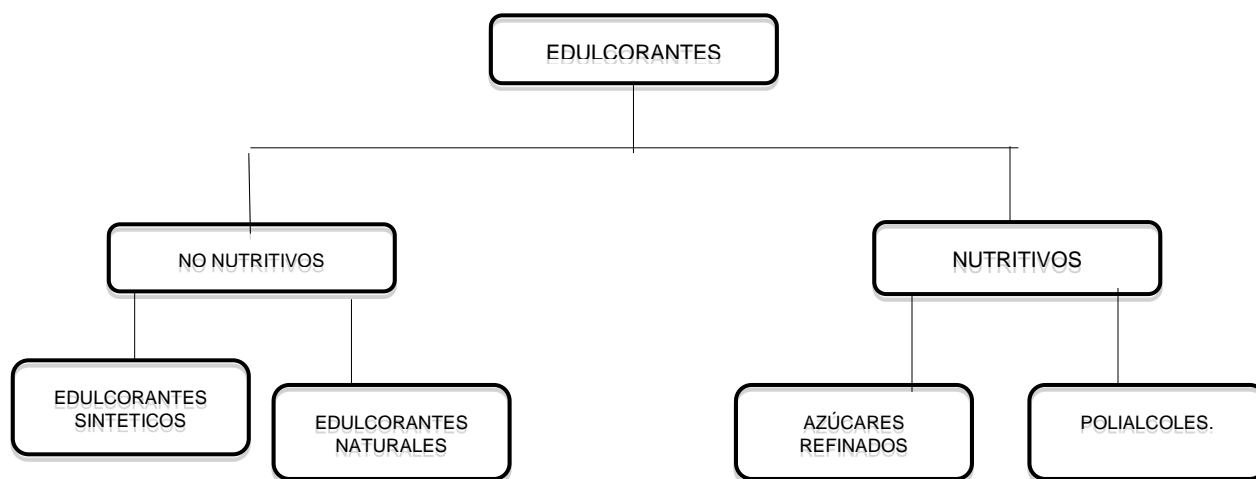


Fig. 15 Clasificación de edulcorantes con base en su poder nutritivo. (Msagati, 2013)

1.3.3 Estevia

Actualmente, el uso potencial y las implicaciones prácticas de estevia como edulcorante natural son aplicadas en alimentos procesados, como bebidas frutales, productos de panadería, y como sustituto de azúcar. Debido a su contenido de esteviol-glicosidos, moléculas no calóricas con un poder edulcorante de 100-300 veces mayor que la sacarosa. (Barba et al., 2014)

Los compuestos esteviosidos son sintetizados mediante la unión de moléculas de esteviol a moléculas de glucosa. Este diterpeno existe como una aglicona y es sintetizado reemplazando el átomo de hidrogeno del grupo carboxil del esteviol con glucosa para generar un éster, y reemplazando el hidrogeno del grupo hidroxil con mezclas de glucosa. Cuando solo se emplea glucosa, los compuestos resultantes son esteviosidos que contienen dos unidades de glucosa y rebaubiosidos que contienen 3 unidades de glucosa. Los esteviosidos y rebaubiosidos son los dos principales compuestos responsables del sabor dulce en las hojas de Stevia. (Brandle, J., 2004)

1.3.3.1 Propiedades funcionales y composición proximal del polvo de hoja de estevia.

En el cuadro 4 se presentan las propiedades fisicoquímicas del polvo de las hojas de estevia. La densidad aparente de Estevia es baja en comparación a la de las proteínas. Se observa también un incremento en la capacidad de retención de agua, lo que es y se debe al alto contenido proteico. Las proteínas pueden incrementar la capacidad de retención de agua, mejorando la capacidad de hinchamiento, una función importante de las proteínas en la preparación de productos viscosos, como sopas, masas y productos horneados. (Mishra et al., 2010)

Cuadro 4. Propiedades fisicoquímicas del polvo de hojas de estevia (Mishra, et al.2010)

Propiedad	Valor
Densidad	0.443 g mL ⁻¹
Capacidad de retención de agua.	4.7 mL g ⁻¹
Capacidad de absorción de grasa	4.5 mL g ⁻¹
Índice de hinchazón.	5.01 g g ⁻¹
Solubilidad	0.365 g g ⁻¹
pH	5.95

El polvo de hojas de estevia parece tener una adecuada capacidad de absorción de grasa, permitiéndole jugar un rol importante en el procesamiento de alimentos, reteniendo sabores e incrementando la sensación en la boca y en cuanto a su estabilidad frente a la temperatura, tanto las hojas como los extractos puros de esteviósidos, pueden ser usados en su estado natural o cocinados, y son termoestables a temperaturas de hasta 200° C.

Los beneficios asociados con las hojas de estevia rebaudiana son principalmente debidos a la composición nutrimental (Cuadro 5), la cual es una buena fuente de carbohidratos, proteínas y fibra cruda, que promueven bienestar y reducen el riesgo de padecer ciertas enfermedades.

Cuadro 5. Análisis Proximal de hojas secas de estevia (g/100g) Peso base seca Lemus et al., (2012).

Componente	Referencias		
	Mishra et al., (2010)	SaVita et al., (2004)	Abou-Arap et al., (2010)
Humedad	7	7	5.37
Proteína	10	9.8	11.40
Grasa	3	2.5	3.73
Ceniza	11	10.5	7.41
Carbohidratos	52	52	61.9
Fibra Total	18	18.5	15.5

Dentro de los carbohidratos encontrados en hojas de estevia se encuentran los fructooligosacáridos, que poseen propiedades funcionales importantes como prebióticos, fibra dietaria, y juegan un papel importante en el control del metabolismo lipídico y diabetes. El mayor contenido de carbohidratos es reportado por Abou-Arab et al, (2010).

En cuanto a su contenido proteico, los aminoácidos identificados en las proteínas presentes en *Estevia rebaudiana*, son 9: ácido glutámico, ácido aspártico, lisina, serina, isoleucina, alanina, prolina, tirosina y metionina.

De acuerdo con el reporte de la World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2007) los aminoácidos esenciales son: leucina, isoleucina, valina, lisina, treonina, triptófano, metionina, fenilalanina e histidina.

(Abou-Arab et al., 2010), encontró que las hojas de estevia contienen la mayoría de aminoácidos no esenciales, incluyendo tirosina y cisteína. Solo el aminoácido tirosina no se reporta dentro de su composición. (Kim et al., 2011)

(Kim et al., 2011), estudiaron las cantidades de vitaminas hidrosolubles en las hojas y callos de *Stevia*, determinaron que el contenido de ácido fólico, vitamina C y

vitamina B2 en los extractos de hojas fue significativamente mayor que el de los callos, En el extracto de hojas, el ácido fólico fue el compuesto mayoritario, seguido de la vitamina C, mientras que en en el extracto de callos, la vitamina C fue el mayor compuesto, seguido de la vitamina B. (Cuadro 6)

Cuadro 6. Vitaminas hidrosolubles de los extractos de hoja y callo de *S. rebaudiana* (mg/100g base seca) (Kim et al., 2011)

Vitamina	Hoja	Tallo
Vitamina C	14.98±0.07	1.64±0.02
Vitamina B2	0.43±0.002	0.23±0.02
Vitamina B6	0.00±0.00	0.00±0.00
Ácido Fólico	52.18±0.21	0.09±0.01
Niacina	0.00±0.00	0.00±0.00
Tiamina	0.00±0.00	0.00±0.00

El contenido en cenizas, se refiere a la materia inorgánica (minerales) presentes en las hojas de stevia, el mayor contenido es reportado por Mishra et al., (2010), 11 g 100 g⁻¹ peso base seca. Las cantidades de minerales reportados en las hojas de Estevia son K, 21.15; Ca, 17.7; Na, 14.93 and Mg, 3.26 mg/100 g b.s (Abou-Arab et al., 2010)

Tadhani y Subhash, (2006), identificaron en el aceite extraído de las hojas, ácido palmítico, palmitoleico, estereático, oleico, linoleico. El ácido palmítico se encontró en mayor proporción (27.51 g/100 g). El alto contenido de ácido palmítico puede contribuir a mantener un rango ideal de ácidos grasos en la dieta humana. Años más tarde, Abou-Arab et al., (2010), reportó el mayor contenido de grasa en las hojas de Stevia 3.73 g/100 g respecto a los estudios de Tadhani y Subhash.

1.3.3.2 Constituyentes fitoquímicos.

S. rebaudiana (comúnmente referida como hoja de miel, hoja dulce) es rica en terpenos y flavonoides. Los fitoquímicos presentes en *S. rebaudiana* son austroinulina, betacarotenos, dulcósidos, riboflavina, esteviol, esteviósidos y tiamina.

Los glicósidos son compuestos que contienen una molécula de carbohidrato (azúcar) unida a la mitad de una molécula no-carbohidrato (aglicona).

Los edulcorantes naturales de las hojas de Stevia, glicósidos esteviósidos, son diterpenos, aislados e identificados como esteviósidos, rebaudiósidos A, B,C,D,E,F y dulcósidos.

El esteviósido fue reportado como el glicósido más abundante en las hojas estevia (4-13% w/w). Seguido por el rebaudiósido A (2-4% w/w) rebaudiósido C (1-2% w/w) y dulcósido A (0.4-0.7%) (Lemus et al., 2012).

Todos los diterpenos glicósidos aislados de las hojas de *S. rebaudiana* contienen el mismo esqueleto de esteviósido y difieren principalmente del contenido residuos de carbohidratos (R1 y R2), contienen glucosa y/o ramnosa en las posiciones C13 y C19. El dulzor de los rebaudiosidos aumenta la cantidad de unidades de azúcar unidas a la aglicona de steviol (Fig. 16).



Fig. 16. Estructura química de los glucósidos mayoritarios de las hojas de *Estevia rebaudiana*.

1.3.3.3 Propiedades Funcionales y nutracéuticas (beneficios para la salud)

Los extractos de *S. rebaudiana* fueron usados por los sudamericanos en el tratamiento de la diabetes por muchos años.

Shivanna et al., (2013), estudiaron los efectos de las hojas de estevia y sus extractos de polifenol y fibra en un modelo murino inducido a diabetes con estreptozotocina (STZ). Su experimento consistió en formar aleatoriamente 8 grupos de 10 ratas. El grupo 1 y 2 fueron alimentados con una dieta control, grupos 3 y 4 con 4.0% de polvo de hojas de Estevia incorporado en la dieta (4 g de Estevia en 96 g de dieta seca); grupos 5 y 6 con una cantidad equivalente del extracto de polifenoles (a través de alimentación forzada); grupos 7 y 8 con una cantidad equivalente de fibra. Se alimentaron durante 5 semanas. Una semana antes del sacrificio, todos los grupos fueron administrados con una única dosis de STZ (60 mg/kg de peso) usando una solución de buffer de citratos 0.1M a pH 4.5. Se midieron parámetros bioquímicos como; concentración de glucosa en sangre, además de la capacidad antioxidante *in vivo* y el efecto antidiabético.

Sus resultados mostraron que la peroxidación lipídica hepática fue reducida significativamente en las ratas prealimentadas con el extracto en polvo de hoja de estevia y polifenoles en un 25 y 30%, respectivamente, comparado con el grupo diabético, además de no reportar alteraciones en los niveles de antioxidantes en el plasma (Vit E, vit C, GSH, GSSG)

Asimismo, sobre el efecto hipoglicémico, las ratas diabéticas mostraron un incremento significativo en los niveles de glucosa en sangre cuando se compararon con las ratas normales en un 226% ($P < 0.05$). El extracto en polvo de hoja de Stevia y polifenoles reducen los elevados niveles de glucosa en sangre en un 36 y 64% respectivamente, comparados con el grupo control diabético. ($P < 0.05$). No se reportó reducción de glucosa en sangre en las ratas alimentadas con fibra de Stevia.

La siguiente figura se muestra el comportamiento cinético de los niveles de glucosa en sangre en los diferentes grupos estudiados una semana después del tratamiento. (Fig. 17)

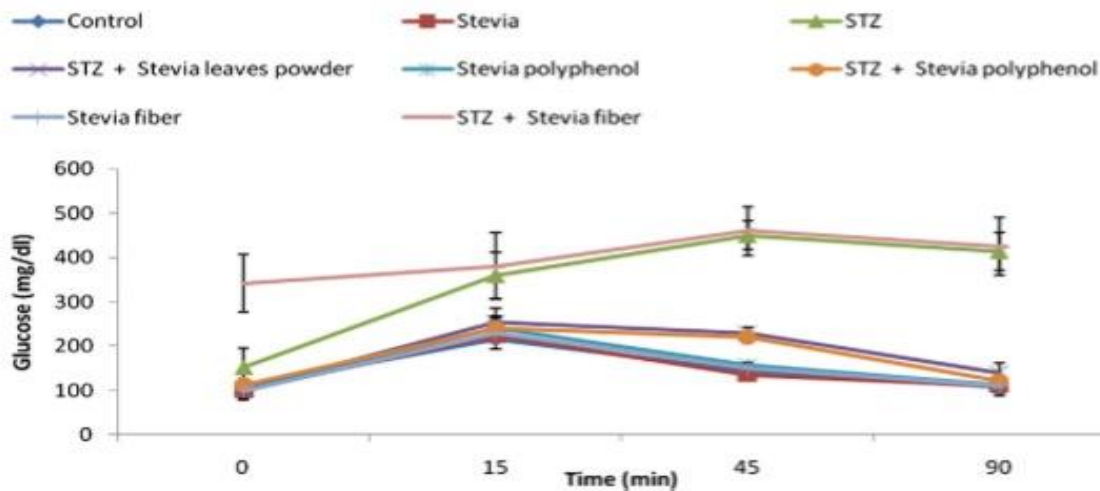


Fig. 2. Blood glucose level changed during GTT after one week treatment. Error bar = \pm SD (n = 10).

Fig.17, Niveles de glucosa en ratones inducidos a diabetes con STZ, después de una semana con los diferentes tratamientos. (Shivanna et al., 2013)

Estos resultados sugieren que las hojas de estevia juegan un papel importante frente a los daños inducidos por una condición de hiperglicemia, no obstante, podría favorecer a mejorar la tolerancia a la glucosa e incrementar la sensibilidad celular a la insulina, sin descartar la protección lipídica por riesgo de estrés oxidativo. Por lo tanto, el uso de estevia como ingrediente funcional en alimentos sugiere ser un complemento a los tratamientos en la dieta para personas con diabetes tipo 2.

1.3.3.4 Capacidad Antioxidante de *S. rebaudiana*

Algunos autores han reportado valores de la capacidad antioxidante de estevia (Cuadro 7) en términos de porcentaje de inhibición del radical DPPH y IC₅₀ (concentración de extracto requerida para inhibir en un 50% una concentración de radicales DPPH), donde una mayor actividad de captación de radicales DPPH está asociada con un valor bajo de IC₅₀.

Cuadro 7. Actividad Antioxidante de extractos de Stevia

Stevia rebaudiana B.	% inhibición DPPH	IC₅₀ (µg mL⁻¹)	Inhibición de lipoperoxidación IC₅₀ (µg mL⁻¹)	Extracto	Referencia
Hoja	62.24	83.45	ND	Acuoso	Shukla et al., 2011
Hoja	62.76	93.46	ND	Etanólico	Shukla et al., 2011
Hoja	82.96	5.00	ND	Acuoso	Muanda et al., 2010
Hoja	96.91	2.90	ND	Metanólico/acuoso	Muanda et al., 2010
Hoja	ND	10.6	2.6	Polvo	Shivanna et al., 2013

Muanda et al., (2010), reportaron el mayor porcentaje de inhibición de DPPH (96.91) equivalente a un valor de Trolox como estándar, así como un IC₅₀ menor que se traduce en una mayor capacidad antiradical, en sus extractos metanólicos acuosos. Shivana et al, (2013), no solo reportaron la capacidad *in vitro* del polvo de hoja de estevia con un valor de 2.6 µg mL⁻¹ IC₅₀ en la prueba de inhibición del lípido peroxidación, sino también demostraron *in vivo* que la peroxidación lipídica disminuyó significativamente en el hígado de ratas alimentadas con el extracto en polvo y de polifenoles de estevia en un 25 y 30% con respecto a un control inducido a diabetes.

En enfermedades como la hiperglicemia e hipercolesterolemia, que son susceptibles a la oxidación causando una alta producción de radicales libres en el organismo, hacen de estevia un ingrediente funcional cuya ingesta proporciona una captación de radicales considerable, lo cual disminuye las complicaciones generadas por el estrés oxidativo.

Las hojas de *S. rebaudiana* contienen endulzantes no calóricos y no cariogénicos, cuyo consumo puede tener beneficios a la salud, pues hace de Stevia un ingrediente en clave en la formulación de alimentos aptos para personas obesas o que simplemente quieren disminuir su ingesta de azúcar, proporcionando un efecto

protector en la salud dental de niños y adultos, que gustan del consumo de productos dulces. (Lemus et al., 2012)

1.3.4 Jarabe de Agave

El jarabe de agave azul (*Agave tequilana Weber, var. Azul*) es la sustancia dulce producida por la hidrólisis de los fructanos almacenados en la planta de maguey, el cual no debe contener aditivos alimentarios, almidones, melasas, glucosa, dextrina, fructosa y otros azúcares de otro origen. (Mellado y López, 2013)

Respecto a su perfil de carbohidratos St-Pierre Philippe et al., (2014), estudiaron la composición total de carbohidratos de diferentes edulcorantes naturales entre los que destacan además del jarabe de Agave, el jarabe de Maple, jarabe de arroz, jarabe de maíz y miel de abeja.

Las plantas del género Agave almacenan fructanos (polímeros de fructosa) como principal carbohidrato de reserva. (Cuadro 8)

Cuadro 8. Contenido de carbohidratos de diferentes edulcorantes en (g/L)

Edulcorante	Polisacáridos	Oligosacáridos	Sucrosa	Glucosa	Fructosa	Carbohidratos totales	Variación (%)
Maple	14±0.6 (2%)	2±3.8 (0%)	860 ± 4.9 (97%)	8±1.8 (1%)	<BDL	884 (100%)	0.2
Melasa	45±0.1 (4%)	72±1.2 (7%)	439±1.8 (43%)	251±2.2 (24%)	222±2.6 (22%)	1029 (100%)	1.6
Arroz	197±14.3 (22%)	184±0.5 (21%)	364±1.9 (42%)	132±0.1 (15%)	<BDL	877 (100%)	1.1
Agave	<BDL	<BDL	30±0.3 (3%)	106±0.2 (10%)	917±3.7 (87%)	1053 (100%)	0.1
Maíz	228±3.5 (33%)	112±0.4 (16%)	127±0.4 (16%)	212±0.4 (31%)	7±0.5 (1%)	686 (100%)	1.4
Miel	3±0.0 (0%)	7±0.1 (1%)	35±0.1 (3%)	528±8.6 (47%)	553±8.3 (49%)	1126 (100%)	0.8

<BDL, below detection limit (1 g/L) Mediciones por triplicado. (St-Pierre Philippe et al., 2014)

Como se puede observar el carbohidrato mayoritario del jarabe de agave es la fructosa en un 87%.

Mellano y López (2013) estudiaron las propiedades fisicoquímicas del jarabe de agave, el cual contiene un promedio de sólidos solubles totales de (76.41°Brix), humedad (22%) y pH (4) los resultados cumplen con lo establecido en la norma mexicana para este producto (NMX-FF-110-SCFI-2008).

1.3.4.1 Propiedades funcionales.

St-Pierre Philippe, et al., (2014), analizaron el contenido de polifenoles totales en seis tipos de edulcorantes naturales. La melaza contiene la mayor concentración de polifenoles (9195.3 µg/100 mL), seguido de la miel (1935.2 µg/100 mL), jarabe de Maple (1494 µg/100 mL), y jarabe de agave con (1292.3 µg/100 mL). Sin embargo, el jarabe de agave fue la fuente más rica de cafeil-hexosido. Asimismo, determinaron en un estudio con ratas macho Wistar a las cuales se les administró una dosis de 2 g/kg de los distintos edulcorantes utilizados, equivalentes en carbohidratos total, y una solución de 50% de dextrosa (solución de referencia) y se realizó una cinética de la respuesta glicémica a los 0, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos. Los resultados sugieren que a los 15 minutos después de la administración, el jarabe de maíz, jarabe de arroz, y la solución referencia de dextrosa, incrementaron la concentración de glucosa en sangre en comparación con el jarabe de Maple (Fig. 18A). Se registró un incremento pequeño en la glicemia tras la administración de jarabe de agave en comparación con el jarabe de Maple ($P < 0.05$) después de 15 minutos. (Fig. 18B)

Se calculó el incremento glicémico total inducido por los edulcorantes, mediante el área debajo de la curva, la respuesta global del jarabe de maíz y arroz fue la más alta en comparación a la respuesta glicémica inducida por el jarabe de Maple. (Fig. 18C)

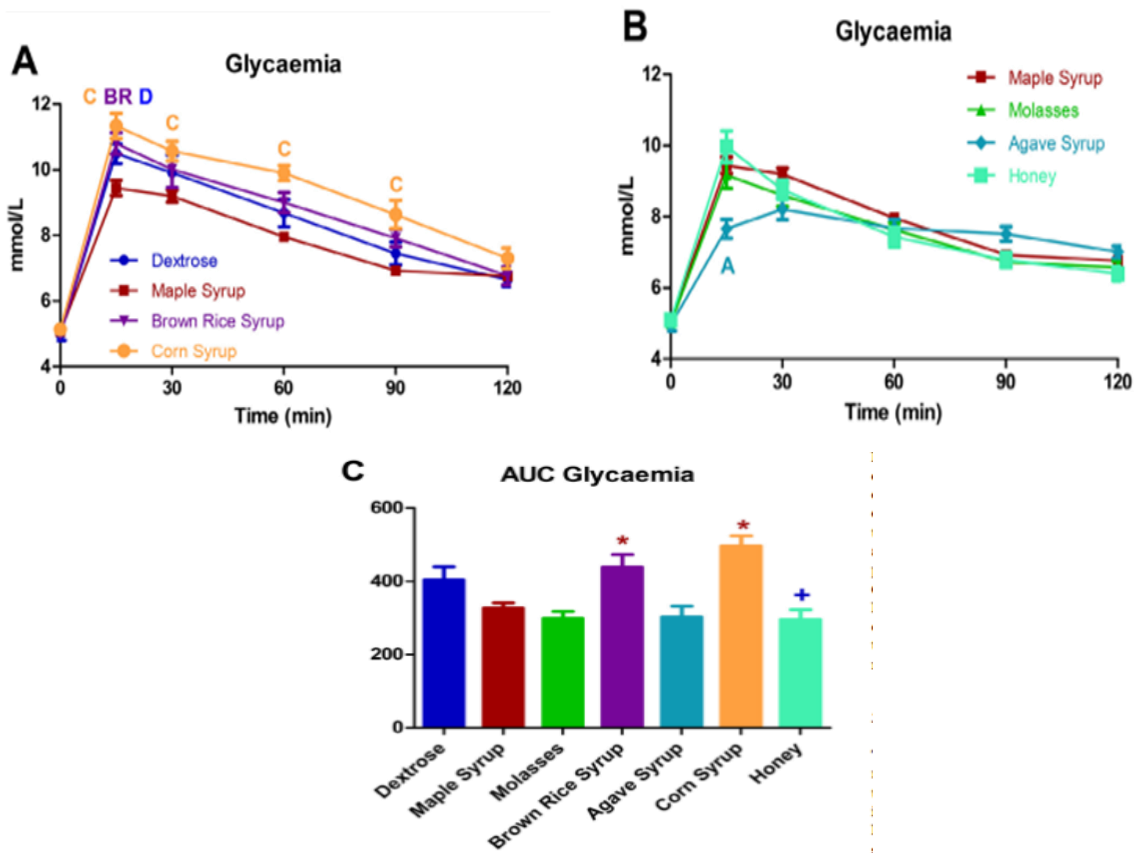


Fig. 18 Respuesta glicémica después de la ingesta de diferentes edulcorantes. (A) Endulzantes con R.G > Maple (B) Endulzantes \leq Maple (C) Area bajo la curva de R.G de A y B. Datos presentados como promedio \pm desv estándar n=9-10 ratas. (St.Pierre et al., 2014)

Se concluye que los efectos metabólicos del jarabe de agave son similares a los del jarabe de Maple, por lo tanto, el consumo de este tipo de edulcorante por su contenido en polifenoles confiere protección contra el consumo de azúcares simples, y contrarrestan los efectos negativos de la fructosa en las enfermedades cardiovasculares, convirtiéndolo así en una fuente de antioxidantes. La combinación de la acción de la fibra y los polifenoles se puede atribuir a la absorción limitada de fructosa después de la ingesta de las frutas, lo que reduce la respuesta glicémica, convirtiendo así al jarabe de agave, en un alimento de bajo índice glicémico, el cual es apto para consumo en pacientes diabéticos.

Existe evidencia contundente de que la fructosa genera niveles de glucemia y de insulina sérica menores (disminución de 7-24%) que otros hidratos de carbono de la dieta, como sacarosa y glucosa, en sujetos normales y con DM tipo 1 y 2 (Bantle, 2009). También se sugiere que la fructosa puede activar la enzima glucoquinasa hepática, facilitando así la recaptura de glucosa y el almacenamiento de ésta como glucógeno en hígado en sujetos con DM tipo 2, evitando por lo tanto la hiperglucemia (García et al., 2009). Sin embargo, el consumo de fructosa tiene efectos adversos sobre los lípidos plasmáticos (Bantle, 2009) y podría estimular la ganancia de peso, obesidad y producir anomalías que acompañan al síndrome de resistencia a la insulina (García et al., 2009), pero no existe evidencia suficiente que valide esta aseveración (Bantle, 2009).

Por otro lado, los fructanos, derivados de la inulina y fructooligosacaridos, poseen efectos metabólicos benéficos en humanos, como la disminución de la formación de masa de grasa, esteatosis y glicemia, mediante mecanismos como la inhibición de incretinas durante su fermentación en el intestino grueso. Específicamente los fructanos de agave inducen la producción del péptido ligado a glucagón 1 (GLP-1), el cual es una incretina que regula las células β del páncreas, promoviendo la secreción de insulina, biosíntesis de proinsulina, la neogénesis y crecimientos de estas células, y es considerado un péptido que genera saciedad (Urias, et al., 2008)

Por estas investigaciones con el jarabe de agave, se consideró que podría ser una excelente fuente edulcorante para desarrollar el producto funcional del presente trabajo.

1.3.5 Hidrocoloides

Los hidrocoloides son un grupo diverso de polímeros de cadena larga que son fáciles de dispersar, completamente o parcialmente solubles. Son propensos a hidratarse en agua. Los hidrocoloides cambian las propiedades físicas de la solución, formando geles, espesando, emulsificando y/o estabilizando una mezcla. La presencia de varios grupos hidroxil incrementa su afinidad para captar moléculas de agua, lo que les confiere la característica de ser compuestos hidrofílicos. En

adición, los hidrocoloides producen una dispersión que es un intermediario entre una solución verdadera y una suspensión, exhibiendo propiedades de un coloide. Consecuentemente, por eso se les aplica el término “hidrocoloides”. (Saha y Bhattacharya, 2010).

Los hidrocoloides abundan en la naturaleza como componentes estructurales, de almacenamiento o funcionales en tejidos vegetales y animales.

Los coloides alimenticios pueden representar una parte importante de nuestra dieta diaria, con productos como salsas, aderezos, yogurt, mayonesa, helados, entre otros. Tienen propiedades funcionales como espesantes, agentes gelificantes, agentes formadores de espumas, películas comestibles, emulsificantes, estabilizantes, entre otros. La razón principal su uso extensivo de en la industria alimentaria es su habilidad para mezclarse con agua y modificar las propiedades de los ingredientes alimentarios. La modificación de las características reológicas es de gran ayuda en el cambio de las propiedades sensoriales de los alimentos. (Li Y Nie, 2015)

Los hidrocoloides son aplicados en alimentos procesados. El cuadro 9 muestra las principales propiedades funcionales que confieren a los alimentos.

Cuadro 9. Propiedades funcionales de los hidrocoloides aplicados en la industria alimentaria (Li Y Nie, 2015)

Propiedad.	Descripción.	Ejemplos	Aplicación en alimentos
Espesamiento	Esta propiedad se refiere al mejoramiento de la viscosidad del medio dispersante. Ocurre por encima de una concentración conocida como concentración crítica de solapamiento. Seguido, la dispersión del hidrocoloide se comporta como fluido newtoniano pero exhibe un comportamiento no newtoniano por encima de esta concentración.	Almidones nativos, almidones modificados, goma xantana.	Salsas, sopas, aderezos.
Gelificación	Un gel es un estado de hidratación intermedia entre un sólido y un sol, consecuentemente se trata de una red tridimensional donde una matriz sólida envuelve una fase líquida, inmovilizando el líquido dentro de una estructura rígida.	Agar, alginato, carragenina, pectina, gelatina, goma gelan, metil celulosa.	Jaleas, mermeladas, pudines, gomitas, malvaviscos.

Cuadro 9 Continuación. Propiedades funcionales de los hidrocoloides aplicados en la industria alimentaria

Propiedad	Descripción	Ejemplos	Aplicación en alimentos
Actividad superficial y emulsificante	Dentro de sistemas emulsionados, se distinguen entre emulsificantes y estabilizantes		
	Un emulsificante es una especie química única que promueve la formación de una emulsión y mantiene la mezcla uniforme, reduciendo la tensión interfacial entre dos fases.	Goma arábica, ciertos tipos de pectinas, galactomanános, almidones modificados, derivados de celulosa	Leche saborizadas, bebidas base yogurt, mayonesas, aderezos.
	Un estabilizador es un componente químico que puede conferir larga estabilidad a la emulsión		
Sustitos de grasa	Actúan como ingredientes que reemplazan algunas o todas las funciones de las grasas y pueden o no proveer valor nutricional	Inulina, pectina, betaglucanos, goma guar, goma xantana, kappa carragenina, alginato de sodio Goma laca	Helados, aderezos, pudines, salsas, productos de panificación.
Encapsulación	Es el proceso por el cual los ingredientes activos u otros componentes son atrapados dentro de un material de pared, para su protección o su liberación prolongada.		
	La encapsulación protege compuestos bioactivos frente a la inactivación, previene la evaporación y degradación de activos volátiles, como aromas y aceites esenciales, provee de liberación controlada, enmascara sabores desagradables e inmoviliza células o enzimas en procesos de alimentos.	Goma xantana, carragenina, alginato, goma arábica, gnetina.	Colorantes, aceites esenciales, ingredientes nutracéuticos.

Adhesión	Un adhesivo es un sustrato que sostiene materiales juntos debido a las fuerzas de atracción y producido por la penetración de materiales adhesivos en los poros microscópicos y otras superficies irregulares.	Quitosano, pectina, dextrinas, goma arabiga, CMC	Alimentos fritos, nuggets de pollo, productos cárnicos.
-----------------	--	--	---

1.3.5.1 Propiedades nutracéuticas.

La mayoría de los hidrocoloides alimenticios pueden ser considerados como fuente de fibra dietaria. Hay varios beneficios asociados con el consumo de hidrocoloides, incluyendo, manejo de peso, regulación inmune, salud del colon, prevención de enfermedades cardiovasculares, control de glicemia en diabetes tipo 2.

Actualmente se piensa en un amplio rango de hidrocoloides que poseen propiedades nutritivas y efectos fisiológicos, entre los que destacan β -glucanos, pectinas, inulina, goma arabiga, *Psyllium*, almidones resistentes, goma guar, carragenina, entre otros. Los beneficios a la salud de estos hidrocoloides son asociados con la regulación del apetito, función intestinal, reducción del riesgo de osteoporosis y prevención de enfermedades coronarias. (Li y Nie, 2015).

Por ejemplo, la gelatina es una fuente de proteína, libre de colesterol y azúcar, prácticamente no contiene grasa. Es de fácil digestión y completamente metabolizada por el organismo. Es aplicada en alimentos como hidrocoloide, Algunos estudios sugieren que la gelatina puede tener efecto preventivo y regenerativo sobre el sistema óseo (Haug y Draget, 2009) Por otro lado, varios estudios han demostrado que la pectina posee efectos benéficos sobre los humanos, como reducción de lípidos en la sangre, colesterol total, disminución de glucosa en la sangre (Endreût et al, 2009) Los efectos metabólicos y fisiológicos de los hidrocoloides se detallan en el cuadro 10.

Estudios epidemiológicos han demostrado una relación positiva entre el alto consumo de fibra y la reducción del riesgo de padecer ciertas enfermedades crónicas, incluyendo diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares, y cáncer

colorrectal. Un alto consumo en fibra es asociado con la reducción de la constipación y un rápido tránsito intestinal.

La acción de los polisacáridos en el organismo puede ser clasificada por sus efectos en el tracto gastrointestinal (alto y bajo), niveles plasmáticos de glucosa e insulina, niveles plasmáticos de lípidos y colesterol, sus efectos en la saciedad y balance de energía, su influencia en la fermentación de la flora intestinal.

De las propiedades fisicoquímicas de un polisacárido depende su efecto fisiológico, pero es difícil predecir acciones específicas sin conocer sus interacciones con otros componentes, secreciones digestivas y la flora bacteriana del colon. Además, la funcionalidad de un carbohidrato no digerible forma parte integral de una matriz alimentaria, que puede diferir significativamente de la goma aislada y depender de su estructura física y química. (Li y Nie, 2015).

Cuadro 10. Efecto Metabólico de hidrocoloides (fibra soluble) y fibra insoluble-mecanismos de acción Phillips and P.A. Williams , (2009) The Handbook of Hydrocolloids

Propiedades funcionales	Acción fisiológica	Efecto Metabólico	Tipo de Hidrocoloide	Enfermedad/Efecto sobre la salud
Viscosidad/formación de geles	<ul style="list-style-type: none"> • Incrementa la distensión gástrica. • Vaciamiento gástrico lento. • Absorción de nutrientes lenta. • Incremento de la viscosidad intestinal. • Mayor velocidad de defecación. 	<ul style="list-style-type: none"> • Reduce la exposición intestino delgado. • Reduce niveles de absorción de glucosa en sangre. • Reduce la producción enzimática (reduce la estimulación de hidroximetilglutamil co-A reductasa) • Reduce los niveles de colesterol LDL • Reduce la absorción de la grasa. • Eleva la excreción fecal de bilis • Aumenta la sensibilidad a la insulina. • Aumenta la saciedad. 	Goma Guar <ul style="list-style-type: none"> • Alginatos • Inulina • Pectina • Betaglucanos • <i>Psyllium</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Control de glicemia en diabetes tipo 2 • Reducción de colesterol plasmático. • Prevención de enfermedades cardiovasculares • Manejo de peso.
Capacidad de atrapar moléculas de agua (hinchamiento)	<ul style="list-style-type: none"> • Reduce el tiempo de tránsito intestinal • Producción/excreción de hormonas. • Aumenta la salida de heces • Dilución de toxinas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Aumenta la sensibilidad a la insulina. • Aumenta la saciedad. 	<ul style="list-style-type: none"> • Fibra insoluble (hemilcelulosa, celulosa) • <i>Psyllium</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Control de glicemia en diabetes tipo 2 • Manejo de peso. • Prevención y tratamiento de constipación.
Fermentación	* Producción de acetato, propionato, butirato.	<ul style="list-style-type: none"> • Fuente de energía para las células epiteliales del colon. • Regulación de la expresión celular del colon. • Modulación de la muerte celular programada. (Apoptosis) • Cambios en la biomasa/crecimiento microbiano prolongado en contacto con los quimiorreceptores del intestino delgado. Reducción de la producción de glucosa hepática.	<ul style="list-style-type: none"> • Pectina, betaglucanos. • Oligosacáridos no digeribles (inulina) 	<ul style="list-style-type: none"> • Protección en cáncer colorrectal. • Modulación lipídica.

JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial, México es el sexto mercado de confitería más importante y el segundo en América Latina, superado sólo por Brasil. Para 2017, se espera superar ventas del sector mayores de los 5,400 millones de dólares. Este creciente consumo en productos de confitería está relacionado con los efectos placenteros y de salud que son capaces de proveernos cuando se consumen en cantidades moderadas. De hecho, O`Neil, Fulgoni, y Nicklas (2011) reportaron bajos índices de grasa corporal y precursores de desarrollo de diabetes tipo 2, comparado con los que no consumen este tipo de productos. Sin embargo, el consumo excesivo se ha asociado con una alta incidencia de enfermedades como obesidad, caries e hiperglicemia. Aunque el desarrollo de la confitería en el mundo siempre ha estado estrechamente ligado al desarrollo de la azúcas, los avances tecnológicos, así como el desarrollo industrial de cientos de ingredientes novedosos, permiten al tecnólogo en confitería incursionar en innovaciones muy interesantes, que además le dan la posibilidad de atender las necesidades de cierto público que, por diversas razones, no puede o simplemente no quiere ser consumidor de la confitería tradicional, por diferentes razones como: salud y/o cuidado de la figura.

Por estos motivos la confitería funcional engloba aquellos productos a los cuales se les ha agregado uno o varios ingredientes funcionales, que actúan sobre funciones celulares específicas, además de ser nutritivo.

El diseño de golosinas con componentes bioactivos de diferentes fuentes alimenticias es una tendencia actual en la industria de la confitería ya que los productos de confitería resultan un excelente vehículo para la adición de nutrientes específicos, teniendo en consideración que es una forma agradable de llevar estos al consumo, no solo infantil sino en general a la población. (Orozco, 2014). La ventaja de disfrutar de una golosina sin preocuparse de las temidas calorías ha convertido a las golosinas funcionales en un producto estrella.

La elaboración tradicional de gomitas incluye altas cantidades de azúcar y jarabe de glucosa combinado con un agente gelificante, comúnmente grenetina, junto con ácidos, aromas y colorantes. La sustitución total o parcial de azúcar en productos de confitería por edulcorantes no calóricos, así como la adición de otros ingredientes funcionales supone una acción para combatir los problemas de salud, derivados del consumo excesivo de azúcar, por lo que es importante tener expectativas a futuro para obtener como resultado alimentos sensorialmente agradables, inocuos, funcionales, estables y sobre todo accesibles, por estas razones se ha decidido diseñar golosinas tipo “gomita” empleando edulcorantes naturales como Stevia y jarabe de agave que sustituyen a la glucosa y sacarosa en las formulaciones tradicionales de estos productos, reduciendo así el contenido calórico, y mediante la inclusión de pigmentos funcionales como las betalaínas obtenidas de la pitaya (*Stenocereus spp*), aportar propiedades antioxidantes e hipoglucemiantes, por lo cual es de suma importancia una vez desarrollado el producto realizar estudios sobre las propiedades fisicoquímicas, así como sustentar mediante ensayos *in vitro* las propiedades funcionales del consumo de estas golosinas.

HIPOTESIS

La inclusión de betalaínas extraídas del fruto de pitaya en una golosina, aportarán color y propiedades antioxidantes a la golosina desarrollada, confiriéndole propiedades nutraceuticas.

OBJETIVOS

General

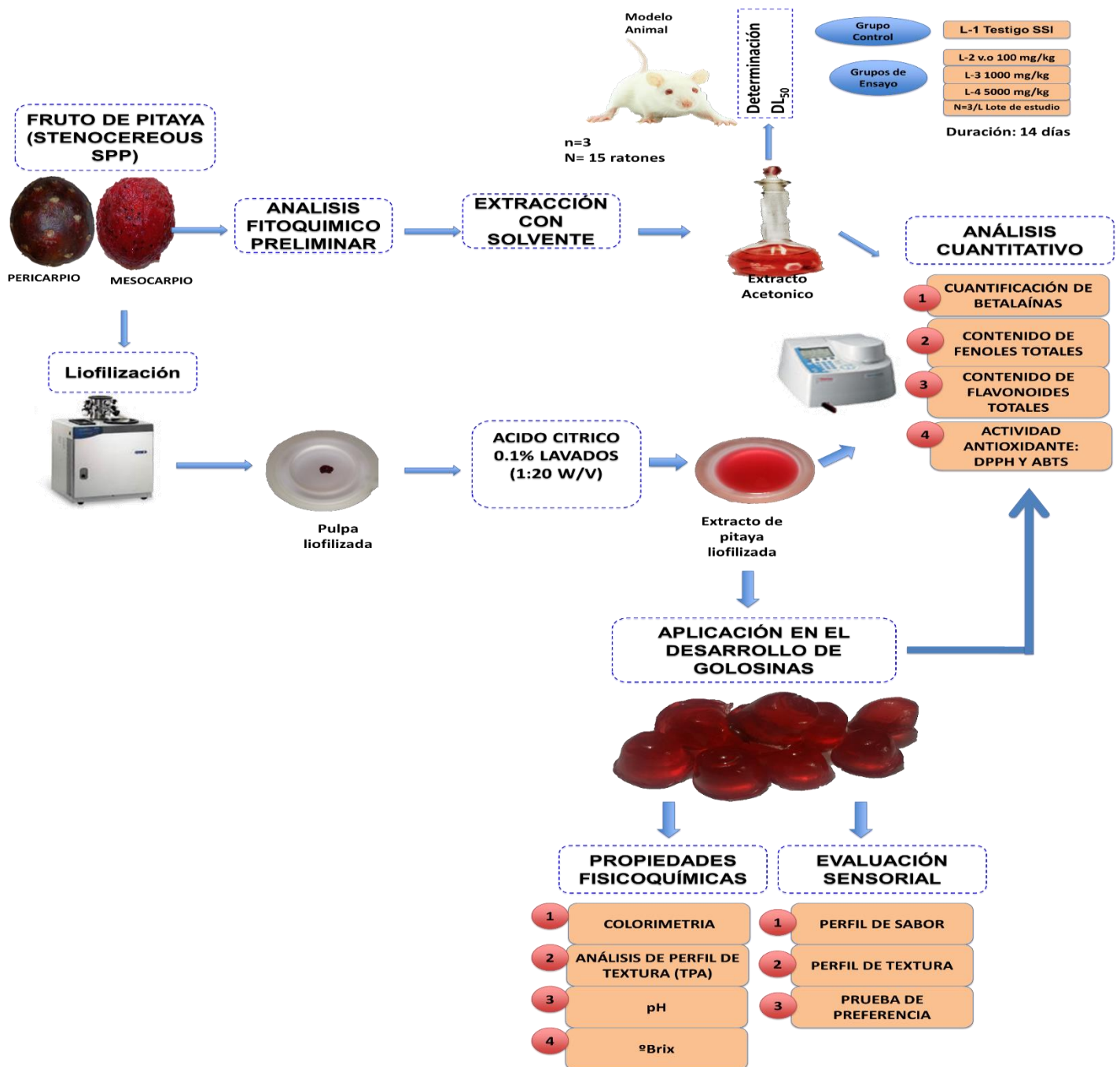
- Desarrollar una golosina utilizando edulcorantes funcionales y extracto de betalaínas de pitaya para obtener un producto funcional.

Específicos.

- Extraer y cuantificar el contenido de betalaínas del fruto ***Stenocereous spp.***
- Determinar la DL₅₀ del extracto de betalaínas para asegurar la inocuidad y ser empleado en la formulación de la golosina.
- Cuantificar el contenido de fenoles totales y flavonoides totales en el extracto, así como en el producto terminado.
- Determinar la capacidad antioxidante *in vitro* presente en el extracto de pitaya y evaluar las principales características fisicoquímicas, funcionales y sensoriales de la golosina desarrollada.

II. MATERIALES Y MÉTODO

2. PROCEDIMIENTO: DIAGRAMA DE FLUJO



2.1 Obtención de materia prima.

Los frutos de pitaya se obtuvieron en el mercado semanal de Atlacomulco, (19.8030319,-99.8720600) Estado de México, transportándolos en una caja de cartón hacia la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Se descartaron de estudio aquellos frutos que tuvieran lesiones, rompimiento de pericarpio o marcado tiempo de madurez con severo oscurecimiento. Las pitayas sin maltrato y estado óptimo de madurez, se lavaron y desinfectaron con detergente orgánico Citrus21, posteriormente se procedió a separar manualmente el pericarpio del mesocarpio empleando un cuchillo de plástico.

Tanto la pulpa como la cáscara se congelaron a -20°C para análisis posteriores.

2.2 Análisis fitoquímico de la pitaya pulpa y cáscara)

Determinación de Antraquinonas

Mediante la reacción de Borntrager's, se colocaron 2 mL de HCl al 10% y una solución de FeCl_3 al 10% más 2 mL de extracto en un tubo de ensayo y se llevó a calentamiento durante 10min. Pasado este tiempo se filtró el extracto caliente, se dejó enfriar y se extrajo con 5 mL de cloroformo. La fase clorofórmica se hace reaccionar con 2 mL de NH_3 diluido y un precipitado rosa, rojo o violeta indica la presencia de antraquinona libre.

Determinación de Alcaloides

A 2mL del extracto se le adición HCl al 1%, de esta solución se filtra 1 mL y se agregaron 6 gotas del reactivo de Dragendorff. Un precipitado naranja rojizo indica la presencia de alcaloides.

Determinación de Taninos

A 2 mL del extracto se le adicionan 10 mL de agua destilada y se filtra. Se toman 2 mL del filtrado y se le agregan 2 mL de FeCl_3 , un precipitado negro azulado indica la presencia de taninos.

Determinación de Saponinas

A 0.5 mL de extracto se le adicionan 5 mL de agua destilada tibia, en un tubo de ensaye y se agita vigorosamente, hasta formación de espuma. Si la espuma es estable por 30 minutos se le considera positivo.

Determinación de Flavonoides

A 1 mL del extracto filtrado se le adiciona 1 mL de NaOH diluido; la formación de un precipitado dorado indica la presencia de flavonoides.

Determinación de Glucósidos

A 0.5 mL de extracto se le adicionan 10 ml de agua destilada y se filtra. Se adicionaron 5 mL de solución Fehling A y 5 ml de Reactivo B. En caso de que se presente un precipitado rojo ladrillo indica la presencia de glucósidos.

Determinación de Glucósidos Cardiotónicos

Mediante la prueba de Salkowski a 2 mL del extracto se le adicionaron 3 mL de cloroformo, se agitó y estratificó con 2 mL de H_2SO_4 cuidadosamente hasta formar 2 fases, la presencia de un botón en la interfase indica la presencia de glucósidos cardiotónicos.

Determinación de Fenoles

A 2 mL del extracto se le adicionaron 3 mL de FeCl_3 al 5% y 5 gotas de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. Un precipitado verde oscuro indica la presencia de fenoles.

2.3 Extracción, cuantificación y caracterización de las betalainas de la pitaya

2.3.1 Obtención de extractos.

Se obtuvieron dos tipos de extractos

- a) Extracción acetónica (Osorio et al., 2011)**
- b) Liofilización y acidificación cítrica (Valadez, 2017)**

Para la obtención de los extractos de pulpa y cáscara, se siguió el método de Osorio et al., (2011). De cada fruto se tomó una muestra de cáscara sin espinas y pulpa con semilla de 50 g, las cuales se homogeneizaron con acetona a 5°C (1:1 Peso/Volumen). La mezcla se filtró con papel filtro Whatman N° 1 en un embudo buchner al vacío. Posteriormente la muestra fue re extraída con acetona acidificada al 70% (v/v) dos veces más.

El filtrado fue combinado y transferido a un embudo de separación, donde se adicionaron dos veces el volumen del filtrado en cloroformo, mezclándose suavemente, cuidando de no formar una emulsión. El extracto se almacenó en un cuarto oscuro, 24 horas, hasta la separación de las fases. La fase acuosa se transfirió a un matraz de bola, para remover el residuo acetona/cloroformo usando un rotavapor al vacío a 40°C hasta la evaporación de disolvente.

La liofilización de pulpa de pitaya fue adaptada del método de Valadez et al., 2017, con modificaciones, utilizando una liofilizadora de laboratorio (SC-10N, Scientz, Ningbo, China). 250 g de pulpa de pitaya fueron congeladas a -40°C, la muestra congelada fue colocada en el portamuestras del equipo para su liofilización a una presión absoluta de 20-40 Pa, temperatura de cámara de 20°C y temperatura de condensador de -60°C por 24 horas, una vez obtenido el concentrado de pulpa, se tomó una muestra de 1 g la cual se reconstituyó en una solución de ácido cítrico al 0.1% (1:20 Peso/Volumen), agitando en Vórtex por 30 minutos, esta mezcla se filtró al vacío.

Todos los extractos una vez filtrados, se centrifugaron a 1000 rpm durante 20 minutos, se separó el sobrenadante del precipitado, posteriormente se evaporó el

disolvente (en el caso de los extractos cetónicos), y se procedió con los siguientes análisis.

2.3.2 Cuantificación de fenoles totales por el ensayo de Folin- Ciocalteau.

La determinación de fenoles totales se hizo de acuerdo al método por Chen et al., (2007).

Se realizó una curva de calibración por triplicado empleando ácido gálico en agua como estándar y considerando los siguientes puntos de concentración 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, y 400 $\mu\text{g/mL}$, se leyó a una longitud de onda de 750 nm en un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis.

A 100 μL del extracto de pitaya se le adicionaron 2 mL de Na_2CO_3 al 2% en solución acuosa en un tubo ambar, se dejó reposar 2 minutos, pasado ese tiempo se le adicionaron 100 μL del reactivo Folin-Ciocalteau (1:2 Reactivo Folin-Ciocalteau:Agua destilada) La mezcla final se agitó por 30 segundos y se incubo a temperatura ambiente por 30 minutos en un cuarto oscuro. Al término de este tiempo, se leyó la curva de calibración realizada. Los resultados se trataron mediante el modelo estadístico de regresión lineal y fueron expresados en mg eq de ácido gálico/ 100 g.

2.3.3 Cuantificación de flavonoides totales.

La determinación de fenoles totales se hizo según lo descrito por Osorio et al., (2013).

Se realizó en primera instancia una curva de calibración tomando como estándar a la catequina (por triplicado), empleando las siguientes concentraciones 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 $\mu\text{g/mL}$, las cuales se leyeron a una longitud de onda de 510 nm en un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10s uv-vis..

Se tomó una muestra de 250 μL del extracto de pitaya y se le adicionó 1250 μL de agua destilada, inmediatamente se le agregó 75 μL de NaNO_2 al 5%, se dejó reposar la muestra por 6 minutos en obscuridad, después de ese tiempo se le

adicionaron 150 μL de AlCl_3 al 10% y se dejó reposar nuevamente por 5 minutos en obscuridad después de este tiempo se colocaron 75 μL de NaOH 1 M, finalmente la mezcla se llevó a un volumen de 2.5 mL para leer en espectrofotómetro UV/Vis a una $\lambda=510$ nm.

2.3.4 Cuantificación de betalaínas por espectrofotometría

El contenido de betacianinas y betaxantinas se cuantificó de acuerdo a lo descrito por Osorio et al., (2011) mediante la absorbancia de los extractos de betalaínas en un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis, utilizando la técnica de barrido. Para la lectura en el espectrofotómetro, las muestras se aforaron de la siguiente manera, extracto cetónico a 50 mL, extracto cetónico de cáscara a 5 mL, y pitaya liofilizada a 25 mL.

Para la conversión de unidades de absorbancia en concentración se utilizó la siguiente expresión.

$$\text{Betalaínas} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \frac{(A)(MW)(Vf)(Df)}{(\epsilon)(L)(wf)}$$

Donde

A=Absorbancia a λ máxima corregida por la absorbancia a 650 nm

MW=peso molecular=550 g/mol (Para la betanina) y 308 g/mol (Para Indicaxantina)

Vf= Volumen total del extracto al momento de leer en el espectrofotómetro

DF= Factor de dilución

ϵ = Coeficiente de absortividad molar, para Betanina $\epsilon= 60,000$ L/mol cm para Indicaxantina $\epsilon= 48,000$ L/mol cm

L= longitud de la celda

Wf= peso fresco del material vegetal

2.3.5 Análisis colorimétrico de los frutos (Meléndez et al., 2010)

El color de la pulpa procesada y la cáscara homogeneizada fue determinado con un colorímetro Konica Minolca CR-400, el color fue expresado con los valores de L^* , a^* , b^* ,

El parámetro croma y el ángulo de tono [$h^0 = \arctan b^*/a^*$], fueron calculados acorde a las siguientes ecuaciones (Meléndez et al., 2010).

$$(1) \quad Cab^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$(2) \quad h^0 = \arctan (b^*/a^*)$$

2.3.6 Evaluación de la Toxicidad aguda.

La toxicidad aguda de los extractos cetónicos y pulpa de *Stenocereus spp.* fue evaluada de acuerdo al método Lorke (Lorke, 1983). Se emplearon ratones machos de la cepa CD-1 de 8 semanas de edad y un peso aproximado de 25 ± 2 g, provenientes del bioterio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, los cuales se mantuvieron en acondicionamiento previo de una semana, bajo condiciones controladas de temperatura (22 ± 2 °C), ciclos de luz oscuridad de 12 horas, alimento y agua *ad libitum* de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Los animales fueron dispuestos de forma aleatoria en cinco lotes (conformado por tres animales c/u), los cuales fueron administrados por vía intragástrica con dosis únicas 0 (SSI:Tween 80 en proporción 9:1), 40, 200, 1000 y 5000 mg de extracto/kg peso respectivamente.

Los animales fueron monitoreados diariamente durante 14 días, se registraron los cambios en peso, consumo de alimento y agua. Al final de este plazo, se sacrificaron acorde a los métodos de eutanasia referidos en la NOM-062-ZOO-1999. Se observaron los órganos blandos: riñones, hígado y testículos, y se registraron los pesos.

2.3.7 Determinación de la capacidad antioxidante por el método del radical DPPH de los extractos de Pitaya

La actividad antiradicalaria fue adaptada tanto del método de Osorio et al., (2012), como del método López Martínez et al., (2009) con ligeras modificaciones. Los extractos se ensayaron por triplicado. La reacción con el radical DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazilo) se llevó a cabo en tubos color ámbar a temperatura ambiente (25°C). Se tomaron 200 µL de extracto más 2.8 mL de una solución de DPPH 0.1 mM, la mezcla se agitó en Vortéx (marca) por 15 segundos. Se utilizó la técnica de reacción de punto final, la cual consiste en dejar reaccionar el extracto con el radical por un lapso de 2 horas (López Martínez et al., 2019) Se empleó acetona como blanco, Trolox (0.1 mM) como control positivo antioxidante y una mezcla de 2.8 mL de DPPH y 100 µL de acetona como control. Al término de este tiempo de reacción, las muestras fueron leídas en un espectrofotómetro Uv-Vis Velab a λ 520 nm.

La actividad antioxidante se expresó como el % de inhibición, calculado con la ecuación:

$$\%Inhibición\ DPPH = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100$$

Donde:

A₀=Absorbancia del control

A_t= Absorbancia de la muestra.

2.3.8 Determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS+ (Valadez, 2017) de los extractos de Pitaya

Se partió de la preparación de una solución madre mezclando reactivo ABTS concentración 7mM (0.0384 g) de Peróxido sulfato de sodio 2.45 mM (0.0384 g), en 10 mL de agua bidestilada, la solución se dejó en reposo 12 hrs a temperatura ambiente y en oscuridad. De esta solución se tomaron 550 µL y fueron aforadas a 50 mL con etanol absoluto. Fue reservada en un frasco ámbar para su uso inmediato estabilizando a lectura de absorbancia 1.1 ± 0.02 unidades de Abs a 734 nm. Se utilizaron microtubos ámbar en donde colocaron 25 µL de cada extracto de Pitaya se adicionaron 475 µL de reactivo ABTS, los cuales se incubaron por 2 horas a temperatura ambiente en oscuridad. Posterior a este lapso de tiempo, se adicionaron 200 µl de los microtubos a los pozos de la microplaca y se leyó a 734 nm en un lector de microplaca (µQuant, Biotek, Instruments Inc., USA).

Se calculó el porcentaje de inhibición del radical mediante la siguiente fórmula.

$$\%Inhibicion\ ABTS = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100$$

Donde:

A₀=Absorbancia del control

A_t= Absorbancia de la muestra

2. 4 Desarrollo de Formulaciones para una golosina funcional

2.4.1 Diseño de Formulaciones.

Se desarrollaron 3 formulaciones por triplicado cada una, A) Control: con sustitución de azúcar y glucosa, en cantidades comerciales. B) formulación elaborada con sustitución de azúcar y glucosa en un 60% C) Formulación con sustitución total (100 %) de azúcar y glucosa como agentes sustitutos del dulzor se incorporaron los edulcorantes naturales estevia (Metco) y jarabe de agave (Enature).

Se utilizó una concentración de 7.5% (w/w) de grenetina (Wilson Gelita, 250 bloom) como agente gelificante,

Para las respectivas formulaciones se preparó un extracto de betalaínas con la pitaya liofilizada [0.4% (w/w)] para lo cual se reconstituyo un gramo de liofilizado en 20 mL de una solución acuosa de ácido cítrico al 0.1%. La grenetina [7.5 % (w/w)] fue hidratada hasta su completa disolución en baño María y se mantuvo a 60° C, a esta temperatura se incorporó el extracto de betalaínas.

Cuadro 11. Formulaciones basadas en el porcentaje de reducción de azúcar y glucosa en gomitas.

Porcentaje de reducción de azúcar y glucosa en formulaciones de gomitas.			
	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3
Ingrediente (%)	0%	60%	100%
Azúcar	31	12.4	0
Glucosa	38.5	15.40	0
Agua	22.00	33.7	29.8
Jarabe de agave	--	30	60
Stevia	--	--	2
Grenetina	7.5	7.5	7.5
Pitaya Liofilizada	0.4	0.4	0.4
Ácido Cítrico (50% w/w)	0.5	0.5	0.2
Sabor	0.1	0.1	0.1
Total	100	100	100

2.4.2 Forma de preparación de las golosinas

Se colocó al fuego en una cacerola el agua de la formulación, y se disolvió el azúcar y la glucosa, y en su caso jarabe de agave y estevia, llevando a cocción hasta alcanzar 110° C. Se dejó que la temperatura bajara a 105° C

Se retiró la mezcla del fuego y se le adicionó la mezcla líquida de grenetina con el extracto a 60° C y se mezcló de manera homogénea.

Posteriormente se agregó el saborizante y ácido cítrico en solución (50% w/w). La mezcla se pasó a moldes y se dejó en reposo hasta su gelificación.

2.4.3 Características fisicoquímicas de las golosinas formuladas (pH, °Brix, color, textura)

Se seleccionaron las variables objetivas que influyen en la calidad de la materia prima, en el proceso y en la estabilidad del producto final. Entre las principales se enlistan las siguientes variables.

pH

El pH se determinó en una muestra de las gomitas formuladas antes de agregar los agentes gelificantes, diluyendo a razón 1:1 con agua destilada empleando un potenciómetro CONDUCTRONIC PH 120 modelo 063172.

Sólidos Solubles Totales °Brix

Los sólidos solubles totales se determinaron en la muestra de caramelos formulados antes de agregar los agentes gelificantes, utilizando un refractómetro ATAGO 0-32°Brix, a una temperatura de 25°C. [ATAGO CO., LTD. Headquartes:32-10, Honcho, Itabashi-ku, Tokio 1730-0001 Japón].

Color

Se determinó el color en el producto final de acuerdo a la metodología descrita en la sección 6.3.5

Textura

Se evaluaron los siguientes parámetros: dureza, elasticidad, cohesividad y gomosidad, mediante un análisis de perfil de textura, empleando un Texturometro EZ test SHIMADZU. Las muestras evaluadas poseen forma cúbica con un área de

5.0 cm² y una altura de 1.6 cm, el equipo se configuró bajo los siguientes parámetros, celda de carga 50 N y una velocidad de desplazamiento de 25 mm/min.

2.4.4 Evaluación sensorial.

Se realizaron tres evaluaciones sensoriales; una prueba afectiva (prueba de preferencia) y pruebas analíticas descriptivas (Perfil de sabor y textura) las cuales fueron aplicadas a las golosinas preparadas, con finalidad de seleccionar la mejor formulación para análisis posteriores.

Para perfil de sabor y textura, 10 jueces (5 hombres y 5 mujeres) como el mínimo establecido para efectuar este tipo de prueba (Sancho et al., 1999) fueron seleccionados aleatoriamente para determinar la diferencia en la intensidad de dulzor entre las muestras con diferentes niveles de sustitución de azúcar con los edulcorantes empleados.

Los atributos evaluados para el perfil de sabor fueron: Afrutado, dulce, ácido, fermentado, amargo y resabio metálico mientras que para perfil de textura: dureza, gomosidad, cohesividad y elasticidad. Se aplicó una prueba de preferencia a un panel sin entrenamiento (N=100, n=64) donde participaron voluntariamente; el panel fue seleccionado aleatoriamente entre los estudiantes y personal de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México. Los panelistas evaluaron las tres formulaciones propuestas, que fueron presentadas en forma de gota aleatoriamente, y eligieron la muestra que más les agrado.

Los resultados obtenidos en la prueba sensorial de perfil de sabor se analizaron estadísticamente por un análisis de variancia (ANOVA) entre las formulaciones y cada descriptor. Los resultados fueron expresados gráficamente mediante la construcción de una gráfica radial.

2.5 Evaluación de la funcionalidad de las golosinas.

Se realizó una extracción de los componentes fitoquímicos de las respectivas formulaciones A) Control: con sustitución de azúcar y glucosa, en cantidades comerciales. B) sustitución de azúcar y glucosa en un 60% C) Sustitución total (100 %) de azúcar y glucosa, de acuerdo a la metodología de Pérez et al., (2015), se tomó una muestra de 10 gramos de la mezcla de jarabe de agave, estevia, y extracto de betalaínas con las que se elaboran las golosinas, a una temperatura de 60°C y se homogenizó con 30 mL de una mezcla de acetona-agua (7/3 v/v) por 3 minutos en Vortex, se filtra al vacío con papel Whatman nº1, y se procedió a centrifugar por 20 minutos a 1000 rpm.

Una vez obtenido el extracto, se determinó el contenido de, fenoles, flavonoides, y betalaínas, así como la capacidad antioxidante in vitro por el método DPPH y ABTS, descrita anteriormente en los puntos 2.3.2, 2.3.3, 2.3.4, 2.3.7 y 2.3.8 respectivamente.

2.6 Análisis Estadístico.

Los resultados obtenidos fueron analizados empleando el programa estadístico Minitab versión 17 y aplicando un análisis de varianza (ANOVA), las diferencias entre medias se determinaron a través de la prueba de Tukey empleando un nivel de significancia $p \leq 0.05$. La probabilidad $p \leq 0.05$ fue considerada significativa en todos los experimentos

III. Resultados y Discusión

3.1 Composición fitoquímica de la Pitaya

Con el fin de conocer la composición fitoquímica de la pitaya y así establecer bases para su empleo como ingrediente nutracéutico se realizó un estudio preliminar a los extractos cetónicos de pulpa y cáscara en base húmeda, en el que se evaluó la presencia de los principales grupos de metabolitos secundarios asociados con actividad biológica: antraquinonas, alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides, glucósidos, glucósidos cardiacos, y fenoles. En el cuadro 12, se observan los resultados para la presencia de cada fitoquímico.

Cuadro 12. Análisis fitoquímico preliminar en extractos de pitaya.

Prueba	Extracto	
	Extracto cetónico de pulpa	Extracto cetónico de cáscara
Antraquinonas	(-)	(-)
Alcaloides	(-)	(-)
Taninos	(-)	(++)
Saponinas	(-)	(+)
Flavonoides	(+)	(++)
Glucósidos	(++)	(+)
Glucósidos Cardiacos	(-)	(-)
Fenoles	(++)	(+)

Los compuestos fenólicos son definidos como sustancias que poseen un anillo aromático, conteniendo uno o más grupos hidróxilo, incluyendo sus derivados funcionales (cadena de alcoholes y grupos carboxilos) (Andreés-Lacueva et al., 2010). Las plantas pueden contener una gran variedad de compuestos fenólicos incluyendo fenoles simples, fenilpropanoides, derivados de ácido benzoico, flavonoides, taninos, lignanos y ligninas.

En el análisis fitoquímico preliminar se detectó la presencia de fenoles, así como flavonoides (Fig. 18) tanto en la pulpa como en la cáscara.

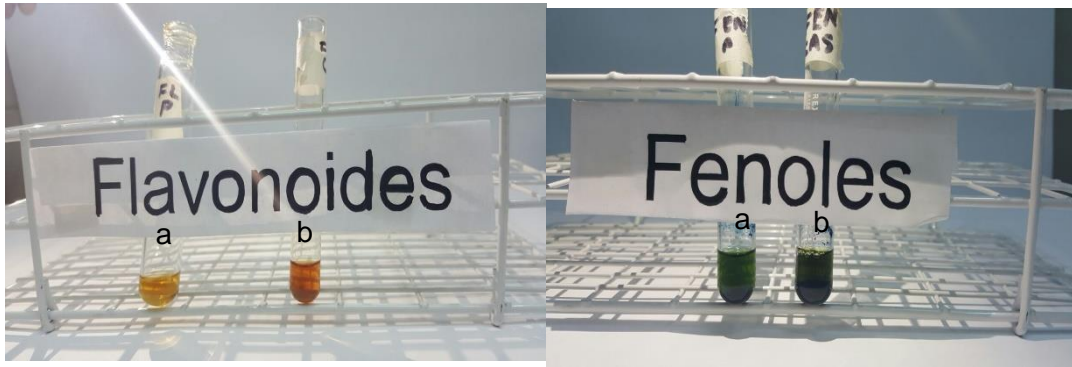


Fig. 19, Contenido de fenoles y flavonoides en a) Pulpa de pitaya y b) cáscara de pitaya

En este estudio únicamente la cáscara de pitaya dio una reacción positiva a la presencia de taninos condensados (Fig. 20) debido a que se observa el precipitado dorado que indica la formación de un complejo con el FeCl_3 , lo cual es característico de este grupo. Bate Smith y Swain (1962) definieron a los taninos como compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular entre 500 y 3000 Daltons. Sus propiedades características incluyen la formación de complejos insolubles con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos y alcaloides. En alimentos y bebidas como uva, sorgo, arándanos, manzana, cocoa, cerezas, frambuesas, zarzamoras los taninos son los responsables de su sabor astringente (Pouysegu, et al., 2011).

Los taninos exhiben actividad biológica relacionada con su capacidad antioxidante, estudios *in vitro* demostraron la inhibición de la peroxidación lipídica tanto en taninos hidrosolubles y condensados Seeram et al., (2005), estudiaron el efecto antioxidante de la punicalagina, un tanino hidrosoluble que se encuentra en la granada, reportaron que posee un alto potencial antioxidante y es capaz de inhibir la peroxidación lipídica inducida por Fe^{2+} en un modelo liposomal (Poseen actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral (Jayaprakasha et al., 2003) así como actividad antiinflamatoria, antiproliferativa y antihistamínica (Adams et al., 2006).

Los taninos se clasifican en dos grupos de acuerdo a su estructura en hidrosolubles y condensados, siendo estos últimos los más estudiados debido a que están ampliamente distribuidos en la naturaleza y son importantes componentes de diversos alimentos. Los taninos pertenecen a la familia de los flavonoides, la ausencia de estos fitoquímicos, en la pulpa de pitaya se debe principalmente a la nula o baja concentración de flavonoides totales (Rebecca, et al, 2010)

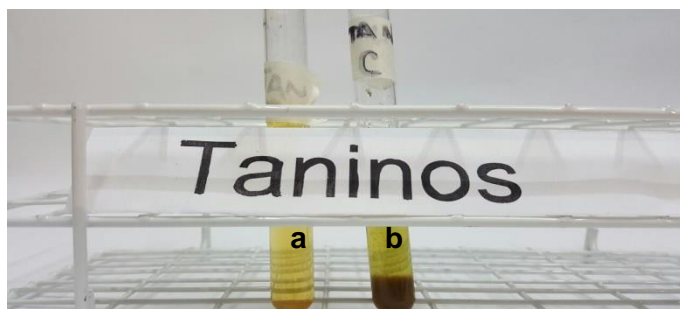


Fig. 20 Contenido de taninos en a) Pulpa de pitaya y b) cáscara de pitaya

Los glucósidos son moléculas compuestas por un glúcido (generalmente monosacáridos) y un compuesto no glúcido entre las funciones biológicas que tienen, son responsables del estímulo de la respuesta inmune por acción en los macrófagos y linfocitos (Lakshmi et al, 2003) además de presentar una potente actividad antioxidante (Wu et al, 2005; Wang et al, 2013). En este estudio preliminar los resultados son positivos para azúcares reductores, se observó un precipitado rojo ladrillo en ambos extractos, en mayor concentración para la pulpa que para la cáscara (Fig. 21); sin embargo, negativos para glucósidos cardiacos. Strack et al., (2003), aislaron varios glucósidos y acilglucósidos como betanina y lamprantina de betaxantinas. Stinzing et al, (2005), reportaron la presencia de betanidina-5-O- β -glucósido (betanina), isobetanidina -5-O- β -glucósido (isobetanina), y betanidina-6-O- β -glucósido, para las variedades púrpura, naranja y roja de frutos de *Opuntia* sp al igual que *Opuntia joconostle* (Osorio et al., 2011).

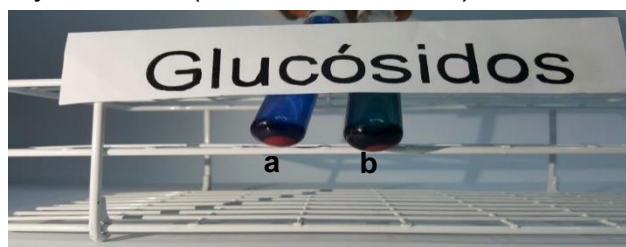


Fig. 21 Contenido de glucosidos en a) Pulpa de pitaya y b) cáscara de pitaya

En México solo ciertas cactáceas contienen compuestos sapogénicos, algunos triterpenos reportados son el ácido olealónico y querataroico y en cuanto a los pocos esteroides que se han logrado aislar, especialmente de cactáceas columnares son los dihidroxiesteroides que comienzan su nombre con el de las cactáceas de donde

proviene como son el peniocerol, stenocerol, thurberol y ciclosterol (*Peniocereus, fosterianus* y *Stenocereus thurberi*) (Hernández, 1996). En el presente trabajo, el extracto cetónico de cáscara produjo una espuma estable al agitarse, lo que indica la presencia de saponinas (Fig. 22). Las saponinas son glucósidos que actúan como surfactantes, las cuales son precursoras de hormonas esteroideas. (Avalos y Perez, 2009)

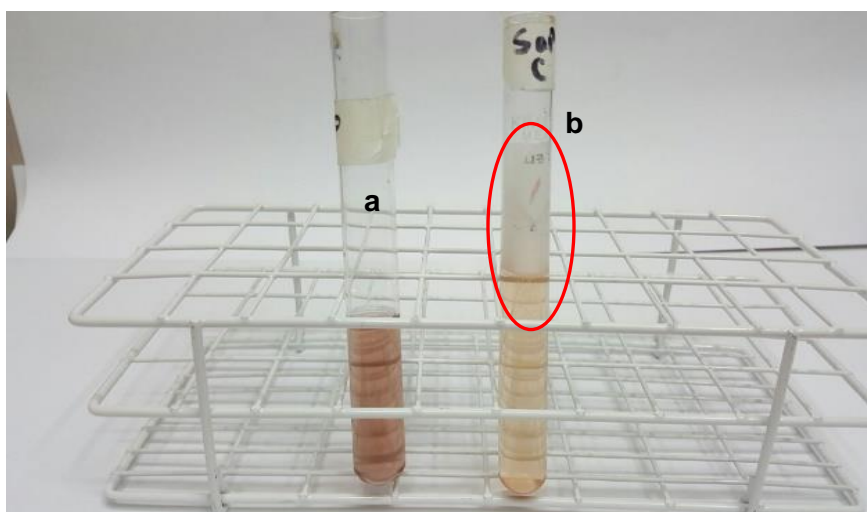


Fig. 22, Contenido de saponinas en a) Pulpa de pitaya y b) cáscara de pitaya

3.2 Caracterización y contenido de betalainas, fenoles y flavonoides totales en extractos de Pitaya

3.2.1 Colorimetría de Pitaya

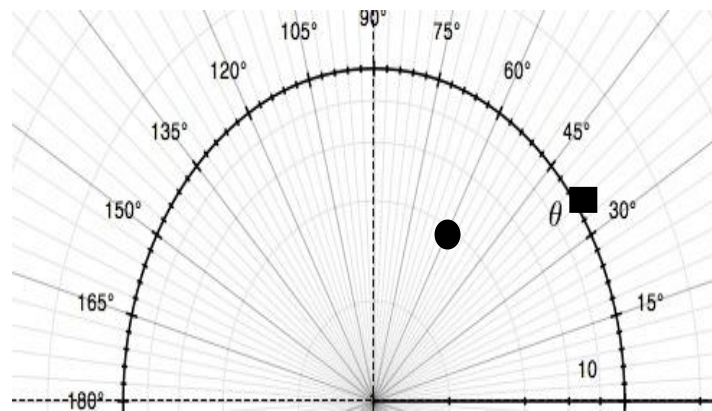
Siendo el color uno de los rasgos más atractivos de las pitayas se determinó el color en la pulpa y cáscara después de la adquisición del material vegetal, obteniéndose las dimensiones “L”, “a” y “b”, donde “L” se refiere a la brillantez, cuyos valores varían desde 0 que representa valores totalmente oscuros hasta 100 que representa valores de máxima brillantez; “a” se refiere al color desde verde (-) hasta el rojo (+) y “b” se refiere al color desde azul (-) hasta el amarillo (+). (Figura 23.d)



a) Cascara *Stenocereus spp*



(b) Pulpa *Stenocereus spp*



(c) representación de Chroma y °h para las diferentes partes del fruto

Parte	L*	Parámetro	
		a*	b*
Pulpa	32.67±0.61	45.01±1.00	18.14±0.66
Cáscara	27.89±0.270	7.68±0.15	7.84±0.63

(d) Valores de L*, a*, b* para las diferentes partes del fruto

Fig. 23 Análisis colorimétrico para las diferentes partes del fruto (a) y (b), Chroma y °h (c), Valores CIELAB, (d) Se han reportado estos valores para especies de la familia de las cactáceas que comparten el mismo color rojo que *Stenocereus spp*, Esquivel et al. (2007) reportaron las características de color de 5 variedades de la especie *Hylocereus spp* nativas de Costa Rica (“Lisa”, “Nacional”, “Orejona”, “Rosa”, “San Ignacio”) donde los valores colorimétricos a* más altos fueron reportados para la variedad “Rosa” y “San Ignacio” (33.7±1.4 y 35.9±1.1) estas variedades poseen pulpa de color rojo. Los valores colorimétricos obtenidos para *Stenocereus spp* son distintos a los reportados para *Hylocereus spp*, sin embargo, comparten la tendencia de apuntar hacia valores para tonos rojos dentro del espacio CIELAB.

En este estudio la pulpa presenta mayor brillantez en comparación a la cáscara ($L^*=32.67\pm 0.61$, $L^*=27.89\pm 0.27$, respectivamente), No obstante, ambos valores corresponden a una región donde las tonalidades son más oscuras, las betalaínas que son los pigmentos responsables de la coloración en frutos de pitaya a diferencia de las antocianinas no presentan colores brillantes ($L^*>50$) (Stingzing Y Carle, 2004). En cuestión a los valores a^* existe diferencia significativa entre pulpa y cáscara ($a^*=45.01\pm 1.00$, $a^*=7.68\pm 0.15$, respectivamente), siendo la pulpa la que presenta un valor más alto, la presencia de valores positivos b^* indican la tendencia de los componentes de la fruta para presentar tonalidades amarillas, que corresponden a la presencia de betaxantinas, la pulpa presenta un valor $b^*=18.14\pm 0.66$ y la cáscara $b^*=7.84\pm 0.63$, entre ambas no hay diferencia significativa para los valores a^* y b^* , lo que indica una cantidad equitativa de pigmentos rojos y amarillos.

Con respecto al ángulo de matiz ($^{\circ}h$) para la pulpa $21.94^{\circ}\pm 0.28$ y su valor Chroma $48.52^{\circ}\pm 1.17$ presenta un color rojo claro a diferencia de los valores h° y Chroma para la cáscara $45.54^{\circ}\pm 1.79$ y 10.98 ± 0.54 que le confieren dentro del espacio CIELAB una tonalidad rojo-oscura, que se corrobora por el valor más bajo de L^* respecto a la pulpa. (Figura 22.c)

Los valores obtenidos en este estudio de L^* , $^{\circ}h$ y Chroma se encuentran el intervalo reportado por García-Cruz et al., 2016, para la especie *Stenocereous pruinosos* dentro de los primeros 4 días después de la recolección del fruto. Lo que indica que los valores colorimétricos son dependientes del estado de maduración del fruto, así como el manejo postcosecha.

3.2.2 Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalainas en extractos de Pitaya

Al contrario de otros pigmentos como los carotenoides, clorofilas, y antocianinas, las betalaínas han sido poco estudiadas, las actividades de investigación en varias disciplinas han tratado aspectos fitoquímicos, tecnológicos y nutricionales relacionados con las betalaínas (Stintzing & Carle, 2007).

Con un enfoque en los alimentos, la escasa atención hacia las betalaínas como pigmentos naturales probablemente se debe a que el betabel rojo ha sido considerado la única fuente comestible de betalaínas. Las hojas y el grano de amaranto, los frutos de las cactáceas, incluso la acelga y el betabel amarillo, han estimulado a los científicos en alimentos a estudiar las betalaínas desde una perspectiva tecnológica y nutricional (Stintzing & Carle, 2007).

Se ha reportado el contenido de Betalaínas en diferentes especies de cactáceas entre las más estudiadas se encuentran las del género *Hylocereous* y *Opuntia* poco son los estudios relacionados al género *Stenocereous*, siendo una especie endémica del país y dado que los objetivos principales de este estudio fue la obtención y caracterización de betalaínas del fruto de *Stenocereous spp*, se optó por realizar su caracterización.

El color de las betalaínas varía entre el rojo y el amarillo, dependiendo de factores como la variedad del fruto, así como de la región del espectro a la que absorbe luz. En función de lo anterior las betalaínas pueden agruparse en dos tipos: betacianinas (pigmentos rojos) y betaxantinas (pigmentos amarillos). En la Fig. 24 se muestra el espectro de luz UV-Vis de los extractos analizados en las diferentes partes del fruto, encontrando que todos los extractos poseen longitudes de onda a la que presentan picos máximos de absorción similares (486-536 nm), lo que indica la presencia de ambos tipos de betalaínas. La presencia sinérgica de betacianinas y betaxantinas está reportada en espectros UV-VIS para el betabel rojo (*Beta vulgaris*), así como para *Stenocereous griseus* variedad roja y naranja (García-Cruz et al., 2012) y las variedades rojas, naranjas y púrpuras de *Opuntia spp* (Stingzig et al., 2005)

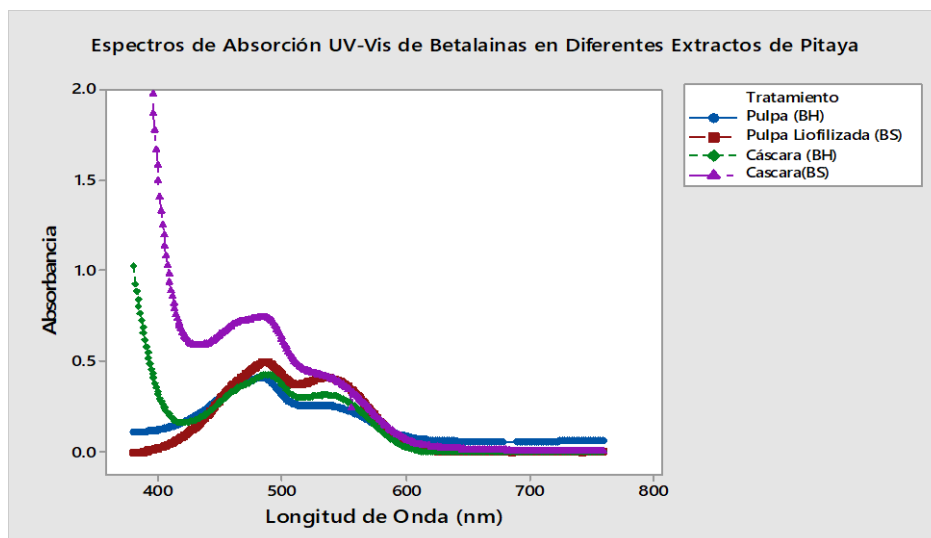


Fig. 24. Espectros de absorción UV-Vis de Betalaínas en los diferentes extractos de pitaya.

Para las especies de *Hylocereous*, los espectros reportados para pulpa solo indican un pico máximo de absorción a 536-540 nm, Faridha et al., (2015) reporta una longitud de onda máxima en el espectro de 530 nm para el extracto metanólico de cáscara de *Hylocereus* en un barrido de 200-800 nm, donde la ausencia de picos en la región UV (200-360 nm) muestra que el extracto no posee grupos benzoilos característicos a la clase de flavonoides como las antocianinas, lo que demuestra que estos dos pigmentos son mutuamente excluyentes, es decir que no pueden existir los ambos metabolitos en la misma planta.

En este estudio el contenido de betacianinas y betaxantinas en extracto cetónico base húmeda fueron de 17.14 ± 4.97 mg eq de betanina/100 gramos y 30.03 ± 6.22 mg eq indicaxantina/100 g, y un contenido de betalaínas totales de 47.197 ± 11.12 mg eq. betanina/100g respectivamente. (Cuadro 13).

Cuadro 13. Contenido de betacianinas, betaxantinas y Betalaínas totales en las diferentes partes del fruto de pitaya.

Muestras	Betacianinas (mg eq/100 g)	Betaxantinas (mg eq/100g)	Betalaínas Totales (mg eq/100 g)
Pitaya liofilizada (BS)	164.62±19.66 ^a	142.45±13.93 ^a	306.70±33.5 ^a
Extracto cetónico pulpa (BH)	17.15±4.96 ^b	30.03±6.22 ^b	47.19±11.12 ^b
Extracto cetónico cáscara (BH)	3.71±0.06 ^b	3.56±0.120 ^c	7.27±0.17 ^b
Cáscara de pitaya (BS)	18.18±2.06 ^b	22.07±1.45 ^{bc}	40.25±3.80 ^b

Resultados expresados como n=3, promedio±desviación estándar. Las medias que no comparten misma letra en una misma columna son significativamente diferentes. (P<0.05) , Prueba de Comparación de medias de Tukey

A pesar de que *Stenocereous spp* presenta una mezcla de betacianinas y betaxantinas, los resultados obtenidos exclusivamente para betacianinas son similares a los de otros autores que han reportados en otras especies. En la investigación de Wu et. al., (2006), el contenido en base húmeda de betacianinas en pulpa para *Hylocereous polyrizhus* fue de 10.3±0.22 mg eq betanina/100g, mientras que Liaohtrakoon et. al., (2012), reportaron un contenido de 16.5 mg eq betanina/100 g en pulpa de *Hylocereous spp*, un valor ligeramente menor al reportado en el presente estudio con pitaya. Castellar et al., (2006), informaron una composición simple de pigmentos (betanina e isobetanina) en una concentración casi 23.3 veces mayor que en dragon fruit con respecto a un extracto de *Opuntia stricta* (3.84 mg eq/100 g). En el xoconostle de uso tradicional mexicano (*Opuntia joconostle*) Osorio et al., (2011), encontraron un contenido de betacianinas de 23.03 mg/100 g que es mayor respecto al contenido de betacianinas tanto para *Hylocereous*, *Opuntia* en base húmeda; sin embargo, cuando se compara contra el contenido de betalaínas totales, el extracto cetónico de pulpa y la pulpa liofilizada de *Stenocereous spp* tiene una mayor cantidad respecto a las especies y variedades antes mencionadas.

En el extracto de pulpa liofilizada (base seca) analizado en este estudio se encontraron betacianinas en 164.62 ± 19.66 mg/100g y betaxantinas en 142.45 ± 13.93 mg/100 g dando un contenido total de betalaínas de 306.70 ± 33.50 mg/100g, que es significativamente diferente a los extractos cetónicos de pulpa y cáscara (bh) ($P < 0.05$) lo que indica que la liofilización, al remover el contenido de agua concentra la mayor cantidad de estos pigmentos, lo que concuerda con Liatrakoon (2012), al obtener mayor concentración de betalaínas con pulpa liofilizada, manteniendo la calidad, estabilidad de color y valor nutrimental.

Comparando con estudios anteriores, García Cruz, et al. (2012) reportaron para el extracto metanólico (Base Seca) de *Stenocereous griseus* en las variedades roja y naranja el contenido en muestra seca de betacianinas de Pitaya roja: 199.6 ± 24.32 mg/100g y Pitaya naranja: 37.6 ± 7.54 mg/100 g; betaxantinas: Pitaya roja: 147.61 ± 18.21 mg/100g y Pitaya naranja 177.37 ± 30.18 mg/100g, dando un valor de Betalaínas totales en Pitaya roja: 347.30 ± 20.98 mg/100g y Pitaya naranja: 215.04 ± 36.16 mg/100g. A pesar de que la pulpa de *Stenocereous spp* presentan una coloración rojiza, las betaxantinas están presentes en mayor concentración (1.7:1) respecto a las betalaínas totales, lo que concuerda con estudios de García Cruz et al., (2016), para la variedad *Stenocereous prinioides*; sin embargo, en este estudio, al remover el agua de la pulpa y obtener un concentrado liofilizado, se extrae mayor cantidad de betacianinas, lo que indica que este grupo de pigmentos es más soluble en la mezcla agua/ácido cítrico (0.1%), esto se puede relacionar por la presencia de grupos -OH en los compuestos betacianicos, los cuales permiten polarizar la carga, así como los enlaces de hidrógenos les confieren propiedades hidrofílicas (Fathordoodaby et al., 2016), el ácido cítrico aunado a un proceso de centrifugación permite la separación de pectinas y mucílagos. Por otra parte, las betaxantinas se extraen en mayor cantidad en presencia de mezclas de solventes orgánicos y agua, en este caso acetona acuosa acidificada al 70%. Las extracciones con acetona acidificada seguida de una precipitación con cloroformo favorecen la separación de pectinas y mucílagos, además de ayudar a remover lípidos, carotenoides, clorofilas y otros compuestos no polares. El uso de acetona y agua acidificada mejora la extracción de las fracciones acuosas y su pH bajo mejora la estabilidad de los

pigmentos (Osorio, et. al, 2011). De acuerdo con Liatrakoon la cáscara de pitaya representa un 30-35 % del peso total de la fruta y es considerada desperdicio después de su consumo y/o procesamiento, pero este residuo puede ser materia prima para la extracción de pigmentos debido a la presencia de betalaínas (Wu, et al., 2006), como se encontró en el presente estudio.

Faridha et al., (2015), determinaron un contenido de 7.73 mg eq betacianina/100 g (Base húmeda) para la cáscara de *Hylocereous polyrhizus* que es significativamente diferente al contenido en base seca con un contenido de betacianinas de 73.24 mg/100g (aproximadamente 10 veces más). Robert et al., (2015) reportaron un contenido en base seca de betacianinas para *Hylocereous undatus* de 101.04 mg/100g; sin embargo, contenido de betacianinas fue mayor para la cáscara liofilizada de *Hylocereous polyrhizus* (360.14 mg/100g) informado por Liaotrakoon et al., (2012).

Los resultados obtenidos para la cáscara de *Stenocereous spp* son similares en base húmeda (7.27 ± 0.17 mg/100 g) a los reportados por Faridha et al., (2015) en pericarpio de *Hylocereous polyrhizus*, (7.73 mg eq betacianina/100 g en Base húmeda) pero significativamente diferentes ($P < 0.05$) a los valores obtenidos en base seca (40.25 ± 3.80 mg/100 g) en pitaya de este estudio. A pesar de que también se empleó una extracción con acetona acuosa acidificada al 70%, la interacción de pectinas y mucílagos con la parte polar del extracto acompañada de un tiempo prolongado de filtración redujo la cantidad de betalaínas recuperadas lo que concuerda con estudios realizados por Fathordoodaby et al., (2016), donde obtuvo un mayor rendimiento de betacianinas en pulpa que en cáscara de *Hylocereous polyrhizus* ($P < 0.05$), reportando que de la extracción 50/50 etanol/agua es más rápida en tiempo de filtración y eficiente frente a la extracción acuosa de betacianinas en cáscara, con rendimientos de 28.44 ± 1.98 mg eq Betacianina/100 ml y 10.43 ± 0.55 mg eq Betacianina/100 ml, respectivamente.

Considerando que la cáscara de *Hylocereous polyrhizus* tiene un contenido de pectinas del 26.38% (Muhammad et al, 2014) se deduce que esta cantidad influye en la disponibilidad de las betalaínas que pueden estar atrapadas en la red de ácido

galacturónico formada, por lo que se necesita un proceso de extracción en el cual se asegure la separación completa de la pectina de las betalaínas. No se ha reportado en la literatura el contenido de pectinas en frutos de *Stenocereous spp* ni en sus variedades, sin embargo, por los resultados obtenidos en la cuantificación de betalaínas en cáscara se infiere un contenido de pectina considerable.

3.2.3 Toxicidad Aguda de los extractos de Pitaya

Uno de los principales atractivos de la evaluación de la calidad de un alimento es el color. Mediante el empleo de colorantes, los consumidores pueden disfrutar del gusto y sabor de un alimento. En los recientes años la demanda del mercado de colorantes sintéticos ha disminuido a favor de los pigmentos naturales (Ravichandran et al., 2012). En la Unión Europea se ha restringido la aplicación de colorantes alimentarios sintéticos como aditivos. Estas restricciones han mejorado el uso de colorantes naturales en la industria alimentaria. (Borgeset al., 2012) Con el fin de asegurar la inocuidad del extracto y poderlo aplicar en la formulación de golosinas, se determinó su toxicidad aguda.

En esta prueba se observó que los animales administrados con las diferentes dosis del extracto de betalaínas de pulpa de pitaya (40, 200, 1000 y 5000 mg/kg) no presentaron reacciones adversas tras su administración. No provocó mortalidad en ninguno de los grupos tratados durante los 14 días de observación posteriores a la administración.

Uno de los parámetros empleados como indicador de toxicidad fue el peso corporal de los animales. El porcentaje de incremento ponderal no presentó diferencia significativa al ser comparado con el grupo control. Lo anterior indica que el consumo de betalaínas no genera un efecto tóxico.

Al finalizar este estudio se realizó un análisis macroscópico de los órganos de los animales, no encontrando daño aparente en el hígado, bazo y riñones.

De acuerdo a lo anterior se encontró que la dosis letal 50 (DL₅₀) para el extracto de Betalaínas de pitaya fue mayor a 5000 mg/kg vía intragástrica, por lo que podría ser

considerado un producto seguro para su consumo, aunque faltaría otras múltiples pruebas toxicológicas; Al igual que el extracto de pitaya, Faridah et. al., (2015b), reportaron que los extractos etanólicos de betalaínas de *Hylocereous polyrhizus* mostraron una DL₅₀ mayor a 5000 mg/kg de peso.

Como se discutió en la sección 7.3.2 sobre cuantificación de betalaínas totales el extracto cetónico de pulpa de pitaya junto con el concentrado liofilizado presentan la mayor cantidad de estos fitoquímicos, debido al interés en limitar el uso de solventes y a pesar de que los resultados obtenidos para el extracto cetónico que muestran que no es tóxico, se optó por utilizar el concentrado liofilizado para el desarrollo de golosinas funcionales, principalmente por asuntos de seguridad alimentaria y cualquier inadecuación asociada con las técnicas convencionales de extracción con solvente.

3.2.4 Contenido de Fenoles y Flavonoides Totales

Los compuestos fenólicos ayudan a proteger a la planta contra la luz ultravioleta, y actúan como defensa contra microorganismos patógenos. Este tipo de protección puede ser necesario para la fruta y puede explicar el alto contenido fenólico encontrado en la cáscara (Osorio, et al, 2011). Debido a las propiedades hidrofílicas de todos los compuestos como ácidos fenólicos, flavonoides y especialmente las betalaínas que contribuyen al análisis de fenoles totales (Tenore et. al 2012)

El contenido de fenoles totales en pulpa liofilizada fue significativamente diferente a los extractos cetónicos de pulpa y cascara. Siendo la pulpa liofilizada la que presenta mayor cantidad (535.48±11.70 mg eq GAE/100g), lo cual puede ser por la extracción acidificada con ácido cítrico al 0.1%. mientras que en los extractos cetónicos de pulpa y de cáscara las concentraciones fueron 12.3 y 13.8 veces menor. Cabe hacer mención que entre estos dos últimos tratamientos no hubo diferencia significativa (Cuadro 14).

Cuadro 14. Contenido de fenoles y flavonoides totales en los extractos de pitaya.

Muestra	Fenoles Totales (mg eq GAE/100g)	Flavonoides Totales (mg CQ/100 g)
Pulpa liofilizada	535.48±11.70 ^a	140.76±6.62 ^a
Extracto cetónico de pulpa	43.60±0.71 ^b	7.45±0.46 ^c
Extracto cetónico de cáscara	38.77±0.44 ^b	22.49±1.92 ^b

Resultados expresados como n=3, promedio±desviación estándar. Las medias que no comparten misma letra en una misma columna son significativamente diferentes. (P<0.05), Prueba de Comparación de medias de Tukey

Wu et al., (2006), reporta una cantidad similar de fenoles totales en pulpa de pitaya roja (*Hylocereous polyrhizus*) de 42.4±0.04 mg eq GAE/100 g en pulpa y para cáscara de 39.7 mg eq GAE/100 g en base húmeda y con extracción cetónica, con respecto a lo encontrado en pitaya y sus respectivos extractos.

Fathordoodaby et al., (2016), encontraron que el contenido de fenoles totales del extracto de *Hylocereous polyrhizus* fue mayor con la extracción de solventes, 139 ± 0.41 mg GAE/100 g y 105±0.53 mg GAE/100 g (base seca) para cáscara y pulpa respectivamente, que se alcanzó aplicando 50% de etanol acuoso como solvente seguido de la extracción por fluidos supercríticos.

Osorio et al., (2011), analizaron el contenido de fenoles totales en xoconostle encontrando que el pericarpio fue de 2.07 mg eq. GAE/g y 1.38 mg eq. GAE/g para mesocarpio ambos en base húmeda.

En la investigación de Stingzig et al., (2005), el contenido de fenoles totales para la variedad púrpura de *Opuntia ficus indica* concentró la mayor cantidad (660±35.8 mg eq GAE/ L) seguido de las variedades roja y naranja (335±19.3 mg eq GAE/ L, 247±23.1 mg eq GAE/ L respectivamente).

García et al., 2017 en sus investigaciones reportaron el contenido de fenoles totales en mg eq GAE/100 g de pulpa seca y extracción etanólica para *Stenocereous griseus* H variedad roja con un valor de 166.5±14.40 y para la variedad naranja 52.8±3.8, mientras que en 2016 informaron que en las variedades *Stenocereous*

pruinus y *Stenocereus stellatus* (ambas variedades de pulpa color rojo) un contenido de 53.59 ± 6.98 mg eq GAE/100 g y 70.77 ± 9.06 mg eq GAE/100 g, respectivamente en base húmeda al día cero después de la recolección del fruto, dicho contenido permaneció sin cambios significativos durante el almacenamiento de los frutos, lo cual es considerado normal dado que los compuestos fenólicos están presentes en los tejidos de las plantas independientemente del estado fisiológico y puede incrementar, disminuir o mantenerse constante durante el almacenamiento. Sin embargo, los valores reportados corresponden a los primeros seis días, en el caso de los frutos analizados en este estudio después de su recolección fueron llevados a congelación, por lo que el tiempo entre la recolección del fruto y el traslado al punto de venta y al laboratorio influye en la cantidad de fenoles totales.

Respecto al contenido de flavonoides en la pulpa liofilizada (b.s) se encontró que fue mayor (140.76 ± 6.62 mg eq CE/100 g) comparado con los extractos cetónicos de pulpa (7.45 ± 0.46 mg eq CE/100 g) y cáscara (22.49 ± 1.92 mg eq CE/100 g) (base húmeda) respectivamente. La cáscara muestra una mayor cantidad de estos fitoquímicos coincidiendo con lo observado en el análisis preliminar fitoquímico en comparación a la pulpa. Comúnmente, los flavonoides son encontrados principalmente en los pericarpios de las frutas. (Shahidi & Naczki, 2004). Se considera que la concentración en la cáscara se debe a la acción de la luz y otros factores ambientales que pueden inducir la síntesis de flavonoides en las plantas.

El contenido de flavonoides reportado por Wu et. al, (2006) para pulpa y cáscara de *Hylocereous polyrhizus*, no varió mucho (7.21 ± 0.02 mg eq CE/100 g y 8.33 ± 0.11 mg eq CE/100 g, respectivamente), en este estudio la pulpa de *Stenocereus spp* tiene una concentración similar a la pulpa de *Hylocereous* (7.45 ± 0.46 mg eq CE/100 g) sin embargo, el valor más alto para flavonoides en la misma especie es reportado por Tenore et al., (2012), donde la pulpa tiene una concentración de 70.8 ± 0.8 mg eq CE/ 100 g y la cáscara 96.5 mg eq CE/ 100 g (Base húmeda) la cantidad de flavonoides es mayor puesto que se analizó su fracción exclusiva mediante HPLC-DAD y HPLC-MS-MS. En este estudio se realizó la cuantificación en extractos no

fraccionados por lo que la cantidad de flavonoides es menor, los extractos subfraccionados usando partición de solventes proporcionan resultados más fiables al reducir el número de clases fitoquímicas en una sola fracción y reduciendo potenciales interferencias, (Tenore et al., 2012).

No se reporta en la literatura el contenido de flavonoides totales para ninguna variedad del género *Stenocereous*, y de acuerdo a los resultados obtenidos la cáscara de *Stenocereous spp* es una potencial fuente de estos fitoquímicos.

3.2.5 Actividad antioxidante de los extractos de Pitaya

La actividad antioxidante de los extractos cetónicos de pitaya se evaluó mediante técnicas *in vitro*. Se utilizaron dos radicales libres que son comúnmente usados para ensayos de actividad antioxidante en compuestos naturales y alimentarios: a) 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazol-6-ácido sulfónico) (ABTS) y b) 2, 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH); sin embargo, ambos radicales son ajenos a los sistemas biológicos. (Nemzer et al., 2014)

El ensayo ABTS mide la habilidad relativa de un antioxidante para atrapar el radical generado en una fase acuosa, comparado con un estándar de Trolox, el cual es generado por la reacción de un agente oxidante fuerte (persulfato de potasio) con la sal ABTS. La reducción del color verde-azul de la solución del radical ABTS por la donación de hidrógeno del antioxidante es medida por la supresión de su longitud de onda en el espectro de absorción característica (734 nm). (Kuskoski, et al., 2004)

El DPPH es un radical libre estable a una absorción de banda de 515 nm. Pierde esta absorción cuando se reduce por un antioxidante. Este método es ampliamente usado para determinar actividad antiradical y antioxidante de compuestos fenólicos purificados y extractos de fuentes naturales. (Molyneux, 2004)

Para ambos métodos los extractos de pitaya presentaron una fuerte actividad antioxidante.

En la Fig. 25 se muestran los resultados del porcentaje de inhibición para cada radical empleado (DPPH y ABTS) y se puede observar una diferencia entre los métodos de antioxidación

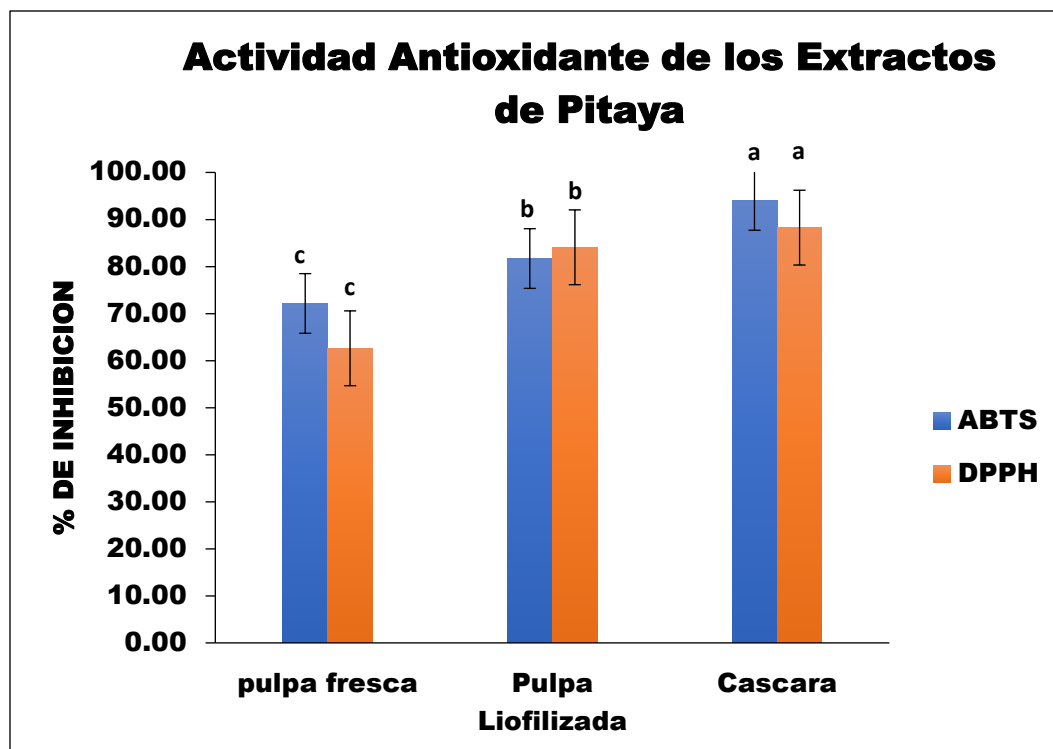


Fig. 25 Capacidad antioxidante de extractos de pitaya, por el método DPPH y ABTS, Las medias que no comparten misma letra en barras de un mismo color son significativamente diferentes. ($P < 0.05$), Prueba de comparación de Medias de Tukey.

En la prueba de DPPH el extracto de cáscara presentó el mayor porcentaje de inhibición (88.28%) seguido de la pulpa liofilizada con (84.14%) y el extracto cetónico de pulpa del (62.62%) de inhibición.

En la cáscara de pitaya dicha actividad se correlaciona mediante el coeficiente de Pearson al contenido de fenoles totales ($r=0.81$) (Cuadro 15), en comparación al contenido de betalainas totales ($r=0.32$), lo que concuerda con investigaciones de Wu et al, (2006), donde los compuestos fenólicos totales fueron responsables de la capacidad antioxidante de extractos de cáscara de *Hylocereous polyrhizus* ($r=0.96$). De acuerdo con Fathordoobady et al., (2016), las betacianinas totales en extractos de cáscara de *Hylocereous polyrhizus* fue mucho menor que en la pulpa; sin

embargo, la actividad antioxidante por DPPH fue mayor que el extracto de pulpa, debido al alto contenido de fenoles totales, con el cual se correlaciona fuertemente ($r=0.93$).

Para el extracto de pulpa (BH) y pulpa liofilizada la actividad antioxidante por DPPH están fuertemente correlacionadas a los fenoles totales ($r=0.95$ y $r=0.98$, respectivamente) seguida del contenido de betalaínas totales ($r=0.99$ y $r=0.96$ respectivamente).

En la prueba de ABTS el extracto de cáscara generó el mayor porcentaje de inhibición del 94.05% seguido de la pulpa liofilizada (81.70%) y pulpa fresca (72.15%).

La cáscara de pitaya se correlaciona medianamente por el método ABTS al contenido de Betalaínas totales ($r=0.44$).

En el caso del extracto cetónico de pulpa y pulpa liofilizada la actividad antioxidante está correlacionada principalmente con los fenoles totales, ($r=0.98$ y $r=0.46$ respectivamente), sin embargo, de acuerdo al coeficiente de la correlación de Pearson, las betalaínas totales también contribuyen a dicha actividad ($r=0.97$ y $r=0.56$).

Mediante el coeficiente de determinación (r^2) se puede observar que existe una correlación para el caso del extracto de pulpa con el contenido de betalainas y fenoles totales para ambos métodos. (ABTS $r^2= 0.94$ y $r^2=0.96$, DPPH $r^2=0.98$ y $r^2=0.92$) respectivamente. En el caso de los extractos de cáscara en el método ABTS tanto para betalainas totales y fenoles totales, la correlación es positiva baja, lo que indica que el contenido de estos compuestos no influye en la capacidad antioxidante, sin embargo, mediante el método de DPPH existe correlación positiva media ($r^2=0.65$) de la capacidad antioxidante respecto al contenido de fenoles totales. La pulpa liofilizada mediante el método de DPPH presenta una fuerte dependencia del contenido de fenoles totales respecto a la capacidad antioxidante. ($r^2=0.96$)

Cuadro 15. Coeficientes de Pearson (r) y Coeficiente de Determinación (r²) entre las diferentes actividades antioxidantes y el contenido de Betalaínas totales y fenoles totales.

Tratamiento	Compuesto	Coeficiente	ABTS	DPPH
Pulpa	Betalaínas Totales	r	0.97	0.99
		r ²	0.94	0.98
	Fenoles Totales	r	0.98	0.95
		r ²	0.96	0.92
Cáscara	Betalaínas Totales	r	0.44	0.32
		r ²	0.19	0.10
	Fenoles Totales	r	0.15	0.81
		r ²	0.02	0.65
Pulpa Liofilizada	Betalaínas Totales	r	0.56	0.96
		r ²	0.31	0.86
	Fenoles Totales	r	0.46	0.98
		r ²	0.21	0.96

Diferencia significativa a P<0.05

Para ambos métodos la cáscara presenta la mayor actividad antioxidante, en general, se puede deber a su alto contenido de flavonoides aunado a la presencia de glucósidos, taninos, y saponinas revelados por el análisis fitoquímico preliminar.

La pulpa liofilizada presentó correlación en ambos métodos, no obstante, fue mayor por el método de DPPH. Su alto porcentaje de capacidad antioxidante puede deberse no solo a la presencia de fenoles y Betalaínas, ya que en este estudio la pulpa liofilizada presento una cantidad considerable de flavonoides, así como la presencia de glucósidos reductores.

Se observó una mejor correlación por ambos métodos en el extracto cetónico de pulpa de pitaya lo que se puede deber al proceso de extracción empleado, ya que este favorece la precipitación de compuestos orgánicos, azúcares y polisacáridos que interfieren en la medición de la actividad antioxidante.

En general los extractos de pitaya presentan una cantidad considerable de fenoles, flavonoides y betalainas, la actividad antioxidante puede ser influenciada por la naturaleza química de cada uno de estos fitoquímicos. Los fenoles influyen en la medición de actividad antioxidante interfiriendo con el proceso de oxidación reaccionando con radicales libres. El efecto de la cáscara y pulpa puede ser el resultado de los tipos de fenoles que contienen. Un incremento en el número de grupos hidroxilo (-OH) u otros grupos donadores de hidrógenos (=NH,-SH) en la estructura molecular permiten importante actividad antioxidante. Asimismo, las betaninas contienen grupos imino y grupos hidroxilo a los que se les puede atribuir su actividad antioxidante.

3.3 Formulación de golosinas funcionales

3.3.1 Formulaciones de golosinas

Se desarrollaron 3 formulaciones, con base a la sustitución de azúcar y glucosa, por Stevia y jarabe de agave, respectivamente. Los porcentajes empleados de cada ingrediente se muestran en la Cuadro 15. Para el desarrollo de las formulaciones se tomaron aspectos técnicos relacionados a los porcentajes de azúcar, glucosa y grenetina (Ramírez y Orozco, 2011)

En la Fig. 26 se muestran las golosinas desarrolladas, las 3 formulaciones presentan una coloración roja brillante, un sabor dulce y textura elástica.



Fig 26. Golosinas desarrolladas con extracto de betalainas de pitaya.

3.3.2 Perfil de Sabor de las golosinas formuladas

En la Fig. 27 se muestra el QDA del perfil de sabor donde se observa que no hay diferencia significativa entre los principales descriptores evaluados y las formulaciones desarrolladas, acorde a la escala hedónica empleada en esta prueba, donde 0: ausencia total; 1: casi imperceptible; 2: ligera; 3: media; 4: alta y 5: extrema, se puede observar que en cuestión al sabor afrutado las 3 formulaciones reportan una intensidad ligera, respecto al dulzor la formulación 1 tiene mayor intensidad, lo que indica que al reducir los niveles de azúcar en las formulaciones 2 y 3 disminuye la intensidad con la que los jueces perciben las notas de dulzor, siendo la formulación 3 la que tiene una reducción del 100% y es la que presenta la menor intensidad. La adición de Stevia conlleva a una ligera percepción de resabio metálico como se observa en la formulación 3; sin embargo, no es significativamente diferente respecto a la intensidad reportada por los jueces en las formulaciones 1 y 2, lo que indica que no puede ser una interferencia en la apreciación del producto final.

En cuestión a la acidez en las tres formulaciones los jueces reportaron una intensidad casi imperceptible, lo que indica que es necesario realizar ajustes en la cantidad de ácido cítrico empleado, u optar por otro tipo de acidulante, para realzar las notas ácidas, considerando que los productos de confitería deben ser ligeramente medianamente ácidos.

Al no haber diferencia significativa entre la intensidad de los descriptores fermentado y amargo, las formulaciones desarrolladas, no generaron compuestos durante su elaboración, almacenamiento y/o transporte que afectaran la calidad sensorial del producto final.

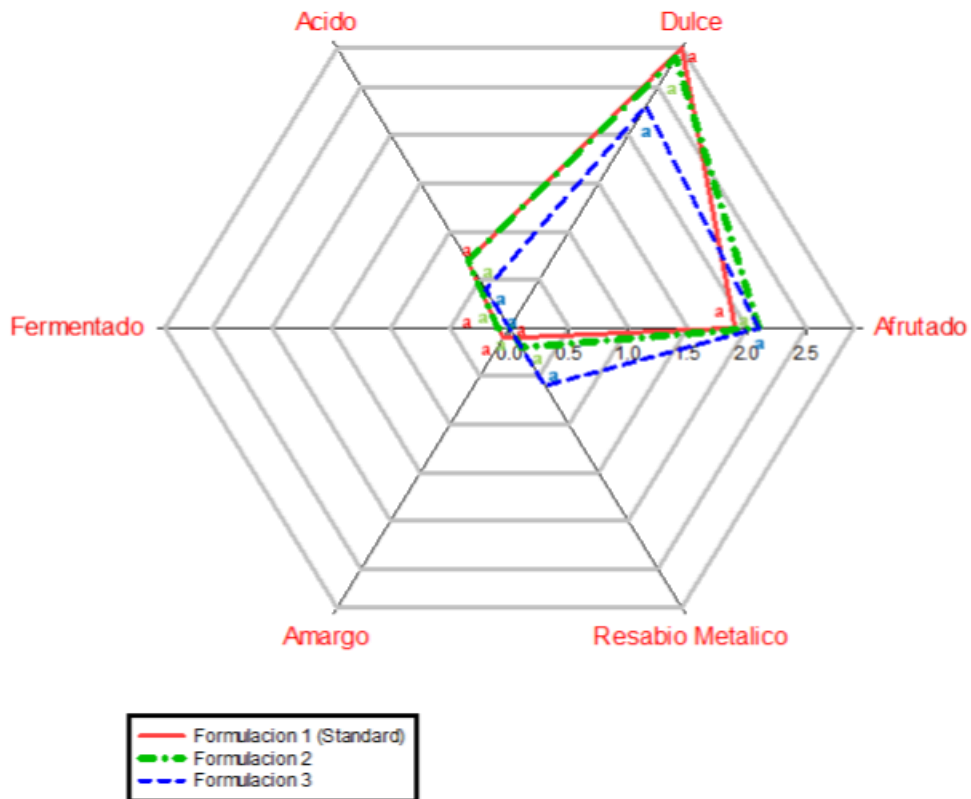


Fig. 27 Gráfica de Perfil de Sabor de las golosinas formuladas

3.3.3 Perfil de Textura de las golosinas formuladas

En la Fig 28 se presenta la gráfica del perfil de los atributos de textura evaluados en las formulaciones propuestas. Las 3 formulaciones presentan un color rojo brillante, de textura suave y elástica.

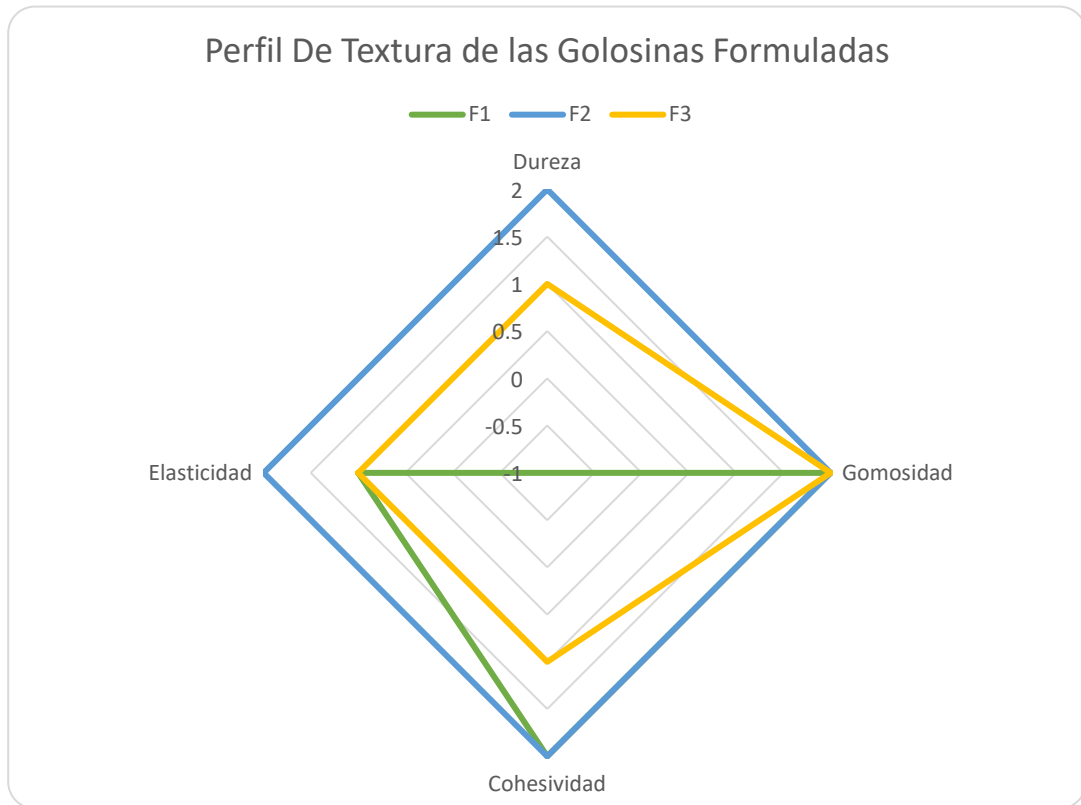


Fig. 28 Gráfica perfil de textura de las formulaciones desarrolladas. n=10

En la gráfica radial se puede observar que en la formulación 1 la dureza va disminuyendo de intensidad una vez que es degustada, y la gomosidad y cohesividad sus atributos de textura más acentuados. En la formulación 2 los atributos de textura son constantes, presentando una intensidad ligera. En la formulación 3 los atributos más acentuados son gomosidad y elasticidad mientras que los menos son la textura y cohesividad.

La gomosidad es uno de los atributos que más destacan en las golosinas gelificadas, en las 3 formulaciones tiene la mayor acentuación, lo que indica que la reducción de glucosa y azúcar no influye en este parámetro.

La dureza de las golosinas gelificadas a diferencia de las golosinas cristalinas tiene que ser menor, a manera que pueda ser masticada, sin implicar un esfuerzo mecánico, donde la formulación 1 es la menos dura. (Periche A., et al.,2014)

3.3.4 Prueba de Preferencia de las golosinas formuladas

En la Fig. 29 se muestra los resultados de la prueba de preferencia aplicada a las formulaciones propuestas.

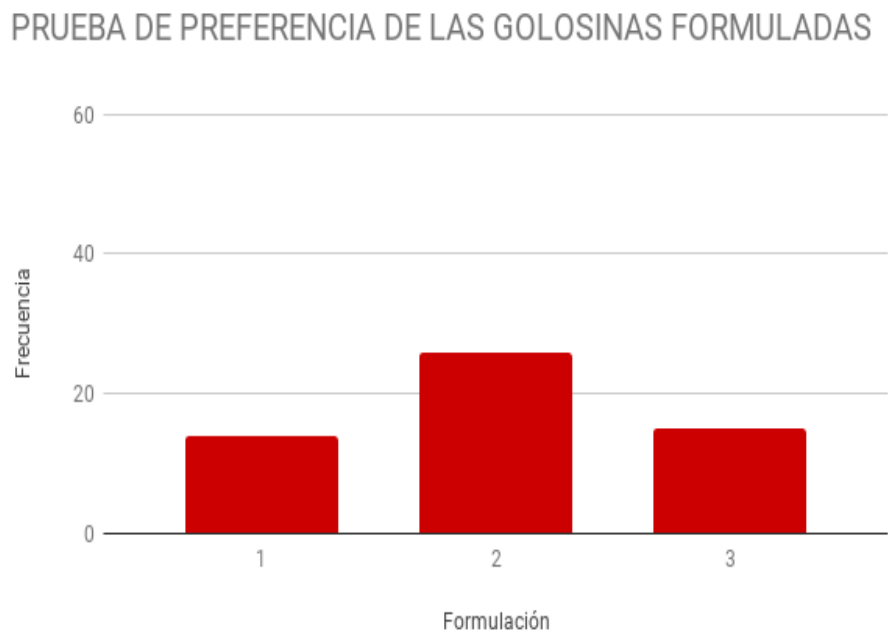


Fig. 29 Grado de preferencia de las golosinas desarrolladas evaluadas por el consumidor (n=64)

Con la finalidad de escoger la mejor formulación por el consumidor se realizó una prueba de preferencia, de la muestra encuestada se determinó que la formulación 2 es la que tiene mayor grado de aceptación, por lo tanto, la combinación de glucosa, azúcar y agave da como resultado un producto sensorialmente aceptado.

7.3.5 Propiedades fisicoquímicas de las formulaciones de golosinas (pH, °Brix, Color, Textura)

Se evaluaron las principales propiedades fisicoquímicas que influyen en la calidad y estabilidad del producto final (Cuadro 16), en donde se observa

Cuadro 16 Principales propiedades fisicoquímicas de las golosinas desarrolladas

		Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3
Propiedades fisicoquímicas	pH	3.82±0.07 ^a	3.95±0.06 ^a	3.93±0.07 ^a
	°Brix	68	65	59
Colorimetría	*L	27.61±0.21 ^b	30.25±0.63 ^a	25.39±0.30 ^c
	*a	6.93±0.20 ^a	8.64±0.44 ^a	8.89±1.60 ^a
	*b	6.81±0.17 ^b	8.45±0.35 ^{ab}	9.52±1.38 ^a
	*h	44.48±0.66 ^b	44.36±0.29 ^b	47.09±1.17 ^a
	Chroma	9.71±0.24 ^b	11.86±0.23 ^{ab}	13.02±2.14 ^b
Textura	Dureza (N)	313.95±3.88 ^a	114.96±8.30 ^b	88.50±1.61 ^c
	Elasticidad	0.63±0.01 ^a	0.64±0.01 ^a	0.63±0.01 ^a
	Cohesividad	0.63±0.01 ^a	0.46±0.01 ^b	0.47±0.01 ^b
	Gomosidad	197.78±0.01 ^a	52.78±2.02 ^b	41.59±0.75 ^c

Resultados expresados como n=3, promedio±desviación estándar. Las medias que no comparten misma letra en una misma fila son significativamente diferentes. (P<0.05), Comparación de medias, Prueba de Tukey.

El pH de las formulaciones no presenta diferencias significativas, la formulación 1 presenta el pH más ácido (3.82), las betalaínas en general son estables en un rango de pH de 3-7 (Herbachk, 2006) y los geles de grenetina en un rango de 3.0-4.5; por lo cual, las formulaciones se encuentran dentro de estos parámetros de referencia.

Las golosinas desarrolladas presentan diferencia significativa con respecto a la luminosidad de las otras formulaciones (p<0.05), siendo la formulación 2 la que presenta una mayor brillantez (30.25±0.63)

Los valores de a* son positivos en todas las formulaciones entrando dentro de la tonalidad roja, se observa una tendencia en el aumento del valor a* al reducir la cantidad de azúcar y glucosa en las formulaciones, siendo la formulación 1 la que presenta el menor valor (6.93±0.20) y la formulación 3 el mayor (8.89±1.60), la

misma tendencia fue observada para el valor b^* y los valores cromáticos, lo que indica que el empleo de jarabe de agave y estevia en las formulaciones 2 y 3 proporciona intensidades de color rojo más altas en comparación al uso de azúcar refinada y glucosa.

En cuestión al valor de ángulo h , la formulación 3 presenta diferencia significativa en relación a las otras formulaciones; sin embargo, entran dentro del promedio 45°C , cuyo valor corresponde a tonalidades rojas.

De la dureza de las muestras se puede observar que conforme disminuye el porcentaje de glucosa/azúcar en las formulaciones evaluadas los valores de dureza disminuyen también, siendo la formulación 1 la que tiene mayor dureza y la 3 la menor, las concentraciones de glucosa/azúcar aportan mayor cantidad de sólidos totales, lo cual brinda una estructura más firme al gel, existen diferencias significativas entre las tres formulaciones.

La elasticidad es una medida de la proporción o fracción estructural de la muestra original que se ha roto por la compresión inicial, cuando las muestras son igual a 1, la muestra recupera su valor de altura original, después del segundo ciclo de compresión, la elasticidad de las golosinas evaluadas no presentan diferencia significativa, tomando un valor promedio de 0.63, lo que indica que la altura no se ve afectada de manera significativa perdiendo la forma inicial del producto, los productos gelificados se comportan de una manera elástica (Ramírez y Orozco, 2011)

La cohesividad se define como la fuerza que los enlaces internos hacen sobre un alimento, está relacionada con el área bajo la curva de cada ciclo de compresión. Por lo tanto, los alimentos con valores altos serán más difíciles de masticar, (Bourne, M.C, 2002) en una escala 0 al 1, los valores para las formulaciones evaluadas indican valores debajo de 0.6 lo que indica que el esfuerzo masticar es menor, los productos gelificados deben tener valores bajos de cohesividad a diferencia de los caramelos duros. (Periche A., 2014)

La gomosidad se define como la energía requerida para desintegrar un alimento semisólido de modo que esté listo para ser tragado (Bourne, M.C, 2002), este parámetro disminuye significativamente en las golosinas elaboradas al disminuir el porcentaje de glucosa/azúcar.

3.4 FUNCIONALIDAD DE LAS GOLOSINAS

Las tendencias actuales y los desarrollos mundiales de nuevos productos alimenticios con funcionalidad pretenden demostrar una significativa actividad biológica de frutos exóticos con impacto positivo en varios ciertos trastornos crónicos (Costa et al., 2013). Los fenoles y flavonoides han sido explotados comercialmente como antioxidantes y/o suplementos alimenticios (Schuler, 1990). En este sentido, la investigación se enfocó en la combinación de frutos exóticos con otros ingredientes en la elaboración de golosinas. Por lo cual, se optó por adicionar pitaya liofilizada como fuente de antioxidantes y fenoles, con base a los estudios realizados para su caracterización y cuantificación, siendo esta presentación en polvo la que contiene mayor concentración y capacidad antioxidante, así facilidad de manipulación y aplicación tecnológica, debido a su capacidad para reconstituirse fácilmente en agua (Liahtrakoon et al, 2012).

3.4.1 Cuantificación de betacianinas, betaxantinas y betalaínas totales en formulaciones desarrolladas.

El contenido de betacianinas, betaxantinas y betalaínas totales se cuantificó en las formulaciones desarrolladas, encontrando diferencia significativa en las golosinas desarrolladas (Cuadro 17), el ratio betaxantinas:betacianinas prácticamente es 1:1 en todas las formulaciones desarrolladas, la formulación 3 mostró una concentración significativamente mayor de betalaínas totales (5.06 ± 0.03 mg/100g) respecto a las demás, por lo cual en este estudio, se infiere que la reducción en el porcentaje de azúcar y glucosa así como el empleo de jarabe de agave y estevia ayudan a retener las betalaínas de la pitaya.

Cuadro 17. Contenido de betacianinas, betaxantinas y Betalaínas totales en formulaciones desarrolladas.

Tratamiento	Betacianinas (mg/100 g)	Betaxantinas (mg/100g)	Betalaínas Totales (mg/100 g)
Formulación 1	1.06±0.05 ^b	1.17±0.03 ^b	2.23±0.08 ^b
Formulación 2	2.07±0.01 ^b	2.10±0.08 ^c	4.17±0.07 ^b
Formulación 3	2.59±0.07 ^a	2.48±0.04 ^a	5.06±0.03 ^a

Resultados expresados como n=3, promedio±desviación estándar. Las medias que no comparten misma letra en una misma columna son significativamente diferentes. (P<0.05) , Prueba de Comparación de medias de Tukey

La aplicación y estabilización de betalaínas en sistemas alimentarios es poco reportada en la literatura, la mayoría de reportes se enfocan en fuentes de betalaínas del betabel rojo, tuna y amaranto, más de la mitad están principalmente enfocadas en productos lácteos como leche (Güneser, 2016), yogurt (Obón et al, 2009), helados (Kumar et al., 2015), y salchichas siendo otro común medio de aplicación (Martínez et al., 2016) y todos estos productos almacenados bajo condiciones frías resultando en una mayor estabilidad.

En productos de confitería, Shaaruddin, (2017), evaluó las propiedades fisicoquímicas y estabilidad de betaninas en jugos de pitaya secados por aspersion con maltodextrina y maltodextrina resistente, y su estabilidad después de la incorporación en la elaboración de caramelos duros, donde la encapsulación de betanina con maltodextrina resistente resultó en una mayor retención de los pigmentos después de la manufactura de los caramelos.

Rodríguez, 2016, usó pulpa y jugo de *Stenocereous prinus*, como fuente de betaxantinas para proporcionar color amarillo, a gomitas y bebidas., donde se determinó un contenido de betaxantinas en producto final de 2.71±0.13 µg/g en gomitas elaboradas con 4.6% w/w de pulpa y 2.91±0.05 µg/g en gomitas elaboradas con 4.6% de jugo, y en bebidas se obtuvo un 7.05±0.1 µg/mL. La concentración es mayor en bebidas debido a la solubilidad en comparación a las gomas donde la red tridimensional que se forma por la interacción de proteínas y azúcares atrapa una cantidad considerable de estos fitoquímicos; sin embargo, esa misma red ejerce un

mayor efecto protector de las betaxantinas disponibles que el medio acuoso en las bebidas.

En concordancia con los estudios anteriores en productos de confitería, durante el proceso de elaboración de las golosinas, factores como temperatura, reacciones entre los azúcares, pH, influencia de cationes metálicos, matriz alimentaria, así como el método de extracción y/o estabilización de pigmentos, influyen en el contenido de betalaínas totales en el producto final.

3.4.2 Contenido de Fenoles y Flavonoides Totales en formulaciones de Golosinas.

Tanto el contenido de fenoles y flavonoles fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la formulación libre de azúcar (F-3) con respecto a las formulaciones 100% azúcar (F-1) y 40% sustituida con edulcorante (F-2) (Cuadro 18) Se observó que no hay diferencia significativa en las formulaciones 1 y 2 y existe diferencia significativa de la formulación 3 respecto a las anteriores, lo que indica que la cantidad disponible puede ser afectada por la temperatura, pH, contenido de sólidos, estructuras y redes que se forman por la interacción de los ingredientes de las formulaciones.

Se observó un incremento en el contenido de fenoles totales por la adición de estevia y jarabe de agave como edulcorantes, ya que las formulaciones 2 y 3 presentan una mayor concentración, respecto a la formulación 1 donde se empleó únicamente sacarosa y glucosa. El mismo efecto se presenta en la adición de 1.25% y 2.5% de extracto de estevia en una bebida de frutas exóticas, naranja y avena contribuyendo al incremento de la concentración y bioaccesibilidad de compuestos fenólicos totales (Carbonell-Capella, et al, 2015) y en la elaboración de bebidas de jamaica la incorporación de estevia disminuye la degradación del rango de polifenoles individuales y totales durante condiciones de almacenamiento aceleradas. (Pérez-Ramírez et al, 2015).

Cuadro 18. Contenido de Fenoles y Flavonoides Totales en formulaciones desarrolladas.

Tratamiento	Fenoles Totales (mg eq Ácido gálico/100g)	Flavonoides Totales (mg eq Catequina/100 g)
Formulación 1	12.98±1.63 ^a	1.21±0.10 ^a
Formulación 2	24,63±0.98 ^b	1.08±0.02 ^{ab}
Formulación 3	29.25±0.25 ^c	0.95±0.05 ^b

Resultados expresados como n=3, promedio±desviación estándar. Las medias que no comparten misma letra en una misma columna son significativamente diferentes. (P<0.05) , Prueba de Comparación de medias de Tukey

Los métodos espectrofotométricos para la determinación de fenoles pueden ser sensible a la interacción con otros compuestos, los extractos de productos vegetales ya sean acuosos u orgánicos contienen una gran cantidad de biomoléculas de características no fenólicas que pueden interaccionar con el reactivo Folin-Ciocalteu (Muñoz-Bernal et al., 2017) lo que puede repercutir en una sobreestimación de los resultados.

En este estudio se determinó el contenido fenólico total en una mezcla compleja de extracto, ácidos, y azúcares, entre los cuales se encuentran azúcares reductores como la fructosa proveniente del jarabe de agave y glucosa.

Por ejemplo, los fructooligosacáridos liofilizados, empleados como edulcorante en infusiones de grosella incrementan significativamente la cantidad de fenoles presentes respecto a la fruta fresca por el método Folin-Ciocalteu (Sinjitha et al., 2016) y pueden tener efectos positivos en la salud humana como ingrediente funcional al tener un buen contenido de fibra y ejercer un efecto prebiótico, incrementando las poblaciones de bifidobacterias y lactobacilos en el intestino grueso. (Gómez et al., 2009).

Como referencia el consumo promedio de fenoles es de 1000 mg/día (Scalbert y Williamson, 2000) y flavonoides es de 23 mg/día, (Muñoz y Ramos, 2007) tomando en cuenta estas concentraciones, el producto final con mayor contenido fenólico es la formulación 3 con 29.25±0.25 mg eq ácido gálico /100 g, de, y la formulación 1 tiene el mayor contenido de flavonoides expresados como mg eq. de Catequina

con 1.21 ± 0.10 mg eq/100 g. Lo cual quiere decir que hipotéticamente para poder satisfacer la ingesta recomendada de fenoles es necesario consumir 3.41 kg de gomitas para cubrir la dosis de fenoles o 1.90 kg para la de flavonoides, no obstante, son necesarios estudios de digestibilidad para saber la cantidad exacta que se absorben de estos fitoquímicos en el organismo para ejercer un efecto protector.

Los hábitos de alimentación son muy diversos en diferentes zonas del mundo, por lo que las golosinas desarrolladas pueden contribuir junto con el consumo de frutas y verduras, a una dieta balanceada.

7.4.3 Actividad Antioxidante de las golosinas desarrolladas.

Se evaluó la actividad antioxidante en las golosinas desarrolladas por los mismos métodos empleados que en la determinación para los extractos (sección 6.3.7 y 6.3.8). De los resultados obtenidos se puede observar que no hay diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las formulaciones y la actividad antioxidante por ambos métodos (Fig.30), lo cual se puede atribuir al proceso de elaboración de las golosinas, donde se emplean temperaturas altas, que favorecen la polimerización de los azúcares empleados, formando así melanoidinas compuestos pardos, que pueden interferir en la medición de la actividad antioxidante (Rufian,2007), esto puede explicar el hecho de que la formulación 1 en el método DPPH sea más alta respecto a la formulación 3 donde no se usan azúcares refinados.

Para ABTS la formulación con mayor porcentaje de inhibición es la formulación 3 (23.02%), seguida de la formulación 2 (20.06%) y formulación 1 (20.01%).

En el ensayo de DPPH la formulación con mayor porcentaje de inhibición es la Formulación 1 (22.59%) seguido de la formulación 2 (21.66%) y formulación 3 (20.98%).

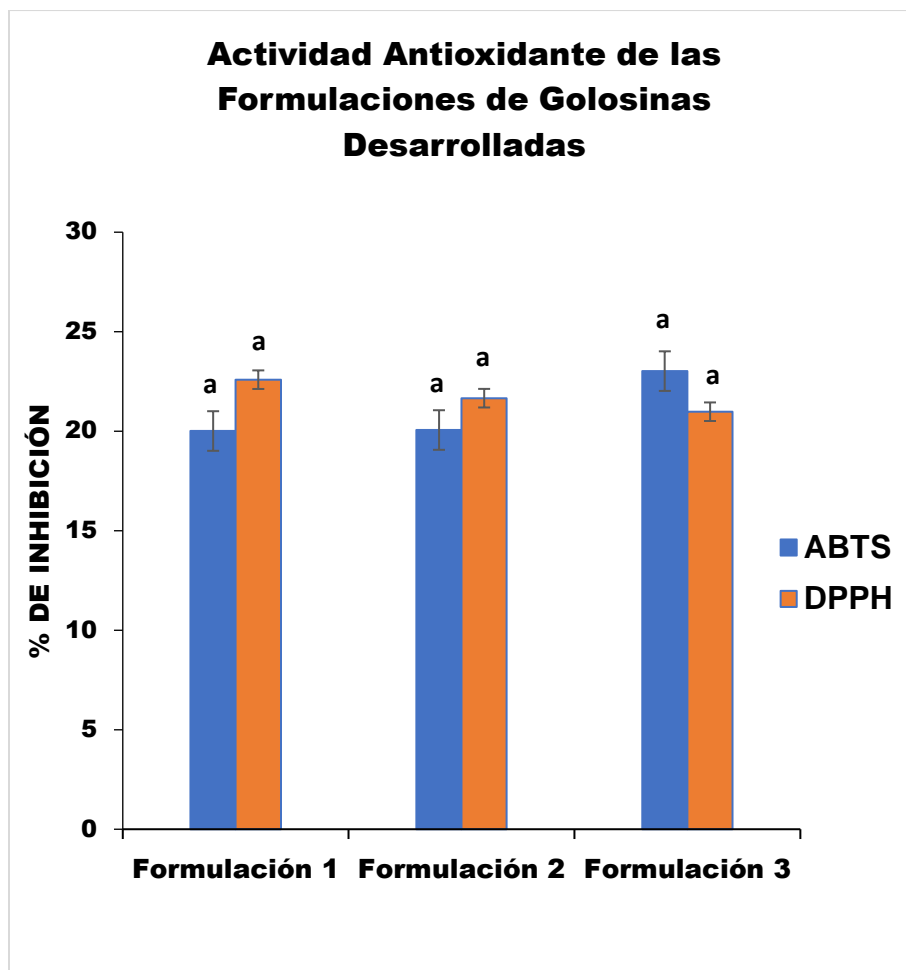


Figura 30. Actividad antioxidante de las formulaciones desarrolladas, por el método DPPH y ABTS, Las medias que no comparten misma letra en barras de un mismo color son significativamente diferentes. ($P < 0.05$), Prueba de Comparación de medias de Tukey

El uso de pigmentos en productos en confitería ha sido estudiado por Gutierrez (2014) donde evaluó la aplicación y estabilidad de neodecandenatona, una nueva isoflavona identificada en *D. congestiflora*, el cual muestra una alta estabilidad y exhibe tonalidades rojas y púrpuras con cambios en el pH de manera similar a las antocianinas, al aplicar el extracto desgrasado en la elaboración de gomitas se puede observar que estas presentan un porcentaje de inhibición de ABTS del 30%.

En el caso de pitahaya se ha evaluado la capacidad antioxidante del puré de *Hyloereous polyrizhus* en la elaboración de gomitas (Hani M., 2015) donde la adición de 20-25% de puré (w/w) además de brindar tonalidades rojas a las golosinas

contribuye a una actividad antioxidante en el producto final con un porcentaje de reducción del radical DPPH del 25%.

En este estudio la adición de 0.4% (w/w) de pulpa liofilizada *de Stenocereous spp* brinda una actividad antioxidante similar a la reportada por Hani, M., (2015), además el uso de edulcorantes como el jarabe de agave y estevia, pueden contribuir también a dicha actividad.

IV CONCLUSIONES

En este estudio se caracterizaron los extractos cetónicos de pulpa y cáscara de pitaya, así como la pulpa liofilizada en relación a su contenido de fenoles y flavonoides totales betalaínas totales y actividad antioxidante, encontrando que el proceso de liofilización aumenta el contenido de estos fitoquímicos, así como su actividad antioxidante en comparación con los extractos cetónicos, comportándose producto prácticamente inocuo; sin embargo, faltaría realizar la batería de pruebas completas de toxicología para confirmar su nula toxicidad.

Las formulaciones desarrolladas con extracto de pulpa liofilizada presentaron características fisicoquímicas (pH) adecuadas para la conservación del producto, los valores colorimétricos, apuntan hacia la zona de tonalidades rojas.

La sustitución en el porcentaje de sacarosa y glucosa en las golosinas desarrolladas por jarabe de agave y estevia tienen un efecto positivo en el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante, lo que aporta propiedades funcionales al producto final.

De acuerdo a la evaluación sensorial aplicada la formulación 2, compuesta de glucosa, azúcar, agave y extracto de pitaya liofilizada tiene una mayor aceptación entre los consumidores, y la formulación 3 presenta mejores propiedades funcionales, debido su contenido de betalaínas y fenoles, así como actividad antioxidante.

De acuerdo a su contenido y estabilidad a temperaturas ambiente y no mayores de 60° C, las betalaínas podrían ser utilizadas como colorantes en un sin fin de productos alimentarios y/o farmacéuticos

REFERENCIAS.

Abou-Arab, A., Abou-Arab, A., & Abu-Salem, M. F. ***Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from Stevia rebaudiana Bertoni plant.*** Afr. J. Food Sci., 2013; (4), 269-281.

Adams, L.S., Seeram, N.P., Aggarwal, B.B., Takada, Y., Sand, D., Heber, D. ***Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells.*** J. Agric. Food Chem, 2016;54 (3):980-985.

Bourne, M. ***Food Texture and Viscosity: Concepts and Measurement.*** Elsevier; 2012

Lacueva, C.A., Medina-Rejon, A., Llorach, R., Urpi-Sarda, M., Khan, N., y Chiva-Blanc, G., (2010) ***Phenolic compounds: Chemistry and occurrence in fruits and vegetables.*** In L.A De la Rosa, E. Alvarez Parrilla, & G.A Gonzalez-Aguilar (Eds.), Unit 2 in fruit and vegetable phytochemicals (pp 53). Singapore: Wiley Blackwell, John Wiley & Sons Inc.

Avalos García A. y Pérez-Urria Carril E. ***Metabolismo Secundario de Plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.*** 2009;2 (3):119-145.

Azaredo Henriette M.C. ***Betalains: properties, sources, applications, and stability- a review,*** Int J Food Sci Technol. 2009;44 (12):2365-2376

Bantle, J.P. ***Dietary Fructose And Metabolic Syndrome and Diabetes,*** J Nutr. 2009;139:1263S-1268S.

Barba F. J, Nieves Criado M., Belda-Galbis, C.M, Esteve M.J. y Dolores R. ***Stevia rebaudiana Bertoni as a natural antioxidante/antimicrobial for high pressure processed fruit extract: Processing parameter optimization.*** J Food Chem. 2014;148 (1):261-267.

Barcenas Abogado y Venus Jiménez Castañeda, ***Pitayas y Pithayas (Stenocereous Spp e Hylocereus Spp), recursos agrícolas en el Valle de Tehuacan Puebla***, Universidad Autonoma Metropolitana Xochimilco, 2010;10(19)

Barriocanal, L., Palacios, M., Benitez, G., Benitez, S., Jimenez, J., Jimenez, N. **Apparent Lack Of Pharmacological Effect Of Steviol Glycosides Used As Sweeteners In Humans, A Pilot Study Of Repeated Exposures In Some Normatensive And Hypotensive Individuals And In Type 1 And Type 2 Diabetics.** Regul. Toxicol. Pharmacol., 2008;51:37–41.

Bate-Smith, E.C., Swain, T. Mason, H.S., Florkin, A.M **In Comparative Biochemistry.** Eds; Academic Press: New York; 1962;3:764

Brandle, J. ***Stevia, Nature's Natural Low Calorie Sweetener FQA.*** Agriculture and Agri-Food Canada, 2004

Borges, M.E., Tejera, R.L, Díaz, L., Esparza, P. y Ibañez E. **Natural Dyes Extraction From Cochineal (Dactylopius coccus). New Extraction Methods.** Food Chem. 2012;132 (4):1855-1860.

Carbonell Capella,, Juana M., Buniowska M., Esteve J. M., Frigola A. **Effect of Stevia rebaudiana addition on bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages based on exotic fruits mixed whit oat following simulated digestion.**Food Chem. 2015;184:122-130.

Castellar, M.R., Obon J.M., Fernández López J.A. **The Isolation and Properties of A Concentrated Red Purple Betacyanin Food Colourant from *Opuntia Stricta* Fruits.** J. Sci. Food Agric., 2006;86 (2):122-128.

Chen, H.Y., Lin, Y.C., Hsieh, C.L. **Evaluation Of Antioxidant Activity Of Aqueous Extract Of Some Selected Nutraceutical Herbs.** Food Chem. 2007;104(4): 1418–1424

Costa Vasconcelos, A.G., García Díaz, D.F. , Jimenez P. y Silva P.I. **Bioactive Compounds and Health Benefits of Tropical Red-Black Berries.** J Funct Foods. 2013;5(2):539-549.

Endreú H.-U. , Herbstreith y Fox KG Pektin-Fabrik Neuenbürg, **Pectins, Chapter 12 in The Handbook of Hydrocolloids**, 2009:274-294.

Esquivel Patricia. **Los frutos de las Cactaceas y su potencial como materia prima**, Agronomia Mesoamerica, Universidad de Costa Rica, 2001:15 (2)

Esquivel P., Stingzing F.C., Reinhold C., **Pigment Pattern and Expression of Colour in Fruit From Different Hylocereous sp Genotypes.** Innov. Food Sci. Emerg. Technol, 2007;8(3):451-457.

Fathordoobady, F., Mirhosseini, H., Salamat, J. y Manap, M.Y.A. **Effect of Solvent Type and Ratio on Betacyanins and Antioxidant Activity of Extracts from Hylocereous polyrhizus Flesh and Peel by Supercritical Fluid Extraction and Solvent Extraction**, Food Chem. 2016;202 (1): 70-80.

Faridah A., Daimon S. y Rahm H. **Simple characterization of betalain compounds from red pitaya (Hylocereous polyrhizus) peel solution.** Int J Adv Sci Eng Inf Technol. 2015;5(3):207-212

Faridah. A., Holinesti y Daimon S. **Betalains from Red Pitaya Peel (Hylocereous polyrhizus): Extraction, Spectrophotometric and HPLC-DAD Identification, Bioactivity and Toxicity Screening.** Pakistan J Nutr. 2015;14(12):976-982

Fennema O.R. **Química de los alimentos.** Editorial Acribia. Segunda edición. 2005

Fernstrom J.D. Munger S.D., Sclafany A., De Araujo I.E., Roberts A., y Molinary S. **Mechanism For Sweetness.** The J Nutr. 2012;142(6): 1134S-1141S.

Flores Velez y Caludio A. **“Pitayas y Pithayas”**, CIESTAAM, Universidad Autónoma de Chapingo, 2003: 175 pp

Franco Zavaleta, Miriam Elizabeth, ***Caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de la Jiotilla (Escontria Chiotilla); una cactácea subexplotada***, Tesis, Universidad Autónoma Metropolitana, Septiembre 2004

Gandía Herrero, F., J. Escribano y F. García Carmona, ***Betaxanthins as substrates for tyrosinase. An approach to the role of tyrosinase in the biosynthetic pathway of betalains***, Plant Physiol. 2005;138(1):421-432

García Carmona, F., Escribano J. y Gandía Herrero F. ***Flores Fluorescentes, la combinación de ciertos pigmentos vegetales genera en las flores patrones de fluorescencia***, Revista de Bioquímica, Investigación y Ciencia, 2011, N° 415.

García Cruz, L., Salvador Valle Guadarrama, Yolanda Salinas Moreno y Cesar del Carmen Luna Morales. ***Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant activity of Stenocereus pruinosus and Stenocereus stellatus fruit***. Postharvest Biol Technol. 2016;111:69-76.

García Cruz, L., Salinas Moreno Y. y Valle Guadarrama S. ***Betalainas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en Pitaya de Mayo (Stenocereus griceus H)*** Rev Fitotecnia Mexicana. 2012;35(15)

García L., Juárez B., Aguirre J., Pino J., Martínez J. y Santoyo M. ***Effects of Agave salmiana otto ex Salm-Dick High Fructose Syrup On Non-Diabetic and Streptozin Diabetic Rats***. J Med Plant Res. 2009;3(11):932-990.

Geuns, J. ***Stevioside***. Phytochem. 2003;64(1):913–921

Gómez, E, Thuohy K.M., Gibson G.R., Klinder A., y Costabile A. ***In Vitro Evaluation of The Fermentation Properties and Potential Prebiotic Activity of Agave Fructans***. J Appl Microbiol. 2009;108(6):2114-2121

Güneşer, O. ***Pigment and Colour Stability of Beetroot Betalains in Cow Milk During Thermal Treatment***, Food Chem. 2016;19(6):220-227.

Gutierrez Zuñiga C.G., Arriaga Alba M., Ordaz Pichardo C., Gutierrez Macias P., y Barragan Huerta B.E. **Stability in Candy Products of Neocandenate, A Non Genotoxic Purple Pigment From Dalbergia congestiflora heartwood.** Food Res. Int. 2014;65 (B):263-271.

Hani N.M, Rashima Romli S., y Ahmad M. **Influences of Red Pitaya Fruit Puree And Gelling Agents On The Physico-mechanicals Properties and Quality Changes of Gummy Confections.** Int J Food Sci Tech. 2015;50(2):331-339.

Haug, I. J y Draget K. I, **Gelatin, Chapter 6 in The Handbook of Hydrocolloids,** Norwegian University of Science and Technology (NTNU), Norway, 2009.

Hernández Pérez H. **Identificación de Pigmentos en Cultivos en Suspensión de Pitaya (*Stenocereus queretaroensis*).** Webwer Buxbaum, 1996;92. F.Q. (UADY) Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán.

Jayaprakasha, G.K., Selvi, T. y Sakariah, K.K. **Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extract.** Food Res Int. 2003; 36(1): 117-122.

Kim, I., Yang, Lee, o., & Kang, S. **The Antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts.** LWT-Food Sci Technol. 2011; 44:1328-1332.

Kotilainen, L., Rajalahti, R., Ragasa, C., & Pehu, E. **Health enhancing foods: Opportunities for strengthening the sector in developing countries.** Agriculture and Rural Development Discussion Paper 30. 2006

Kumar, S.S., Manoj, P., Shetty, N.P., Prakash, M., y Giridhar. **Characterization of major betalain pigments-gomphrenin, betanin and isobetanin from *Basella rubra* L. fruit and evaluation of efficacy as a natural colourant in product (ice cream) development.** J Food Sci Technol. 2015;52(5):4994:5002

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., García, M. C., & Fett, A. G. **Actividad antioxidante de pigmentos anocianicos.** *Rev Brasileira de Ciencia y Tecnología de Alimentos* , 2004;24 (4):691-693.

Lakshmi, V., Pandey, K., Puri, A., Saxena, R.P. y Saxena, K.C. **Immunostimulant principles from *Curculigoorchioides*.** *J Ethnopharma.* 2003;89:181–184.

Liatrakoon W., De Clerq N., Leville, B. y Dewlittink **Physicochemical properties, glasstranstition state diagram and colour stability of pulp and peel of two dragon fruit varieties (*Hylocereous spp*) as affected by freeze drying.** *Int Food Technol Eng Res J.* 2012;19 (2):743-750.

Lemus M., R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L. y Ah-Hen K. ***Stevia rebaudiana Bertoni*, source of a high-potency natural sweetener: A Comprehensive review on the biochemical, nutricional and functional aspects.** *Food Chem J.* 2012;132:1121-1132.

Li, J.M., y Nie, S-P. **The functional and nutricional aspects of hydrocolloids in foods,** *F Hydrocolloids.* 2015:53:46-61

López Martínez, L.X y García Galindo H.S. **Actividad Antioxidante de Extractos Metánolicos y Acuosos de Distintas Variedades de Maíz Mexicano.** *Nova Scientia,* 2009;2(1):51-65.

Lorke D. **A New Approach To Practical Acute Toxicity Testing.** *Arch Toxicol.* 1983; 54:275–87.

Mandujano Ruíz, R. **Estudio preliminar de los pigmentos presentes en cáscara de Pitaya (*Stenocereus stellatus*) de la región mixteca.,** Tesis Licenciatura, Universidad Tecnológica de la Mixteca.2006

Marañón Ruíz, V. F, y Rizo de la Torre L. Del C. (2011) ***Caracterización de las propiedades ópticas de Betacianinas y Betaxantinas por espectroscopia UV-Vis y barrido en Z***, Universidad Rev Sup Vacío. 2011;24 (4).

Msagati T.A.M **The Chemistry of Food Additives and Preservatives**. John Wiley & Sons, 2012

Mellado-Mojica E., Mercedes G. López. ***Identification, Classification, and Discrimination of Agave Syrups from Natural Sweeteners by Infrared spectroscopy and HPAEC-PAD***. Food Chem J. 2013;167:349-357.

Mishra, P., Singh, R., Kumar, U., y Prakash, V. ***Stevia rebaudiana-A magical sweetener***. G J Biotechnol Bioche. 2010;5:62-74.

Molyneux, P. **The use of the stable free radical diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity**. *J Sci Tech*. 2004;26(2):211-219.

Muanda, F., Soulimani, R., Diop, B., & Dicko, A. **Study on Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil and Extracts from *Stevia rebaudiana bertonii* Leaves**. Food Sci Technol. 2010;44 (9):1865-1872.

Muhammad, K., Izalin Mohd. Zahari, N., Gannasin, S.P., Adzahan, N.M. y Bakar, J. **High methoxyl pectin from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel**. *F Hydrocolloids*, 2014;42 (2):289-297.

Muñoz Bernal, O. A., Torres Aguirre, G.A, Nuñez Gastelum J.A, De la Rosa L.A, Rodrigo García J., Ayala Zavala J.F. y Alvarez Parilla E. ***Nuevo Acercamiento a la Interacción del Reactivo Folin-Ciocalteu con Azúcares Durante la Cuantificación de Polifenoles Totales***. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 2017;20(2):23-28.

Muñoz Jauregui, A.M y Ramos Escudero F. **Componentes Fenolicos de la Dieta y Sus Propiedades Biomedicinales**. Horizonte Medico. 2007;7 (1):23-31.

Nemzer B., Chang T., Xie Z., Pietrkowski Z., Reyes T., Ou B. **Decrease of free radical concentrations in humans following consumption of a high antioxidant capacity natural product.** Food Sci Nutrit. 2014;2(6): 647–654.

NMX-FF-110-SCFI-2008. Secretaria de Economía. Diario Oficial de la Federación (2009). URL <http://200.77.231.100/work/normas/nmx/2009/nmx-ff-110-scfi-2008.pdf> Accessed 15.06.15.

NOM-062-ZOO-1999, **Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.** URL. <http://www.fmvez.unam.mx/fmvez/principal/archivos/062ZOO.PDF>

Obón J.M., M.R. Castellar, M. Alacid, y Fernández-López J.A. **Production of a red–purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model Systems,** J Food Eng. 2009;9:471–479

Osorio Esquivel, O., Ortiz Moreno A., Alvarez V.B., Dorantes Álvarez L. y Giusti M. **Phenolics, Betacyanins And Antioxidant Activity In *Opuntia Joconostle* Fruits.** Food Research International. 2011;44 (7):2160-2168

Osorio-Esquivel O, Ortiz-Moreno A, Garduño-Siciliano L, Álvarez B.V., and Hernández- Navarro M.D. **Antihyperlipidemic Effect Of Methanolic Extract From *Opuntia Joconostle* Seeds In Mice Fed A Hypercholesterolemic Diet.** Plant Foods Hum Nutr. 2012;67(4):365-370

Osorio-Esquivel, O., Ortiz-Moreno, A., Herrera-Martínez, J., Hernández-Navarro, M.D. **Protective Effect Of Phenolic-Rich Extracts From Different Parts Of *Opuntia Joconostle* Fruit Against Carbon Tetrachloride-Induced Oxidative Stress In Mice.** J Biomater Nanobiotechnol. 2013;4(52):35-42

Periche A., Heredia A., I. Escriche, A. Andrés, M.L Castelló. **Optical, mechanical and sensory properties of based-isomaltulose gummy confections.** Journal of Food Biosci. 2014;7:37-44.

Perez Ramirez, I.F., Castaño Tostado E., Ramirez de Leon J.A, Rocha Guzman N.E. y Reynoso Camacho R. **Effect of stevia and citric acid on the stability of phenolic compounds and in vitro antioxidant and antidiabetic capacity of a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage.** Food Chem. 2015;172:885-892.

Phillips and P.A. Williams , (2009) **Handbook of Hydrocolloids.**

Pouysegou, L. Deffieux, D., Malik, G., Natangelo, A. y Quideau, S. **Synthesis of ellagitannin natural products.** Natural Product. Rep, 2011;28(5):853-874.

Ravichandran, K., Palaniraj, R., Saw, N.M.M.T., Gabr, A.M.M., Ahmed, A.R., Knorr, D. y Smetanska, I. **Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract.** J Food Sci Technol. 2012; 51:2216-2221.

Ramírez-Gómez, M. M. y Orozco-Sánchez, N. E. **Confitería: De lo Artesanal a la Tecnología.** México, Editorial Universidad Autonoma de Aguascalietnes.2011:60-93.

Rebecca O.P.S., Boyce A.N., Chandran S. **Pigment Identification and Antioxidant Properties of Red Dragon Fruit (*Hylocereous Polyrhizus*),** African J Biotechnol. 2010;9 (10):1450-1454.

Robert de Mello F., Bernardo C., Odebrecht Dias C., Gonzaga L., Amante Roseane E.R., Fett L.M. y Bileski C. **Antioxidant properties, quantification and stability of betalains from pitaya (*Hylocereus undatus*) Peel,** Ciência Rural, Santa Maria, 2015;45 (2):323-328.

Rodríguez-Sánchez JA, Cruz M.T, Barragán-Huerta B.E. **Betaxanthins and antioxidant capacity in *Stenocereus pruinosus*: Stability and use in food,** Food Research Int. 2016;91;63-71

Rufián Henares, J.A. y Morales F.J. **Antimicrobial Activity Of Melanoidins.** J Food Quality. 2007;30 (2):160-168.

Saha, D., & Bhattacharya, D. **Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review.** J Food Sci Technol. 2010;47 (6):587-597.

Sancho Valls J., Bota Prieto E. y Castro Marin J.J.. **Introducción al Análisis Sensorial de los Alimentos**. Edicions Universitat Barcelona. 1999;1

Schuler P. **Natural antioxidants exploited commercially** In: Hudson B.J.F., editor, .Food antioxidants. 1990; 1:99–170

Scalbert, A. y Williamson, G. **Dietary Intake and Bioavailability of polyphenols**. J Nutrit. 2000;130:2073-2085.

Savita, S., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, A., y Ramakrishna, P. ***Stevia rebaudiana*- A functional component for food industry**. J Human Eco. 2004;15:261-264.

Seeram, N.P., Adams, L.S., Henning, S.M., Niu, Y., Zhang, Y., Nair, M.G. y Heber, D. **In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice**. J. Nutr. Biochem., 2015;16(6):360-367.

Shagidi F. y Naczki M. **Extraction and Analysis of Phenolics In Food**, Journal of Chromatography, 2004; 1054: 95-111.

Shivanna N., Naika M., Khanum F., y Vijay K.K. ***Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of Stevia rebaudiana***. J Diabetes Complicat. 2013; 27:103-113.

Sinjita S.N, Basu A., Shetty N.P., Rastogi N.K., Prapulla S.G. **Infusion of Fructooligosaccharide In Indian Gooseberry (*Emblica officinalis*) Fruit Using Osmotic Treatment and Its Effect On The Antioxidant Activity of The Fruit**. J Food Eng. 2016;190:139-146.

Siro I., Kopolna e., Kopolna B. y Lugasi A. ***Functional Food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review***. Appetite.2018; 51:456-467.

Spence, J.T. **Challenge Related To The Composition of Functional Foods.** J Food Compos Anal, 2006;19(S):S4-S6.

Stintzing F.C., Herbach K.M, Mosshammer M.R, Reinhold C., Weiguang Y.I, Subramani Sellappan, Casimir C. A., Buch R. y Felker P. **Color, Betalaine Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (Opuntia spp.) Clones.** J Agric Food Chem. 2005;53:442-451

Stintzing F.C y Reinhold C. **Betaláíns-Emerging Prospects For Food Scientists.** Trends Food Sci Technol. 2007;18(10):514-525.

St-Pierre P., Genevieve P., Dumais V., Dion C., Dubois M.J., Dubé P., Desjardins, Y. y Marette A. **Comparative analysis of maple Nyrup to other natural sweeteners and evaluation of their metabolic response in healthy rats.** J Funct Foods 2014; 11:460-471.

Strack, D., T. Vogt y W. Schliemann. **Recent advances in betalain research,** Phytochem. 2003;62 (3):247-269.

Shaaruddin, S., H.M. Ghazali, S. Hamed Mirhosseini y K. Muhammad. **Stability Of Betanin In Pitaya Powder And Confection As Affected By Resistant** Food Sci Technol, 2017;84:129-134

Shukla, S., Mehta, A., Mehta, P., & Bajpai, V. **Antioxidant ability and total phenolic content of aqueous leaf extract of Stevia rebaudiana Bert.** Exp Toxicol Pathol. 2011;64:807-811

Tanaka Y., Sasaki N. y Ohmiya A. **Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids,** The Plant J. 2008;54:733-749.

Tadhani, M. B., & Subhash, R. **In vitro antimicrobial activity of Stevia rebaudiana Bertoni leaves.** Trop J Pharma Res. 2006;5(1):557-560.

Tenore, G.C., Novellino, E., y Basille, A. **Nutraceutical Potential and Antioxidant Benefits of Red Pitaya (Hylocereous polyrhizus) Extracts.** J Funct Food. 2012;4(1):129-136.

Tesoriere, L., Butera, D., D'Arpa, D., Di Gaudio, F., Allegra, M., Gentile, C. y Livrea, M. A. **Increased resistance to oxidation of betalain-enriched human low density lipoproteins.** *Free Rad Res.* 2003;37:689–696.

Tesoriere, L., Alegra M., Butera D., y Livrea M.A. **Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDL's: potetial health effects of betalains in humans.** *Am. J. Clin. Nutr.* 2004;80:941-945.

Urias, J.E., Cani, P.D; Delmeé E., Neyrink, A. López M.G., y Delzenne N.M **Physiological Effects of Dietary Fructans Extracted From Agave *tequilana gto* y *Dasyilirion spp.*** *British J Nutrit.* 2008;99:254-261.

Valadez Carmona L., Plazola Jacinto C.P., Hernández Ortega M., Hernández Navarro M.D., Villareal F., Necochea Mondragon H., Ortiz Moreno A. y Ceballos Reyes G. **Effects Of Microwaves, Hot Air And Freeze-Drying On The Phenolic Compounds, Antioxidant Capacity, Enzyme Activity And Microstructure Of Cacao Pod Husks (Theobroma Cacao L.).** *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2017;41:378-386

Wang, Z.H., Huang, J., Ma, X.C., Li, G.Y., Ma, Y.P., Li, N. y Wang, J.H. **Phenolic glycosides from *Curculigo orchioides Gaertn.*** *Phytoterapy.* 2013;86:64–69.

World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, United Nations University. **Protein And Amino Acid Requirements In Human Nutrition**, 2007. Pp 265.

Wu, Q., Fu, D.X., Hou, A.J., Lei, G.O., Liu, Z.J., Chen, J.K. y Zhou T.S. **Antioxidative phenols and phenolic glycosides from *Curculigo orchioides.*** *Chem. Pharm. Bull.* 2005; 53 (8):1065–1067.

Wu L.C, H.W Hsu, Y.C Chen, C.C Chiu, Y.I Lin, J.A H. **Antioxidant and Antiproliferative Activities of Red Pitaya.** *Food Chem.* 2006;95 (2):319-327.

ANEXOS

Método Espectrofotométrico de Folin –Ciocalteou

Curva de Calibración

Los Compuestos fenólicos totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteou usando ácido gálico como material de referencia.

Para preparar la curva de calibración, se preparó una solución patrón de ácido gálico de 400 µg/ml, para lo cual se pesaron 0.01 g de ácido gálico y se aforo a 25 mL con agua destilada.

De la misma manera se preparó una disolución de carbonato de sodio al 2%, pesando 2 gramos en un matraz aforado de 100 ml, inicialmente se disolvió en 40 mL de agua destilada, finalmente se lleva a su volumen de aforo.

Por otro lado, se preparó una disolución 1N del reactivo de Folin-Ciocalteou, por medio de una dilución 1:2 del reactivo comercial (2N) en agua destilada; el reactivo se protegió de la luz.

A partir de la disolución total de ácido gálico , se hicieron las diluciones necesarias con agua destilada para obtener concentraciones de 0, 50,100, 150, 200, 250, 300, 350, y 400 µg/ml, esto se realiza tomando respectivamente 0 µL, 250 µL, 500 µL, 750 µL, 1000 µL, 1250 µL, 1500 µL, 1750 µL, 2000 µL de la disolución patrón de ácido gálico, en viales de 10 mL color ámbar, luego se adiciona a cada tubo 100 µL de reactivo Folin (1:2), se agito vigorosamente en equipo Vortex por 3 segundos, posteriormente se adicionan 2000 µL de carbonato al 2%.

Incubar 30 minutos a temperatura ambiente y leer en espectrofotómetro a 750 nm.

Cuadro 19 Curva de calibración para la determinación de Fenoles Totales

Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	μL disolución	μL solución patron	μL Folin (1:2)	μL Carbonato 2%
0	2000	0	100	2000
50	1750	250	100	2000
100	1500	500	100	2000
150	1250	750	100	2000
200	1000	1000	100	2000
250	750	1250	100	2000
300	500	1500	100	2000
350	250	1750	100	2000
400	0	2000	100	2000

Cuadro 20 Datos de Absorbancia Curva de Calibración Fenoles Totales

Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	A1	A2	A3	A Promedio
0	0	0	0	0.000
50	0.096	0.103	0.103	0.101
100	0.236	0.282	0.187	0.235
150	0.298	0.33	0.318	0.315
200	0.496	0.476	0.456	0.476
250	0.549	0.611	0.593	0.584
300	0.687	0.69	0.79	0.722
350	0.893	0.865	0.886	0.881

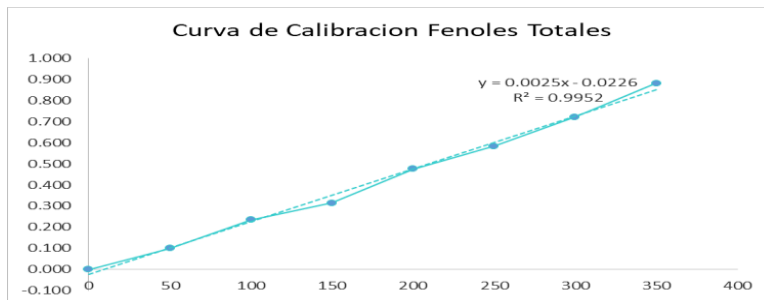


Fig. 31 Curva de Calibración Fenoles Totales

Método Espectrofotométrico Determinación de Flavonoides Totales

Curva de Calibración

Los flavonoides totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico, de acuerdo a la metodología de Obed, et. al, 2012, usando catequina como material de referencia.

Para preparar la curva de calibración, se preparó una solución patrón de catequina de 400 µg/ml, para lo cual se prepararon 25 mL de la solución a esa concentración pesando 0.01 g de catequina y aforando con agua destilada.

Las concentraciones a considerar en la curva fueron las mismas que las de fenoles totales.

Se mezclaron 250 µL de extracto de pitaya con 1250 µL de agua destilada.

Inmediatamente se agregaron 75 µL de NaNO₂ al 5%

Reposar 6 minutos, pasado ese tiempo agregar 150 µL de AlCl₃ al 10% y dejar reposar 5 minutos.

Agregar 500 µL de solución NaOH 1M y agregar 275 µL de agua destilada.

Finalmente leer en espectrofotómetro a 510 nm.

Cuadro 21 Curva de calibración para la determinación de Flavonoides Totales

Concentración (µg/ml)	µL disolución	µL solución patron	µL extracto	µL agua	µL NaNO₂	µL AlCl₃	µL NaOH	µL agua
0	2000	0	250	1250	75	150	500	275
50	1750	250	250	1250	75	150	500	275
100	1500	500	250	1250	75	150	500	275
150	1250	750	250	1250	75	150	500	275
200	1000	1000	250	1250	75	150	500	275
250	750	1250	250	1250	75	150	500	275
300	500	1500	250	1250	75	150	500	275
350	250	1750	250	1250	75	150	500	275
400	0	2000	250	1250	75	150	500	275

Cuadro 22 Datos de Absorbancia Curva de Calibración Flavonoides Totales

Concentración (µg/ml)	A1	A2	A3	APROM
0	0.001	0.008	0.001	0.003
50	0.116	0.121	0.125	0.121
100	0.229	0.222	0.275	0.242
150	0.330	0.360	0.325	0.338
200	0.496	0.536	0.523	0.518
250	0.574	0.570	0.606	0.583
300	0.772	0.763	0.742	0.759
350	0.686	0.787	0.845	0.773
400	0.922	0.968	0.975	0.955

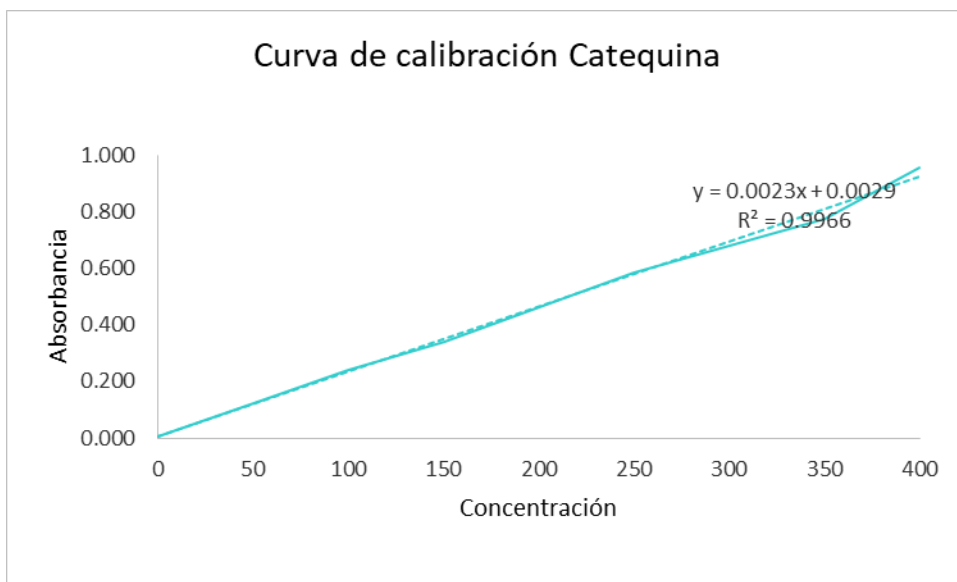


Fig 32 Curva de Calibración Flavonoides Totales

1. Cuestionarios Aplicados para pruebas sensoriales

PERFIL DE SABOR

Nombre: _____ Fecha: _____ Genero: _____

Frente a usted hay tres muestras, las cuales debe probar. Describiendo las características de sabor que están presentes en la muestra.

Marque con una X dentro de la casilla del término que más describa lo que usted siente con la muestra; considerando la escala: 0: ausencia total; 1: casi imperceptible; 2: ligera; 3: media; 4: alta y 5: extrema

Código del Producto: 1120

Sabor	0	1	2	3	4	5
Afrutado						
Dulce						
Ácido						
Fermentado.						
Amargo						
Resabio Metálico.						

Código del Producto: 8324

Sabor	0	1	2	3	4	5
Afrutado						
Dulce						
Ácido						
Fermentado.						
Amargo						
Resabio Metálico.						

Código del producto:3567

Sabor	0	1	2	3	4	5
Afrutado						
Dulce						
Ácido						
Fermentado.						
Amargo						
Resabio Metálico.						

PERFIL DE TEXTURA.

Nombre: _____ Fecha: _____ Genero: _____

Frente a usted hay tres muestras, las cuales debe observar y degustar describiendo las características de textura que están en la muestra.

Marque con una X dentro de la casilla del término que más describa lo que usted siente por la muestra; considerando: 0: neutro, valores negativos va disminuyendo la intensidad de la variable evaluada, valores positivos va aumentando la intensidad de la variable evaluada.

Muestra: 1120

Patrón	(-)	5	4	3	2	1	0	1	2	3	4	5	+
Dureza													
Gomosidad													
Cohesividad													
Elasticidad													

Muestra: 8324

Patrón	(-)	5	4	3	2	1	0	1	2	3	4	5	+
Dureza													
Gomosidad													
Cohesividad													
Elasticidad													

Muestra: 3567

Patrón	(-)	5	4	3	2	1	0	1	2	3	4	5	+
Dureza													
Gomosidad													
Cohesividad													
Elasticidad													



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Química
Químico en Alimentos

Evaluación Sensorial.

Fecha: _____ Genero: _____ Edad: _____

Instrucciones: Frente a usted hay tres muestras de gomitas, pruébelas una a una y seleccione la muestra que prefiera.

Muestras		
1120	8324	3567
Prefiero la muestra: _____		

COMENTARIOS:

¡MUCHAS GRACIAS!



TECNOLÓGICO
DE MONTERREY.



Otorga la presente constancia a

José Osvaldo Gil Escamilla

por la presentación del cartel

Evaluación de la capacidad antioxidante de una golosina
adicionada con extracto de betalaínas de pitaya
(*Stenocereus spp.*)

1^{er} CONGRESO
INTERNACIONAL DE
ALIMENTOS
— FUNCIONALES —
Y NUTRACÉUTICOS

Dr. Sergio O. Serna-Saldivar
Comité Organizador

Dra. Janet Alejandra Gutiérrez-Uribe
Comité Organizador

Dr. Gustavo González-Aguilar
Comité Organizador

Dr. Aarón Fernando González-Córdova
Comité Organizador





We certify that the paper titled
EVALUATION OF TOTAL BETALAINS OF STENOCEREUS SPP AND
CHARACTERIZATION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND
ANTIOXIDANT CAPACITY

by

Gil Escamilla JO, Hernández-Navarro MD, Hernández López AV,
Figueroa-Ibarra LM, Gómez-Oliván LM, Dublán-García O, Islas-
Flores H, Hernández-Ortega MM.

has been presented at

XXV SILAE Congress

Modena, September 2016 - 11-15

Prof. Luca Rastrelli
Silae's Secretary

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Luca Rastrelli".

Prof.ssa Daniela Quaglino
Silae's President 2016

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Daniela Quaglino".



