



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

ESTABILIDAD DE BETALAÍNAS EN YOGUR ADICIONADO CON MICROPARTÍCULAS DE PULPA O ULTRAFILTRADO DE TUNA PÚRPURA (*Opuntia ficus-indica*)

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magíster en Ciencias Agropecuarias, Mención Producción Agroindustrial

FRANCISCO JAVIER ORLANDO ALFARO CARRERA

Directores de Tesis

**CARMEN SÁENZ HERNÁNDEZ
PAZ ROBERT CANALES**

Profesores Consejeros

**CIELO CHAR AUBRY
NALDA ROMERO PALACIOS**

**SANTIAGO - CHILE
2013**



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

ESTABILIDAD DE BETALAÍNAS EN YOGUR ADICIONADO CON MICROPARTÍCULAS DE PULPA O ULTRAFILTRADO DE TUNA PÚRPURA (*Opuntia ficus-indica*)

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magíster en Ciencias Agropecuarias, Mención Producción Agroindustrial

FRANCISCO JAVIER ORLANDO ALFARO CARRERA

Directores de Tesis

**CARMEN SÁENZ HERNÁNDEZ
PAZ ROBERT CANALES**

Profesores Consejeros

**CIELO CHAR AUBRY
NALDA ROMERO PALACIOS**

**SANTIAGO - CHILE
2013**

**ESTABILIDAD DE BETALAÍNAS EN YOGUR ADICIONADO CON
MICROPARTÍCULAS DE PULPA O ULTRAFILTRADO DE TUNA PÚRPURA
(*Opuntia ficus-indica*)**

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título de Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias, Mención Producción Agroindustrial

Francisco Javier Orlando Alfaro Carrera

DIRECTORES DE TESIS	Calificaciones* (Memoria de Título)	Calificaciones** (Tesis de Grado)	Firma
Carmen Sáenz Hernández Químico Farmacéutico, Dr.	70	Aprobado	
Paz Robert Canales Químico, Dr.	70	Aprobado	
PROFESORES CONSEJEROS			
Cielo Char Aubry Bioquímico, Dr.	68	Aprobado	
Nalda Romero Palacios Químico Farmacéutico, M.Sc.	70	Aprobado	

Santiago, Chile
2013

* Escala 1 a 7; válido para alumnos de Educación Continua de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile

** Aprobado o Reprobado

“Esta tesis está dedicada
a mis padres, quienes son
mi modelo a seguir”

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mis agradecimientos a todas las personas que hicieron posible la realización de esta tesis, partiendo por mis profesoras guías; Dra. Carmen Sáenz y Dra. Paz Robert, por su orientación, simpatía, ayuda, conocimiento y disciplina brindada durante el largo período de mediciones, por ser la mano firme que me mantenía en el rumbo correcto y me apretaba en los momentos oportunos.

A mis padres, Ana María del Carmen y Luis Eduardo Alfaro, por brindarme los valores necesarios para crecer como persona, enseñarme que con perseverancia y dedicación no existen obstáculos, por luchar para que nunca faltara nada en el hogar, haciendo turnos extra y desvelándose, siempre poniendo a sus hijos por delante. A mi hermana Maricel Alfaro y mi cuñado Daniel Soto, por alegrar mis noches de estudio, apoyando cada paso y decisión tomada con sabias palabras y consejos de vida. A mis abuelos Ana Cisterna y Eduardo Alfaro, y a mis tías Mónica Alfaro, Margarita Carrera y Dina Yáñez por preocuparse, quererme, consentirme y rezar por mí. También a mi abuelita Aida Ayala, un angelito que desde el cielo ilumina mi camino, se que estará orgullosa de mi.

A mi polola Francisca Tapia por creer en mí, acompañarme, ayudarme y alentarme siempre que lo necesité, por ser un ejemplo de responsabilidad y un pilar fundamental en mi vida. Te amo infinito. A mis amigos, por “apañar” en los momentos que mas los necesité, celebrar mis victorias y consolar mis derrotas.

A los grandes trabajadores del laboratorio: Cristina, Anita, Paula, Inés, Manu, Ivonne, Barciette, Francisco y Héctor, quienes reforzaron mis conocimientos y me hicieron sentir parte de un equipo. Finalmente, al proyecto Fondecyt N° 1110126 “Cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) colorants obtained by membrane technologies separation and microencapsulation. Stability and applications in food”, por brindarme todos los recursos necesarios para el desarrollo de este trabajo.

INDICE

RESUMEN	1
SUMMARY	3
INTRODUCCIÓN	4
COLOR EN ALIMENTOS	4
BETALAÍNAS	5
ANTECEDENTES GENERALES DEL NOPAL	7
BETALAÍNAS EN FRUTOS DE OPUNTIA.....	8
RUTAS DE DEGRADACIÓN DE LAS BETALAÍNAS.....	10
Isomerización	11
Desglicosilación	11
Hidrólisis.....	12
Descarboxilación.....	12
Deshidrogenación	12
Descarboxilaciones y deshidrogenaciones múltiples	12
ESTABILIDAD DE LAS BETALAÍNAS	13
TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS.....	15
ENCAPSULACIÓN.....	17
SECADO POR ASPERSIÓN.....	19
AGENTES ENCAPSULANTES	21
APLICACIÓN DE MICROPARTÍCULAS A YOGUR	22
HIPÓTESIS	24
OBJETIVOS	24
OBJETIVO GENERAL	24
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
MATERIALES Y METODOS	25
LUGAR DE TRABAJO	25
MATERIALES.....	25

MÉTODOS	27
ETAPA 1. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA PULPA DE TUNA PÚRPURA Y CARACTERIZACIÓN DEL ULTRAFILTRADO DE TUNA PÚRPURA.	27
a) Obtención de la pulpa de tuna púrpura (PT).....	27
b) Caracterización de la pulpa de tuna púrpura (PT) y del ultrafiltrado de tuna púrpura (UF).....	27
Análisis estadístico.....	28
ETAPA 2. ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS MICROPARTÍCULAS OBTENIDAS BAJO CONDICIONES ÓPTIMAS.	29
a) Elaboración de micropartículas	29
b) Caracterización de las micropartículas	30
Análisis estadístico.....	33
ETAPA 3. ESTABILIDAD DE BETALAÍNAS EN YOGUR ADICIONADO CON MICROPARTÍCULAS DE PULPA (PT) Y ULTRAFILTRADO (UF) DE TUNA PÚRPURA.	33
a) Análisis proximal del yogur natural	33
b) Adición de micropartículas al yogur natural	34
c) Estabilidad de becianinas y betaxantinas en el yogur con micropartículas durante el almacenamiento a 4 °C.	35
Diseño experimental.....	38
Análisis estadístico.....	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
ETAPA 1. CARACTERIZACIÓN DE LA PULPA Y DEL ULTRAFILTRADO DE PULPA DE TUNA PÚRPURA.....	39
ETAPA 2. CARACTERIZACIÓN DE LAS MICROPARTÍCULAS DE PULPA Y ULTRAFILTRADO DE TUNA PÚRPURA CON CAPSUL Y K4484, OBTENIDAS BAJO CONDICIONES ÓPTIMAS	44
Morfología de las micropartículas	50
ETAPA 3. ESTABILIDAD DE BETALAÍNAS EN YOGUR ADICIONADO CON MICROPARTÍCULAS DE PULPA DE TUNA (PT) Y ULTRAFILTRADO DE TUNA PÚRPURA (UF) CON CAPSUL Y K4484 COMO ENCAPSULANTES.	53
Estabilidad de las betalaínas en el yogur	55

Evolución de los parámetros de color en yogur con micropartículas	60
Evolución del pH en el yogur almacenado a 4°C	63
CONCLUSIONES	67
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	68
ANEXOS	87
APENDICES	95

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Condiciones óptimas de elaboración de micropartículas.....	29
Cuadro 2. Características físicas y químicas de la pulpa y el ultrafiltrado de tuna púrpura (<i>Opuntia ficus-indica</i>).	39
Cuadro 3. Parámetros de color en pulpa y ultrafiltrado de tuna.	43
Cuadro 4. Condiciones óptimas y resultados del proceso de encapsulación.....	45
Cuadro 5. Características físicas y químicas para las micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas.	47
Cuadro 6. Parámetros de color de las micropartículas de los sistemas PT-C, PT-K, UF-C y UF-K.....	49
Cuadro 7. Contenido de betacianinas y betaxantinas del yogur en el tiempo inicial.	53
Cuadro 8. Constantes de velocidad de degradación (k) de betacianinas y betaxantinas en yogur con micropartículas.	58
Cuadro 9. Parámetros de color para el yogur con micropartículas de los sistemas PT-C, UF-C, PT-K y UF-K, al inicio y final del almacenamiento.	61
Cuadro 10. Promedio de los valores de pH de los sistemas de yogur con micropartículas durante 10 semanas de almacenamiento.	64
Cuadro 11. Análisis proximal del yogur.	97
Cuadro 12. Concentración de betalaínas y áreas para curvas de calibración.....	98
Cuadro 13. Contenido de betanina ($\mu\text{g/g}$ de yogur) y porcentaje de retención de betanina respecto al tiempo 0.	100
Cuadro 14. Contenido de indicaxantina ($\mu\text{g/g}$ de yogur) y porcentaje de retención de indicaxantina respecto al tiempo 0.	102
Cuadro 15. Valores del cambio de color (ΔE) en el yogur.....	105

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de las betacianinas (Allegra <i>et al.</i> , 2005).	6
Figura 2. Estructura química de las betaxantinas (Allegra <i>et al.</i> , 2005).	6
Figura 3. Rutas de degradación para betacianinas (Herbach <i>et al.</i> , 2006a).	11
Figura 4. Morfología de los diferentes tipos de micropartículas.....	18
Figura 5. Preparación del yogur natural con adición de micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas.	35
Figura 6. Separación de los pigmentos puros de la pulpa, betanina e indicaxantina mediante separación por columnas.....	36
Figura 7. Fotografías de las micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas: (A) pulpa-Capsul, (B) pulpa-K4484, (C) ultrafiltrado-Capsul y (D) ultrafiltrado-K4484.	44
Figura 8. Microfotografías de micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas para los sistemas: PT-C (A), PT-K (B), UF-C (C) y UF-K (D).....	51
Figura 9. Yogur con micropartículas al momento de la elaboración (T0) para cada uno de los sistemas estudiados.....	53
Figura 10. Cromatograma de betalainas en el yogurt con micropartículas del sistema UF-K a una longitud de onda de 484 y 535nm al inicio del estudio.	54
Figura 11. Degradación de primer orden para las betacianinas en yogurt formulado con micropartículas de los sistemas PT-Capsul (◇) y UF-Capsul (□), almacenadas a 4°C.	55
Figura 12. Degradación de primer orden para las betacianinas en yogurt formulado con micropartículas de los sistemas PT-K (◇) y UF-K (□), almacenadas a 4°C.	56
Figura 13. Degradación de primer orden para las betaxantinas en yogurt formulado con micropartículas de los sistemas PT-Capsul (◇) y UF-Capsul (□), almacenadas a 4°C.	57

Figura 14. Degradación de primer orden para las betaxantinas en yogur formulado con micropartículas de los sistemas PT-K (◇), UF-K (□), almacenadas a 4°C.	57
Figura 15. Cambio de color (ΔE) en los sistemas con yogur PT-C, PT-K, UF-C y UF-K, a las 0 (■), 5 (■) y 10 (■) semanas de almacenamiento	63
Figura 16. Valores de pH para sistemas de yogur con micropartículas de Capsul como agente encapsulante (PT-C y UF-C) durante el almacenamiento a 4°C. .	64
Figura 17. Valores de pH para sistemas de yogur con micropartículas de K4484 como agente encapsulante (PT-K y UF-K) durante el almacenamiento a 4°C...	65
Figura 18. Curva de calibración de glucosa.	88
Figura 19. Curva de calibración de ácido gálico.....	90
Figura 20. Carta de color (Fuente: Konica Minolta Sensing, INC. 2007).....	94
Figura 21. Diagrama del proceso de investigación.	95
Figura 22. Diagrama de flujo de la obtención de pulpa de tuna púrpura.....	96
Figura 23. Curva de calibración de betanina e indicaxantina	99

INDICE DE ANEXOS

Anexo I. Método espectrofotométrico de reacción de antrona.	87
Anexo II. Método de determinación de polifenoles totales.	89
Anexo III. Determinación del contenido de betalaínas por espectrofotometría.	91
Anexo IV. Determinación de compuestos bioactivos superficiales y totales en micropartículas.	93
Anexo V. Carta de representación del color.	94

INDICE DE APENDICES

Apéndice I. Etapas del proceso de investigación.....	95
Apéndice II. Proceso de obtención de la pulpa de tuna púrpura.....	96
Apéndice III. Análisis proximal del yogur.....	97
Apéndice IV. Preparación de estándares de betanina e indicaxantina y curvas de calibración.....	98
Apéndice V. Evolución del contenido de betacianinas y betaxantinas en el tiempo de estudio.....	100
Apéndice VI. Evaluación de los parámetros de color por semana.....	104
Apéndice VII. Evaluación del cambio de color (ΔE) por semana.....	105
Apéndice VIII. Otras investigaciones en frutos de cactus a nivel industrial.	106

RESUMEN

Las betalaínas son pigmentos hidrosolubles, autorizados como aditivos por la FDA de Estados Unidos y admitidos en la Unión Europea. Son uno de los pocos pigmentos rojos naturales y presentan un doble propósito, como colorantes y antioxidantes, por lo que cabe potenciar su uso en la industria alimentaria. Una de las fuentes de betalaínas menos explotadas comercialmente son los frutos de la tuna púrpura. El objetivo de este trabajo fue determinar la estabilidad de éstos pigmentos en un yogur adicionado con micropartículas de pulpa de tuna (PT) y ultrafiltrado de tuna púrpura (UF), elaborados mediante secado por aspersion utilizando Capsul (PT-C y UF-C) y K4484 (PT-K y UF-K) como agentes encapsulantes. Para determinar la estabilidad en el yogur se cuantificó el contenido de betalaínas, color y pH, durante 10 semanas. La degradación de betacianinas y betaxantinas en el yogur siguió una cinética de primer orden para todos los sistemas, mostrando constantes de velocidad de degradación entre $7,81 \times 10^{-6}$ - $8,67 \times 10^{-6}$ (min^{-1}) y de $4,60 \times 10^{-6}$ - $6,43 \times 10^{-6}$ (min^{-1}), respectivamente. Además, se observó un comportamiento diferente, dependiendo de la fuente de betalaínas (PT o UF), obteniéndose menor degradación en los sistemas con pulpa en comparación con el ultrafiltrado de tuna. Este comportamiento se puede atribuir a los mucílagos de la pulpa, que protegerían la degradación de betalaínas. Se obtuvo una alta eficiencia de encapsulación (sobre 98,4) tanto para betacianinas como para betaxantinas y un buen rendimiento para todos los sistemas. Además, se presentaron diferencias morfológicas entre las partículas elaboradas con Capsul y las elaboradas con K4484, siendo estas últimas más esféricas y con menor cantidad de indentaciones, lo que se puede atribuir a la naturaleza del encapsulante. En cuanto al yogur, los parámetros de color se vieron afectados durante el almacenamiento, aumentando su luminosidad (L) y disminuyendo en intensidad o Cromo (C^*), sin embargo, el yogurt mantuvo un alto porcentaje de betalaínas y un color rosado hasta el final del periodo de almacenamiento

Palabras claves: Colorantes naturales, betalaínas, indicaxantina, betanina, secado por aspersión.

SUMMARY

Betalains (betacyanins and betaxanthins) are water-soluble pigments. The betanin (betacyanin) is accepted as an additive by the FDA (U.S.A.) and by the European Union foods regulations. It is one of the few natural red pigments in nature and has a double purpose, as a colorant and as antioxidant, so it should increase its use in the food industry. One source of betalains scarcely used commercially until now, is that from cactus pear fruits. The aim of this study was to determine the stability of betalains in a yogurt with microparticles obtained from purple cactus pear pulp (CP) and ultrafiltrated pulp (UF), prepared by spray drying, using Capsul (CP-C and UF-C) and K4484 (CP-K and UF-K), as encapsulating agents. The stability of the betalains in the yogurt was determined by means of the changes in the betalains content, color and pH, during 10 weeks. Betacyanins and betaxanthins degradation in yogurt followed a first order kinetics for all systems, showing degradation rate constants between 7.81×10^{-6} to 8.67×10^{-6} (min^{-1}) and 4.60×10^{-6} - 6.43×10^{-6} (min^{-1}), respectively. In addition, we observed a different behavior, depending on the source of betalains (CP or UF), showing less degradation the systems with cactus pear pulp compared with the ultrafiltrate's one. This behavior can be attributed to the mucilage of the pulp, which could protect the betalains degradation. High encapsulation efficiency (about 98.4%) for betaxanthins as for betacyanins and a good yield for all systems was obtained. Moreover, morphological differences were observed among the particles prepared with Capsul compared with K4484, being the latter more spherical and with less amount of indentations, which can be attributed to the encapsulant nature. Regarding the yogurt, the color parameters were affected during the storage, increasing lightness (L) and decreasing the intensity or chroma (C^*), however, the yogurt kept a high betalains content and a pink color until the end of the entire storage period.

Keywords: Natural colorants, betalains, indicaxanthin, betanin, spray drying.

INTRODUCCIÓN

Color en alimentos

El color es uno de los atributos más importantes en los alimentos, ya que se considera un indicador de calidad que frecuentemente determina su aceptación. Sin embargo, durante el procesamiento y/o almacenamiento de los alimentos, el color se puede alterar por acción de la luz, temperatura, oxígeno, iones metálicos, enzimas endógenas, entre otros (Rojas, 2000; Farías, 2003; Stintzing y Carle, 2004; Azeredo, 2009). En este contexto, es necesario utilizar colorantes en alimentos para compensar las pérdidas ocurridas durante el procesamiento y/o almacenamiento, o para formular alimentos atractivos y apetitosos (Moßhammer *et al.*, 2006a).

En las últimas décadas las exigencias de los consumidores en el campo alimenticio han cambiado considerablemente fomentando el interés en los alimentos que contribuyen directamente en la salud (Young, 2000; Mollet y Rowland, 2002), en función de esto, los colorantes rojos sintéticos se han cuestionado debido a los riesgos que implican en la salud humana, lo que ha motivado la búsqueda de nuevas alternativas de origen natural para sustituir a los colorantes artificiales (Tsuda *et al.*, 2001).

La naturaleza produce una variedad de compuestos adecuados para la coloración de los alimentos (Azeredo, 2009), siendo los colorantes naturales de origen vegetal los que están recibiendo un creciente interés, tanto de los fabricantes de alimentos como de los consumidores, en la sustitución de los colorantes sintéticos (Stintzing y Carle, 2004).

Entre los principales pigmentos naturales se encuentran diversos carotenoides, betalaínas, antocianinas y clorofilas (Paz y Guevara, 2009). Sin embargo, los colorantes naturales presentan algunas desventajas en comparación con los sintéticos, incluidos un mayor costo y menor estabilidad (Cai *et al.*, 2005; Azeredo, 2009).

Algunos tipos de *Opuntia* y *Amaranthus* de color rojo-púrpura y violeta se pueden utilizar como fuente de betalaínas, para la obtención de pigmentos rojos naturales (Sepúlveda *et al.*, 2003; Cai *et al.*, 2005). Sin embargo, es importante realizar estudios sobre extracción y estabilidad para evaluar la viabilidad de la utilización del pigmento, como una alternativa a los colorantes rojos usados en el mercado.

Betalaínas

Las betalaínas son pigmentos solubles en agua, derivados del ácido betalámico (Herbach *et al.*, 2006a), cuya presencia se limita a unas pocas familias del orden Caryophyllales (Stintzing y Carle, 2004).

Estructuralmente, se pueden dividir en dos grupos, las betacianinas (Figura 1), que presentan el grupo 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA), que puede ó no estar glicosilado, son de color rojo a púrpura y absorben a una longitud de onda de 535-550 nm, en el rango de luz visible; y las betaxantinas (Figura 2), que presentan conjugación con aminoácidos ó derivados de aminoácidos, dan una coloración amarillo-naranja y su absorbancia se encuentra entre 475-480 nm (Castellar *et al.*, 2003; Allegra *et al.*, 2005; Cai *et al.*, 2005; Herbach *et al.*, 2006a; Azeredo, 2009).

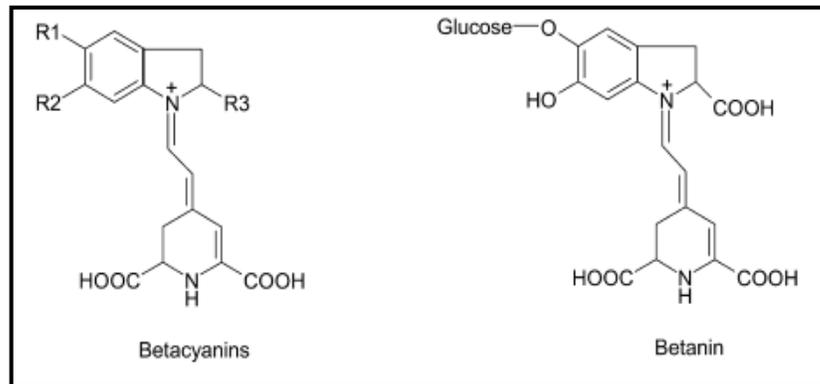


Figura 1. Estructura química de las betacianinas (Allegra *et al.*, 2005).

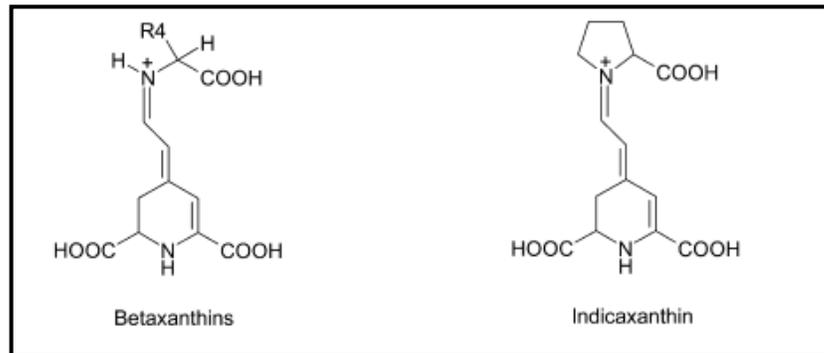


Figura 2. Estructura química de las betaxantinas (Allegra *et al.*, 2005).

Las betalaínas rojas (betanina) son pigmentos autorizados como aditivos por la FDA (Food and Drug Administration) de Estados Unidos y también están admitidas por la legislación de la Unión Europea, siendo comercializadas como polvo o extracto líquido concentrado de betarraga (García, 2008; Obón *et al.*, 2009). En Chile, las betaninas correspondientes a betacianinas (Figura 1) se clasifican como aditivo alimentario bajo el nombre de rojo de remolacha. Este pigmento no presenta un contenido máximo de aplicación en alimentos, pero depende de las buenas prácticas de fabricación (BPF) (RSA, 2009, Art. 145).

Las betalaínas presentan ventajas comparativas frente a otros pigmentos naturales, tales como las antocianinas, debido a su estabilidad en un intervalo

mayor de pH y su amplia gama de colores relacionada con su estructura (Nazareno y Padrón, 2011).

La fuente más estudiada de betalaínas es la betarraga roja (*Beta vulgaris* L.) (Díaz *et al.*, 2006) cuyas raíces son la principal fuente comercial de betacianinas (Cai *et al.*, 2005), pero a pesar de ello, presenta inconvenientes a nivel tecnológico y sensorial, como la presencia de nitratos, el riesgo de contaminación microbiana y el arrastre de partículas indeseadas (Stintzing *et al.*, 2001; Piga, 2004; Moßhammer *et al.*, 2006a y 2006b; Nazareno y Padrón, 2011).

Otras fuentes de betalaínas son los frutos del nopal (Stintzing *et al.*, 2001), el amaranto (Cai *et al.*, 2005) y las pitayas (pertenecientes al género *Cereus*, *Hylocereus* y *Selenicereus*) (Azeredo, 2009), como una alternativa a la betarraga roja para colorear alimentos (Herbach *et al.*, 2006a; Moßhammer *et al.*, 2006b). De las fuentes mencionadas, los frutos de las cactáceas no presentan impactos sensoriales negativos ni carga de nitratos, por lo cual, son una buena alternativa para la obtención de colorantes alimentarios (Moßhammer *et al.*, 2005).

Antecedentes generales del nopal

El nopal es un frutal tropical originario de América, perteneciente a la familia Cactaceae, subgénero *Opuntia*, que crece en regiones áridas y semiáridas (Sáenz, 2006; Morales *et al.*, 2009) y se encuentra desde el norte de Canadá hasta el sur de Chile (Tapia, 2007), pero hasta ahora, tiene un bajo uso industrial, siendo *Opuntia ficus-indica* la variedad más estudiada (Torres, 2008).

Los frutos del nopal son una de las pocas fuentes de betalaínas en la naturaleza y podrían ser una opción atractiva para sustituir los aditivos sintéticos ya que

presentan una doble función: como colorante y antioxidante, otorgando un efecto beneficioso a la salud (Kuti, 2004; Stintzing y Carle, 2004; Tesoriere *et al.*, 2005; Nazareno y Padrón, 2011).

Una ventaja del género *Opuntia* es su bajo requerimiento hídrico; creciendo además, en suelos marginales áridos y semiáridos, con texturas pobres y bajos niveles de pH; exhibiendo al mismo tiempo, una alta tasa de producción de biomasa (Stintzing *et al.*, 2001; Castellar *et al.*, 2003; Moßhammer *et al.*, 2006b).

En Chile, actualmente las variedades rojas y púrpuras sólo se cultivan a pequeña escala o a nivel experimental, principalmente en la zona central del país, existiendo en otras zonas algunos ecotipos silvestres. El interés por conocer el potencial de los diversos frutos presentes en Chile, como fuente de colorante rojo, ha motivado la realización de estudios para determinar el contenido de betanina, tanto en la cáscara como en la pulpa (Sepúlveda *et al.*, 2003), con ello se busca aumentar el rendimiento del contenido de betalaínas al aprovechar diversas partes del fruto, aumentando el interés por el nopal y motivando los esfuerzos para su utilización (Cerezal y Duarte, 2005).

Betalaínas en frutos de *Opuntia*

En trabajos previos se ha estudiado el contenido de betalaínas en frutos de diferentes *Opuntia*. Los frutos de *O. stricta* mostraron altos niveles de betalaínas (80 mg/100 g de fruta fresca), principalmente betanina e isobetanina. Estos niveles son alrededor de cuatro veces superiores a los encontrados en *O. ficus-indica* (14-19 mg/100 g de fruta fresca), *O. undulata* (20 mg/100 g de fruta fresca), *O. lasiacantha* (19-28 mg/100 g de fruta fresca), e incluso mayor que el mostrado por algunos colorantes comerciales de betarraga roja (40-60 mg/100 g de raíz fresca)

(Fernández y Almela, 2001; Castellar *et al.*, 2003). En ecotipos experimentales de tuna púrpura existentes en Chile, los contenidos de betalaína varían entre 16,6 y 62,4 mg de betanina/100g materia fresca (Sepúlveda *et al.*, 2003).

Un aspecto favorable de las betalaínas de frutos de *Opuntia*, es que presentan la misma betacianina que los pigmentos comerciales de betarraga roja, por lo que no necesita una nueva clasificación como colorante alimentario (Castellar *et al.*, 2006).

Además del poder colorante, las betalaínas poseen propiedades antioxidantes, pudiendo prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Galati *et al.*, 2003; Tesoriere *et al.*, 2004; Guzmán *et al.*, 2010), debido a su capacidad de atrapar radicales libres. Si bien la betarraga ha sido incluida entre los 10 vegetales con mayor poder antioxidante, hay también evidencia creciente de esta actividad en los frutos de *Opuntia* (Azeredo, 2009).

En China se investigó la actividad protectora de las betalaínas de betarraga en ratones irradiados con rayos gamma. Los resultados mostraron que este pigmento podría actuar como un agente radioprotector, debido a su capacidad antioxidante (Lu *et al.*, 2009). Además, Zou *et al.* (2005) reportó que componentes del fruto del nopal inhiben el crecimiento de las células cancerígenas en ratones. Por otro lado, Azeredo (2009) también reportó una actividad anticancerígena de las betalaínas, vinculada a su poder antioxidante, mostrando una actividad inhibitoria en tumores de piel y pulmón en ratones. Esta actividad también se comprobó sobre tumores de ovario, cervicales y vejiga *in vitro* y en ratones con cáncer de ovario, con un extracto de fruto de cactus (*Opuntia ficus-indica*).

Se ha documentado el rol preventivo de las betalaínas sobre la susceptibilidad a la oxidación de LDL en humanos (Tesoriere *et al.*, 2003). La ingesta regular de *Opuntia robusta* es capaz de reducir significativamente daños oxidativos in vivo en

un grupo de pacientes que sufren de hipercolesterolemia, según lo informado por Budinsky *et al.* (2001), aunque en el mencionado estudio no alcanzó a establecerse cuáles son los compuestos responsables de tal bioactividad.

Por otro lado, Repo de Carrasco y Encina (2008) señalan que la capacidad antioxidante está directamente relacionada con el contenido de pigmentos de los frutos; en una investigación realizada con 3 variedades de frutos *Opuntia ficus-indica* (roja, anaranjada y verde), los frutos rojos mostraron mayor capacidad antioxidante que los frutos anaranjados, y éstos a su vez, mayor que los verdes.

Rutas de degradación de las betalaínas

Las rutas de degradación de betalaínas como isomerización, descarboxilación, desglicosilación, deshidrogenación e hidrólisis, se han descrito principalmente para betanina e isobetanina (Herbach *et al.*, 2006b), donde los cambios cromáticos ocurridos en las betalaínas pueden considerarse como resultado de varias reacciones de degradación y transformación (Herbach *et al.*, 2006a). En la Figura 3 se muestran las posibles vías de degradación de estos compuestos.

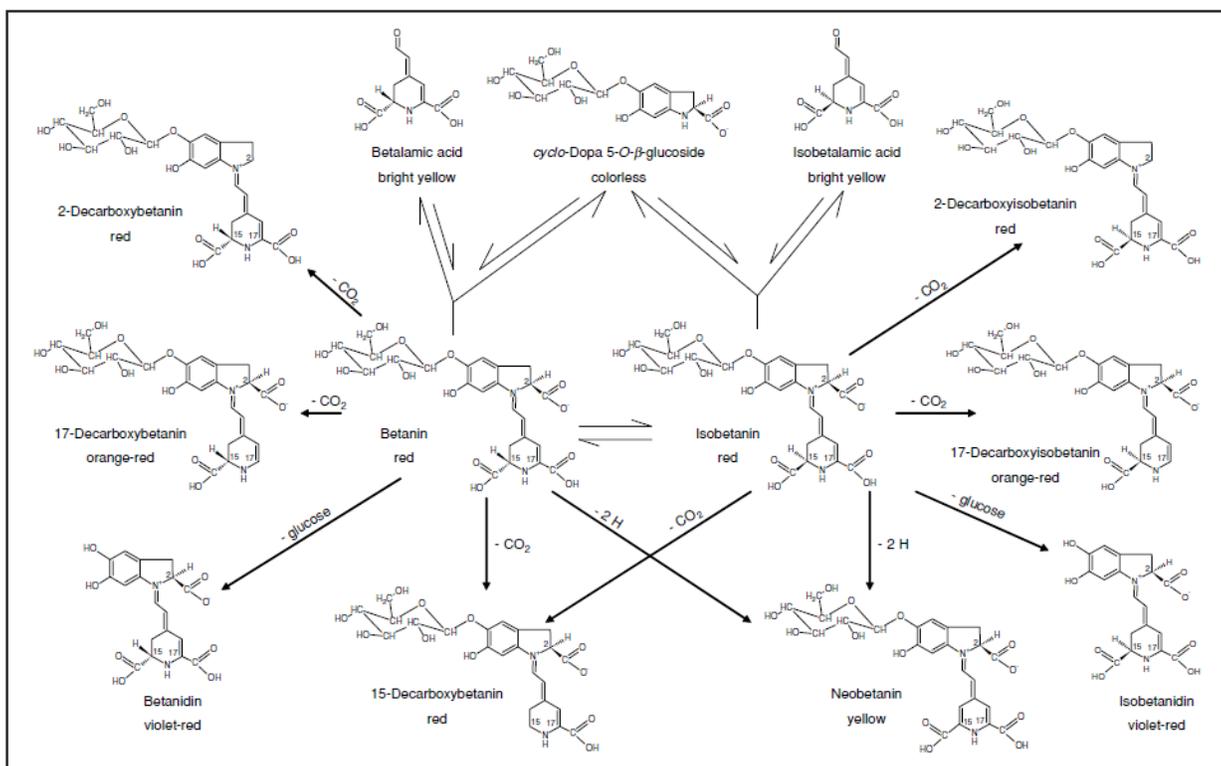


Figura 3. Rutas de degradación para betacianinas (Herbach *et al.*, 2006a).

Isomerización: Como regla general, las betacianinas se acompañan de sus respectivas isobetacianinas. Para el caso de la betanina, la isomerización se produce en el C₁₅ formando la isobetanina, la cual presenta propiedades cromáticas idénticas a la betanina sin presentar cambios observables de color (Schwartz y von Elbe, 1983). Por otro lado, el ácido betalámico y la indicaxantina son susceptibles a la isomerización, siendo esta última más propensa en el C₁₁ (Wilcox *et al.*, 1965).

Desglucosilación: Bajo condiciones fuertemente ácidas, altas temperaturas y presencia de β-glucosidasa, la molécula de glucosa puede separarse de la betanina, provocando un desplazamiento batocrómico cercano a 4 nm y un color rojo violeta profundo, debido a la formación de una aglicona de menor estabilidad, la que presenta mayor susceptibilidad a la oxidación (Stintzing y Carle, 2004).

Hidrólisis: En tratamientos térmicos, la ruptura hidrolítica del enlace aldimina de las betalaínas se observó a pH superiores a 6. La hidrólisis de betanina disminuye la intensidad del color, debido a que la ruptura de la betanina genera ácido betalámico (amarillo brillante) y ciclo-Dopa-5-O- β -glucósido (inoloro) (Herbach *et al.*, 2006a). La ruptura del enlace aldimina es reversible con una condensación de base de Schiff a pH 6 (Huang y von Elbe, 1985 y 1987).

Descarboxilación: Se ha observado que la betanina puede ser descarboxilada en las posiciones C₂, C₁₅ y/o C₁₇ (Herbach *et al.*, 2005). Esto teóricamente puede ocurrir para betacianinas, mientras que para betaxantinas sería en los carbonos C₁₁ y C₁₃. La descarboxilación produce un desplazamiento hipsocrómico que puede ser explicado por una disminución en la deslocalización de los electrones π en los compuestos descarboxilados (Herbach *et al.*, 2006a). Por otra parte, el sitio inicial de descarboxilación varía dependiendo del disolvente. Medios etanólicos promueven la descarboxilación en el C₁₇, mientras que en soluciones acuosas es más pronunciada en el C₂ (Wybraniec, 2005; Wybraniec y Mizrahi, 2005).

Deshidrogenación: Estudios sobre el efecto de la deshidrogenación han mostrado que a partir de la isobetanina (de color rojo) se produce neobetanina (14,15-dehidroxibetanina), la cual a pesar de estar estructuralmente agrupada con las betacianinas presenta un color amarillo (Alard *et al.*, 1985). La formación de neobetanina se ha confirmado en jugo de betarraga sometido a tratamiento térmico bajo condiciones anaeróbicas (Herbach *et al.*, 2004), pero también se ha demostrado la presencia de neobetanina en tunas (Stintzing *et al.*, 2005).

Descarboxilaciones y deshidrogenaciones múltiples: Se ha observado que puede ocurrir más de un mecanismo de reacción, como descarboxilaciones múltiples o combinadas con deshidrogenación, un ejemplo es la neobetanina deshidrogenada bidescarboxilada (estructura indolizada), la que se produce durante el tratamiento térmico de soluciones de betaninas (Herbach *et al.*, 2005).

Estabilidad de las betalaínas

La estabilidad de las betalaínas ha sido estudiado por varios investigadores, demostrado que se ve afectada por el pH, la actividad de agua, la exposición a la luz, el oxígeno, la temperatura, la actividad enzimática y la presencia de metales (Delgado *et al.*, 2000; Castellar *et al.*, 2003; Díaz *et al.*, 2006; Herbach *et al.*, 2006a; Herbach *et al.*, 2006b).

La mayoría de los estudios de estabilidad, se han realizado principalmente en betarraga, para analizar la influencia de factores adversos sobre las betacianinas, pero muy pocos se han realizado sobre las betaxantinas (Herbach *et al.*, 2006b). La estabilidad es un aspecto importante a considerar para el uso de estos pigmentos como antioxidantes y colorantes en los alimentos (Sáenz *et al.*, 2009), aunque se debe tener en cuenta que la estabilidad de los pigmentos naturales es menor, en comparación, con los colorantes sintéticos (García, 2008).

Uno de los factores que más afecta la estabilidad de las betalaínas es la temperatura ya que ésta acelera las reacciones de hidrólisis, que dan como resultado el ácido betalámico incoloro y otros productos de color marrón (Azeredo, 2009). En el tratamiento térmico, las betacianinas se pueden degradar por isomerización y/o descarboxilación. Si bien, el color de la betanina se mantiene, se produce un efecto hipsocrómico al desplazar el pick de absorción de 538 a 505 nm, lo que resulta en un color naranja-rojo (Azeredo, 2009).

La a_w es un factor importante a considerar, debido a que favorece la ruptura del enlace aldimina de las betalaínas, produciendo pérdidas de color. Las betalaínas son estables en productos deshidratados, con una actividad de agua menor a 0,5. Dentro de las betacianinas, la betanina es la principal a nivel comercial y se vuelve más inestable a medida que se aumenta la actividad de agua y el contenido de humedad del alimento (Herbach *et al.*, 2006a), observándose una mayor

estabilidad de ésta, cuando la a_w está por debajo de 0,63. Se han obtenido aumentos en la estabilidad de las betalaínas mediante métodos de reducción de la actividad de agua como la concentración (Castellar *et al.*, 2003; Castellar *et al.*, 2006) y el secado por atomización (Cai y Corke, 2000); por esta razón, los pigmentos en polvo deben almacenarse con la menor cantidad de agua posible, en condiciones de baja humedad relativa.

Igualmente, en función de la actividad de agua, el oxígeno puede causar modificaciones en la betanina disminuyendo su estabilidad al aumentar su concentración, por su parte, las betalaínas reaccionan con el oxígeno molecular, produciendo la degradación del pigmento en una solución saturada de aire (Von Elbe *et al.*, 1974; Herbach *et al.*, 2006a; García, 2008).

La presencia de oxígeno afecta la velocidad de fotooxidación de las betalaínas, debido a que existe una relación inversamente proporcional entre la estabilidad de las betalaínas y la intensidad de la luz (Delgado *et al.*, 2000), la cual sigue generalmente una cinética de primer orden y es oxígeno dependiente (Von Elbe *et al.*, 1974; Herbach *et al.*, 2006a). La susceptibilidad de las betalaínas a la degradación inducida por la luz se explica por la absorción de la luz en el rango UV-Vis, que conduce a la excitación de los electrones del cromóforo de las betalaínas a un estado más energético.

El color brindado por las betalaínas no se ve afectado cuando el pH del medio oscila entre 3,0 y 7,0, rango de la mayoría de los alimentos. Por debajo de pH 3,0 el color cambia a violeta y por sobre pH 7,0 el color es más azulado, siendo mayor la intensidad a pH 9,0 (Sánchez, 2006). El pH óptimo para la máxima estabilidad de la betaxantina y betaxantina en presencia de oxígeno está entre 5,5-5,8 (pH de la pulpa de tuna) y entre 5,0-6,0, respectivamente (Delgado *et al.*, 2000).

Los metales por su parte, presentan un menor efecto que los factores anteriores; la presencia de algunos cationes metálicos, tales como hierro, cobre, estaño y aluminio aceleran la degradación de las betacianinas. El complejo metal-pigmento con hierro y aluminio, puede presentar un efecto batocrómico (desplazamiento hacia mayores longitudes de onda o de menor energía) (Azeredo, 2009). Sin embargo, en jugo de remolacha el efecto de los iones metálicos es menor en comparación con soluciones puras de betanina, debido a la presencia de agentes complejantes de metales en el jugo.

El ácido ascórbico o el α -tocoferol no protegen a las betalaínas de la oxidación; en cambio, el ácido cítrico y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) sí lo hacen. Por estos motivos, en los últimos años se han buscado sistemas que protejan los pigmentos como la encapsulación. Por otra parte, los extractos de betalaínas son originalmente acuosos y diluidos, por lo que el uso de tecnologías de membrana permitiría la separación y concentración de los pigmentos.

Tecnología de membranas

Esta tecnología se basa en la transferencia de materia a través de una membrana que limita el paso de sustancias de manera selectiva, lo que permite enriquecer o empobrecer un fluido en alguno o varios de sus componentes (Jesús *et al.*, 2006; Reis y Zydney, 2007). El flujo del proceso depende de diferentes fuerzas impulsoras, principalmente: presión, concentración y potencial eléctrico. Esta técnica, permite separar mezclas líquidas en dos o más componentes y concentrar, favoreciendo el paso de ciertos compuestos y manteniendo los demás en la mezcla. La separación se realiza por diferencias de tamaño (Cheryan, 1998) y depende principalmente del tamaño de poro de la membrana y de su afinidad química (Guizard, 1999).

En comparación con la separación tradicional y los métodos de concentración, la tecnología de membranas se presenta como un proceso factible para trabajar con betalaínas debido a que no implica el uso de agentes químicos, presenta un bajo costo y no involucra temperatura (Cassano *et al.*, 2010), manteniendo así la estabilidad de los pigmentos y evitando su degradación. Por otro lado, las membranas tienden a ensuciarse ya que el producto se concentra, aumentando la viscosidad, lo que limita el grado de concentración que se puede alcanzar.

Se han desarrollado procesos de fraccionamiento y purificación utilizando esta tecnología en algunos compuestos bioactivos. Ejemplo de ello es la concentración de extractos de polifenoles (Nawaz *et al.*, 2006), concentración de pulpa de tuna *Opuntia sp.* (Moßhammer *et al.*, 2006a) y de *Opuntia stricta* (Castellar *et al.*, 2006), recuperación de compuestos bioactivos a partir de jugo de kiwi (Cassano *et al.*, 2008) y fraccionamiento de jugo de betarraga para la obtención de un pigmento natural de color rojo (Cancino-Madariaga y Ramírez-Salvo, 2012). Entre las técnicas de separación y concentración se encuentran la microfiltración, ultrafiltración y nanofiltración (Jesús *et al.*, 2006).

La ultrafiltración es una técnica de separación, que opera gracias a una diferencia de presión como fuerza impulsora, con un corte de masa molecular entre 1-500 kDa. Los solutos tales como azúcares, sales, aminoácidos y las moléculas de bajo peso molecular pasan a través de la membrana, quedando retenidas las más grandes. La principal aplicación de la ultrafiltración es la concentración, fraccionamiento y purificación de macrosolutos en solución acuosa, tales como proteínas y carbohidratos (Cassano *et al.*, 2010). En el proceso, se debe considerar el tamaño de partícula y las propiedades químicas de las soluciones de alimentación (que determinarán el comportamiento de la membrana); así como también el tamaño de poro, su distribución y las propiedades químicas de la propia membrana (Raventós, 2005). En la ultrafiltración el tamaño de poro se expresa en términos del peso molecular de las sustancias que pueden ser retenidas por la

membrana, teniendo como referencia el tamaño de proteínas globulares (Ramírez, 2006). Para lograr una mayor estabilidad de pigmentos como las betalainas se pueden usar técnicas complementarias a la ultrafiltración; por ejemplo, utilizando tecnologías que protegen los compuestos bioactivos, como son las tecnologías de encapsulación.

Encapsulación

La encapsulación es un proceso mediante el cual un compuesto bioactivo se recubre con un biopolímero, que lo protege de reacciones con otros compuestos como oxígeno, agua, luz u otros factores, para mejorar su estabilidad (Pedroza, 2002; Yáñez *et al.*, 2002; Desai y Park, 2005), proporcionando una barrera física entre el compuesto principal y los demás componentes del producto (Gharsallaoui *et al.*, 2007). En un sentido amplio, la encapsulación se presenta como un método de envasado, separación y almacenamiento de materiales en escala microscópica para su posterior liberación bajo condiciones controladas (Pedroza, 2002; Champagne y Fustier, 2007; Tapia, 2007).

Al hablar de encapsulación se debe tener en cuenta que el proceso puede generar 2 tipos de micropartículas dependiendo de la interacción del agente encapsulante con el activo. El primero corresponde a microcápsulas o sistema reservorio y el segundo a microesferas (Lozano, 2009). La morfología de las micropartículas se detalla en la Figura 4.

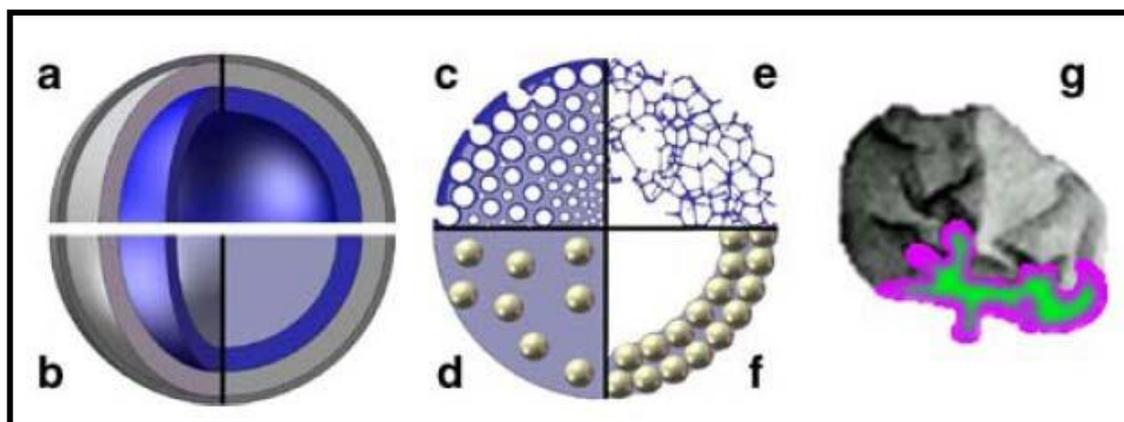


Figura 4. Morfología de los diferentes tipos de micropartículas. Microcápsula con el interior lleno (4a); microcápsula vacía (4b); microesfera con cubierta exterior (4c); microesfera con el interior lleno (4d); microesfera con estructura abierta en forma de red (4e); microesfera en la periferia (4f) y micropartícula irregular (4g) (Vehring, 2008).

Existen numerosas técnicas de encapsulación, no obstante algunos autores clasifican éstos métodos en: físicos o mecánicos (como secado por atomización, extrusión y lecho fluidizado), químicos (como coacervación, atrapamiento en liposomas y gelificación iónica) y físico-químicos (como polimerización interfacial e inclusión molecular) (Pedroza, 2002; Goud *et al.*, 2005; Lozano, 2009).

Para seleccionar el método adecuado, se debe considerar el tamaño medio de la partícula requerida, las propiedades físico-químicas del agente encapsulante, el material a encapsular, las aplicaciones para el material microencapsulado, el mecanismo de liberación deseado y el costo (Yáñez *et al.*, 2002). Dentro de los métodos físicos, el secado por aspersión y la encapsulación por lecho fluidificado son los más utilizados (Gibbs *et al.*, 1999).

La estabilización de betalaínas podría ser mejorada por medio de la aplicación de la tecnología de encapsulación, tal como el secado por atomización (Desai y Park, 2005), para su uso en aplicaciones industriales y para asegurar su biodisponibilidad (Sáenz *et al.*, 2009).

Secado por aspersión

El secado por aspersión o atomización es uno de los métodos más utilizados para la encapsulación, debido a la disponibilidad de equipos, bajo costo del proceso, reducción del peso en transporte, posibilidad de utilización de una amplia gama de agentes encapsulantes, buena retención de compuestos volátiles y estabilidad del producto final (Cai y Corke, 2000; Hogan *et al.*, 2001; Minemoto *et al.*, 2002; Robert *et al.*, 2003; Gouin, 2004; Barbosa Dos Santos *et al.*, 2005; Desai y Park, 2005; Obón *et al.*, 2009). El método se desarrolló originalmente como una técnica de secado para la obtención de polvos y gránulos, pero debido a su versatilidad para la encapsulación y su adaptabilidad a escala industrial (Gibbs *et al.*, 1999; Díaz *et al.*, 2006), se ha utilizado con éxito tanto en los procesos de fabricación farmacéutica (Rodríguez *et al.*, 2005), como en la industria alimentaria desde hace varias décadas (Gouin, 2004).

Se considera una operación unitaria en la cual se pulveriza un producto líquido en una corriente de gas caliente para obtener un polvo instantáneo, creando una pared alrededor del compuesto activo, aislándolo del medio ambiente (Díaz *et al.*, 2006). El gas utilizado generalmente es aire o un gas inerte como el nitrógeno. El fluido de alimentación del aspersor puede ser una solución, una emulsión o una suspensión. Dependiendo de la materia prima y las condiciones de funcionamiento, el secado por aspersión produce un polvo muy fino (10-50 μm) o partículas de gran tamaño (2-3 mm) (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

Para su óptima utilización se deben considerar algunos factores como: el limitado número de agentes encapsulantes disponibles (los cuales deben tener una buena solubilidad en agua) (Desai y Park, 2005; Gharsallaoui *et al.*, 2007), las propiedades tecnológicas de los polvos (tales como rigidez, higroscopicidad y solubilidad) (Cano-Chauca *et al.*, 2005; Gharsallaoui *et al.*, 2007) y el

comportamiento termoplástico de alimentos ricos en azúcar (como jugos de fruta), que puede ser un problema durante el secado (Mani *et al.*, 2002).

Existen antecedentes del uso de secado por aspersion como técnica para lograr la estabilización de la pulpa en frutos de *Opuntia streptacantha* con maltodextrina, produciendo ligeros cambios en el color dependiendo de la condiciones de secado (Rodríguez *et al.*, 2005).

Las micropartículas obtenidas en el secado por aspersion utilizando pulpa de tuna de la variedad *Opuntia ficus-indica*, pueden considerarse interesantes aditivos alimentarios funcionales, ya que pueden actuar como colorantes con propiedades antioxidantes (Sáenz *et al.*, 2009), además, las partículas obtenidas mejorarían la vida útil del agente activo y su estabilidad durante el almacenamiento, preservando sus propiedades funcionales (De Vos *et al.*, 2010). De esta forma, se dispondría de un colorante natural con propiedades saludables el cual podría adicionarse a alimentos como bebidas, helados, postres, dulces, mezclas secas, productos lácteos y productos cárnicos (Delgado *et al.*, 2000; Rodríguez *et al.*, 2005; Obón *et al.*, 2009).

Sáenz *et al.* (2009) sugieren que el mucílago de la pulpa ayuda al proceso de encapsulación de los compuestos bioactivos. El mucílago es una mezcla compleja de polisacáridos con estructura similar a las pectinas (<50%) (Matsuhira *et al.*, 2006). La pulpa de tuna contiene un 3,8 % de mucílago, compuesta por una fracción insoluble (44,3 %) formada por ácido urónico, xilosa, ramnosa, y galactosa, y una fracción soluble (15,6 %) compuesta por ácido urónico, arabinosa y galactosa.

Agentes encapsulantes

En el área de alimentos se pueden utilizar diferentes tipos de agentes encapsulantes tales como carbohidratos y almidones de diferentes fuentes como papa, arroz, maíz, entre otros (Loksuwan, 2007), maltodextrina (Wagner y Wathersen, 1995; Desobry *et al.*, 1997), ciclodextrinas, carboximetilcelulosa, goma arábica, alginato de sodio, carragenina y quitosano (Souza *et al.*, 2005), proteínas (Chen *et al.*, 2006), gelatina (Robert *et al.*, 2003), caseinatos (Hogan *et al.*, 2001; Santinho *et al.*, 2002), grasas, aislado proteico de soya, suero de leche, zeína y aislado proteico soya (Kim y Morr, 1996; Dziezak, 1998). Estos agentes encapsulantes muestran una función protectora sobre ingredientes sensibles contra el daño oxidativo (Robert *et al.*, 2003). Sin embargo, es importante tener en cuenta características como la flexibilidad, resistencia, permeabilidad, facilidad de aplicación y naturaleza hidrofóbica o hidrofílica de los mismos, ya que todos estos factores influirán en las características del producto final (Gibbs *et al.*, 1999).

El tamaño y la forma de las micropartículas depende de los materiales y métodos utilizados (Gharsallaoui *et al.*, 2007). La elección del material encapsulante depende del producto, material a encapsular, proceso y costo (Desai y Park, 2005; Madene *et al.*, 2006; Gharsallaoui *et al.*, 2007), entre otros.

Los agentes encapsulantes utilizados en este trabajo son Capsul y K-4484. El Capsul es un polvo fino blanquecino que corresponde a un almidón químicamente modificado derivado del maíz, que presenta tanto propiedades hidrofílicas como hidrofóbicas. Es soluble en agua fría (90%) y se solubiliza completamente a temperaturas sobre 82 °C, tiene muy baja viscosidad y su pH varía entre 3 y 4. Entre las aplicaciones que posee, se encuentran la alta eficiencia de encapsulación de sabores, aromas u otros activos hidrofóbicos (National Starch and Chemical, 2001a). El K-4484 es un polvo fino blanquecino que corresponde a una dextrina refinada obtenida a partir de almidón de tapioca. Presenta

propiedades que lo hacen adecuado para todo tipo de sistemas alimentarios líquidos, pero también para recubrimiento y formación de películas. El K-4484 presenta una buena solubilidad a bajas temperaturas otorgando estabilidad a la solución, por otra parte, presenta muy baja viscosidad a altas temperaturas en comparación con almidones espesantes comúnmente utilizados (National Starch and Chemical, 2001b).

Aplicación de micropartículas a yogur

En el ámbito alimentario, se conocen pocos estudios relacionados con micropartículas de betalaínas provenientes de frutos de tunas, adicionadas a productos lácteos. Algunos de esos trabajos se han enfocado en la incorporación de micropartículas de pulpa de tuna o extractos de pulpa de tuna en yogurt, utilizando tunas del género *Opuntia* (Tapia, 2007; Torres, 2008; Obón *et al.*, 2009).

El yogur corresponde a un producto lácteo coagulado obtenido por fermentación láctica mediante la acción de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

Tapia (2007) y Torres (2008) estudiaron la estabilidad de polifenoles y betalaínas en yogur, adicionado con micropartículas de tuna de la variedad *Opuntia ficus-indica*. En el yogur evaluado por Tapia (2007) el porcentaje de degradación de los compuestos bioactivos no superó el 50% en ninguno de los tratamientos, lo que indica una alta estabilidad de los pigmentos.

Obón *et al.* (2009), aplicaron con éxito betalaínas de tuna de la variedad *Opuntia stricta* en un yogur blanco, realizando pruebas con o sin adición de sacarosa. Los resultados mostraron gran estabilidad del pH (4,3) durante el período de análisis, además se presentaron comportamientos similares en los parámetros de color

para todos los tratamientos, sin efecto de la sacarosa. El alimento presentó un color rojo-púrpura, muy atractivo para los consumidores, que se mantuvo invariable después de un mes en refrigeración (4 °C).

Teniendo en cuenta la experiencia y los resultados de investigaciones previas, esta Tesis se enfoca a determinar la estabilidad de betalainas en un yogur natural blanco adicionado con micropartículas de pulpa y de ultrafiltrado de tuna púrpura (con potencial colorante y antioxidante), almacenado en refrigeración (4 °C) durante un período de 10 semanas, estimado como período de vida útil del yogur.

Hipótesis

La estabilidad de betalaínas en yogur adicionado con micropartículas de pulpa de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) será mayor que en yogur adicionado con micropartículas de ultrafiltrado de tuna púrpura.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la estabilidad de betalaínas en yogur adicionado con micropartículas de pulpa y ultrafiltrado de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*).

Objetivos específicos

- Caracterizar la pulpa y el ultrafiltrado de tuna púrpura mediante análisis físicos y químicos.
- Elaborar micropartículas de pulpa y ultrafiltrado de tuna púrpura bajo condiciones óptimas previamente determinadas, mediante secado por aspersión, utilizando como agentes encapsulantes K-4484 y Capsul.
- Estudiar la estabilidad de betalaínas en yogur adicionado con micropartículas de pulpa y ultrafiltrado de tuna púrpura durante el período de vida útil del yogur.

MATERIALES Y METODOS

Lugar de Trabajo

La parte experimental se realizó en el laboratorio de Productos Vegetales del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas y en el Laboratorio de Química de Alimentos del Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, ambos pertenecientes a la Universidad de Chile.

Materiales

- Tunas púrpuras (*Opuntia ficus-indica*) de la cosecha 2011, provenientes del Jardín de Variedades de la Estación Experimental Antumapu de la Universidad de Chile, ubicada en la ciudad de Santiago (Latitud -33° 34' 10.24", Longitud -70° 38' 6.22").
- Ultrafiltrado de pulpa de tuna (UF)¹ obtenido utilizando una membrana cerámica multitubular de 7 canales, con tamaño de poro 1 KDa, área de filtración de 0,013 m², una presión transmembrana de 8,3 bar y una temperatura de 31 °C, proveniente de un proceso previo de microfiltración de pulpa de tuna.
- Agentes encapsulantes: Capsul® (C, almidón modificado de maíz) y K-4484 (K, dextrina de tapioca), ambos se obtuvieron de National Starch and Chemical Co. (USA).

¹Cristina Vergara. Ing. en Alimentos. Candidata a Doctor del Programa de Doctorado en Nutrición y Alimentos. Universidad de Chile (Comunicación personal).

- Yogur blanco natural marca Quillayes de formato familiar (900 mL), con 0% de grasa y 0% de azúcar añadida, adquirido en un supermercado local.

Métodos

La metodología se dividió en 3 etapas (Apéndice I).

Etapas 1. Obtención y caracterización de la pulpa de tuna púrpura y caracterización del ultrafiltrado de tuna púrpura.

a) Obtención de la pulpa de tuna púrpura (PT)

Para la obtención de la pulpa de tuna púrpura, se cosecharon tunas maduras, a las cuales, se les eliminaron las espinas barriéndolas en paja, luego se lavaron y escobillaron. Posteriormente, las tunas se pelaron y tamizaron en una pulpadora de tornillo sin fin, provista de un tamiz de 2 mm. La pulpa obtenida se pesó, se almacenó en bolsas de polipropileno (Ziploc) de 500 g y se congeló a -20 °C hasta el momento de su utilización (Apéndice II).

b) Caracterización de la pulpa de tuna púrpura (PT) y del ultrafiltrado de tuna púrpura (UF)

La pulpa de tuna y el ultrafiltrado de pulpa de tuna se caracterizaron de acuerdo a los siguientes parámetros.

- **Contenido de humedad, sólidos solubles (°Brix), pH y acidez:** Se determinaron de acuerdo a los métodos de la AOAC (1996).
- **Color (L, a*, b*, C* y h°):** Con el fin de extraer las partículas en suspensión, la pulpa se centrifugó durante 5 minutos a 5000 rpm en una centrifuga modelo 5804 R Eppendorf AG (España) y al sobrenadante obtenido se le midieron los parámetros de color, utilizando un colorímetro HunterLab

modelo UltraScan Pro (USA). Se utilizó reflectancia con la componente especular incluida (sin el efecto del brillo o la textura), inserto de 2,5cm, cubeta cúbica de 50 milímetros e iluminante D65/10°.

- **Contenido de hidratos de carbono:** Se determinó mediante espectrofotometría a través del método de Antrona (Osborne y Voogt, 1986), utilizando un espectrofotómetro Optizen POP Mecasys (Corea del Sur), a una longitud de onda de 630 nm (Anexo I).
- **Contenido de polifenoles totales:** Se determinó mediante espectrofotometría a través del método de Folin Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965), utilizando un espectrofotómetro Optizen POP Mecasys (Corea del Sur), a una longitud de onda de 765 nm (Anexo II).
- **Contenido de betacianinas y betaxantinas totales:** Se determinó de acuerdo al método espectrofotométrico descrito por Stintzing *et al.* (2005), utilizando un espectrofotómetro Optizen POP Mecasys (Corea del Sur), a una longitud de onda de 480 nm para betaxantinas y 538 nm para betacianinas (Anexo III).
- **Turbidez:** La turbidez se determinó usando un turbidímetro Hanna Modelo HI 93703 (USA).

Análisis estadístico

Cada determinación analítica se efectuó por triplicado. Posteriormente, para cada parámetro medido se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y se aplicó el test de comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0,05$). La unidad experimental para esta etapa correspondió a 1000 g de pulpa.

Etapa 2. Elaboración y caracterización de las micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas.

a) Elaboración de micropartículas

Preparación de la mezcla para el proceso de secado por aspersión.

Los agentes encapsulantes (10-30 g) se pesaron y disolvieron en agua destilada con agitación constante, a una temperatura sobre 82 °C para Capsul y sobre 70 °C para K4484, hasta la disolución completa del polvo. Luego, se enfrió hasta 30 °C y finalmente se agregó la pulpa o ultrafiltrado de tuna (30 g) y se homogeneizó durante 2 minutos en un homogenizador (Polytron PT 2100) a 11000 rpm. Las condiciones óptimas de elaboración de las micropartículas de pulpa y ultrafiltrado de tuna con Capsul y K4484 se detallan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Condiciones óptimas² de elaboración de micropartículas.

Sistema	Temperatura de entrada al secador (°C)	Pulpa o Ultrafiltrado (g)	AE (g)	Relación extracto/AE
PT-C	133	30	10	3:1
PT-K	110	30	10	3:1
UF-C	133	30	12	2,5:1
UF-K	110	30	30	1:1

AE: agente encapsulante, PT-C: pulpa-Capsul, PT-K: pulpa-K4484, UF-C: ultrafiltrado-Capsul y UF-K: ultrafiltrado-K4484.

²Cristina Vergara: Las condiciones óptimas fueron definidas en su tesis doctoral y en ensayos del proyecto FONDECYT N° 1110116 (Comunicación personal).

La mezcla resultante se atomizó a través de un secador por aspersion Büchi B-290 (Suiza), con flujo de aire y alimentación en paralelo, de acuerdo al método descrito por Robert *et al.* (2003). Las condiciones de secado fueron: alimentación (5%), aspiración (100%), flujo de aire (600 L/h) y presión de atomización 5 bar. Como resultado del proceso se obtuvieron 4 sistemas de micropartículas; pulpa de tuna-Capsul (PT-C); pulpa de tuna-K4484 (PT-K); ultrafiltrado de tuna-Capsul (UF-C) y ultrafiltrado de tuna-K4484 (UF-K).

b) Caracterización de las micropartículas

Las micropartículas de pulpa y de ultrafiltrado de tuna púrpura obtenidas bajo condiciones óptimas se caracterizaron de acuerdo a los siguientes parámetros:

- **Eficiencia de encapsulación de de betacianinas y betaxantinas (EE):** La eficiencia de encapsulación de betacianinas y betaxantinas refleja el grado de interacción entre el activo y el agente encapsulante.

Betacianinas y betaxantinas superficiales: Se realizó una extracción con etanol:metanol (1:1 v/v) y posteriormente se cuantificaron por espectrofotometría (Anexo IV) de acuerdo al método descrito por Stintzing *et al.* (2005), utilizando un espectrofotómetro UNICAM UV/vis modelo UV 3 (USA), acoplado a un computador (Anexo III).

Betacianinas y betaxantinas totales: Se determinaron destruyendo completamente las micropartículas. Primero se realizó una extracción con etanol:ácido acético:agua (50:8:42 v/v/v), luego se sonicó utilizando un sonicador Ultrasonic FS30H durante 50 minutos (intervalos de 20 minutos con 10 de descanso) y finalmente las betacianinas y betaxantinas totales se cuantificaron por espectrofotometría (Anexo IV) de acuerdo al método

descrito por Stintzing *et al.* (2005), utilizando un espectrofotómetro UNICAM UV/vis modelo UV 3 (USA), acoplado a un computador.

El porcentaje de eficiencia de encapsulación de betacianinas y betaxantinas se calculó de acuerdo a la ecuación 1 y 2, respectivamente.

$$\text{EE betacianinas (\%)} = \frac{\text{betacianinas totales} - \text{betacianinas superficiales}}{\text{betacianinas totales}} \times 100 \text{ (Ec. 1)}$$

$$\text{EE betaxantinas (\%)} = \frac{\text{betaxantinas totales} - \text{betaxantinas superficiales}}{\text{betaxantinas totales}} \times 100 \text{ (Ec. 2)}$$

- **Porcentaje de recuperación de betacianinas y betaxantinas (PR):** El porcentaje de recuperación refleja el contenido total de betalaínas obtenido de manera experimental en función del contenido teórico que presenta la mezcla de activo/encapsulante antes del proceso de secado. Para determinarlo, se calcularon las betacianinas y betaxantinas totales de las micropartículas (Anexo IV) y el contenido teórico de la mezcla.

Contenido teórico de betacianinas y betaxantinas: Es el cociente entre el contenido de betacianinas y betaxantinas de la solución de alimentación antes del secado por aspersión, respecto al contenido de sólidos totales de la solución (sólidos de la pulpa y del encapsulante).

El porcentaje de recuperación de betacianinas y betaxantinas se calculó de acuerdo a la ecuación 3 y 4, respectivamente.

$$\text{PR betacianinas (\%)} = \frac{\text{betacianinas totales}}{\text{betacianinas totales teóricas}} \times 100 \text{ (Ec. 3)}$$

$$\text{PR betaxantinas (\%)} = \frac{\text{betaxantinas totales}}{\text{betaxantinas totales teóricas}} \times 100 \text{ (Ec. 4)}$$

- **Contenido de humedad:** Se determinó de acuerdo al método descrito en la AOAC (1996).
- **Morfología y tamaño de las micropartículas:** La estructura externa de las micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas, se analizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Las muestras se cubrieron con oro/paladio utilizando un equipo Varian Vacuum Evaporator PS 10E y se analizaron con un microscopio LEO 1420VP (LEO Microscopía Electrónica Ltd, Cambridge, Reino Unido) operado a 20 kV. Las imágenes se obtuvieron digitalmente utilizando un software EDS7424 (Oxford Instruments, Oxford, Reino Unido).

El tamaño de las micropartículas se determinó mediante difracción de luz láser (LLD), utilizando un Mastersizer X Instrument (Malven Instrument), de acuerdo al método descrito por Sinha *et al.* (2003).

- **Parámetros de color (L, a*, b*, C* y h°):** Los parámetros de color se determinaron utilizando un colorímetro Hunter Lab modelo UltraScan Pro (USA). Se utilizó reflectancia con la componente especular incluida (sin el efecto del brillo o la textura), inserto de 2,5cm, cubeta cúbica de 50 milímetros e iluminante D65/10°.
- **Contenido de polifenoles totales:** Se determinó mediante espectrofotometría a través del método de Folin Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965), utilizando un espectrofotómetro Optizen POP Mecasys (Corea del Sur) (Anexo IV).

Análisis estadístico

Cada determinación analítica se efectuó por triplicado, posteriormente para cada uno de los parámetros evaluados se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) entre los diferentes tratamientos: PT-C, PT-K, UF-C y UF-K, y se aplicó el test de comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0,05$). La unidad experimental para esta etapa correspondió a 100 g de cada sistema de micropartículas.

Etapas 3. Estabilidad de betalaínas en yogur adicionado con micropartículas de pulpa (PT) y ultrafiltrado (UF) de tuna púrpura.

El estudio de estabilidad consistió en el seguimiento de la degradación de las betacianinas y betaxantinas, evolución de pH, parámetros de color (L , a^* , b^* , C^* y h°) y cambio de color (ΔE) producidos en un yogur adicionado con las micropartículas de los sistemas PT-C, PT-K, UF-C y UF-K, obtenidos bajo condiciones óptimas (Etapas 2), durante el almacenamiento a 4 °C. Para evaluar las características iniciales de la matriz alimentaria, se realizó un análisis proximal del yogur natural.

a) Análisis proximal del yogur natural

El análisis proximal del yogur consistió en la determinación de proteínas, materia grasa, hidratos de carbono, humedad y cenizas (AOAC, 1996) (Apéndice III).

- **Contenido de proteínas:** Se determinó la cuantificación del nitrógeno total y estimación del contenido en proteína mediante el método de Kjeldahl, utilizando un destilador Büchi-316, de acuerdo al método descrito en la AOAC (1996).

- **Contenido de materia grasa:** Se determinó mediante hidrólisis alcalina con posterior extracción del solvente, de acuerdo al método de Mojónier-Troy para lácteos, utilizando un rotavapor Büchi R-124 a 292 rpm y un baño térmico Büchi B-480 a 40 °C, mediante el método descrito por la AOAC (1996).
- **Contenido de Hidratos de Carbono:** Se determinó mediante espectrofotometría a través del método colorimétrico de Antrona (Osborne y Voogt, 1986), utilizando un espectrofotómetro Optizen POP Mecasys (Corea del Sur), a una longitud de onda de 620 nm (Anexo I).
- **Contenido de Humedad:** Se determinó de acuerdo al método termo gravimétrico descrito por la AOAC (1996), en estufa de aire forzado a 105 °C y presión atmosférica.
- **Contenido de Cenizas:** Se determinó mediante mineralización por calcinación, utilizando una mufla a 550 °C, mediante el método descrito por la AOAC (1996).

b) Adición de micropartículas al yogur natural

Las micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas de cada uno de los 4 tratamientos PT-C, PT-K, UF-C y UF-K (4 g) se adicionaron al yogur natural comercial (800 g), en una proporción correspondiente a 0,5% de micropartículas; la mezcla se homogenizó manualmente (Figura 5).



Figura 5. Preparación del yogur natural con adición de micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas.

c) Estabilidad de betacianinas y betaxantinas en el yogur con micropartículas durante el almacenamiento a 4 °C.

El yogur con micropartículas (4 g) de cada sistema estudiado (PT-C, PT-K, UF-C y UF-K) se colocó en tubos de vidrio tapados (tapa rosca de polipropileno) y se almacenó en refrigeración a 4 °C, en ausencia de luz, por 9 semanas. Se retiraron tubos 2 veces por semana durante las primeras 5 semanas, posteriormente 1 vez por semana hasta alcanzar las 9 semanas. En cada tubo se determinó el contenido de betacianinas y betaxantinas por HPLC. Los análisis se realizaron por triplicado.

Los datos de estabilidad se ajustaron a cinéticas de primer orden. Las constantes de degradación de betacianinas y betaxantinas se calcularon a partir de la pendiente del gráfico \ln (% retención) versus el tiempo.

Para el seguimiento del color y pH, el yogurt con micropartículas de cada sistema estudiado se colocó en botellas de vidrio (200 mL) y se tomaron muestras una vez por semana durante un período de 11 semanas.

- **Determinación de betacianinas y betaxantinas en yogur con micropartículas por HPLC.**

Preparación de estándares de betanina e indicaxantina:

La separación por columna de betanina e indicaxantina, se realizó de acuerdo al método propuesto por Forni *et al.* (1992). Se colocó 30 gramos de sílica gel (0,063-0,200 mm de tamaño de poro, 70-230 Mesh ASTM, Merck) a 105 °C en una estufa de secado durante una hora y luego se enfrió 15 minutos en un desecador. La sílica fría se colocó en una columna abierta de vidrio y se acondicionó con buffer McIlvaine. El extracto de betalaínas (pulpa de tuna nanofiltrada³) se aplicó en la parte superior de la columna, luego se agregó buffer como fase móvil, eluyendo primero el pigmento de color violeta (betacianinas) y luego el pigmento amarillo (betaxantinas). Las fracciones puras de betacianina y betaxantina correspondieron a la fracciones 1 y 6, respectivamente (Figura 6). La identificación de betalaínas se realizó por el tiempo de retención en HPLC y el espectro UV/Vis.

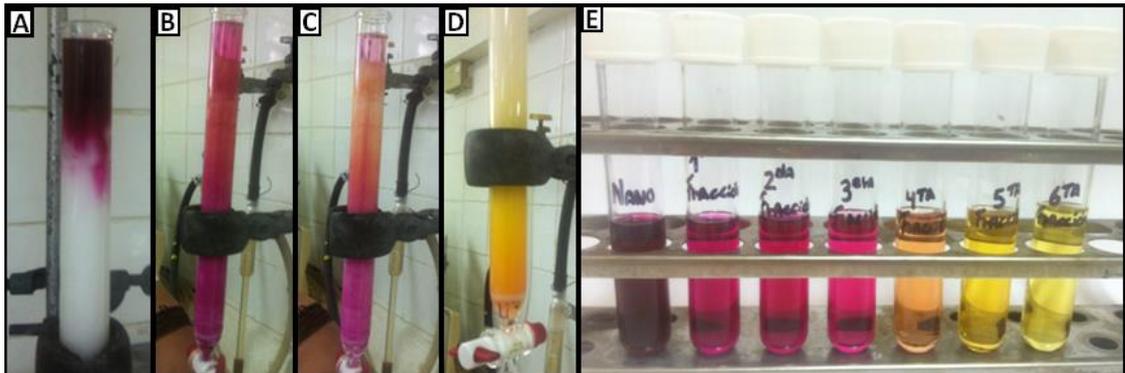


Figura 6. Separación de los pigmentos puros de la pulpa, betanina e indicaxantina mediante separación por columnas. (a) incorporación de la pulpa, (b) elución de la primera y segunda fracción, (c) elución de la tercera y cuarta fracción, (d) elución de la quinta y sexta fracción, (e) pulpa y fracciones del proceso.

³ Extracto desarrollado en el Proyecto FONDECYT N° 1110126, del que forma parte esta Tesis.

Identificación de betalaínas: Se realizó de acuerdo al método propuesto por Fernández y Almela (2001). El equipo de HPLC consistió de una bomba Merck–Hitachi L-6200 con detector de arreglo de diodos (Waters 996), acoplado a un software Empower Pro. Se empleó una columna C18 (5 µm de tamaño de partícula y 4,6 mm d.i. x 25 cm, Waters). La fase móvil estuvo compuesta por un solvente A (1% de ácido acético en agua) y un solvente B (1% de ácido acético en acetonitrilo). Se empleó un gradiente lineal en un tiempo de 40 minutos con elución del solvente A, desde un 100% a un 88% y el solvente B desde un 0% a un 12%, con un flujo de 1 mL/min. El volumen de inyección fue de 20 µL. Las betalaínas se detectaron a longitudes de onda de 484 y 535 nm para betanina y betaxantina, respectivamente.

- **Color y (ΔE):** Se midieron los parámetros de color (L, a*, b*, C* y h°) en el yogur, utilizando un colorímetro Hunter Lab modelo UltraScan Pro. Para establecer el método de análisis se determinó el modo de medición en el equipo. Se utilizó reflectancia con la componente especular incluida (sin el efecto del brillo o la textura), inserto de 2,5cm, cubeta cúbica de 50 milímetros e iluminante D65/10°. Además, se determinó el cambio de color total (ΔE), con respecto al tiempo inicial de cada uno de los sistemas estudiados, utilizando la ecuación 5, de acuerdo al método descrito por Rodríguez *et al.* (2005).

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \text{ (Ec. 5)}$$

En donde L*, a* y b* indican los parámetros de color inicial en el yogur y L, a y b los parámetros del yogur en el tiempo.

- **pH:** Se determinó utilizando un equipo pH meter CORNIG (USA) de acuerdo con el método descrito en la AOAC (1996).

Diseño experimental

Se utilizó a un diseño completamente aleatorizado con 4 tratamientos y 3 repeticiones cada uno. La unidad experimental para esta etapa correspondió a 800 g de yogur.

Análisis estadístico

Para el análisis de degradación de las betalaínas en el tiempo se utilizó regresión lineal para determinar el orden y las constantes de velocidad de degradación para cada sistema estudiado en el yogur. Para determinar diferencias entre las constantes de velocidad de degradación de las betalaínas del yogur, el valor de pH y los parámetros de color, junto con el cambio de color, se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y test de Tukey ($p < 0,05$). Todos los análisis se realizaron usando el programa Statgraphics versión 7.0.

Esta Tesis forma parte del proyecto Fondecyt N° 1110126 “Cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) colorants obtained by membrane technologies separation and microencapsulation. Stability and applications in food”

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapa 1. Caracterización de la pulpa y del ultrafiltrado de pulpa de tuna púrpura.

En el Cuadro 2 se presentan las características físicas y químicas correspondientes a la pulpa de tuna (PT) y al ultrafiltrado de pulpa de tuna púrpura (UF).

Cuadro 2. Características físicas y químicas de la pulpa y el ultrafiltrado de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*).

Parámetro a evaluar	PT	UF
	(X ± DS)	(X ± DS)
Humedad (%)	86,1 ± 0,2 b	91,9 ± 0,5 a
Sólidos solubles totales (°Brix a 20°C)	14,0 ± 0,1 a	8,1 ± 0,0 b
Azúcares totales (%)	13,2 ± 0,0 a	9,2 ± 0,3 b
Turbidez (NTU)	2453 ± 64,2 a	0,0 ± 0,0 b
pH	6,3 ± 0,06 a	5,6 ± 0,1 b
Acidez (% ácido cítrico)	0,036 ± 0,001 b	0,154 ± 0,00 a
Betacianinas (mg EB ¹ /L)	254,0 ± 0,2 a	247,9 ± 4,3 a
Betaxantinas (mg EI ² /L)	85,4 ± 0,1 a	88,6 ± 1,2 a
Fenoles totales (mg EAG ³ /L)	534,8 ± 4,4 b	659,7 ± 5,0 a

PT: pulpa de tuna púrpura; UF ultrafiltrado de pulpa de tuna púrpura; EB¹: expresado como equivalente a betanina; EI²: expresado como equivalente a indicaxantina; EAG³: expresado como equivalente de ácido gálico; X: promedio; DS: desviación estándar (n= 3). Letras diferentes entre columnas, indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey (p<0,05)

Los parámetros de humedad, sólidos solubles totales, azúcares totales y pH medidos en la pulpa de tuna se encuentran dentro del rango informado por otros autores, para la variedad *Opuntia ficus-indica* (Castellar *et al.*, 2003; Piga, 2004; Morales *et al.*, 2008; Sáenz *et al.*, 2009).

El porcentaje de humedad de la pulpa de tuna concuerda con Tapia (2007), Díaz *et al.* (2007) y El-Samahy *et al.* (2008), quienes indican valores entre 85,3% y 88,3% para *Opuntia ficus-indica*. Sin embargo, en otros estudios se ha reportado porcentajes de humedad más bajos (78,4%) para la misma variedad de tuna (Repo de Carrasco y Encina, 2008).

El contenido de sólidos solubles en la pulpa de tuna, concuerda con lo obtenido por Tapia (2007) y Coria *et al.* (2011), de 15 y 14 °Brix, respectivamente, para la misma variedad de tuna. El contenido de sólidos solubles y azúcares totales obtenidos en el ultrafiltrado (8,1°Brix y 9,2%, respectivamente), fueron significativamente menores a los obtenidos en la pulpa (14 °Brix y 13,2%, respectivamente), mostrando el efecto de la utilización de membranas. Por otro lado, los valores de sólidos solubles en el ultrafiltrado fueron menores a los obtenidos por Cassano *et al.* (2007 y 2010), para pulpa de tuna ultrafiltrada (14,1 y 10 °Brix, respectivamente). Esto se debe a los diferentes tamaños de poro de las membranas utilizadas y a las condiciones propias de cada uno de los procesos de ultrafiltración.

La acidez de la pulpa coincidió con lo encontrado por Tapia (2007), pero el valor de pH fue mayor en este estudio. La literatura señala rangos de pH entre 5,3 y 7,1 y de acidez de 0,05-0,18% expresado como ácido cítrico (Piga, 2004). Morales (2007), encontró valores de pH de 5,87 y de acidez de 0,036% expresado como ácido cítrico, para la pulpa de tuna púrpura cultivada en Chile.

El contenido de polifenoles totales en la pulpa (534,8 mg EAG/L) fue menor al descrito por Stintzing *et al.* (2005); Sáenz *et al.* (2009) y Coria *et al.* (2011) de 660, 909,47 y 900 mg EAG/L respectivamente. Valores de polifenoles más bajos, entre 22,3 y 226,3 mg EAG/L, se reportaron en pulpas de 9 variedades de *Opuntia spp* (Chavez *et al.*, 2009). Por su parte, el contenido de polifenoles en el ultrafiltrado (659,7 mg EAG/L) fue mayor al descrito por Cassano *et al.* (2010) de 552,17 mg EAG/L para tuna ultrafiltrada de la misma variedad.

En cuanto a las betalaínas, los resultados obtenidos en la pulpa fueron menores a los descrito por Stintzing *et al.* (2005) de 431 mg EB/L y 195,8 mg EI/L y por Sáenz *et al.* (2009) de 280,9 mg EB/L y 99,6 mg EI/L, por el contrario, fueron superiores a los reportados por Morales *et al.* (2008) de 111,0 mg EB/L y 29,3 mg EI/L, tanto para betacianinas como para betaxantinas, respectivamente. Estas diferencias se pueden atribuir a factores como el cultivar o variedad, madurez, clima y procedencia que afectan el contenido de betalaínas (Odoux y Domínguez, 1996; Sepúlveda *et al.*, 2003; Sáenz, 2004; Stintzing y Carle, 2004). Por otro lado, los valores de betalaínas obtenidos para el ultrafiltrado en este estudio fueron mayores a los encontrados por Cassano *et al.* (2007 y 2010) para pulpa de tuna púrpura ultrafiltrada de la misma variedad, con valores para betacianinas de 34,93 y 32,8 mg EB/L, respectivamente y para betaxantinas de 46,93 y 61,6 mg EI/L, respectivamente. En todos los casos predominaron las betacianinas por sobre las betaxantinas, ya que son los pigmentos característicos de los frutos de tuna rojo–púrpura.

El ultrafiltrado no presentó turbidez (0 NTU), debido a que corresponde a una solución completamente clarificada, que a diferencia de la pulpa no contiene mucílagos. El ultrafiltrado mostró un contenido de humedad, acidez y polifenoles significativamente mayor a los obtenidos en la pulpa, sin embargo, no se observó diferencia estadística en el contenido de betacianinas y betaxantinas entre PT y UF.

En otros estudios, se han reportado contenidos de betalaínas de 69,3 mg/L en *Opuntia elatior* (Moreno *et al.*, 2008), 68,95 mg/L de fruta de la variedad *Opuntia ficus-indica* (Repo de Carrasco y Encina, 2008) y 58,8 mg/L en *Opuntia boldinghii* (Moreno *et al.*, 2006).

Específicamente para betaninas se han reportado valores entre 175,2 y 601 mg de betanina/L, en ecotipos experimentales de tuna púrpura de Chile (Sepúlveda *et al.*, 2003) y entre 19,33 y 27,70 mg de betanina/L en *Opuntia lasiacantha* Pfeiffer, en tres localidades distintas del Estado de Hidalgo, México (Díaz *et al.*, 2006), mientras que para betaxantinas, Chavez *et al.* (2009) encontró valores entre 3,1 mg de indicaxantina/g en *Opuntia leucotricha* (Duraznillo rojo) y 189,9 mg de indicaxantina/g en *Opuntia robusta* en un estudio de 9 variedades de *Opuntia spp.* Figueroa *et al.* (2010) reportó valores entre 7,23 y 276 mg de indicaxantina/L en un estudio para 12 variedades de *Opuntia spp.* Cambios en los valores de los parámetros químicos de la pulpa de tuna están asociados al grado de madurez de la fruta (Duru y Turker, 2005).

Los parámetros L, a*, b*, C* y h⁰, tanto para la pulpa de tuna como para el ultrafiltrado de pulpa de tuna, se detallan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Parámetros de color en pulpa y ultrafiltrado de tuna.

Parámetros de Color	PT (X ± DS)	UF (X ± DS)
L	12,5 ± 0,89 b	17,8 ± 0,09 a
a*	43,2 ± 1,18 b	51,2 ± 0,13 a
b*	21,0 ± 1,54 b	29,9 ± 0,09 a
C*	48,0 ± 1,74 b	59,3 ± 0,12 a
h°	25,9 ± 1,03 b	30,3 ± 0,08 a

PT: pulpa de tuna púrpura; UF: ultrafiltrado de pulpa de tuna púrpura; X: promedio; DS: desviación estándar (n= 3). Letras diferentes entre columnas, indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Los parámetros de color (L, a*, b*, C* y h°) para la pulpa de tuna fueron significativamente menores a los del ultrafiltrado de tuna. Sin embargo, con respecto a los valores de h° y C*, se observa que tanto la pulpa como el ultrafiltrado de tuna se encuentran dentro de la zona roja-púrpura (Anexo V).

Etapa 2. Caracterización de las micropartículas de pulpa y ultrafiltrado de tuna púrpura con Capsul y K4484, obtenidas bajo condiciones óptimas

Las micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas de los sistemas pulpa-Capsul (PT-C), pulpa-K4484 (PT-K), ultrafiltrado-Capsul (UF-C) y ultrafiltrado-K4484 (UF-K) se observan en la Figura 7. Las condiciones óptimas, el rendimiento del proceso, la eficiencia de encapsulación (EE) y el porcentaje de recuperación (PR) para betacianinas y betaxantinas se detallan en el Cuadro 4.

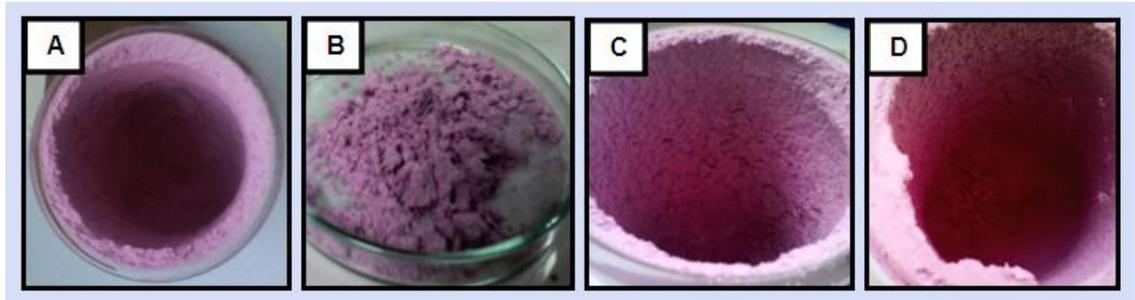


Figura 7. Fotografías de las micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas: (A) pulpa-Capsul, (B) pulpa-K4484, (C) ultrafiltrado-Capsul y (D) ultrafiltrado-K4484.

De acuerdo a los resultados que se presentan en el Cuadro 4, la temperatura óptima del aire de entrada al secador para las micropartículas con Capsul fue de 133°C, mientras que para las micropartículas con K4484 fue de 110 °C. Estos resultados muestran la influencia del agente encapsulante sobre la temperatura de secado. Lozano (2009), en estudios realizados con *Opuntia stricta*, estableció una temperatura de entrada al secador de 160 °C, utilizando fructooligosacáridos (inulina o maltodextrina) como agentes encapsulantes. Por otro lado, no se observó un efecto del tipo de extracto (PT o UF) sobre la temperatura de secado.

Cuadro 4. Condiciones óptimas y resultados del proceso de encapsulación.

Sistema	PT-C	PT-K	UF-C	UF-K
	(X ± DS)	(X ± DS)	(X ± DS)	(X ± DS)
Razón (PT o UF)/AE	3:1	3:1	2,5:1	1:1
Temperatura del aire de entrada (°C)	133	110	133	110
EE Betacianinas (%)	99,3 ± 0,6 a	99,6 ± 0,4 a	99,1 ± 0,4 a	99,6 ± 0,4 a
EE Betaxantinas (%)	98,6 ± 0,6 a	98,5 ± 1,3 a	98,7 ± 0,6 a	99,3 ± 0,6 a
PR Betacianinas (%)	70,9 ± 1,9 b	68,5 ± 1,0 b	72,4 ± 2,4 b	77,8 ± 2,4 a
PR Betaxantinas (%)	88,5 ± 2,0 b	79,2 ± 1,2 b	96,8 ± 2,9 a	100 ± 0,0 a
Rendimiento (%)	65,3 ± 5,1 a	69,4 ± 0,2 a	62,6 ± 6,8 a	65,7 ± 1,8 a

PT: pulpa de tuna; UF: ultrafiltrado; EE: eficiencia de encapsulación; PR: porcentaje de recuperación; AE: agente encapsulante; PT-C: sistema pulpa de tuna con Capsul; PT-K: sistema pulpa de tuna con K4484; UF-C: sistema ultrafiltrado con Capsul; UF-K: sistema ultrafiltrado con K4484; X: promedio; DS: desviación estándar (n= 3); letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas entre sistemas para cada parámetro ($p < 0,05$, Tukey).

En cuanto a la relación (PT o UF)/encapsulante, la pulpa mostró una relación 3:1 para C y K, mientras que al utilizar ultrafiltrado la relación fue 2,5:1 para C y 1:1 para K. Estas diferencias se pueden atribuir a la presencia de mucílagos en la pulpa, a la cual se le han descrito propiedades encapsulantes (Medina *et al.*, 2013), permitiendo una mayor incorporación de pulpa en los sistemas PT-C y PT-K.

La eficiencia de encapsulación (EE) se calculó a partir de la relación entre el material activo encapsulado y el material activo total, y es una medida que indica el grado de interacción entre el compuesto activo y el agente encapsulante (Lozano, 2009). En el caso de las betalaínas, se obtuvieron altos valores de EE para todos los sistemas de micropartículas estudiados tanto para betacianinas

como para betaxantinas, con un rango entre 99,1-99,6% y 98,5-99,3%, respectivamente. Los altos valores de EE se deberían a interacciones electrostáticas y/o formación de puentes de hidrógeno entre las betalaínas y el polímero. Valores similares de EE de betacianinas (99,5-99,1%) y betaxantinas (97,9-99,6) se encontraron con maltodextrina, inulina y aislado proteico de soya utilizando el mismo método de encapsulación (Sáenz et al., 2009; Torres, 2008). En el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas para las EE de betacianinas y betaxantinas entre los sistemas de micropartículas estudiados (PT-C, PT-K, UF-C y UF-K), mostrando que no hay un efecto del tipo de extracto (pulpa o ultrafiltrado) o del tipo de agente encapsulante sobre la eficiencia de encapsulación de betalaínas.

La recuperación de betacianinas y betaxantinas después del secado por atomización alcanzó valores en el rango de 68,5-77,8% y 79,2-100%, respectivamente. La recuperación de betacianinas fue significativamente mayor ($p < 0,05$) para las micropartículas del sistema UF-K, en relación a los otros sistemas. Este resultado se atribuye a que el sistema UF-K (30%) tiene un contenido de sólidos mayor al de los sistemas PT-C, PT-K y UF-C (10, 10 y 12%, respectivamente), por lo cual se formaría más rápidamente una costra sobre la superficie de la gota atomizada permitiendo la difusión del agua, pero reteniendo el agente activo en el proceso de secado (Gharsallaoui *et al.*, 2007). Por otra parte, la recuperación de betaxantinas en las micropartículas fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en los sistemas con ultrafiltrado (UF-C y UF-K) en comparación a los sistemas con pulpa de tuna (PT-C y PT-K).

La recuperación de betalaínas obtenida en la pulpa fue menor a lo reportado por Sáenz *et al.* (2009) en micropartículas de pulpa de tuna con inulina y maltodextrina (100%) y mayor a lo encontrado por Torres (2008) (53,97-70,31% para betacianinas y 66,67-85,71% para betaxantinas).

El rendimiento, es importante a nivel económico, por lo que se debe recuperar la mayor cantidad posible del material de partida (Lozano, 2009). En este estudio, el rendimiento estuvo en un rango entre 62,6 y 69,4%, sin presentar diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los 4 sistemas estudiados. Este resultado es mayor al obtenido por Obon *et al.* (2009) para micropartículas de pulpa de *Opuntia stricta*, con un rendimiento de un 58%. Para obtener mejoras en el rendimiento se deben tomar en cuenta factores como propiedades del agente encapsulante, características del agente activo y condiciones del proceso de secado al momento de diseñar un estudio (Jafari *et al.*, 2008).

En el Cuadro 5 se detallan las características físicas y químicas de las micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas de los sistemas PT-C, PT-K, UF-C y UF-K.

Cuadro 5. Características físicas y químicas para las micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas.

Parámetro	PT-C (X ± DS)	PT-K (X ± DS)	UF-C (X ± DS)	UF-K (X ± DS)
Humedad (%)	3,7 ± 0,3 b	2,8 ± 0,04 c	5,1 ± 0,04 a	2,9 ± 0,19 c
aw	0,33 ± 0,00 b	0,36 ± 0,00 a	0,30 ± 0,01 c	0,30 ± 0,00 c
Betacianinas (mg EB/g)	0,36 ± 0,03 a	0,34 ± 0,01 a	0,36 ± 0,01a	0,34 ± 0,01 a
Betaxantinas (mg EI/g)	0,16 ± 0,04 a	0,15 ± 0,06 a	0,16 ± 0,01 a	0,15 ± 0,05 a
Polifenoles Totales (mg EAG/g)	1,0 ± 0,04 a	0,9 ± 0,09 a	0,9 ± 0,02a	0,9 ± 0,06 a
Tamaño de partícula D(3,2) (µm)	4,7	4,5	4,6	4,4

PT-C: sistema pulpa de tuna con Capsul; PT-K: sistema pulpa de tuna con K4484; UF-C: sistema ultrafiltrado con Capsul; UF-K: sistema ultrafiltrado con K4484; EB: expresado como equivalente a betanina; EI: expresado como equivalente a indicaxantina; EAG: equivalente de ácido gálico; X: promedio; DS: desviación estándar (n= 3); letras distintas entre columnas indican diferencias significativas entre sistemas para cada parámetro ($p < 0,05$, Tukey).

El contenido de humedad de los sistemas de micropartículas estudiados fluctuó en el rango de 2,8-5,1%, estos valores son habituales para micropartículas obtenidas por secado por aspersión. Contenidos de humedad similares (2,21-5,12%) reportaron Tapia (2007) y Sáenz *et al.* (2009). Por otro lado, Torres (2008) encontró valores mayores de humedad (5,60-7,67%) en micropartículas para la misma variedad de tunas, utilizando como encapsulante aislado proteico de soya, y su mezcla con maltodextrina e inulina.

El contenido de betalaínas en las micropartículas varió entre 0,34 y 0,36 mg EB/g para betacianinas y entre 0,15 y 0,16 mg EI/g para betaxantinas (Cuadro 5). Las micropartículas desarrolladas en este estudio no presentaron diferencias significativas en el contenido de betacianinas y betaxantinas para ninguno de los sistemas (PT-C, PT-K, UF-C y UF-K), tanto con Capsul como con K4484. Además, se observa que en todos los sistemas de micropartículas el contenido de betacianinas es mayor al contenido de betaxantinas, como se ha reportado previamente (Sáenz *et al.*, 2009).

El tamaño de las micropartículas (D 3,2) elaboradas bajo condiciones óptimas presentó una distribución unimodal con valores entre 4,4 y 4,7 μm y dentro del rango establecido para micropartículas obtenidas mediante secado por aspersión (Gharsalloui *et al.*, 2007). Otros estudios muestran que pigmentos de amaranto y de tuna roja (*Opuntia lasiachanta*) encapsulados con maltodextrina (Cai y Corke, 2000; Díaz *et al.*, 2006) presentaron tamaños de partículas entre 5-50 μm y 5-40 μm , respectivamente.

En el Cuadro 6, se detallan los parámetros de color (L, a*, b*, C* y h°) de las micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas para los cuatro sistemas estudiados.

Cuadro 6. Parámetros de color de las micropartículas de los sistemas PT-C, PT-K, UF-C y UF-K.

Parámetros de Color	PT-C (X ± DS)	PT-K (X ± DS)	UF-C (X ± DS)	UF-K (X ± DS)
L	69,3 ± 0,15 b	66,0 ± 0,21 c	69,2 ± 0,06 b	71,8 ± 0,12 a
a*	23,6 ± 0,15 b	26,4 ± 0,15 a	23,7 ± 0,20 b	21,0 ± 0,10 c
b*	-6,6 ± 0,00 c	-6,9 ± 0,00 d	-6,2 ± 0,00 b	-4,7 ± 0,06 a
C*	24,5 ± 0,15 b	27,3 ± 0,15 a	24,5 ± 0,19 b	21,5 ± 0,11 c
h°	344,4 ± 0,10 c	345,3 ± 0,08 b	345,3 ± 0,12 b	347,2 ± 0,10 a

PT-C: sistema pulpa de tuna con Capsul; PT-K: sistema pulpa de tuna con K4484; UF-C: sistema ultrafiltrado con Capsul; UF-K: sistema ultrafiltrado con K4484; X: promedio; DS: desviación estándar (n= 3); letras distintas entre columnas indican diferencias significativas entre sistemas para cada parámetro ($p < 0,05$, Tukey)

A partir de los datos obtenidos en el Cuadro 6, se observó que los sistemas elaborados con Capsul (PT-C y UF-C) mostraron un comportamiento similar en los parámetros L, a* y C*, sin presentar diferencias significativas. Además, el sistema PT-K presentó los mayores valores para los parámetros a* y C* en comparación con los demás sistemas, indicando así, la presencia de una mayor intensidad de color.

El valor positivo del parámetro a* tanto para micropartículas con pulpa (PT-C y PT-K) como con ultrafiltrado de tuna (UF-C y UF-K) indica la presencia del componente rojo, mientras que los valores de h° entre 344,4 y 347,2 ubican el color de las micropartículas en la zona rojo-púrpura dentro de la carta de representación de color (Anexo V). Esto demostró que pese a haber utilizado distintos agentes encapsulantes, el color en general es bastante intenso, lo cual es importante para un aditivo, ya que se puede utilizar en pequeñas concentraciones (Tapia, 2007).

En un estudio sobre encapsulación de colorantes rojos extraídos de *Opuntia Lasiantha* Pfeiffer (Díaz *et al.*, 2006), se observaron valores de $L=66,70$; $a^*=43,09$; $b^*=-3,42$; $C^*=43,22$ y $h^0=355,50$. Estos resultados mostraron una acentuada presencia del color rojo, observándose un mayor grado de saturación en comparación con los datos obtenidos en el presente estudio.

Morfología de las micropartículas

En la Figura 8 (A, B, C y D) se observan las microfotografías SEM de los sistemas de micropartículas de PT-C, PT-K, UF-C y UF-K, respectivamente, obtenidas bajo condiciones óptimas. Las micropartículas presentaron diferente morfología de acuerdo al tipo de agente encapsulante utilizado; Capsul ó K-4484.

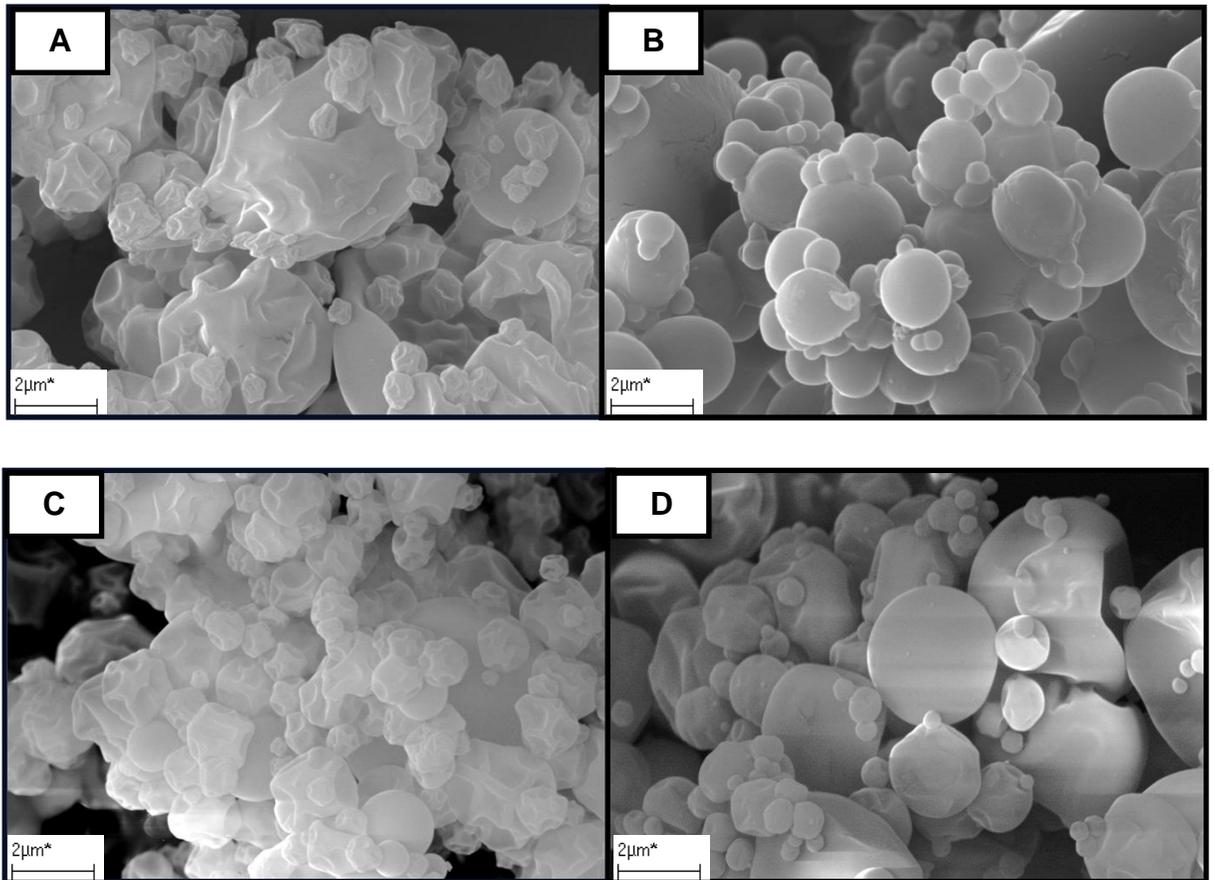


Figura 8. Microfotografías de micropartículas obtenidas bajo condiciones óptimas para los sistemas: PT-C (A), PT-K (B), UF-C (C) y UF-K (D).

Las micropartículas de los sistemas PT-K y UF-K (Figuras 8B y 8D, respectivamente) se observan esféricas, de superficie lisa, con algunas indentaciones; sin grietas y con tendencia a aglomerarse. Las micropartículas obtenidas al utilizar Capsul como agente encapsulante, PT-C y UF-C (Figuras 8A y 8C, respectivamente), también se observan esféricas, con notables indentaciones y rugosidad en su superficie, con una mayor tendencia a formar aglomerados, lo cual estaría relacionado con la alta higroscopicidad del Capsul.

El encogimiento de las micropartículas durante el proceso se puede producir a bajas o altas temperaturas de entrada al secador (Alamilla *et al.*, 2005). A bajas temperaturas, existe una menor difusión del agua y las partículas tienen más tiempo para encogerse, mientras que a altas temperaturas, la rápida evaporación del agua y la alta presión en el interior de las partículas, también produce encogimiento. La temperatura de entrada al secador para los sistemas con Capsul fue de 133 °C, mayores a las utilizadas en los sistemas con K4484, correspondientes a 110 °C. Ambas temperaturas de entrada al secador utilizadas en éste estudio fueron más bajas a las óptimas utilizadas por Cai y Corke (2000), de 165 a 180 °C y por Díaz *et al.* (2006) de 150 °C. Además, las indentaciones se pueden formar por la contracción (encogimiento) de las partículas durante el secado y enfriado, producto de una falta de plasticidad en el material encapsulante. Con azúcares de bajo peso molecular se puede mejorar la plasticidad de las micropartículas y obtener menor cantidad de indentaciones en la superficie, lo que explicaría el comportamiento en los sistemas con K4484 como encapsulantes (PT-K y UF-K), debido a que son dextrinas y presentan un largo de cadena menor.

Por otra parte, la naturaleza del encapsulante y algunos parámetros que intervienen en el secado como: temperatura de alimentación al secador, temperatura del aire de entrada al secador, temperatura de salida del secador y la naturaleza de la solución a secar, pueden influir en la morfología de las micropartículas (Kosaraju *et al.*, 2006).

Etapa 3. Estabilidad de betalaínas en yogur adicionado con micropartículas de pulpa de tuna (PT) y ultrafiltrado de tuna púrpura (UF) con Capsul y K4484 como encapsulantes.

En la Figura 9 se observan las fotografías de los sistemas de yogur con micropartículas PT-C, PT-K, UF-C y UF-K, al inicio del estudio (T0), cuyo contenido inicial de betacianinas y betaxantinas se detalla en el Cuadro 7.



Figura 9. Yogur con micropartículas al momento de la elaboración (T0) para cada uno de los sistemas estudiados.

Cuadro 7. Contenido de betacianinas y betaxantinas del yogur en el tiempo inicial.

Sistemas	Betacianinas ($\mu\text{g EB}^1/\text{g}$) ($\bar{X} \pm \text{DS}$)	Betaxantinas ($\mu\text{g EI}^2/\text{g}$) ($\bar{X} \pm \text{DS}$)
PT-C	$1,68 \pm 0,02$ a	$0,20 \pm 0,00$ c
PT-K	$1,68 \pm 0,04$ a	$0,21 \pm 0,00$ ab
UF-C	$1,71 \pm 0,02$ a	$0,22 \pm 0,00$ a
UF-K	$1,64 \pm 0,01$ a	$0,21 \pm 0,00$ bc

EB¹: expresado como equivalente a betanina; EI²: expresado como equivalente a indicaxantina; X: promedio; DS: desviación estándar (n= 3). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas entre los contenidos promedio de betacianinas o betaxantinas, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

En la Figura 9 no se aprecian diferencias de color entre los sistemas de yogurt en el tiempo 0, debido a que no existen diferencias significativas en el contenido de betacianinas como se muestra en el Cuadro 7.

Los cromatogramas obtenidos por HPLC en el yogurt para los sistemas en estudio presentaron tres picos (indicaxantina, betanina e isobetanina) a una longitud de onda de 484 nm y dos picos (betanina e isobetanina) a longitud de onda de 535 nm (como se muestra en la Figura 10). Al finalizar el estudio el bajo contenido de pigmentos dificultó su reconocimiento.

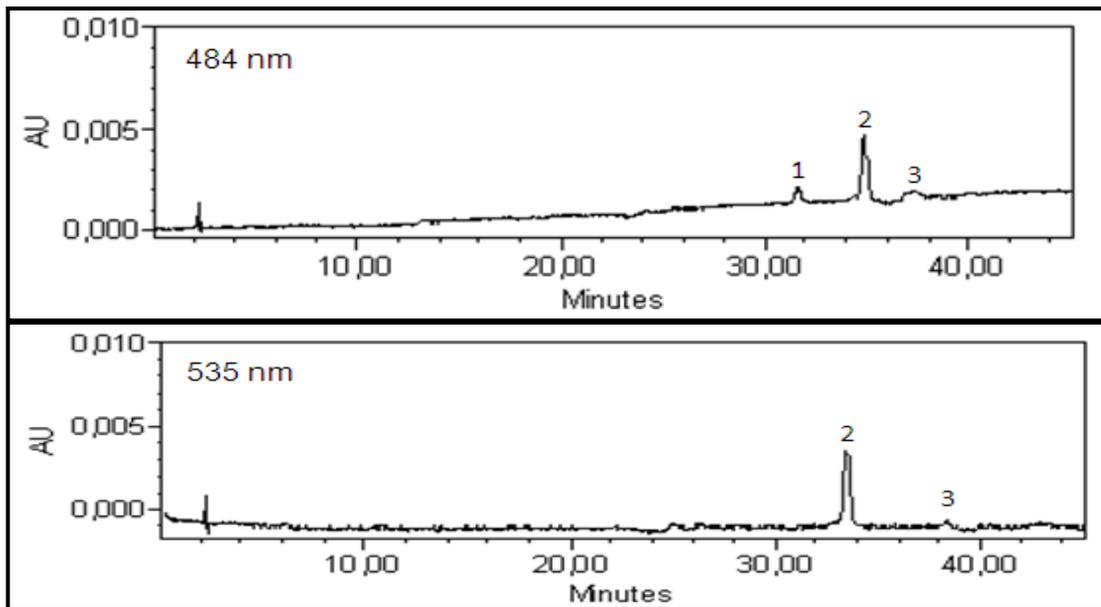


Figura 10. Cromatograma de betalaínas en el yogurt con micropartículas del sistema UF-K a una longitud de onda de 484 y 535nm al inicio del estudio, indicaxantina (pico 1), betanina (pico 2), isobetanina (pico 3).

Estabilidad de las betalaínas en el yogur

En las Figuras 11 y 12, se representa el logaritmo natural del porcentaje de retención de betacianinas frente al tiempo de almacenamiento a 4°C, para los sistemas de yogur elaborados con Capsul (PT-C y UF-C) y con K4484 (PT-K y UF-K) respectivamente. La preparación de los estándares y curvas de calibración de betanina e indicaxantina se presentan en el Apéndice IV y la evolución del contenido de betacianina y betaxantina en el tiempo de estudio en el Apéndice V.

La degradación de betacianinas y betaxantinas en yogur con micropartículas, se ajustó a un modelo cinético de primer orden, usando el coeficiente de correlación como parámetro de ajuste de la cinética para los distintos sistemas estudiados. Una cinética de degradación de primer orden para betacianinas, se ha reportado también para extractos de betarraga (Moreno *et al.*, 2002), jugo de pitaya (Herbach *et al.*, 2004) y extractos de frutos de *Opuntia* (Castellar *et al.*, 2003).

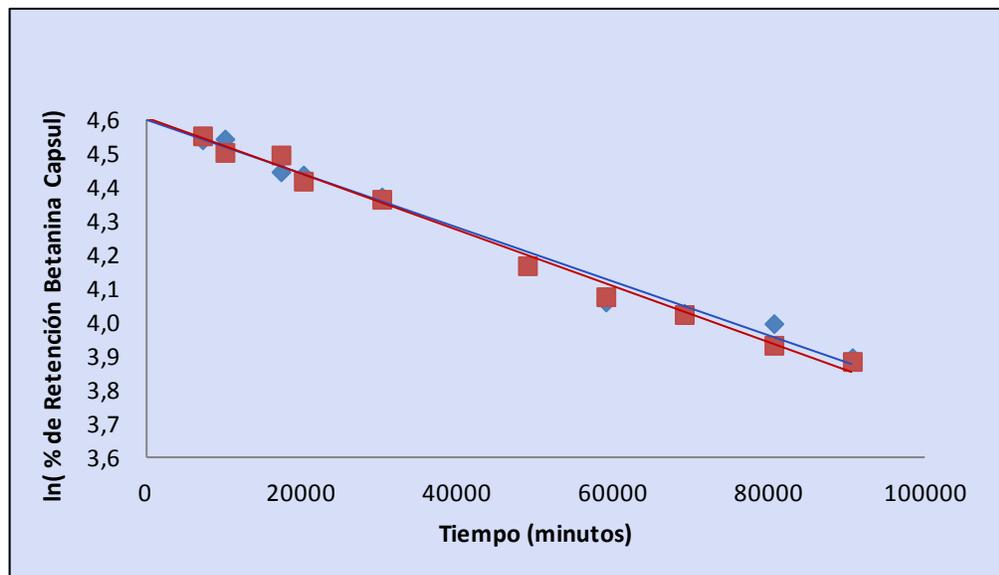


Figura 11. Degradación de primer orden para las betacianinas en yogur formulado con micropartículas de los sistemas PT-Capsul (◇) y UF-Capsul (□), almacenadas a 4°C.

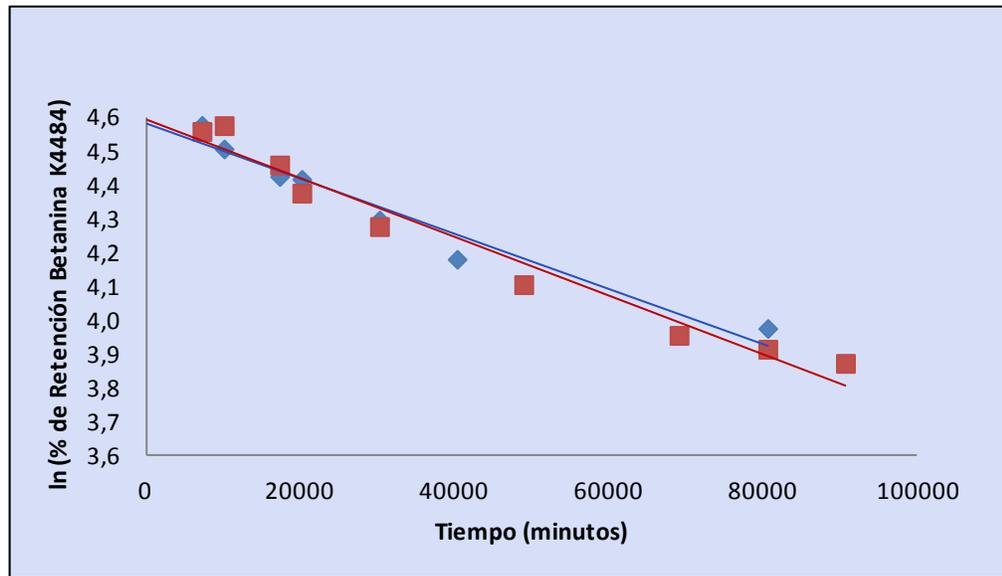


Figura 12. Degradación de primer orden para las betacianinas en yogur formulado con micropartículas de los sistemas PT-K (◇) y UF-K (□), almacenadas a 4°C.

En la Figura 13 y 14, se representa el logaritmo natural del porcentaje de retención de betaxantinas frente al tiempo de almacenamiento a 4°C, para los tratamientos de yogur elaborados con Capsul (PT-C, UF-C) y con K4484 (PT-K, UF-K) respectivamente.

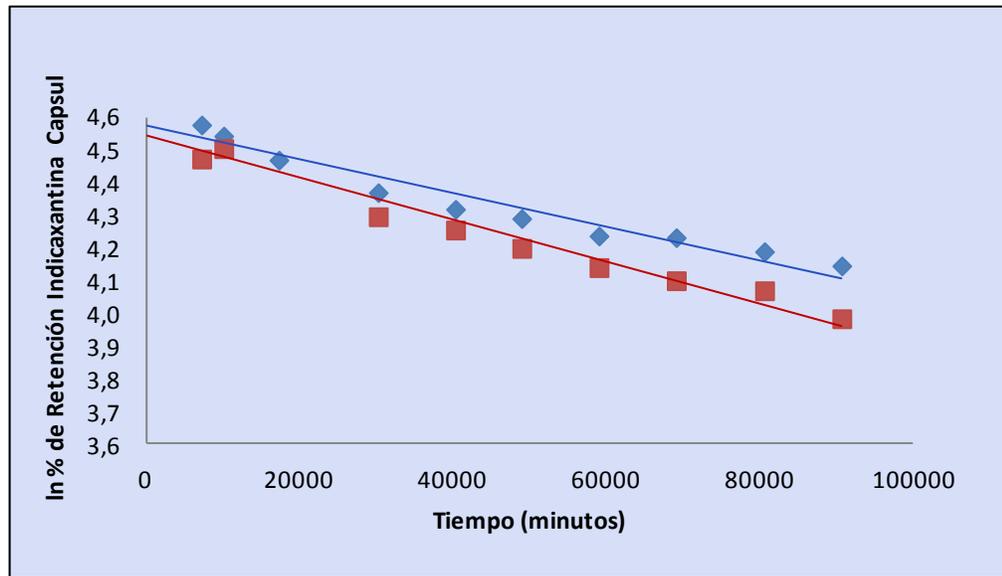


Figura 13. Degradación de primer orden para las betaxantinas en yogur formulado con micropartículas de los sistemas PT-Capsul (◇) y UF-Capsul (□), almacenadas a 4°C.

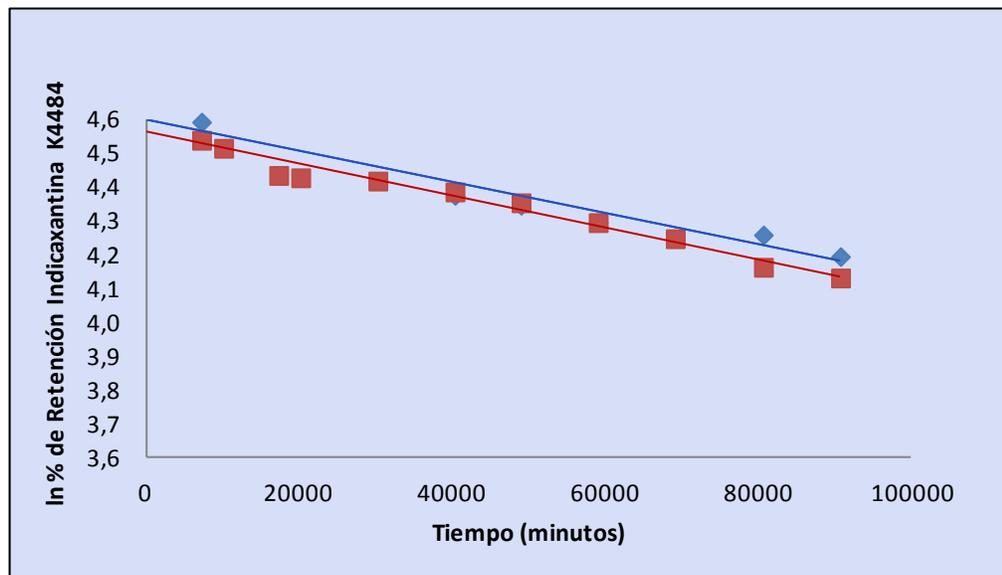


Figura 14. Degradación de primer orden para las betaxantinas en yogur formulado con micropartículas de los sistemas PT-K (◇), UF-K (□), almacenadas a 4°C.

En el Cuadro 8, se observan las constantes de velocidad de degradación (k) para betacianinas y betaxantinas en yogur formulado con micropartículas de los distintos sistemas estudiados, almacenadas a 4 °C. Las constantes de velocidad de betacianinas y betaxantinas se encontraron en el rango de $(7,8 - 8,7) \times 10^{-6} \text{ min}^{-1}$ y de $(4,6 - 6,4) \times 10^{-6} \text{ min}^{-1}$, respectivamente.

Cuadro 8. Constantes de velocidad de degradación (k) de betacianinas y betaxantinas en yogur con micropartículas.

Yogur	Betacianinas $10^{-6}k_{\text{obs}} (\text{min}^{-1}) \pm 10^7 \text{DS}$	R ²	Betaxantinas $10^{-6}k_{\text{obs}} (\text{min}^{-1}) \pm 10^7 \text{DS}$	R ²
PT-C	8,0 ± 1,1 b	0,99	5,0 ± 0,17 b	0,95
UF-C	8,2 ± 0,5 ab	0,99	6,4 ± 0,09 a	0,97
PT-K	7,8 ± 3,6 b	0,97	4,6 ± 0,09 b	0,97
UF-K	8,7 ± 0,1 a	0,97	4,9 ± 0,21 b	0,98

Letras distintas entre filas indican diferencias significativas entre las constantes de degradación de betacianinas o betaxantinas, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

En jugo de betarraga a pH 4 (Von Elbe *et al.*, 1974), jugo de pitahaya púrpura a 85°C (Herbach *et al.*, 2004) y una solución acuosa con 5% de pulpa de tuna púrpura a pH 4,5 (Sáenz *et al.*, 2012), se encontraron constantes de velocidad de degradación de betaninas de $5,1 \times 10^{-3}$, $4,6 \times 10^{-3}$ y $8,4 \times 10^{-2} (\text{min}^{-1})$, respectivamente. Estas constantes de velocidad de degradación de betacianinas son mayores respecto a las de este estudio.

Al comparar el efecto del agente encapsulante en los sistemas de yogur elaborados con pulpa de tuna (PT-C y PT-K), no se encontraron diferencias significativas en la constante de degradación tanto para betacianinas como para betaxantinas. Por otro lado, en los sistemas elaborados con ultrafiltrado de tuna (UF-C y UF-K) no se presentaron diferencias significativas al comparar las constantes de degradación para betacianinas, pero si en las betaxantinas, lo que se puede atribuir a la naturaleza del agente encapsulante, ya que, Capsul es un

almidón ceroso de maíz modificado químicamente, que incorpora a su estructura un componente lipofílico (Finotelli *et al.*, 2005); mientras que K4484, es un polímero con propiedades hidrofílicas.

Cuando se compara el efecto del tipo de pulpa o extracto sobre la constante de degradación de las betalaínas, se observa que en el yogur formulado con micropartículas del sistema PT-K, la constante de degradación de betacianinas fue significativamente menor con respecto al sistema UF-K. Por otro lado, la constante de degradación de betaxantinas fue significativamente menor en el sistema PT-C, con respecto al sistema UF-C. En ambos casos, se observaron menores constantes de velocidad de degradación en los sistemas con pulpa, lo que se puede atribuir al mucílago que presenta. Estos resultados concuerdan con lo señalado por Sáenz *et al.* (2009), que sugieren que el mucílago de la pulpa ayuda al proceso de encapsulación de compuestos bioactivos. Las constantes de degradación de betaxantinas son menores respecto a las betacianinas, sugiriendo que las betaxantinas son más estables (Sáenz *et al.*, 2009).

Gandía *et al.* (2012) usó el mismo método cromatográfico de detección de betalaínas en yogur, analizando el contenido de betanina de betarraga adicionado en productos lácteos, entre ellos varios tipos de yogur, alcanzando contenidos finales similares de betanina (0,32 - 1,65 $\mu\text{g/g}$ de muestra) en comparación con el presente estudio (0,79 – 0,83 $\mu\text{g/g}$) (Apéndice V).

Evolución de los parámetros de color en yogur con micropartículas

Se determinó la evolución de los parámetros de color (L , a^* , b^* , C^* , h^0) y el cambio de color respecto al tiempo inicial (ΔE) para los sistemas de yogur con micropartículas PT-C, PT-K, UF-C y UF-K almacenados a 4 °C. Las mediciones se realizaron durante 10 semanas (Apéndice VI), tiempo máximo estimado como vida útil de un yogur blanco a nivel comercial. En el Cuadro 9 se presentan los parámetros de color al inicio y final del estudio.

Cuadro 9. Parámetros de color para el yogur con micropartículas de los sistemas PT-C, UF-C, PT-K y UF-K, al inicio y final del almacenamiento.

Sistema	L (X ± DS)		a* (X ± DS)		b* (X ± DS)	
	T0	T10	T0	T10	T0	T10
PT-C	75,9 ± 0,07 b	79,7 ± 0,11 a	13,5 ± 0,04 a	8,1 ± 0,14 b	-2,2 ± 0,01 b	3,4 ± 0,08 a
UF-C	75,9 ± 0,06 b	79,1 ± 0,12 a	13,6 ± 0,04 a	8,9 ± 0,18 b	-2,1 ± 0,05 b	2,7 ± 0,03 a
PT-K	76,5 ± 0,02 b	78,5 ± 0,09 a	13,9 ± 0,02 a	9,0 ± 0,04 b	-2,4 ± 0,04 b	3,4 ± 0,05 a
UF-K	76,3 ± 0,09 b	79,2 ± 0,08 a	13,7 ± 0,01 a	8,2 ± 0,11 b	-1,8 ± 0,02 b	4,7 ± 0,05 a

X: promedio; DS: desviación estándar (n= 9). Letras distintas entre columnas indican diferencias significativas para los sistemas: Capsul-Pulpa, Capsul-Ultra, K4484-Pulpa y K4484-Ultra, para cada parámetro de color entre el tiempo 0 y 10, según la prueba de Tukey (p < 0,05).

Sistema	C* (X ± DS)		h° (X ± DS)	
	T0	T10	T0	T10
PT-C	13,7 ± 0,04 a	8,8 ± 0,11 b	350,6 ± 0,06 a	22,5 ± 0,75 b
UF-C	13,8 ± 0,03 a	9,3 ± 0,18 b	351,1 ± 0,22 a	16,8 ± 0,28 b
PT-K	14,1 ± 0,02 a	9,6 ± 0,05 b	350,3 ± 0,15 a	20,9 ± 0,19 b
UF-K	13,8 ± 0,01a	9,5 ± 0,07 b	352,5 ± 0,08 a	29,7 ± 0,56 b

X: promedio; DS: desviación estándar (n= 9). Letras distintas entre columnas indican diferencias significativas para los sistemas: Capsul-Pulpa, Capsul-Ultra, K4484-Pulpa y K4484-Ultra, para cada parámetro de color entre el tiempo 0 y 10, según la prueba de Tukey (p < 0,05).

El parámetro L aumentó significativamente en el tiempo hacia los blancos para todos los sistemas evaluados, lo que indica un aumento en la claridad del yogur, ya que aumentó la luminosidad.

Los parámetros a^* y C^* disminuyeron significativamente durante el período de evaluación en todos los sistemas; esto significaría que existe una disminución del componente rojo y de la intensidad del color al disminuir la saturación. Esta relación se ve reflejada en el valor de h° , el cual aumenta y avanza en sentido antihorario (carta de representación del color, Anexo V) presentando un cambio de tono de color rojo-púrpura a rojo.

Tapia (2007), utilizó un yogur blanco Next sin sabor y adicionó 0,5% de micropartículas de pulpa de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*), presentando el mismo comportamiento en el tiempo para cada parámetro de color.

En la Figura 15 se presenta la variación del cambio de color (ΔE) respecto al tiempo inicial para los sistemas de yogur con micropartículas PT-C, PT-K, UF-C y UF-K evaluados al inicio (T0), mitad (T5) y final (T10) del estudio.

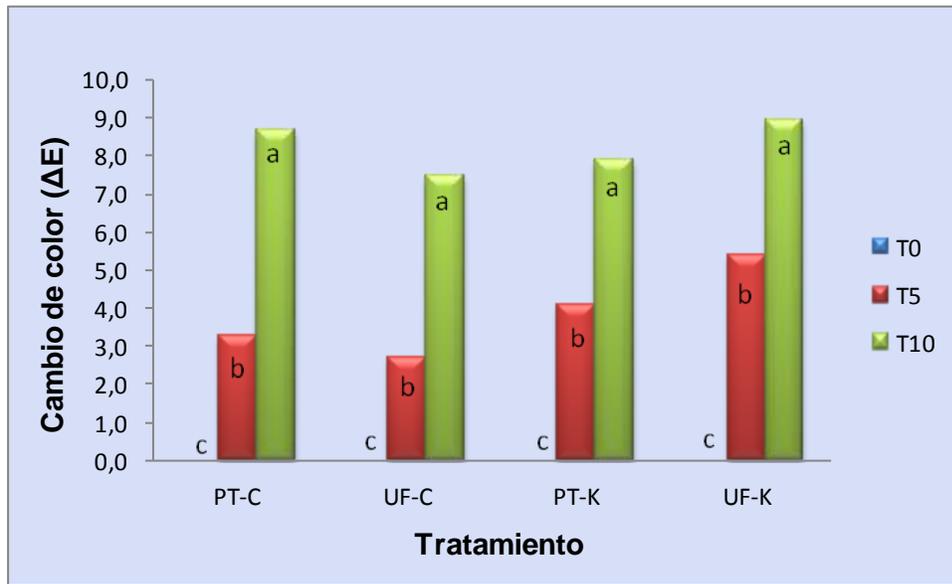


Figura 15. Cambio de color (ΔE) en los sistemas con yogur PT-C, PT-K, UF-C y UF-K, a las 0 (■), 5 (■) y 10 (■) semanas de almacenamiento. Letras distintas en el mismo sistema indican diferencias significativas entre los valores, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Se observaron diferencias significativas en el cambio de color para la semana 5 (T5) y la semana 10 (T10) respecto al inicio del estudio (T0). Los valores correspondientes a la Figura 15 se encuentran en el Apéndice VII.

Evolución del pH en el yogur almacenado a 4°C

El pH es un factor importante a considerar en productos lácteos como el yogur, ya que su análisis puede ayudar a determinar variaciones y cambios en la matriz alimentaria. En éste estudio, se realizaron mediciones durante 10 semanas para los sistemas de yogur PT-C, PT-K, UF-C y UF-K. El análisis estadístico obtenido se muestra en el Cuadro 10 y corresponde a las variaciones producidas dentro de cada sistema. No se observó diferencia significativa en el valor promedio de pH

dentro de ningún sistema de yogurt con micropartículas durante el período de almacenamiento.

Cuadro 10. Promedio de los valores de pH de los sistemas de yogurt con micropartículas durante 10 semanas de almacenamiento.

Sistema	pH ($\bar{X} \pm DS$)
PT-C	4,21 \pm 0,061 a
PT-K	4,20 \pm 0,062 a
UF-C	4,20 \pm 0,067 a
UF-K	4,22 \pm 0,071 a

X: promedio; DS: desviación estándar (n= 33). Letras distintas en la columna indica diferencias significativas entre los valores promedio de pH dentro de cada sistema de yogurt con micropartículas, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

En la Figura 16, se grafica la estabilidad del pH en el tiempo de los sistemas de yogurt con micropartículas de Capsul, mientras que en la Figura 17, la de los sistemas de yogurt con micropartículas de K4484 como encapsulante.

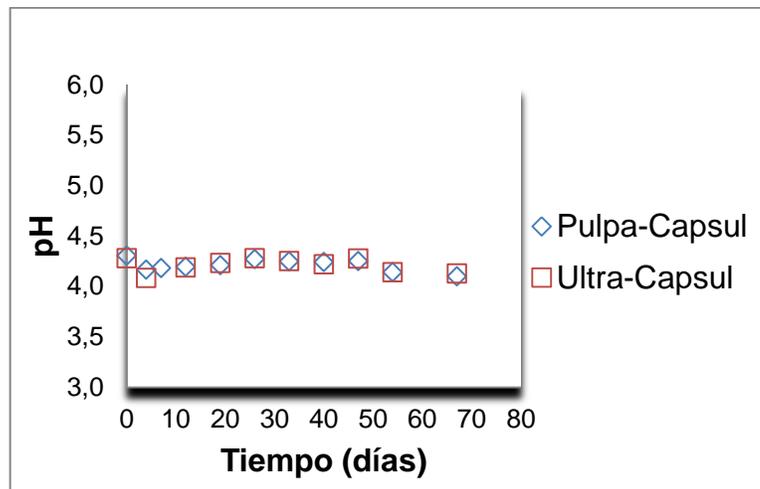


Figura 16. Valores de pH para sistemas de yogurt con micropartículas de Capsul como agente encapsulante (PT-C y UF-C) durante el almacenamiento a 4°C.

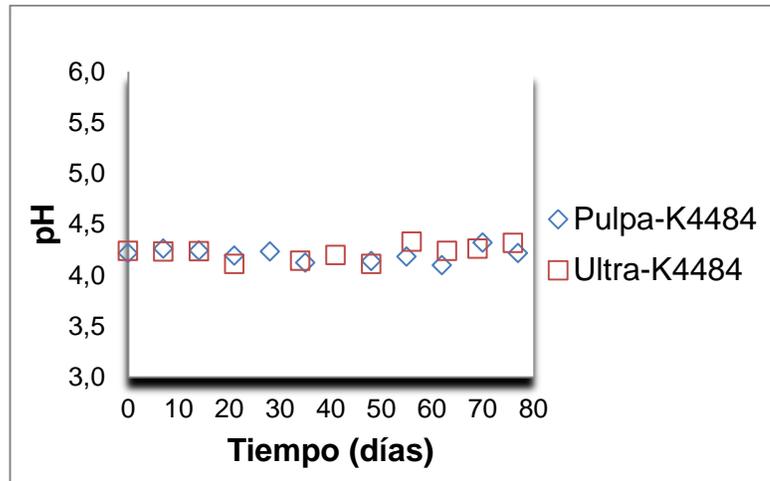


Figura 17. Valores de pH para sistemas de yogur con micropartículas de K4484 como agente encapsulante (PT-K y UF-K) durante el almacenamiento a 4°C.

Los valores de pH obtenidos en éste estudio no afectan la estabilidad de betalaínas en alimentos, los cuales son estables a pH entre 3,0 a 7,0 (Sánchez, 2006), pero se encuentra por debajo del óptimo, de 5,5-5,8 para betacianinas y de 5,0-6,0 para betaxantinas.

Respecto al uso de colorantes en alimentos, el artículo 220 del Reglamento Sanitario de Alimentos Chilenos (RSA, 2009), indica un listado oficial de los colorantes permitidos, en el cual las betaninas aparecen bajo el nombre “rojo de remolacha” (N° Sin 162), aditivo que además, es conocido y aceptado a nivel internacional por la FDA (Food and Drug Administration) de Estados Unidos y también por la Unión Europea.

Debido a que el yogur no presenta restricciones específicas referentes a la adición de colorantes, se debería potenciar su uso a nivel industrial y fomentar el desarrollo de productos con adición de colorantes naturales en su formulación, en este sentido, la elaboración de micropartículas puede jugar un rol de especial importancia en la estabilización de betalaínas en alimentos.

Por otro lado, el fruto de la tuna es poco explotado de manera comercial y son escasos los estudios relacionados con la industria alimentaria (algunos ejemplos se presentan en el Apéndice VIII). Considerando los bajos requerimientos hídricos necesarios para su cultivo y su adaptabilidad a suelos marginales, la tuna se presenta como una buena alternativa para la obtención de un colorante alimentario, potenciando además el desarrollo de la agricultura de zonas áridas y semiáridas.

CONCLUSIONES

- La pulpa de tuna y el ultrafiltrado de pulpa de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) presentaron el mismo contenido de betacianinas y betaxantinas. Sin embargo UF fue un extracto clarificado con un menor contenido de azúcares.
- El proceso de secado por aspersión de pulpa y ultrafiltrado de pulpa de tuna púrpura, logró altos valores de eficiencia de encapsulación y recuperación de betacianinas y betaxantinas, independientemente del tipo de agente encapsulante (C ó K).
- La adición de micropartículas de los sistemas PT-C, UF-C, PT-K y UF-K a yogur mostró constantes de degradación de betacianinas y betaxantinas similares. Sin embargo, las betacianinas y betaxantinas presentaron mayor estabilidad (constantes de degradación menores) en los sistemas de PT con K y C, respectivamente.
- Los parámetros de color, a^* y C^* disminuyeron durante el tiempo de almacenamiento (10 semanas) en el yogur con micropartículas de todos los sistemas estudiados, mostrando la degradación de betacianinas y betaxantinas.
- Los resultados mostraron que las micropartículas de pulpa de tuna ó ultrafiltrado de pulpa de tuna con K ó C, podrían ser utilizadas como un aditivo con potencial colorante y antioxidante en alimentos como yogur, ya que en el tiempo de vida útil del yogur se mantiene el color rosado.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALAMILLA, L., CHANONA, J., JIMENEZ, A. and GUTIERRES, G. 2005. Description of morphological changes of particles along spray drying. *Journal of Food Engineering* 67: 179-184.

ALARD, D., WRAY, V., GROTHJAHN, L., REZNIK, H. AND STRACK, D. 1985. Neobetanin: isolation and identification from *Beta vulgaris*. *Phytochemistry* 24: 2383-5.

ALLEGRA, M., FURTMÜLLER, P., JANTSCHKO, W., ZEDERBAUER, M., TESORIERE, L., LIVREA, M. and OBINGER, C. 2005. Mechanism of interaction of betanin and indicaxanthin with human myeloperoxidase and hypochlorous acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 332: 837-844.

AOAC. 1996. Official methods of analysis of the association official analytical chemists. 14^o Edition. Washington D.C. U.S.A. 1141p.

AZEREDO, H. 2009. Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science and Technology* 44: 2365–2376.

BARBOSA DOS SANTOS, A., FÁVARO, C. e FERREIRA, C. 2005. Preparo e caracterizacao de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomizacáo. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos* 25 (2): 322-326.

BUDINSKY, A., WOLFRAM, R., OGUOGHO, A., EFTHIMIOU, Y., STAMATOPOULOS, Y. and SINZINGER, H. 2001. Regular ingestion of *Opuntia robusta* lowers oxidation injury. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 65(1):45-50.

CAI, Y. and CORKE, H. 2000. Production and properties of spray-dried amaranthus betacyanin pigments. *Journal of Food Science* 65(6): 1248-1252.

CAI, Y., SUN, M. and CORKE, H. 2005. Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. *Trends in Food Science and Technology* 16: 370-376.

CANCINO-MADARIAGA, B. and RAMÍREZ-SALVO, A. 2012. Rotating ceramic membrane discs in the separation of betalainas from beet root as a clarification step. School of Food Engineering. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Chile.

CANO-CHAUCA, M., STRINGHETA, P., RAMOS, A. and CAL-VIDAL, J. 2005. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 6: 420-428.

CASSANO, A., CONIDI, C., TIMPONE, R., D'AVELLA, M. and DRIOLI, E. 2007. A membrane-based process for the clarification and concentration of cactus pear juice *Journal Food Engineering* 80: 914–921.

CASSANO, A., DONATO, L., CONIDI, C. and DRIOLI, E. 2008. Recovery of bioactive compounds in kiwifruit juice by ultrafiltration *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9 (4): 556-562.

CASSANO, A. CONIDI, C. and DRIOLI, E. 2010. Physico-chemical parameters of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice clarified by microfiltration and ultrafiltration processes. *Desalination* 250(3):1101-1104.

CASTELLAR, R., OBÓN, J., ALACID, M. and FERNANDEZ-LÓPEZ, J. 2003. Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (9): 2772-2776.

CASTELLAR, M., OBÓN, J. and FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. 2006. The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin food colorant from *Opuntia stricta* fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 122-128.

CEREZAL, P. y DUARTE, G. 2005. Utilización de cáscaras en la elaboración de productos concentrados de tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller). *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 7:61-83.

CHAMPAGNE, C. and FUSTIER, P. 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology* 18(2): 184-190.

CHÁVEZ, R., GUTIÉRREZ, J. and SERNA, S. 2009. Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia spp.*) juices. *Plant Foods for Human Nutrition* 64(2):146-152.

CHEN, L., REMONDETTO, G. and SUBIRADE, M. 2006. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Trends in Food Science & Technology* 17 (5): 272-283.

CHERYAN, M. 1998. Ultrafiltration and Microfiltration handbook. Second edition. CRS Press, Lancaster, U.S.A. 527 p.

CORBO, M., ALTIERI, C., D'AMATO, D., CAMPANIELLO, D., DEL NOBILE, M. and SINIGAGLIA, M. 2004. Effect of temperature on shelf life and microbial

population of lightly processed cactus pear fruit. *Postharvest Biology and Technology* 31(1):93-104.

CORIA, Y., OCHOA, M. and NAZARENO, M. 2011. Health promoting substances and antioxidant properties of *Opuntia* sp. fruits. Changes in bioactive-compound contents during ripening process. *Food Chemistry* 126(2):514-519.

DELGADO, F., JIMÉNEZ, A. and PAREDES, O. 2000. Natural Pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains-characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40(3): 173-289.

DESAI, K. and PARK, H. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology* 23: 1361-1394.

DESOBRY, S., NETT, F. and LABUZA, T. 1997. Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for β -carotene encapsulation and preservation. *Journal Food Science.*, 62: 1158-1162.

DE VOS, P., FAAS, M., SPASOJEVIC, M. and SIKKEMA, J. 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal* 20: 292-302.

DÍAZ, F., SANTOS, E., FILARDO, S., VILLAGÓMEZ, R. and SCHEINVAR, L. 2006. Colorant extraction from red prickly pear (*Opuntia Lasiacantha*) for food application. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 5 (2): 1330-1337.

DÍAZ, E., RODRÍGUEZ, E. and DÍAZ, C. 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. *Food Chemistry* 103(1):38-45.

DONG, W., WANG, S., HU, X. and JIANG, H. 2004. Study on beer made from *Opuntia dillenii* Haw. Niang Jiu (Liquor Making) 31(2):87-88.

DURU, B. AND TURKER, N. 2005. Changes in physical properties and chemical composition of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) during maturation. Journal of the Professional Association for Cactus Development 7:22-33

DZIEZAK, J. 1998. Microencapsulation and encapsulated food ingredients. Food Technology 42: 136 – 151.

ECHEVERRÍA, M. 2006. Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de yogur artesanal comercializado en la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Memoria Química Bióloga. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos. Guatemala. 75p.

EL-SAMAHY, S., EL-MANSY, H., BAHLOL, H., EL-DESOUKY, A. and AHMED, A. 2008. Thermal process time and sensory evaluation for canned cactus pear nectar. Journal of the Professional Association for Cactus Development 10:85-107.

EL-SAMAHY, S., YOUSSEF, K. and MOUSSA, T. 2009. Producing ice cream with concentrated cactus pear pulp: a-preliminary study. Journal of the Professional Association for Cactus Development 11:1-12.

FARÍAS, C. 2003. Estabilidad de las betalaínas de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica* L.). Memoria Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 53p.

FERNÁNDEZ, J. and ALMELA, L. 2001. Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits. *Journal of Chromatography* 913: 415-420.

FIGUEROA, I., MARTÍNEZ, M., RODRÍGUEZ, E., COLINAS, M., VALLE, S., RAMÍREZ, S. y GALLEGOS, C. 2010. Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de tuna (*Opuntia spp.*) de México. *Agrociencia* 44(7):763-771.

FINOTELLI, P. and ROCHA, M. 2005. Microencapsulation of ascorbic acid in maltodextrin and capsul using spray drying. 2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering. 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering. 11p.

FORNI, E., POLESELLO, A., MONTEFIORI, D. and MAESTRELLI, A. 1992. High-performance liquid chromatographic analysis of the pigments of blood-red prickly pear (*Opuntia ficus-indica*). *Journal of Chromatography* 593: 177-183.

GALATI, E., MONDELLO, M., GIUFFRIDA, D., DUGO, G., MICELI, N., PERGOLIZZI, S. and TAVIANO, M. 2003. Chemical characterization and biological effects of sicilian *Opuntia ficus-indica* (L.) mill. Fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 4903-4908.

GANDÍA, F., SIMÓN, A., ESCRIBANO, J. and GARCÍA, F. 2012. Determination of beet root betanin in dairy products by high performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of Chemical Education* 89: 660-664

GARCÍA, V. 2008. Evolución de compuestos funcionales durante la maduración de frutos de *Opuntia stricta*. Proyecto final de carrera. Universidad Politécnica de Cartagena, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica. Cartagena, España. 92p.

- GHARSALLAOUI, A., ROUDAUT, G., CHAMBIN, O., VOILLEY, A. and SAUREL, R. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International* 40: 1107–1121.
- GIBBS, B., KERMASHA, S., ALLI, I. and MULLIGAN, C. 1999. Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Science and Nutrition* 50: 213-224.
- GO, G., OH, S. and SATOH, S. 2007. Effects of the dietary supplementation of fermented cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) fluid on the growth of red sea bream, *Pagrus major*. *Journal of Aquaculture* 20(1):1-6.
- GOUIN, S. 2004. Microencapsulation industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology* 15: 330-347.
- GOUD, K., DESAI, H. and PARK, J. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology: An International Journal* 23(7): 1361-1394.
- GUIZARD, C. 1999. Técnicas membranarias de filtración de líquidos: micro, ultra, nanofiltración y osmosis inversa. Versión # 2. Escuela Ingeniería Química, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela. Cuaderno FIRP S451B. Merida, Venezuela. 56p.
- GUZMÁN, S., HERRERA, G., HERNÁNDEZ D., REYNOSO R., GUZMÁN, A., VAILLANT, F. and BRAT, P. 2010. Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilised fruit cactus species (*Myrtillocactus*) produced in central Mexico. *Food chemistry* 121(2):381-386.

HERBACH, K., STINTZING F. and CARLE, R. 2004. Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Journal of Food Science* 69(6): 491-498.

HERBACH, K., F. STINTZING and R. CARLE. 2005. Identification of heat-induced degradation products from purified betanin, phyllocactin and hylocerenin by high-performance liquid chromatography/electro spray ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 19(18): 2603-2616.

HERBACH, K., STINTZING, F. and CARLE, R. 2006a. Betalain stability and degradation — structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science* 71: 41-50.

HERBACH, K., STINTZING, F. and CARLE, R. 2006b. Stability and color changes of thermally treated betanin, phyllocactin, and hylocerenin solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 390-398.

HOGAN, S., MCNAMEE, B., O'RIORDAN, E. and O'SULLIVAN, M. 2001. Microencapsulating properties of sodium caseinate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:1934-1938.

HUANG, A. and J. VON ELBE. 1985. Kinetics of the degradation and regeneration of betanin. *Journal Food Science* 50: 1115-1129.

HUANG, A. and J. VON ELBE. 1987. Effect of pH on the degradation and regeneration of betanin. *Journal Food Science* 52(6): 1689-1693.

JAFARI, S., ASSADPOOR, E., HE, Y. and BHANDARI, B. 2008. Encapsulation efficiency of foods flavors and oils during spray drying. *Drying Technology* 26: 816-835.

JESUS, D., LEITE, M., SILVA, L., MODESTA, R., MATTA, V. AND CABRAL, L. 2006. Orange (*Citrus sinensis*) juice concentration by reverse osmosis. Journal of Food Engineering 81: 287-291.

KIM, Y. and MORR, C. 1996. Microencapsulation properties of gum Arabic and several food proteins: spray-dried orange oil emulsion particles. Journal of Agricultural and Food Chemistry 44: 1314-1320.

KOSARAJU, S., D'ATH, L. and LAWRENCE, A. 2006. Preparation and characterization of chitosan microspheres for antioxidant delivery. Carbohydrate Polymers 64: 163-167.

KUTI, J. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. Food Chemistry 85: 527-533.

KUNYANGA, C., STRUM, S., GRAHAM, S., SIPITIEK, J. and IMUNGI, J. 2009. Physico-chemical methods for preservation of *Opuntia* cactus fruit syrup. In Proceedings of the 9th African Crop Science Conference. September 28- October 22. (pp. 333-337). Cape Town, South Africa.

LOKSUWAN, J. 2007. Characteristics of microencapsulated b-carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. Food Hydrocolloids 21:928-935.

LOZANO, M. 2009. Obtención de microencapsulados funcionales de zumo de *Opuntia stricta* mediante secado por atomización. Proyecto final de carrera. Universidad Politécnica de Cartagena, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial. Cartagena, España. 68p.

LU, X., WANG, Y. and ZHANG, Z. 2009. Radioprotective activity of betalains from red beets in mice exposed to gamma irradiation. *European Journal of Pharmacology* 615: 223-227.

MADENE, A., JACQUOT, M., SCHER, J. and DESOBRY, S. 2006. Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science and Technology* 41: 1–21.

MANI, S., JAYA, S. and DAS, H. 2002. Sticky issues on spray drying of fruit juices. The Society for Engineering in Agricultural, Food, and Biological Systems. Paper No: MBSK 02-201 an ASAE Meeting Presentation.

MATSUHIRO, B., LILLO, L., SAÉNZ, C., URZÚA, C. and ZÁRATE, O. 2006. Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus-indica*. *Carbohydrate Polymers* 63: 263-267.

MEDINA, L., GARCÍA, E., CALDERAS, F., GONZÁLEZ, R., SÁNCHEZ, G., GALLEGOS, J., ROCHA, N. and RODRÍGUEZ, R. 2013. Microencapsulation by spray drying of gallic acid with nopal mucilage (*Opuntia ficus-indica*). *LWT-Food Science and Technology* 50:642-650.

MINEMOTO, Y., HAKAMATA, K., ADACHI, S. and MATSUNO, R. 2002. Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum Arabic or maltodextrin by spray-drying. *Journal Microencapsulation* 19(2):181-189.

MOßHAMMER, M., STINTZING, F. and CARLE, R. 2005. Colour studies on fruit juice blends from *Opuntia* and *Hylocereus* cacti and betalain-containing model solutions derived therefrom. *Food Research International* 38(8-9):975-981.

MOßHAMMER, M., STINTZING, F. and CARLE, R. 2006a. Evaluation of different methods for the production of juice concentrates and fruit powders from cactus pear. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 7: 275-287.

MOßHAMMER, M., STINTZING, F. and CARLE, R. 2006b. Cactus pear fruits (*Opuntia* spp.): a review of processing technologies and current uses. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 8: 1-25.

MOLLET, B. and ROWLAND, I. 2002. Functional foods: at frontier between food and pharma. *Current Opinion in Biotechnology* 13, 483-485.

MORALES, M. 2007. Compuestos Bioactivos en ecotipos coloreados de Tuna y elaboración de una salsa para postre. Memoria Escuela de Postgrado. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago-Chile 67p.

MORALES, M., SÁENZ, C. and ROBERT, P. 2008. Bioactive compounds in toppings from colored cactus pear cultivated in Chile. p 127-130. In: Proceedings of the VIth International Congress on Cactus Pear and Cochineal. Paraiba, Brasil, October 22-26, 2007. Paraiba, Brasil.

MORALES, M., SÁENZ, C. and ROBERT, P. 2009. Bioactive compounds in toppings from colored cactus pear cultivated in Chile. *Acta Horticulturae* 811: 127-130.

MORENO, M., BELÉN, D. y VILORIA, A. 2002. Degradación de betalaínas en remolacha (*Beta vulgaris* L.) estudio cinético. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe. España y Portugal*.

MORENO, M., GARCÍA, D., BELÉN, D., MEDINA, C., MUÑOZ, N., HERRERA, I. y ESPINOZA, C. 2006. Evaluación bromatológica de frutos y cladodios de la tuna (*Opuntia boldinghii* Britton y Rose). Boletín Nakari 17(1):9-12.

MORENO, M., GARCÍA, D., BELÉN, D., MEDINA, C. y MUÑOZ, N. 2008. Análisis bromatológico de la tuna *Opuntia elatior* Miller (Cactaceae). Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). 25(1):68-80.

NATIONAL STARCH and CHEMICAL. 2001a. Ficha técnica del producto: Capsul. [Disponible en <http://www.foodinnovation.com/foodinnovation/en-us/Pages/Home.aspx>]

NATIONAL STARCH y CHEMICAL. 2001b. Ficha técnica del producto: K-4484. [Disponible en <http://www.foodinnovation.com/foodinnovation/en-us/Pages/Home.aspx>]

NAWAZ, H., SHI, J., MITTAL, G. and KAKUDA, Y. 2006. Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. Separation and Purification Technology 48 (2):176-181.

NAZARENO, M. 2006. Actividad antioxidante de las *Opuntia*. En Aprovechamiento Integral de la Tuna. Santiago del Estero, Argentina: Editorial El Liberal. p 33-40.

NAZARENO, M. y PADRÓN, C. 2011. Nuevas tecnologías desarrolladas para el aprovechamiento de las cactáceas en la elaboración de alimentos. Componentes funcionales y propiedades antioxidantes. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos 2 (1): 202-238.

OBÓN, J., CASTELLAR, M., ALACID, M. and FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. 2009. Production of a red–purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying

and its application in food model systems. *Journal of Food Engineering* 90: 471-479.

ODOUX, E. et DOMÍNGUES, A. 1996. Le figuier de barbarie: une source industrielle de betalaines. *Fruits* 51: 61-78.

OSBORNE, D. y VOOGT, P. 1986. Análisis de los nutrientes de los alimentos. Zaragoza, España: Ed. Acribia.

PAZ, J. y GUEVARA, J. 2009. Subproductos hortofrutícolas con aplicación tecnológica. *Revista Horticultura Global* 286:40-45.

PEDROZA, R. 2002. Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas. In: Cruz, L., Ricque, D., Tapia, M., Gaxiola, M. y Simoes, N. Avances en nutrición acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. México.

PIGA, A., DEL CARO, A., PINNA, I. and AGABBIO, M. 2003. Changes in ascorbic acid, polyphenol content and antioxidant activity in minimally processed cactus pear fruits. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 36(2):257-262.

PIGA, A. 2004. Cactus pear: a fruit of nutraceutical and functional importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 6:9-22.

RAMÍREZ, W. 2006. Consideraciones básicas y viabilidad de procesos de membranas de ósmosis inversa y nanofiltración como alternativa para el tratamiento de agua en Colombia. Monografía final de carrera Ingeniería Ambiental. Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales, Facultad de

Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química. Manizales, Colombia. 90p.

RAVENTOS, M. 2005. Tecnología de membranas. p. 173-210. En: Industria Alimentaria Tecnologías Emergentes. Ediciones UPC. Barcelona. Pág.

REGLAMENTO SANITARIO DE ALIMENTOS CHILENOS. DTO. N°977/96 DPTO Asesoría Jurídica. Ministerio de Salud. República de Chile.159p.

REIS, R. and ZYDNEY, A. 2007. Bioprocess membrane technology. Journal of Membrane Science 297: 16-50.

REPO DE CARRASCO, R. y ENCINA, C. 2008. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Revista de la Sociedad Química del Perú 74(2):108-124.

ROBERT, P., CARLSSON, R., ROMERO, N. and MASSON, L. 2003. Stability of spray-dried encapsulated carotenoid pigments from rosa mosqueta (*Rosa rubiginosa*) oleoresin. Journal of the American Oil Chemists Society 80: 1115–1120.

RODRÍGUEZ, G., GONZÁLEZ, R., GRAJALES, A. and RUIZ, M. 2005. Spray-drying of cactus pear juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the physicochemical properties of powder and reconstituted product. Drying Technology 23: 955-973.

ROJAS, A. 2000. Extracto colorante tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica* L.): Obtención y comparación con un colorante comercial de betarraga (*Beta vulgaris* var. *Ortensis* L.). Memoria Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 68p.

SÁENZ, C. 2004. Compuestos funcionales y alimentos derivados de *Opuntia* spp. p. 211-222. In: Editores: Esparza, G., R. Valdez y S. Méndez. El Nopal, Tópicos de actualidad. Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo. México.

SÁENZ, C. 2006. Utilización agroindustrial del nopal. Roma, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. 165 p.

SAÉNZ, C., TAPIA, S., CHÁVEZ, J. and PAZ, R. 2009. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). Food Chemistry 114: 616-622.

SAENZ, C., CARMONA, F., FABRY, A., CEA, I., CANCINO, B. and ROBERT, P. 2012. Heat treatment effect upon the betalains content and colour parameters in beverages model solutions of purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) at different pH. Resúmenes 16th World Congress of Food Science and Technology-IUFoST. August 05-09, 2012. Foz de Iguazú, Brasil.

SÁNCHEZ, N. 2006. Extracción y caracterización de los principales pigmentos del *Opuntia joconoste* c.v. (xoconostle). Tesis para obtener el grado de Maestro en Tecnología Avanzada. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Instituto Politécnico Nacional. Mexico D.F.

SANTINHO, A., URETA, J., FREITAS, O. and PEREIRA, N. 2002. Physicochemical characterization and enzymatic degradation of casein microcapsules prepared by aqueous coacervation. Journal of Microencapsulation 19(5): 549-559.

SARKAR, P., SETIA, N. and CHOUDHURY, G. 2011. Extrusion processing of cactus pear. Advance Journal of Food Science and Technology 3(2):102-110.

SCHWARTZ, S. and J. VON ELBE. 1983. Identification of betanin degradation products. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* 176(6): 448-53.

SEPÚLVEDA, E., SÁENZ, C. y GÓMEZ, C. 2003. Determinación de betanina en ecotipos de tuna roja colectados en Chile. pp. 282-285. In: Memoria IX Congreso Nacional y VII Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Zacatecas, México.

SINHA, V., GOYAL, V., BINGE, J., MITTA, L. and TREHAN, E. 2003. Diagnostic microspheres: an Overview. *Critical Review in Therapeutic Drug Carrier Systems* 20 (6): 433-460.

SINGLETON, V. and ROSSI, J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144–158.

SOUZA, T., PARIZE, A., BRIGHENTE, I., FÁVERE, V. and LARANJEIRA, M. 2005. Chitosan microspheres containing the natural urucum pigment. *Journal of Microencapsulation* 22(5):511-520.

STINTZING, F., SCHIEBER, A. and CARLE, R. 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *European Food Research and Technology* 212: 396-407.

STINTZING, F. and R. CARLE, R. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology* 15(1): 19-38.

STINTZING, F., HERBACH, K., MOßHAMMER, M., CARLE, R., YI, W., SELLAPPAN, S., AKOH, C., BUNCH, R. and FELKERS, P. 2005. Color, betalain

pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 442-451.

TABLA DE COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ALIMENTOS CHILENOS. 1992. Octava Edición. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Departamento de Ciencia de los Alimentos. Universidad de Chile. Santiago, Chile

TAPIA, S. 2007. Microencapsulación de compuestos bioactivos de tuna (*Opuntia ficus-indica*). Tesis Magíster en Ciencias Agropecuarias. Mención Producción Agroindustrial. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 74p.

TESORIERE, L., BUTERA, D., D'ARPA, D., DI GAUDIO, F., ALLEGRA, M., GENTILE, C. and LIVREA, M.A. 2003. Increased resistance to oxidation of betalain-enriched human low density lipoproteins. Free Radical Research. 37(6):689-696.

TESORIERE, L., BUTERA, B., PINTAUDI, A., ALLEGRA, M. and LIVREA, M. 2004. Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C¹⁻³. American Society for Clinical Nutrition 80: 391-395.

TESORIERE, L., BUTERA, D., ALLEGRA, M., FAZZARI, M. and LIVREA, M. 2005. Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53 (4):1226-1270.

TORRES, V. 2008. Microencapsulación de "Polifenoles y Betalaínas" desde un extracto acuoso de tuna (*Opuntia ficus-indica*), mediante secado por atomización. Trabajo de titulación para optar al Título de Ingeniero en Industria Alimentaria.

Facultad de Ciencias Naturales, Matemáticas y del Medio Ambiente. Universidad Tecnológica Metropolitana. Santiago, Chile 70p

TSUDA, S., MURAKARNI, M., KANO, K., TANIGUCHI, K. and SASAKI, Y. 2001. DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice. *Toxicological Sciences* 61(1): 92-99.

VEHRING, R. 2008. Pharmaceutical particle engineering via spray drying. *Pharmaceutical Research* 25(5):999-1022.

VON ELBE, J., MAING, I. and AMUNDSON, C. 1974. Colour stability of betanin. *Journal of Food Science* 39: 334-7.

WAGNER, L. and WARTHESEN, J. 1995. Stability of spray-dried encapsulated carrot carotenes. *Journal of Food Science* 60: 1048- 1053.

WILCOX, M., WYLER H. and DREIDING. A. 1965. Stereochemistry of betanidin and isobetanidin. VIII. Structure of the bark pigment betanin. *Helvetica Chimica Acta* 48: 1134-47.

WYBRANIEC S. 2005. Formation of decarboxylated betacyanins in heated purified betacyanin fractions from red beet root (*Beta vulgaris* L.) monitored by LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:3483–7.

WYBRANIEC, S. and MIZRAHI, Y. 2005. Generation of decarboxylated and dehydrogenated betacyanins in thermally treated purified fruit extract from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) monitored by LC-MS/MS. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 53:6704–12.

YÁÑEZ, J., SALAZAR, J., CHAIRES, L., JIMÉNEZ, J., MÁRQUEZ, M. y RAMOS, E. 2002. Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. Avance y perspectiva. *Mundo Alimentario* 21: 313-319.

YOUNG, Y. 2000. Functional foods and the European consumer. p. 456–467. In: J. Buttris & M. Saltmarsh (Eds.). *Functional foods II. Claims and evidence*. London UK: The Royal Society of Chemistry.

ZOU, D., BREWER, M., GARCIA, F., FEUGANG, J., WANG, J., ZANG, R., LIU, H. and ZOU, C. 2005. Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *Nutrition Journal* 4:25-12p.

ANEXOS

Anexo I. Método espectrofotométrico de reacción de la Antrona.

Determinación del contenido de azúcares totales por el método de la antrona (Osborne y Voogt, 1986).

Fundamento: El producto se digiere con ácido perclórico. Los almidones hidrolizados, junto con los azúcares solubles, se determinan colorimétricamente por método de la Antrona y se expresan en glucosa.

Preparación de soluciones:

1.- Ácido perclórico al 52%: se añaden 270 mL de ácido perclórico (peso específico 1,7) a 100 mL de agua. Realizar esta acción en un baño de agua fría para enfriar la mezcla.

2.- Ácido sulfúrico al 76%: se prepara añadiendo cuidadosamente 760 mL de ácido (peso específico 1,84) a 330 mL de agua destilada. Enfriar antes de usar.

3.- Reactivo de Antrona: se prepara al 0,1% disolviéndola en el ácido sulfúrico anterior. Se prepara solo la cantidad suficiente para los análisis del día.

4.- Solución patrón de glucosa 0,1%: primero disolver 100 mg de glucosa en 100 mL de agua destilada, luego diluir 10 mL de esta solución en 100 mL con agua. Debe prepararse solución patrón para cada día. Preparar una curva de calibración con glucosa para expresar los resultados en glucosa.

Procedimiento:

Pesar 2 g de muestra (pulpa o yogur) húmeda en un matraz erlenmeyer con tapa. Agregar 10 mL de agua destilada y agitar con una varilla de vidrio hasta completar homogenización. Agregar 15 mL de ácido perclórico al 52%, agitar y tapar. Dejar en reposo por 12 horas para que hidrolice la muestra.

Luego de las 12 horas, adicionar agua hasta 100 mL aproximadamente. Filtrar la solución en papel filtro, recibiendo el filtrado en un matraz aforado de 250 mL. Lavar el matraz y el papel filtro, recibiendo la solución en el matraz de 250 mL, luego aforar.

Tomar una alícuota de 10 mL y trasladarla a un matraz de 100 mL y aforar con agua destilada. Tomar una alícuota de 1 mL de esta solución y colocarla en un tubo de ensayos con tapa. Agregar 5 mL de solución de Antrona y agitar. Llevar a baño de agua a ebullición por exactamente 12 minutos y enfriar con agua fría. Leer en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 630 nm. Paralelamente realizar la reacción a 1 mL de glucosa (0,1%) y a un blanco (1 mL de agua destilada).

Para los cálculos del contenido de azúcares totales, se realizó una curva de calibración de glucosa (Figura 18); $y = 4,7102x - 0,0052$ donde (x) representa la concentración de glucosa, mientras que (y) representa la unidad de absorbancia (UA). Los análisis se deben realizar por triplicado.

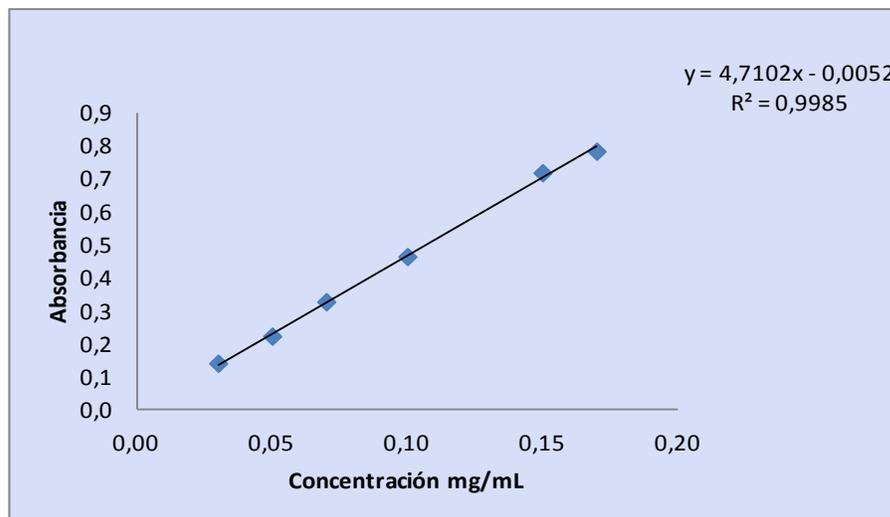


Figura 18. Curva de calibración de glucosa.

Anexo II. Método de determinación de polifenoles totales.

Determinación del contenido de polifenoles a través del método de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965)

Fundamento: Consiste en oxidar los compuestos fenólicos presentes en la muestra, por medio de una mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico conocida como reactivo de Folin-Ciocalteu, los cuales en presencia de fenoles, son reducidos a óxidos azules de tungsteno y molibdeno.

Materiales: Agua destilada, reactivo de Folin-Ciocalteu y Carbonato de sodio al 20%.

Preparación de la muestra de pulpa de tuna: Se pesó 8 g de muestra en un matraz aforado de 25 ml, el cual se aforó con agua destilada. Se centrifugó a 3000 rpm x 5 minutos y luego se filtró empleando filtros membrana de 0,22 μm de poro.

Procedimiento: En un matraz aforado de 10 mL se colocó 0,1 mL de filtrado. Luego se adicionó 4,9 mL de agua destilada, 0,5 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu y se dejó reposar por 3 minutos. Después se agregó 1,7 mL de carbonato de sodio al 20%, se aforó a 10 mL con agua destilada y se dejó reposar durante 30 minutos para leer en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm. En paralelo se preparó un blanco al cual se adicionó 5 mL de agua destilada, siguiendo el mismo procedimiento que para la muestra.

Para los cálculos del contenido de polifenoles totales, se realizó una curva de calibración de ácido gálico (Figura 19); $y = 0,001x + 0,065$ donde (x) representa la concentración de polifenoles (expresado como equivalente de Ac. Gálico, EAG), mientras que (y) representa la unidad de absorbancia de la muestra (UA). Los análisis se realizaron por triplicado.

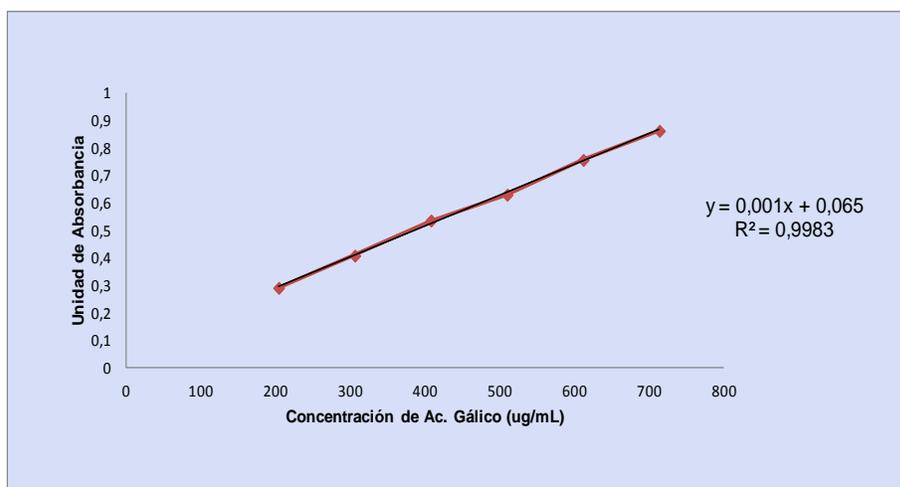


Figura 19. Curva de calibración de ácido gálico.

Preparación de carbonato de sodio 20%: El carbonato se preparó con 20 g de carbonato anhidro y se disolvieron en 80 g de agua destilada hervida (que se deja enfriar) se agitó y se dejó reposar 24 h. Se filtró por gravedad o vacío y se aforó con agua destilada hervida en matraz de aforo de 100 mL.

Fórmulas utilizadas

$$Y = 0,001X + 0,065$$

(despejar X)

$$R^2 = 0,9983$$

Donde:

X = concentración de polifenoles (μg EAG/mL).

Y = absorbancia de la muestra.

$$Z = (X \cdot a / p) / 1000$$

(despejar Z)

Donde:

Z = concentración de la muestra (mg EAG/g).

X = concentración de polifenoles (μg /mL).

p= peso de la muestra (g).

a = aforo (lo que se adiciona inicialmente junto a la muestra) (ml).

$$P = (Z / T) \cdot 100$$

(Calcular P)

Donde:

P = porcentaje de polifenoles (superficiales o totales).

Z = concentración de la muestra (mg/g).

T = contenido teórico de polifenoles (mg/g).

Cálculo por curva de calibración, expresado como Equivalentes de Acido Gálico (EAG)

Anexo III. Determinación del contenido de betalaínas por espectrofotometría de acuerdo al método descrito por Stintzing *et al* (2005).

Preparación del buffer McIlvaine a pH 6,5:

Solución A: Acido Cítrico ($C_6H_8O_7 \cdot 1H_2O$) 0.1 M, para ello se deben disolver 21.01 g de Ac. Cítrico en 1 litro de agua destilada

Solución B: Disodium hydrogen phosphate ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 0.2 M, para ello se deben disolver 35.60g de éste compuesto en 1 litro de agua destilada

Para preparar el buffer, se mezcló 29,65 mL de A y 70,35 mL de B para obtener una solución a pH 6,5.

Preparación de la muestra de pulpa: se pesó 4 g de muestra, se adicionó a un matraz de 25 mL y aforó con agua destilada. Se centrifugó a 3000 rpm x 5 minutos y se filtró empleando filtros de membrana de 0,22 μm de poro. Luego se tomó 1 mL de muestra y se aforó a 10 mL con buffer McIlvaine pH 6,5, para leer en espectrofotómetro a longitudes de onda de 480 nm para betaxantinas, 538 nm para betacianinas y 600 nm como factor de corrección.

Los análisis realizados a la pulpa de tuna se hicieron por triplicado.

Fórmula utilizada

$$B = \frac{A * FD * PM * V * 1000}{\epsilon * L * P}$$

Donde:

B = contenido de betalaínas (mg/g) expresado como betanina o indicaxantina.

A = diferencia de absorbancia entre la muestra y su respectivo factor de corrección a 600 nm.

FD = factor de dilución.

PM = peso molecular: betanina 550 g/mol e indicaxantina 308 g/mol.

V = volumen inicial al que es llevado la muestra.

ϵ = coeficiente de extinción molar: betanina 60000 L/mol*cm e indicaxantina 48000 L/mol*cm.

L = distancia que recorre la luz en la cubeta (1cm).

P = peso de la muestra (g).

Anexo IV. Determinación de compuestos bioactivos superficiales y totales en micropartículas

Betalainas superficiales

Se pesó 0,1 g de micropartículas en 2 mL de una mezcla etanol-metanol (1:1), en un agitador Vortex mixer (Cenco Instrument, Breda, The Netherlands), durante un minuto. Luego se centrifugó durante 5 minutos a 3000 rpm en una centrifuga Hettich Rotofix 32. Del sobrenadante obtenido se realizaron las mediciones de betalaínas según la metodología descrita en el Anexo III.

Betalainas totales

Se pesó 0,2g de micropartículas y se disolvieron con 2 mL de una solución compuesta por etanol - ácido acético - agua destilada (50:8:42), y se homogenizaron utilizando un agitador Vortex mixer (Cenco Instrument, breda, the netherlands), durante un minuto. Para asegurar la ruptura de la micropartícula se sonicó durante 50 minutos (intervalos de 20 minutos y 10 de descanso), con un sonicador Ultrasonic FS30H. Luego se centrifugó durante 5 minutos a 3000 rpm en una centrifuga Hettich Rotofix 32. Finalmente del sobrenadante obtenido se realizaron las mediciones para betalaínas, según la metodología expuesta en el Anexo III.

Polifenoles totales

Para el caso de polifenoles el procedimiento fue el mismo al realizado con la preparación de la muestra de betalaínas totales. Del sobrenadante obtenido se realizaron las mediciones para determinar polifenoles totales, según la metodología expuesta en el Anexo II.

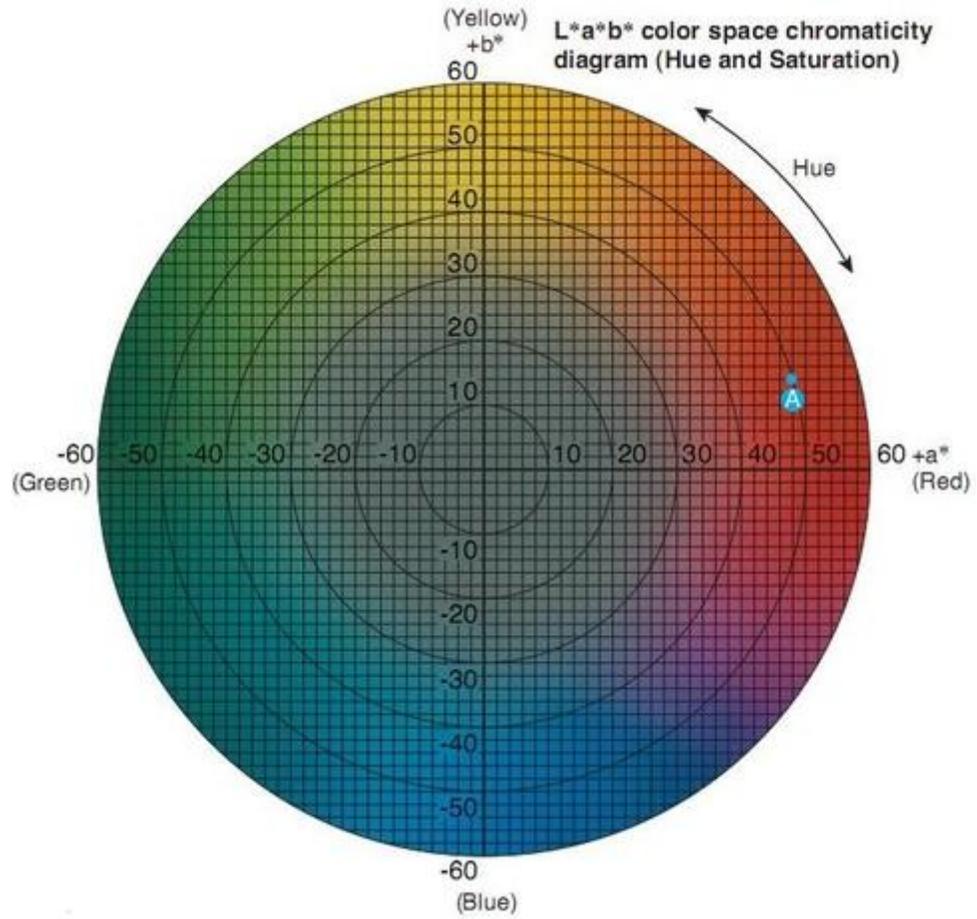
Anexo V. Carta de representación del color.

Figura 20. Carta de color (Fuente: Konica Minolta Sensing, INC. 2007).

APENDICES

Apéndice I. Etapas del proceso de investigación.

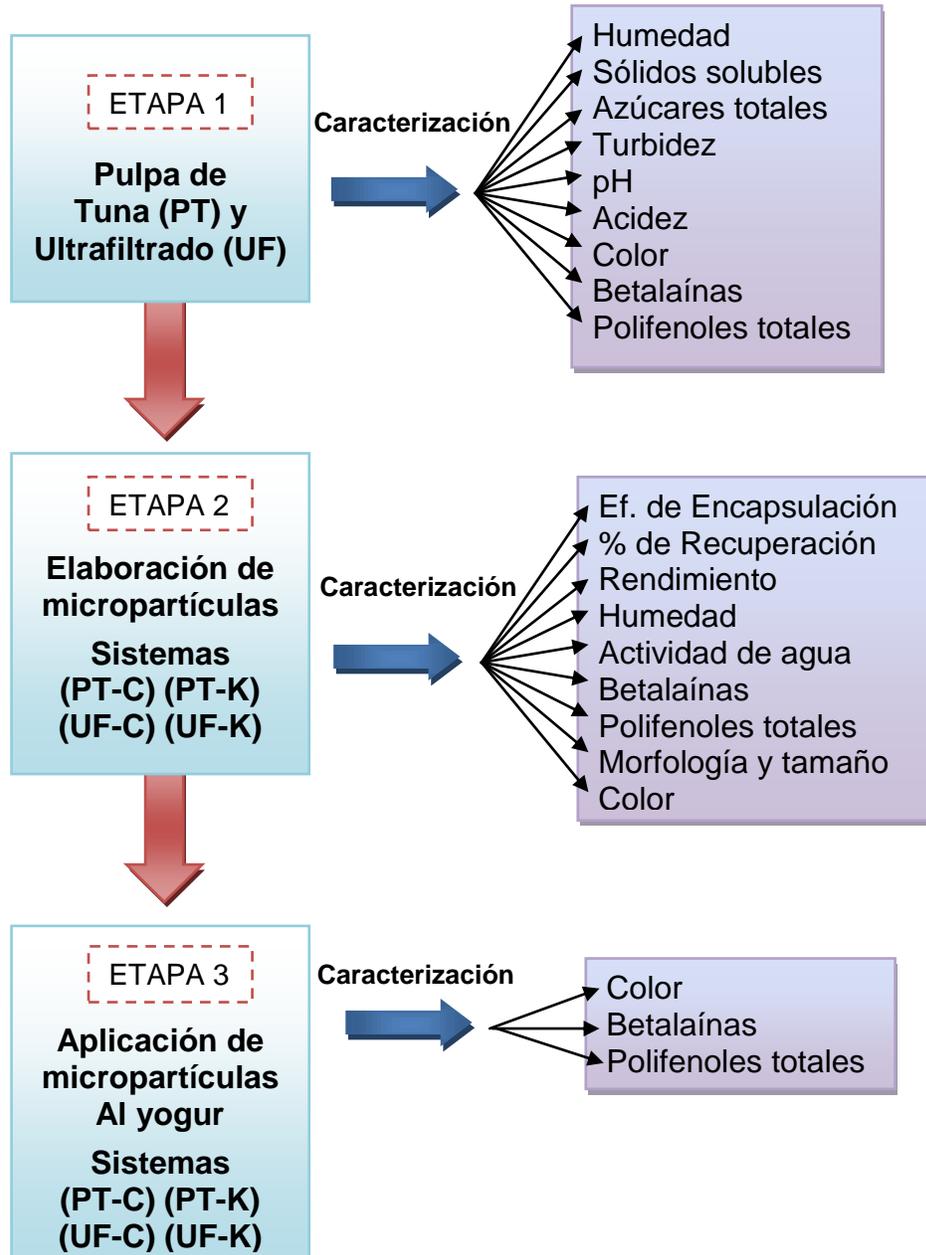
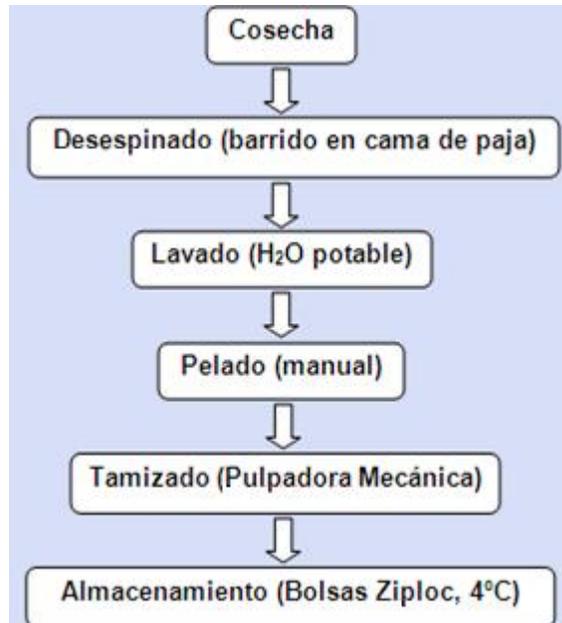


Figura 21. Diagrama del proceso de investigación.

Apéndice II. Proceso de obtención de la pulpa de tuna púrpura.**Figura 22.** Diagrama de flujo de la obtención de pulpa de tuna púrpura.

Apéndice III. Análisis proximal del yogur.

Los parámetros evaluados fueron el contenido de humedad, proteínas, grasas totales, hidratos de carbono y cenizas totales, los cuales fueron comparados con la etiqueta presentada en el envase comercial y con los estándares referenciales obtenidos en la Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos, 1992. Estos resultados se presentan en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Parámetros evaluados en el análisis proximal del yogur (g/100g).

Parámetros	Etiqueta de Yogur	Tabla de Alimentos ⁴	Experimental
Humedad	X	77,1	89 ± 1,045
Proteínas	3,6	4,4	3,1 ± 0,179
Grasa Total	0,6	2,7	0,065 ± 0,009
H. de C.	6,1	14,8	5,62 ± 1,036
Cenizas	X	0,9	0,7 ± 0,000

Los valores representan la cantidad gramos del parámetro contenido en 100 gramos de yogur; X: Valores que no se presentaron en la etiqueta.

⁴ Valor referencial correspondiente a un yogurt con sabor, obtenido de la tabla de composición Química de alimentos Chilenos, 1992

Apéndice IV. Preparación de estándares de betanina e indicaxantina y curvas de calibración.

Para la elaboración de la curva de calibración de betanina e indicaxantina se preparó una solución stock con las fracciones de betanina e indicaxantina en estado puro descritas en la etapa 3. El área obtenida en HPLC se graficó en función de la concentración del pigmento determinado espectrofotométricamente (Cuadro 12) y se obtuvo la curva de calibración de betanina e indicaxantina (Figura 23).

Cuadro 12. Concentración de betalaínas y áreas para curvas de calibración.

	Bet			Ind			
	[] Bet	HPLC		[] Ind	HPLC		
μL	A 538	mg/L	area	μL	A 480	mg/L	area
1300	0,54	4,95	443333	3000	0,083	0,53	63541
1000	0,42	3,85	335288	2250	0,063	0,40	51509
825	0,356	3,26	270042	1500	0,041	0,26	31447
650	0,273	2,50	187345	1125	0,031	0,20	22463
325	0,146	1,34	91666	750	0,021	0,13	14207
163	0,074	0,68	44175	375	0,011	0,07	6057
Betanina stock 43,3 mg/L				Indicaxantina stock 1,8 mg/L			

Bet: betanina; [] Bet: concentración de betanina; Ind: Indicaxantina, [] Ind: concentración de indicaxantina.

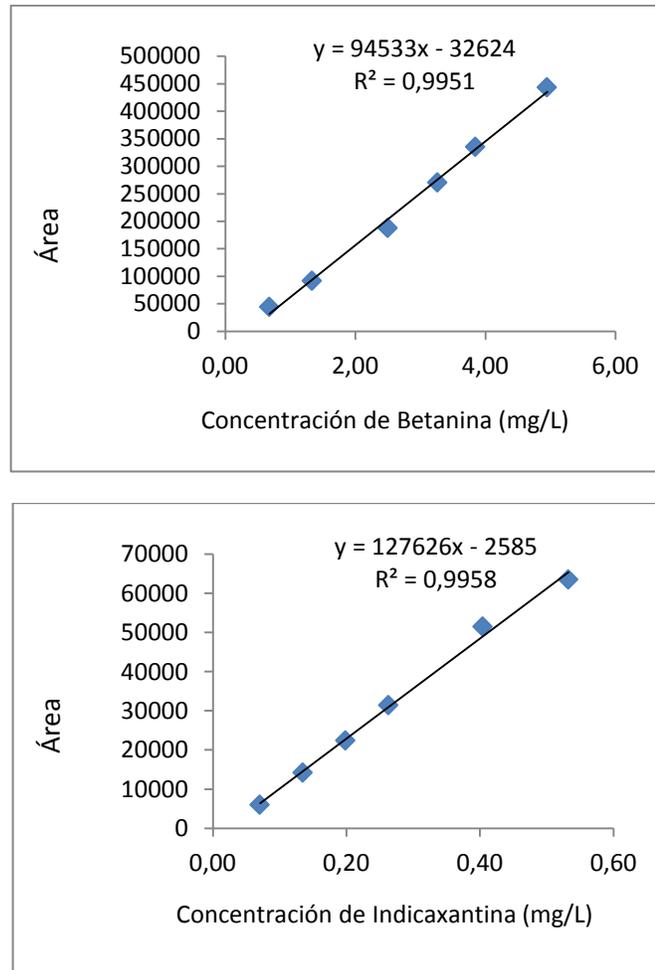


Figura 23. Curva de calibración de betanina e indicaxantina

Apéndice V. Evolución del contenido de betacianinas y betaxantinas en el tiempo de estudio.

Cuadro 13. Contenido de betanina ($\mu\text{g/g}$ de yogur) y porcentaje de retención de betanina respecto al tiempo 0 (desde el día 0 al 21).

Días	PT-C		UF-C		PT-K		UF-K	
	[] Bet	% Ret						
0	1,7075	100,0	1,7246	100,0	1,7257	100,0	1,6515	100,0
0	1,6595	100,0	1,6867	100,0	1,6409	100,0	1,6368	100,0
0	1,6835	100,0	1,7056	100,0	1,6833	100,0	1,6441	100,0
5	1,6114	94,4	1,6484	95,6	1,7181	99,6	1,5689	95,0
5	1,5434	93,0	1,5858	94,0	1,5551	94,8	1,5689	95,9
5	1,5774	93,7	1,6171	94,8	1,6366	97,2	1,5689	95,4
7	1,6097	94,3	1,5423	89,4	1,5337	88,9	1,5960	96,6
7	1,5528	93,6	1,5366	91,1	1,5158	92,4	1,5960	97,5
7	1,5812	93,9	1,5395	90,3	1,5248	90,6	1,5960	97,1
12	1,4445	84,6	1,5336	88,9	1,4090	81,6	1,4389	87,1
12	1,4245	85,8	1,5221	90,2	1,4014	85,4	1,4020	85,7
12	1,4345	85,2	1,5278	89,6	1,4052	83,5	1,4205	86,4
14	1,4348	84,0	1,4191	82,3	1,4200	82,3	1,3101	79,3
14	1,4079	84,8	1,4087	83,5	1,3677	83,4	1,3037	79,6
14	1,4213	84,4	1,4139	82,9	1,3939	82,8	1,3069	79,5
19	1,3917	81,5	1,3941	80,8	1,3279	77,0	1,2503	75,7
19	1,3616	82,1	1,3600	80,6	1,3016	79,3	1,2404	75,8
19	1,3767	81,8	1,3771	80,7	1,3148	78,1	1,2454	75,7
21	1,3486	79,0	1,3692	79,4	1,2359	71,6	1,1906	72,1
21	1,3153	79,3	1,3114	77,7	1,2355	75,3	1,1771	71,9
21	1,3320	79,1	1,3403	78,6	1,2357	73,4	1,1838	72,0

[] Bet: Concentración de betanina/g de yogurt; % Ret: Porcentaje de retención; PT-C: sistema pulpa de tuna con Capsul; PT-K: sistema pulpa de tuna con K4484; UF-C: sistema ultrafiltrado con Capsul; UF-K: sistema ultrafiltrado con K4484.

Cuadro 14. Contenido de betanina ($\mu\text{g/g}$ de yogur) y porcentaje de retención de betanina respecto al tiempo 0 (desde el día 26 al 63).

Días	PT-C		UF-C		PT-K		UF-K	
	[] Bet	% Ret						
26	1,2000	70,3	1,2596	73,0	1,1717	67,9	1,1103	67,2
26	1,1831	71,3	1,2152	72,0	1,1640	70,9	1,0973	67,0
26	1,1915	70,8	1,2374	72,5	1,1678	69,4	1,1038	67,1
28	1,0514	61,6	1,1500	66,7	1,1075	64,2	1,0300	62,4
28	1,0508	63,3	1,1190	66,3	1,0924	66,6	1,0175	62,2
28	1,0511	62,4	1,1345	66,5	1,1000	65,3	1,0238	62,3
34	1,0004	58,6	1,1183	64,8	0,9316	54,0	1,0067	61,0
34	0,9652	58,2	1,0833	64,2	0,9136	55,7	0,9871	60,3
34	0,9828	58,4	1,1008	64,5	0,9226	54,8	0,9969	60,6
41	0,9889	57,9	1,0678	61,9	0,9030	52,3	0,8807	53,3
41	0,9629	58,0	0,9435	55,9	0,8966	54,6	0,8783	53,7
41	0,9759	58,0	1,0056	59,0	0,8998	53,5	0,8795	53,5
48	0,9494	55,6	0,9688	56,2	0,9994	57,9	0,8612	52,1
48	0,9381	56,5	0,9369	55,5	0,9659	58,9	0,8546	52,2
48	0,9438	56,1	0,9529	55,9	0,9827	58,4	0,8579	52,2
56	0,9211	53,9	0,8740	50,7	0,9028	52,3	0,8259	50,0
56	0,9096	54,8	0,8659	51,3	0,8897	54,2	0,8209	50,2
56	0,9153	54,4	0,8700	51,0	0,8962	53,2	0,8234	50,1
63	0,8339	48,8	0,8335	48,3	0,8327	48,3	0,7905	47,9
63	0,8215	49,5	0,8251	48,9	0,8327	50,7	0,7888	48,2
63	0,8277	49,2	0,8293	48,6	0,8327	49,5	0,7896	48,0

[] Bet: Concentración de betanina/g de yogurt; % Ret: Porcentaje de retención; PT-C: sistema pulpa de tuna con Capsul; PT-K: sistema pulpa de tuna con K4484; UF-C: sistema ultrafiltrado con Capsul; UF-K: sistema ultrafiltrado con K4484.

Cuadro 15. Contenido de indicaxantina ($\mu\text{g/g}$ de yogur) y porcentaje de retención de indicaxantina respecto al tiempo 0 (desde el día 0 al 21).

Días	PT-C		UF-C		PT-K		UF-K	
	[] Ind	% Ret						
0	0,2028	100,0	0,2194	100,0	0,2121	100,0	0,2072	100,0
0	0,1962	100,0	0,2133	100,0	0,2070	100,0	0,2050	100,0
0	0,1995	100,0	0,2164	100,0	0,2096	100,0	0,2061	100,0
5	0,2055	101,3	0,1895	86,4	0,2071	97,6	0,1927	93,0
5	0,1827	93,1	0,1895	88,8	0,2065	99,7	0,1927	94,0
5	0,1941	97,3	0,1895	87,6	0,2068	98,7	0,1927	93,5
7	0,1874	92,4	0,1956	89,2	0,1866	88,0	0,1956	94,4
7	0,1874	95,5	0,1956	91,7	0,1866	90,1	0,1810	88,3
7	0,1874	93,9	0,1956	90,4	0,1866	89,0	0,1883	91,4
12	0,1746	86,1	0,1589	72,4	0,1795	84,6	0,1737	83,8
12	0,1736	88,5	0,1589	74,5	0,1795	86,7	0,1737	84,7
12	0,1741	87,3	0,1589	73,4	0,1795	85,7	0,1737	84,3
14	0,1655	81,6	0,1604	73,1	0,1625	76,6	0,1979	95,5
14	0,1514	77,2	0,1604	75,2	0,1615	78,0	0,1492	72,8
14	0,1585	79,4	0,1604	74,1	0,1620	77,3	0,1736	84,2
19	0,1628	80,2	0,1648	75,1	0,1686	79,5	0,1877	90,6
19	0,1534	78,2	0,1547	72,5	0,1569	75,8	0,1568	76,5
19	0,1581	79,2	0,1597	73,8	0,1627	77,7	0,1722	83,6
21	0,1600	78,9	0,1691	77,1	0,1748	82,4	0,1774	85,6
21	0,1553	79,2	0,1491	69,9	0,1523	73,5	0,1643	80,2
21	0,1577	79,0	0,1591	73,5	0,1635	78,0	0,1709	82,9

[] Ind: Concentración de Indicaxantina/g de yogurt; % Ret: Porcentaje de retención; PT-C: sistema pulpa de tuna con Capsul; PT-K: sistema pulpa de tuna con K4484; UF-C: sistema ultrafiltrado con Capsul; UF-K: sistema ultrafiltrado con K4484.

Cuadro 16. Contenido de indicaxantina (μg /g de yogur) y porcentaje de retención de indicaxantina respecto al tiempo 0 (desde el día 26 al 63).

Días	PT-C		UF-C		PT-K		UF-K	
	[] Ind	% Ret						
26	0,1570	77,4	0,1608	73,3	0,1724	81,3	0,1722	83,1
26	0,1505	76,7	0,1508	70,7	0,1576	76,1	0,1640	80,0
26	0,1538	77,1	0,1558	72,0	0,1650	78,7	0,1681	81,6
28	0,1541	76,0	0,1526	69,5	0,1700	80,2	0,1670	80,6
28	0,1457	74,3	0,1526	71,5	0,1629	78,7	0,1638	79,9
28	0,1499	75,1	0,1526	70,5	0,1665	79,4	0,1654	80,3
34	0,1541	76,0	0,1496	68,2	0,1626	76,6	0,1601	77,3
34	0,1375	70,1	0,1390	65,2	0,1608	77,7	0,1601	78,1
34	0,1458	73,1	0,1443	66,7	0,1617	77,1	0,1601	77,7
41	0,1381	68,1	0,1384	63,1	0,1566	73,8	0,1538	74,2
41	0,1381	70,4	0,1336	62,6	0,1507	72,8	0,1482	72,3
41	0,1381	69,2	0,1360	62,9	0,1537	73,3	0,1510	73,3
48	0,1406	69,3	0,1325	60,4	0,1514	71,4	0,1440	69,5
48	0,1342	68,4	0,1289	60,4	0,1508	72,8	0,1440	70,3
48	0,1374	68,9	0,1307	60,4	0,1511	72,1	0,1440	69,9
56	0,1316	64,9	0,1289	58,7	0,1481	69,8	0,1345	64,9
56	0,1316	67,1	0,1246	58,4	0,1481	71,5	0,1302	63,5
56	0,1316	66,0	0,1267	58,6	0,1481	70,7	0,1323	64,2
63	0,1302	64,2	0,1163	53,0	0,1433	67,6	0,1282	61,9
63	0,1220	62,2	0,1163	54,5	0,1345	65,0	0,1282	62,5
63	0,1261	63,2	0,1163	53,8	0,1389	66,3	0,1282	62,2

[] Ind: Concentración de Indicaxantina/g de yogurt; % Ret: Porcentaje de retención; PT-C: sistema pulpa de tuna con Capsul; PT-K: sistema pulpa de tuna con K4484; UF-C: sistema ultrafiltrado con Capsul; UF-K: sistema ultrafiltrado con K4484.

Apéndice VI. Evaluación de los parámetros de color por semana.

T	Pulpa	Ultra	Pulpa	Ultra		T	Pulpa	Ultra	Pulpa	Ultra	
Sem	Capsul	Capsul	K4484	K4484		Sem	Capsul	Capsul	K4484	K4484	
	L	L	L	L			C*	C*	C*	C*	
T0	75,86	75,91	76,47	76,34		T0	13,67	13,79	14,10	13,78	
T1	76,43	76,27	76,15	76,88		T1	13,41	13,54	13,68	13,05	
T2	76,64	76,48	76,48	77,10		T2	13,14	13,33	13,25	12,52	
T3	76,85	76,70	76,87	77,83		T3	12,87	13,11	12,69	11,61	
T4	77,38	76,94	77,21	78,24		T4	12,27	12,64	11,99	10,95	
T5	77,61	77,17	78,04	78,37		T5	11,66	12,07	11,36	10,55	
T6	77,63	77,30	78,01	78,64		T6	11,16	11,71	10,74	10,26	
T7	78,26	77,68	78,20	78,78		T7	10,68	11,23	10,34	9,95	
T8	78,80	77,99	78,45	78,73	T8	9,92	10,59	10,01	9,81		
T9	79,48	79,04	78,53	79,15	T9	9,29	9,89	9,82	9,53		
T10	79,72	79,12	78,54	79,20	T10	8,76	9,33	9,61	9,45		
T	Pulpa	Ultra	Pulpa	Ultra		T	Pulpa	Ultra	Pulpa	Ultra	
Sem	Capsul	Capsul	K4484	K4484		Sem	Capsul	Capsul	K4484	K4484	
	a*	a*	a*	a*			h°	h°	h°	h°	
T0	13,48	13,62	13,90	13,67		T0	350,56	351,11	350,30	352,54	
T1	13,27	13,42	13,52	13,00		T1	351,70	352,19	351,39	355,19	
T2	13,03	13,23	13,16	12,51		T2	352,83	353,07	353,37	357,15	
T3	12,79	13,04	12,65	11,61		T3	353,95	353,95	355,33	1,00	
T4	12,25	12,61	11,99	10,88		T4	356,52	355,82	359,18	6,68	
T5	11,66	12,06	11,35	10,37		T5	358,85	358,20	2,13	10,61	
T6	11,15	11,71	10,66	9,96		T6	1,39	0,52	7,22	13,91	
T7	10,66	11,21	10,15	9,47		T7	4,04	2,86	10,84	17,91	
T8	9,78	10,51	9,70	9,13	T8	9,33	6,92	14,24	21,60		
T9	9,03	9,71	9,37	8,58	T9	13,61	10,97	17,41	25,90		
T10	8,10	8,93	8,98	8,21	T10	22,50	16,83	20,85	29,66		
T	Pulpa	Ultra	Pulpa	Ultra		T	Pulpa	Ultra	Pulpa	Ultra	
Sem	Capsul	Capsul	K4484	K4484		Sem	Capsul	Capsul	K4484	K4484	
	b*	b*	b*	b*			ΔE	ΔE	ΔE	ΔE	
T0	-2,24	-2,13	-2,37	-1,79		T0	*	*	*	*	
T1	-1,93	-1,84	-2,05	-1,09		T1	0,69	0,51	0,71	1,11	
T2	-1,65	-1,61	-1,53	-0,62		T2	1,09	0,87	1,13	1,82	
T3	-1,36	-1,38	-1,03	0,20		T3	1,50	1,24	1,89	3,23	
T4	-0,75	-0,92	-0,17	1,27		T4	2,47	1,89	3,01	4,56	
T5	-0,23	-0,38	0,42	1,94		T5	3,23	2,66	4,09	5,38	
T6	0,27	0,06	1,35	2,47		T6	3,86	3,22	5,18	6,10	
T7	0,75	0,56	1,95	3,06		T7	4,77	4,02	5,98	6,86	
T8	1,61	1,28	2,46	3,61	T8	6,10	5,07	6,71	7,45		
T9	2,19	1,88	2,94	4,16	T9	7,25	6,42	7,28	8,32		
T10	3,35	2,70	3,42	4,67	T10	8,68	7,46	7,88	8,93		

Apéndice VII. Evaluación del cambio de color (ΔE) por semana.

Cuadro 15. Valores del cambio de color (ΔE) en el yogur para los sistemas PT-C, UF-C, PT-K y UF-K almacenados a 4°C.

Semanas	PT-C	UF-C	PT-K	UF-K
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
1	0,55	0,56	0,40	1,13
1	0,60	0,53	0,55	1,15
1	0,92	0,45	1,18	1,05
2	0,97	0,86	1,16	1,78
2	1,02	0,92	1,23	1,95
2	1,30	0,85	0,98	1,72
3	1,39	1,16	2,02	3,43
3	1,44	1,31	1,87	3,26
3	1,67	1,24	1,78	3,01
4	2,44	1,88	3,05	4,59
4	2,29	1,93	3,06	4,58
4	2,69	1,86	2,93	4,50
5	3,38	2,57	4,01	5,50
5	2,99	2,71	4,07	5,37
5	3,33	2,71	4,20	5,26
6	3,93	3,09	5,00	6,19
6	3,57	3,26	5,22	6,09
6	4,08	3,32	5,30	6,00
7	4,80	3,92	5,86	6,85
7	4,57	4,03	6,00	6,89
7	4,94	4,12	6,07	6,84
8	6,32	5,11	6,68	7,41
8	5,78	4,98	6,67	7,52
8	6,20	5,11	6,77	7,43
9	7,39	6,63	7,16	8,36
9	7,02	6,33	7,34	8,27
9	7,34	6,30	7,34	8,34
10	8,70	7,62	7,87	9,06
10	8,49	7,32	7,86	8,88
10	8,85	7,45	7,92	8,85

PT-C: sistema pulpa de tuna con Capsul; PT-K: sistema pulpa de tuna con K4484; UF-C: sistema ultrafiltrado con Capsul; UF-K: sistema ultrafiltrado con K4484.

Apéndice VIII. Otras investigaciones en frutos de cactus a nivel industrial.

En los últimos años se ha potenciado el uso industrial de las tunas, desarrollándose diversos productos como: mermeladas y jaleas, de alta aceptabilidad por el público siendo fuente natural de compuestos bioactivos (Nazareno, 2006), helados tipo “ice cream” usando concentrados de pulpa de frutos de cactus (*Opuntia ficus indica*) a distintas concentraciones en la mezcla (5, 10, 15%), determinando porcentajes de incremento de volumen de helado en relación a la cantidad de mezcla inicial utilizada (El-Samahy *et al.*, 2009) y elaboración de cervezas mediante el uso de jugo de *Opuntia dillenii* Haw (Dong *et al.*, 2004).

Piga *et al.* (2003), estudio el cambio en el contenido de polifenoles en frutos mínimamente procesados, almacenados a 4°C de *Opuntia ficus-indica* Mill. Cv. “Gialla”, por otro lado, Corbo *et al.* (2004), estudió el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la vida en estantería y sobre la calidad microbiológica de frutos de cactus mínimamente procesados.

También destaca el procesamiento térmico de néctar de pulpa de cactus enlatado realizado por El-Samahy *et al.* (2008), donde condiciones de 100,9°C por 20 minutos, evitan que se afecte la calidad del producto. La aplicación de la tecnología del proceso de extrusión en frutos de cactus y su utilización como ingredientes para la producción de productos alimenticios expandidos extruidos (Sarkar *et al.*, 2011).

Además, se han ensayado fluidos de frutos fermentados de *Opuntia ficus-indica* como aditivos alimentarios en dietas de peces en proporciones de hasta un 5% (Go *et al.*, 2007) y preservación de jarabes de frutos de cactus en el tiempo, mediante pasteurización a 80°C con variaciones en la inclusión de aditivos y temperaturas de almacenamiento (Kunyangga *et al.*, 2009).