



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD

**“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y PROPIEDAD
FUNCIONAL DE LA FIBRA DE CÁSCARA DE TUNA
PÚRPURA (*Opuntia ficus-indica*)
ULTRASONICADA PARA EL DESARROLLO DE
UNA GELATINA”**

Tesis que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS Y DE LA SALUD

Presenta:

L.N. SALVADOR MANZUR VALDESPINO

Dirigido por:

**DRA. NELLY DEL SOCORRO CRUZ CANSINO
MTRA. ZULI GUADALUPE CALDERÓN RAMOS**

San Agustín, Tlaxiaca Hgo.

Octubre de 2017

ACTA DE IMPRESIÓN DE TESIS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
Instituto de Ciencias de la Salud
School of Health Sciences
Área Académica de Medicina
Department of Medicine
Maestría en Ciencias Biomédicas y de la Salud

19/SEPTIEMBRE/2017
AAM/MCBS/081/2017
Asunto: Asignación de Jurado de Examen

Salvador Manzur Valdespino
Alumno de la Maestría en Ciencias Biomédicas y de la Salud

Por este conducto le comunico el jurado que le fue asignado a su Tesis titulada "Capacidad antioxidante y propiedad funcional de la fibra de la cáscara de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) ultrasonificada para el desarrollo de una gelatina" con el cual obtendrá el **Grado de Maestro en Ciencias Biomédicas y de la Salud**; después de revisar la tesis mencionada y haber realizado las correcciones acordadas, han decidido autorizar la impresión de la misma.

A continuación, se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del jurado:

PRESIDENTE	DR. ERNESTO ALANIS GARCÍA
PRIMER VOCAL	DRA. NELLY DEL SOCORRO CRUZ CANSINO
SECRETARIO	DRA. ESTHER RAMÍREZ MORENO
SUPLENTE	M.N.H. ZULI CALDERÓN RAMOS
SUPLENTE	DR. JOSÉ ALBERTO ARIZA ORTEGA

Sin otro asunto en particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

Atentamente
"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

M.C. ESP. ADRIAN MOYA ESCALERA
DIRECTOR



DR. LYDIA LÓPEZ RONTIGO
COORDINADORA DE POSGRADO ICSA

DR. MANUEL SÁNCHEZ GUTIÉRREZ
COORDINADOR DEL PROGRAMA



Instituto de Ciencias de la Salud
Exhacienda la Concepción s/n Camino a Tilcuautla.
San Agustín Tlaxiaca, Hgo. C.P. 42160
Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 4308
mtria_bio_sal@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

Durante el desarrollo de estos estudios, se contó con una beca de manutención otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), número de beca 708817.

Durante el periodo octubre – noviembre de 2016 se realizó una estancia internacional de investigación en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid (España), apoyada por Beca Mixta del CONACyT.

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a Dios, por ser tan generoso conmigo, dándome la oportunidad de seguir estudiando y concluir este ciclo.

Este trabajo lo dedico especialmente a mi mamá, por ser mi guía y apoyo, la fuerza que me motiva para superarme y poder llegar algún día a ser un gran ser humano como ella lo es, gracias por escucharme y creer en las ideas locas que se meten en mi cabeza. Agradezco a mi hermana Belen, por su apoyo incondicional y por estar siempre conmigo apoyándome y animándome.

De manera especial doy las gracias a la Doctora Nelly, por su tiempo, su apoyo y los esfuerzos realizados para sacar adelante este trabajo a pesar de los dolores de cabeza que le llegué a ocasionar. Gracias a la Doctora Esther y a la Doctora Ma. de Cortes, por su apoyo para realizar la estancia en Madrid, experiencia que me sirvió para crecimiento profesional y personal. Agradezco también al Doctor Ernesto, por todo su apoyo, del mismo modo a la Maestra Zuli y al Doctor Ariza.

A Mariel, por ser mi compañera en esta aventura y mi amiga inseparable, como desde hace ocho años, por escucharme, ayudarme y estar junto a mi durante estos dos años llenos de momentos inolvidables. Gracias a mis amigos Óscar Márquez y Mayra, que estuvieron siempre dispuestos a escucharme y darme ánimos.

Gracias a todas las personas maravillosas que conocí en esta etapa, ya que sin ellas nada hubiera sido lo mismo, a André, a Quina y Alicia por sus enseñanzas, a Aracely y Tania, y a mis compañeros de generación.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
ANTECEDENTES	6
I. GENERALIDADES	6
1.1 <i>Opuntia ficus-indica</i>	6
1.2 Tuna.....	7
1.2.1 Descripción morfológica de la tuna	8
1.2.2 Distribución, producción y comercialización	8
1.2.3 Usos de la tuna	10
1.2.4 Composición de la tuna	11
1.3.1 Composición de la cáscara de tuna	12
1.3.2 Propiedades antioxidantes de la cáscara de tuna	14
1.3.2.1 Betalainas	15
1.3.2.2 Ácido ascórbico.....	15
1.3.2.3 Fenoles	17
1.3.3 Antioxidantes y fibra dietética de la cáscara de tuna.....	17
1.3.4 Fibra dietética en la cáscara de tuna	18
1.3.4.1 Propiedades funcionales de la fibra dietética.....	19
1.3.4.2 Importancia de las propiedades funcionales de la fibra en la salud	20
1.4 Métodos de extracción.....	21
1.4.1 Tecnologías no convencionales.....	21
1.4.2 Ultrasonido.....	21
1.5 Gelatinas.....	23
1.5.1 Productos elaborados con residuos de fruta.....	24
II. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA	25
III. MARCO TEÓRICO.....	26
IV. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	27
V. JUSTIFICACIÓN.....	28
VI. OBJETIVOS.....	29

6.1 Objetivo General.....	29
6.2 Objetivos específicos.....	29
VII. HIPÓTESIS.....	30
VIII. DISEÑO METODOLÓGICO.....	31
IX. METODOLOGÍA.....	34
9.1 Obtención de la materia prima.....	34
9.2. Extracción por ultrasonido.....	34
9.2. Separación de fases.....	34
9.2.3 Obtención de la condición óptima de extracción.....	35
9.3 Elaboración de la gelatina.....	36
9.4 Metodologías.....	36
9.4.1 Propiedades funcionales de la fibra.....	36
9.4.2 Betaninas y betaxantinas.....	37
9.4.3 Ácido ascórbico.....	37
9.4.4 Compuestos fenólicos totales.....	38
9.4.5 Actividad antioxidante por el método de ABTS.....	38
9.4.6 Actividad antioxidante por el método de DPPH.....	39
9.4.7 Contenido de ácidos orgánicos por HPLC.....	39
9.4.8 Índice de retención de glucosa (IRG) por HPLC.....	40
9.4.9 Determinación de pH.....	41
9.4.10 Acidez titulable.....	41
9.4.11 Sólidos solubles totales.....	42
9.4.12 Análisis microbiológico.....	42
9.4.13 Colorimetría.....	42
9.5 Diseño experimental.....	43
9.6 Análisis estadístico.....	44
X. RESULTADOS.....	45
10.1 Proceso de optimizado.....	45
10.1.1 Optimización mediante metodología de superficie de respuesta.....	45
10.1.2 Propiedades funcionales de la fibra.....	48
10.1.2.1 Capacidad de retención de lípidos (CRL).....	48
10.1.3 Antioxidantes.....	49
10.1.3.1 Betaninas.....	49

10.1.3.2 Betaxantinas	50
10.1.3.3 Ácido ascórbico.....	51
10.1.3.4 Fenoles totales.....	52
10.1.3.5 Actividad antioxidante por ABTS•	53
10.1.3.6 Actividad antioxidante por DPPH•	54
10.2 Optimización del proceso, comparación y reproducibilidad	55
10.2.1 Optimización de las condiciones de extracción por ultrasonido	55
10.2.2 Reproducibilidad del estudio	57
10.2.3 Comparación de la optimización por ultrasonido con la muestra control	58
10.2.3.1 Análisis microbiológico.....	58
10.2.3.2 Capacidad de retención de lípidos y propiedades antioxidantes	59
10.2.3.3 Análisis de ácidos orgánicos.....	60
10.2.3.4 Análisis del índice de retención de glucosa	61
10.3 Evaluación de la gelatina	62
10.3.1 Análisis físico químico de las gelatinas.....	63
10.3.2 Análisis microbiológico de las gelatinas.....	64
10.3.3 Propiedad antioxidante de la gelatina	65
XI DISCUSIÓN.....	66
11.1 Obtención del proceso de optimizado.....	66
11.1.1 Propiedades funcionales de la fibra de cáscara de tuna.....	66
11.1.2 Propiedades antioxidantes.....	67
11.1.2.1 Contenido de betaninas y betaxantinas	67
11.1.2.2 Contenido de ácido ascórbico.....	68
11.1.2.3 Contenido de fenoles totales	69
11.1.2.4 Actividad antioxidante por inhibición de los radicales ABTS• y DPPH• 70	
11.2 Comparación y reproducibilidad del estudio	71
11.2.1 Comparación de la optimización por ultrasonido con la muestra control 71	
11.2.1.1 Microbiología	71
11.2.1.2 Propiedad funcional de la fibra (CRL).....	71
11.2.1.3 Propiedades antioxidantes	72
11.2.1.4 Identificación de ácidos orgánicos	73
11.2.1.5 Identificación del índice de retención de glucosa.....	74
11.2.2 Reproducibilidad del estudio	74

11.3 Evaluación de las propiedades físicoquímicas y microbiológicas de la gelatina	75
XII. CONCLUSIONES	77
PERSPECTIVAS.....	79
BIBLIOGRAFÍA	80

ÍNDICE DE TABLAS

	Título	Pág.
Tabla 1	Peso relativo de los componentes del fruto de <i>Opuntia ficus-indica</i>	7
Tabla 2	Composición proximal del fruto de <i>Opuntia ficus-indica</i>	11
Tabla 3	Composición proximal de la cáscara de <i>Opuntia ficus-indica</i>	13
Tabla 4	Diseño experimental de tratamientos de ultrasonido	43
Tabla 5	Propiedades de fibra y antioxidantes a diferentes amplitudes de onda y tiempos de ultrasonido de acuerdo al diseño de superficie de respuesta.	46
Tabla 6	Coefficientes de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta de retención de lípidos y actividad antioxidante	47
Tabla 7	Comparación de los valores predichos y experimentales de las variables de estudio.	57
Tabla 8	Análisis microbiológico de la muestra control y la muestra optimizada	58
Tabla 9	Ácidos orgánicos de la muestra control y la muestra optimizada	60
Tabla 10	Propiedades físico químicas en las muestras de gelatina	63
Tabla 11	Determinación de color de las muestras de gelatina	64
Tabla 12	Análisis microbiológico de las muestras de gelatina	65
Tabla 13	Propiedades antioxidantes de muestras de gelatina	65

INDICE DE FIGURAS

N°	Título	Pág.
Figura 1	Planta de <i>Opuntia ficus-indica</i>	6
Figura 2	Frutos de <i>Opuntia ficus-indica</i>	7
Figura 3	Componentes del fruto de <i>Opuntia ficus-indica</i>	8
Figura 4	Principales estados productores de tuna a nivel nacional.	9
Figura 5	Principales municipios productores de tuna en el Estado de Hidalgo.	10
Figura 6	Estructura química de las betalaínas	15
Figura 7	Estructura química del ácido <i>L-ascórbico</i>	16
Figura 8	Estructura química del grupo fenol	17
Figura 9	Implosión de burbujas generada por ultrasonido	22
Figura 10	Diseño metodológico	31
Figura 11	Capacidad de retención de lípidos de la fibra	48
Figura 12	Contenido de betaninas	49
Figura 13	Contenido de betaxantinas	50
Figura 14	Contenido de ácido ascórbico	51
Figura 15	Contenido de fenoles totales	52
Figura 16	Actividad antioxidante por inhibición del radical ABTS	53
Figura 17	Actividad antioxidante por inhibición del radical DPPH	54

Figura 18	Gráficas de contorno de las pruebas realizadas	55
Figura 19	Condición óptima del proceso	56
Figura 20	Comparación de las diferentes pruebas entre la muestra control y la muestra optimizada	59
Figura 21	Índice de retención de glucosa por HPLC	61
Figura 22	Gelatinas elaboradas a partir de la cáscara de tuna púrpura optimizada por ultrasonido.	62
Figura 23	Lotes de gelatinas elaboradas para la comparación de sus propiedades	62
Figura 24	Ubicación de las muestras de gelatina en el diagrama de cromaticidad	64

RESUMEN

México es el principal productor de tuna a nivel mundial, sin embargo, su porción comestible es de tan sólo el 35 al 55%, generando una gran cantidad de desechos como las semillas y la cáscara, esta última puede aprovecharse para extraer fibra y antioxidantes, aplicando ultrasonido. El objetivo de este estudio fue optimizar el proceso de extracción acuosa por ultrasonido de la cáscara de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*), utilizando metodología de superficie de respuesta y la caracterización de las propiedades funcionales y antioxidantes del residuo de la extracción, para su utilización como aditivo nutricional en gelatina. Las cáscaras fueron congeladas, liofilizadas, molidas y tamizadas; se aplicó ultrasonido en el homogeneizado disuelto en agua en una proporción del 4% (p/v), a una temperatura de 25°C en condiciones de 70-80% de amplitud y tiempo de 3 a 13 minutos; posteriormente se centrifugó y se evaluó en el sedimento la capacidad de retención de agua (CRA) y lípidos (CRL), y en el sobrenadante las propiedades antioxidantes. Se obtuvo la condición óptima de proceso por la metodología de superficie de respuesta, se evaluó la reproducibilidad y comparó con la muestra control. La muestra optimizada se aplicó en la elaboración de una gelatina cubriendo el 86% y 93% de ingesta diaria recomendada (IDR) de vitamina C y fenoles, respectivamente. Se evaluaron las propiedades físico químicas (pH, acidez titulable, sólidos solubles y color), microbiológicas (recuento de microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias y esporas) y antioxidantes (betaninas, betaxantinas, ácido ascórbico, fenoles totales, ABTS y DPPH).

El coeficiente de regresión indicó que el tiempo fue el que influyó significativamente en el comportamiento de la mayoría de los parámetros evaluados, permitiendo obtener la condición óptima a $69 \pm 1\%$ de amplitud por 13 minutos observando 8.43 g/g, (CRL) 18.9 mg EB/100 g (betaninas), 10.06 mg EB/100 g (betaxantinas), 335 mg EAA/100 g (ácido ascórbico), 711.787 mg EAG/100 g (fenoles totales), 11174.86 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$ (ABTS) y 689.146 μmol

ET/100 g (DPPH). El proceso de optimización fue reproducible para todos los parámetros, excepto CRL.

La muestra optimizada por ultrasonido presentó una disminución de microorganismos comparado con el control, así como mayores valores de betalaínas, fenoles, actividad antioxidante por DPPH, ácido málico, ácido cítrico e índice de retención de glucosa.

La gelatina adicionada con el residuo ultrasonicado mostró buenas características antioxidantes por su contenido de betaninas (1.23 mg EB/50 mL), betaxantinas (1.68 mg EB/50 mL), ácido ascórbico (154.67 mg EAA/50 mL), fenoles totales (4475.09 mg EAG/50 mL), un pH ligeramente ácido (3.71), baja cantidad de sólidos solubles (14.83 °Brix), ABTS (1.70 μ mol ET) y 138.5 μ mol ET (DPPH) con una coloración rojiza-amarilla, además este producto presentó una total inactivación de microorganismos.

La utilización de los residuos de cáscara de tuna púrpura llevando a cabo extracción por ultrasonido, mejora la obtención de compuestos antioxidantes y fibra con propiedades de interés fisiológico, que al incorporarlo en un producto comestible se espera aporte beneficios a la salud humana previniendo enfermedades ocasionadas por la baja ingesta de fibra y algunas relacionadas al estrés oxidativo.

Palabras clave: Antioxidantes, cáscara, gelatina, *Opuntia ficus-indica*, tuna, ultrasonido.

ABSTRACT

Mexico is the main producer of prickly pear worldwide, however, its edible portion is only 35% to 55%, generating a lot of waste such as seeds and peel, that one could be used to extract fiber and antioxidants applying ultrasound. The objective of this study was optimize the process of aqueous extraction by ultrasound of purple prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) peel through response surface methodology on characterization of antioxidant and functional properties and its addition in jelly. Peels were frozen, lyophilized, milled and sieved; ultrasound was applied to powder dissolved in water at a proportion of 4% (w/v) at temperature of 25°C in conditions of 70-80% of amplitude and time of 3 to 13 minutes; after was centrifuged to evaluate the pellet the water (WRC) and lipid retention capacity (LRC), and the antioxidant properties were evaluated in the supernatant. The optimum process condition was obtained and reproducibility was evaluated, as well as was compared with control sample. Optimized sample was applied in the elaboration of a gelatin, covering 86% and 93% of the dietary reference intake (DRI) of vitamin C and phenols respectively. On this product were evaluated physicochemical properties (pH, titratable acidity, soluble solids and color), microbiology (total count, enterobacteria and spores) and antioxidants.

In the regression coefficient indicated the time was the parameter that had significant influence in the most of the determinations (lipid retention capacity, betanins, betaxanthines, ascorbic acid, content of phenols and DPPH). The optimal condition was obtained at $69 \pm 1\%$ amplitude for 13 minutes, obtaining 8.43 g / g, 18.9 mg BE/100g, 10.06 mg BE/100 g, 335 mg AAE/100 g, 711,787 mg GAE/100 g, 11174.86 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$, and 689,146 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$ in LRC, betanins, betaxanthines, ascorbic acid, total phenols, ABTS, and DPPH, respectively. The optimization process was reproducible for all parameters except LRC.

The ultrasonicated sample had a decrease of microorganisms compare with control sample, and showed high values of betalains, total phenols, antioxidant activity by DPPH, higher concentrations of citric and malic acid, and more glucose retention index.

Gelatine elaborated with ultrasonicated residue showed a slightly acid pH (3.71), a low amount of soluble solids (14.83 °Brix), reddish-yellow coloration; a total inactivation of microorganisms and antioxidant values of 1.23 mg BE (bethanins) 1.68 mg BE (betaxanthins) 154.67 mgAAE (ascorbic acid) 4475.09 mg AGE (phenol content) 1.70 $\mu\text{mol TE}$ (ABTS) and 138.5 $\mu\text{mol TE}$ (DPPH), per 50 mL.

By performing ultrasonic extraction in the peel of purple prickly pear, the properties of fiber and antioxidants are potentiated and when gelatin is developed from the ultrasonicated peel, it takes maximum advantage of the fruit and is expected to contribute to human health by preventing diseases caused by low fiber intake and those related to oxidative stress.

Keywords: Antioxidants, fiber, gelatin, peel, *Opuntia ficus-indica*, prickly pear, ultrasound.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe un creciente interés por incluir en la dieta componentes bioactivos que aporten beneficios a la salud, como las frutas y hortalizas. Un fruto de consumo tradicional es la tuna (*Opuntia ficus-indica*), proveniente del nopal (*Opuntia spp*) el cual ha despertado gran interés científico, debido a que además de su valor nutricional, ha demostrado que ayuda a disminuir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, oculares, neurológicas, cáncer entre otras.

El procesado y el consumo de la tuna genera gran cantidad de desechos como semillas y cáscaras, esta última representa una porción importante del fruto, entre el 40 y 50% del peso total, constituyendo además una fuente de compuestos de interés nutricional, como fibra, fenoles y betalaínas.

Estos desechos podrían ser una alternativa para el desarrollo de complementos o aditivos en la industria alimentaria. Existen tecnologías emergentes que facilitan la liberación de los compuestos en los tejidos vegetales, sin que se vean afectadas las propiedades organolépticas o nutricionales. Una de ellas es el ultrasonido, que produce ondas de choque generadas por la transferencia de energía acústica, que colisionan entre sí ocasionando la ruptura de las membranas celulares.

Diversos estudios donde se aplica ultrasonido en extractos de tuna púrpura, demuestran las ventajas de la aplicación de esta tecnología, entre ellas una mínima pérdida de sabor, mayor estabilidad física, inactivación microbiana, liberación de compuestos antioxidantes y mayor vida útil. La aplicación del ultrasonido en dichos residuos favorece la extracción de los compuestos antioxidantes e inhibe la actividad microbiana. Estos extractos pueden ser utilizados en diferentes alimentos como aditivos con excelente capacidad antioxidante, y propiedades relacionadas con el contenido de fibra, para la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como el estreñimiento, constipación, diabetes, hipertensión, Alzheimer, cáncer, entre otras.

ANTECEDENTES

I. GENERALIDADES

1.1 *Opuntia ficus-indica*

El nopal (*Opuntia ficus-indica*) (figura 1) es una planta arbustiva perteneciente al género *Opuntia* de la familia *Cactaceae* (1), nativa de las regiones áridas y semiáridas de México, que se propagó a regiones como el mediterráneo y África del Norte (2). Son plantas suculentas arborescentes, arbustivas o rastreras y se caracterizan por tener tallos o cladodios en forma de paletas, son planos, suculentos y articulados, llamados comúnmente pencas que alcanzan de 60 a 70 centímetros de longitud (3).



Figura 1. Planta de *Opuntia ficus-indica*

El género *Opuntia* abarca alrededor de 1500 especies de cactus, muchos de ellos producen tallos y frutas tiernas comestibles (3) la parte tierna del tallo o cladodio, es resistente a las altas temperaturas (hasta 60 °C) (4) y a periodos prolongados de sequía (1), se consume con frecuencia como un vegetal para ensaladas, siendo un elemento de uso común en la cocina mexicana, con un consumo per cápita estimado de 10 a 17 g/persona/día (3).

En la mayor parte del mundo la planta florece una vez al año; el fruto llamado tuna se consume como fruta fresca de temporada (figura 2) (1).



Figura 2. Frutos de *Opuntia ficus-indica*

1.2 Tuna

La tuna (*Opuntia ficus-indica*) es un fruto de la familia de las Cactáceas que posee gran diversidad de formas, tamaños y colores tales como el blanco, amarillo, rojo y púrpura (5), los cuales se deben a la combinación de pigmentos provenientes de las betalaínas, el rojo-púrpura de las betaninas y el amarillo-naranja dado por las indicaxantinas (6), es caracterizado por poseer una pulpa carnosa y jugosa entremezclada con un gran número de pequeñas semillas, y rodeados por una cáscara gruesa con pequeñas espinas (7), cuyo peso proporcional aproximado se detalla en la tabla 1, donde se aprecia que la cáscara representa una fracción importante del peso total del fruto, al ser el que obtiene un mayor porcentaje.

Tabla 1 Peso relativo (%) de los componentes del fruto de *Opuntia ficus-indica*

Pulpa	28-58
Cáscara	37-67
Semillas	2 -10

Fuente modificada de: Jiménez-Aguilar et al. (7).

1.2.1 Descripción morfológica de la tuna

El fruto usualmente es turbinado, esférico, cilíndrico o elíptico, brillante, de amarillo pálido a rojo púrpura, menos frecuentemente en combinación de amarillo-verde o amarillo-rojo, con un largo de 7 a 9 cm y de 5 a 6 cm de anchura y un peso aproximado de 86 a 146 g. Como se observa en la figura 3, la pulpa se presenta del mismo color que la cáscara, siendo jugosa y de ligeramente a muy dulce (12.4-15.5 °Brix); y con semillas lenticuladas o elipsoidales, presentando de 188 a 335 por fruto (8).

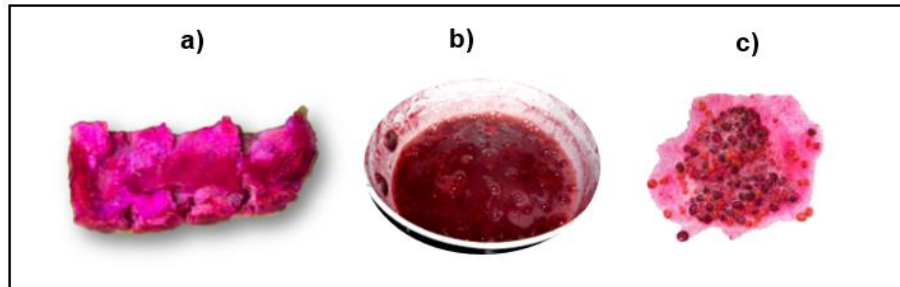


Figura 3 Componentes del fruto de *Opuntia ficus-indica*:
a) Cáscara; **b)** Pulpa; **c)** Semillas

Debido a su resistencia a las adversidades climáticas, es ampliamente producida en regiones áridas y semiáridas de México y el mundo (9).

1.2.2 Distribución, producción y comercialización

El fruto es originario de América y fue llevado por los españoles a Europa, y desde allí distribuido hacia otros países del mundo, lo que ocasionó el origen de muchos ecotipos con características locales propias (10); posee diferentes nombres según la región en la que se encuentre, es conocido como Prickly pear, Cactus pear, Cactus fruit (Estados Unidos), Fico d' India (Sicilia), Figo morisca (Cerdeña), Figo della barbarie (Italia); Higo chumbo (España y Francia); Tzabar (Israel); Kaktusfeigen (Alemania); Tapia (Marruecos) Turksupurug (Sudafica); Palma

forrageira (Noreste de Brasil); Mission cactus. (California) y Tuna en México y Latinoamérica (9).

En México su cultivo es altamente rentable (10), por lo que participan alrededor de 20 mil productores ocupando una superficie aproximada de 65,000 hectáreas y se concentra principalmente en tres regiones: Puebla (Acatzingo y Quecholác), Valle de México (Estado de México e Hidalgo) y el Altiplano Potosino-Zacatecano (Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, San Luis Potosí y Zacatecas) (figura 4); el rendimiento promedio es de alrededor de entre 5 y 20 toneladas por hectárea. La interacción genotipo-ambiente en cada región permite la maduración de los diferentes cultivares desde el mes de mayo hasta noviembre (11).



Figura 4. Principales Estados productores de tuna a nivel nacional

El estado de Hidalgo es uno de los centros de producción de tuna más importantes en el país, con una superficie promedio de cultivo de 5,255 hectáreas equivalente al 11.3% del total nacional. En la figura 5 se muestran las principales regiones productoras de tuna en Hidalgo, que son el Valle del Mezquital (Actopan, El Arenal, Ajacuba, Ixmiquilpan, Huichapan, Fco. I Madero) y el Altiplano hidalguense (Zempoala, Epazoyucan, Villa de Tezontepec, San Agustín Tlaxiaca, Singuilucan, Apan y Tlanalapa) (12).

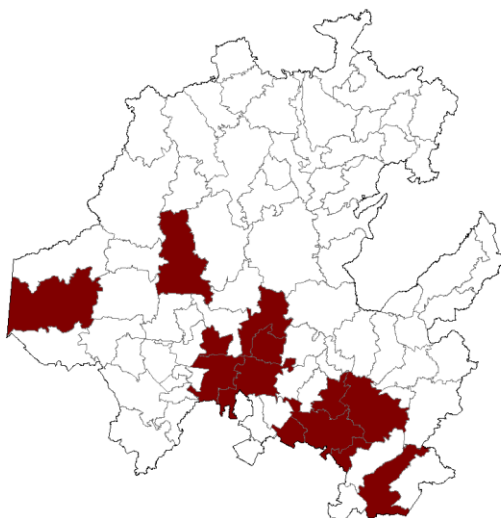


Figura 5. Principales municipios productores de tuna en el Estado de Hidalgo

La ventaja de la producción de tuna en el estado de Hidalgo, es que los centros de consumo más importantes son el Distrito Federal y el Estado de México, lo cual representa una ventaja geográfica siendo los meses de julio a septiembre el periodo en el que se concentra el 90% de la producción (12).

1.2.3 Usos de la tuna

Aunque la tuna es utilizada principalmente para el consumo humano (13), es empleada frecuentemente como forraje animal (14), además de ser utilizada para la elaboración de productos alimenticios como queso, mermeladas, enlatados, congelados, bebidas refrescantes en polvo, bebidas alcohólicas, yogurt, entre otros (15); el fruto ha sido utilizado también en la medicina tradicional y en la industria farmacéutica debido a la presencia de compuestos de interés nutricional y sus propiedades benéficas (16), además de su alto contenido de antioxidantes y fibra dietética (13).

1.2.4 Composición de la tuna

En la tabla 2 se muestra la composición proximal de los frutos enteros con espinas de *Opuntia ficus-indica*, siendo el agua el principal componente del fruto, sin embargo presenta variaciones en el contenido de humedad debido a la temporada, temperatura y humedad de la región, lo cual afecta el crecimiento de la raíz y repercute directamente en la absorción de nutrientes de la planta (4); de la misma manera la variación en el contenido de cenizas es ocasionada por la edad del fruto. La cantidad de proteínas presenta valores bajos, así como y el porcentaje de lípidos y de fibra, en cuanto al valor calórico se reportan cifras promedio de 3.77 kcal/g; en el contenido de azúcares totales hay grandes variaciones al respecto, lo cual depende de la temporada ya que los valores bajos indican que la muestra se recolectó durante una temporada más seca (17).

Tabla 2. Composición proximal (promedio \pm DE) del fruto de *Opuntia ficus-indica*

Contenido de humedad	87.07 \pm 0.86 %
Cenizas	4.03 \pm 0.52 %
Proteína	1.03 \pm 0.06 %
Grasa cruda	0.40 \pm 0.00 %
Fibra cruda	1.37 \pm 0.06 %
Valor calórico	3.77 \pm 0.06 Kcal/g
Azúcares	59.40 \pm 0.10 %
Carbohidratos	92.57 \pm 0.99 %
Vitamina C	5.17 \pm 0.06 mg/100 g
Mg	63.4 mg/100 g
Na	18.7 mg/100 g
K	108.8 mg/100 g
Ca	316.5 mg/100 g
Mn	37.8 mg/100 g
Fe	25.9 mg/100 g
Zn	12.6 mg/100 g
Cu	0.01 mg/100 g
P	0.05 mg/100 g

Fuente modificada de: Chiteva R, Wairagu N (17).

La intensidad de la luz durante la temporada de crecimiento influye en el contenido de vitamina C, a mayor intensidad mayor será la concentración del compuesto. Los minerales que se encuentran en mayor proporción son el calcio, potasio y magnesio, y no se reporta la presencia de minerales tóxicos, como el plomo o cadmio (7,17).

La tuna ha sido ampliamente estudiada debido a su importante contenido nutrimental, teniendo el potencial para proveer beneficios importantes a la salud, a pesar de ser la fracción que contiene mayor cantidad de compuestos fitoquímicos y antioxidantes son pocos los estudios que abordan el contenido y propiedades de las cáscaras (7).

1.3 Cáscara de tuna

Las porciones no comestibles de la tuna (semillas y cáscaras) han sido estudiadas para emplearlas como ingrediente adicional de productos elaborados a partir de la pulpa, siendo la cáscara la fracción que aporta mejor textura y sabor que las semillas (18). En los últimos años la producción y consumo de tuna ha ido en aumento, por lo que las cáscaras deben ser evaluadas para estudiar y conocer su potencial uso en la industria alimentaria, aportando propiedades nutricionales importantes (19).

1.3.1 Composición de la cáscara de tuna

La tabla 3 muestra la composición nutrimental de la cáscara de tuna, presentando mayor cantidad, lípidos y el doble de fibra dietética que lo reportado en la pulpa, con mayores concentraciones de minerales como calcio, magnesio, potasio, zinc y manganeso, y menores cantidades de sodio que la pulpa (19,20).

Tabla 3. Composición proximal
(promedio \pm DE) de la cáscara de
Opuntia ficus-indica

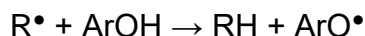
Humedad	90.33 \pm 0.21 %
Cenizas	3.05 \pm 0.15 %
Proteína	1.45 \pm 0.08 %
Lípidos	1.06 \pm 0.08 %
Carbohidratos	27.6 \pm 0.21 %
-Sacarosa	2.36 %
-Glucosa	21.0 %
-Fructosa	2.89 %
-Almidón	7.12 \pm 0.60 %
Fibra total	40.8 \pm 1.32 %
-	20.8 \pm 0.55 %
Hemicelulosa	
-Celulosa	71.4 \pm 1.99 %
-Pectina	7.71 \pm 1.45 %
-Lignina	0.06 \pm 0.01 %
Ca	2090 mg/100 g
Mg	322 mg/100 g
Na	<0.85 mg/100 g
K	3430 mg/100 g
P	0.064 mg/100 g
Fe	8.31 mg/100 g
Cu	<0.85 mg/100 g
Zn	1.70 mg/100 g
Mn	72.9 mg/100 g
Mb	<0.34 mg/100 g

Fuente modificada de: Salim et al. (18); El-Kossori et al. (19).

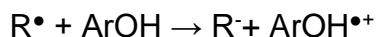
1.3.2 Propiedades antioxidantes de la cáscara de tuna

Los antioxidantes son sustancias químicas que impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, interactuando más rápido con los radicales libres y las especies reactivas del oxígeno, tanto en medios hidrofílicos e hidrofóbicos. (21,22). Los antioxidantes se clasifican en dos grupos, el sistema enzimático o endógeno, que se basa en un complejo de defensa que puede incluir la superóxidodismutasa, catalasa, glutatión peróxidasa, glutatión reductasa, entre otras; y el sistema no enzimático o exógeno, donde actúan compuestos como los flavonoides, vitamina E, vitamina C, vitamina A, carotenoides y algunos minerales (21,23).

Los antioxidantes ejercen su función mediante dos mecanismos; el primero se conoce como transferencia de átomos de hidrógeno, donde el radical libre elimina un átomo de hidrógeno del antioxidante (ArOH), que se convierte en un radical por la siguiente reacción (24):



En el segundo mecanismo se lleva a cabo la transferencia de un electrón, donde el antioxidante puede donar un electrón al radical libre, convirtiéndose así mismo en un catión radical (24):



Al llevar a cabo estas reacciones en el organismo, evitan la oxidación de sustancias que puedan provocar alteraciones fisiológicas, facilitando el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias para reducir los efectos del estrés oxidativo, por lo que la reposición de los agentes antioxidantes debe ser continua mediante la ingesta de alimentos (21,22), siendo la tuna una opción rica en compuestos antioxidantes como las betaninas y betaxantinas (25), ácido ascórbico (6) y compuestos fenólicos que actúan como agente antirradical (26).

Además de las propiedades nutricionales, son una fuente prometedora de mezclas biológicamente activas, principalmente de polifenoles y betacianinas, aunque también ha sido reportada la presencia de esteroides, betacarotenos, vitamina E y vitamina K, cuyos extractos tienen compuestos que permiten el barrido de radicales libres y propiedades anticancerígenas, por lo que su utilización como suplemento dietético tiene efectos positivos en la salud humana (27).

1.3.2.1 Betalainas

Las betalainas (figura 6) son fitoquímicos característicos de flores y frutos, de la familia *Cariophyllales*, del betabel, la tuna roja, y de algunos hongos superiores. Estos pigmentos son derivados de ácido betalámico y, dependiendo de los componentes enlazados a la estructura principal, aparecen como betaninas o betaxantinas (25), la primera cuando el grupo es 3,4-dihidroxifenilalanina que puede o no ser glicosilada, y la segunda si los grupos asociados de conjugación son aminoácidos o las aminas derivadas. (28).

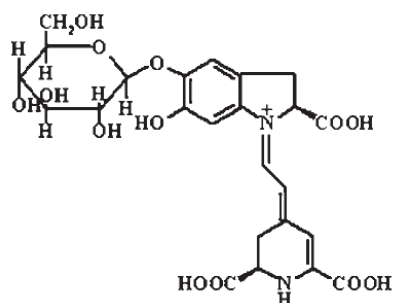


Figura 6. Estructura química de las betalainas (28).

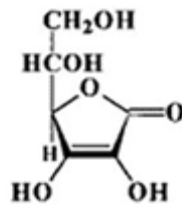
1.3.2.2 Ácido ascórbico

El ácido L-ascórbico (AA), comúnmente llamado vitamina C (figura 7), es uno de los agentes antioxidantes más potentes. Es una vitamina hidrosoluble esencial, sintetizada en los vegetales a partir de glucosa, mediante una serie de reacciones

catalizadas por enzimas, sin embargo, los humanos no pueden sintetizar AA debido a la ausencia de la enzima L-glucono-γ-lactona oxidasa (GLO) (29).

La deficiencia de esta vitamina ocasiona escorbuto, cuyas las manifestaciones clínicas son fatiga, mialgias, artralgias, púrpura vascular, síndrome hemorrágico, hemorragia gingival y pérdida dentaria. Los signos biológicos más evidentes son la anemia, hipocolesterolemia, hipoalbuminemia, hiperqueratosis folicular, hemorragias peri-foliculares, equimosis, edema y deficiencia en la cicatrización (29).

Las frutas y verduras son las principales fuentes de vitamina C y una de las principales reacciones bioquímicas del ácido L-ascórbico es destruir los radicales libres tóxicos (hidroxilo y perhidroxilo) resultantes de los productos metabólicos del oxígeno (30) y junto con otros agentes como los compuestos fenólicos actúan como reductores protegiendo los tejidos del cuerpo contra el estrés oxidativo (31).



Ácido L Ascórbico

Figura 7. Estructura química del ácido L ascórbico (29).

1.3.2.3 Fenoles

Los fenoles o compuestos fenólicos son compuestos orgánicos cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos a un grupo funcional hidroxilo (figura 8). Las clases principales de polifenoles se definen según la naturaleza de su esqueleto de carbono: ácidos fenólicos, flavonoides y los menos habituales estilbenos y lignanos (31). Los ácidos fenólicos son abundantes en los alimentos y existe gran interés debido a sus propiedades antioxidantes, su participación en procesos sensoriales y aplicaciones benéficas en la salud humana, este último como tratamiento y prevención de algunos tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras patologías de carácter inflamatorio (32).

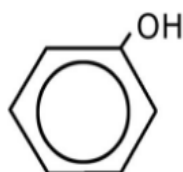


Figura 8. Estructura química del grupo fenol.

Por otro lado, los antioxidantes y la fibra dietética son dos componentes funcionales de los alimentos que suelen estudiarse por separado, sin embargo, una parte de los elementos bioactivos presentes en los compuestos vegetales están asociados frecuentemente a los componentes de la fibra dietética (33).

1.3.3 Antioxidantes y fibra dietética de la cáscara de tuna

Algunos antioxidantes como los polifenoles pueden estar asociados a la fracción insoluble de la fibra, y los polifenoles de menor peso molecular, así como los flavonoides, ácidos fenólicos o proantocianidinas, a la fibra soluble (34).

A partir de estudios realizados con materias primas altas en fibra y compuestos polifenólicos asociados como cáscaras de mango, naranja, pulpa de guayaba, orujo de uva blanca y uva roja, se definió el concepto de fibra antioxidante como aquella materia prima, con un elevado porcentaje de fibra dietética y

cantidades apreciables de antioxidantes naturales asociados a la matriz del conjunto de compuestos no digeribles (35). Desde un punto de vista nutricional, es importante tener en cuenta esta relación, ya que los compuestos antioxidantes asociados, pueden ser responsables de algunos beneficios que tradicionalmente se han atribuido a la fibra dietética (33).

La tuna por sí misma es una fuente importante de fibra, pues se ha reportado que en el fruto completo incluyendo la pulpa, semillas y cáscara se encuentra hasta un 1.32% de fibra dietética (17). Además, las investigaciones realizadas en las cáscaras de tuna recalcan su importancia como una fuente prometedora de antioxidantes y fibra, que al estar presentes en los residuos, no son aprovechados por la industria alimentaria o farmacéutica (25).

1.3.4 Fibra dietética en la cáscara de tuna

La fibra dietética (FD) es un componente importante en los alimentos por sus propiedades físicas, químicas y funcionales (36). La fibra es un conjunto de polímeros de carbohidratos no digeribles, provenientes de las paredes de células vegetales, que pasan a través del intestino delgado sin cambios, pero que se fermentan en el intestino grueso (37).

El consumo de dietas ricas en FD (>20g/día) puede reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular. Por cada 10 g/día de incremento en el consumo por fibra total habría una reducción del riesgo de episodios coronarios en un 14%. El consumo regular de entre 20-30 g/día de fibra total reduciría del 12 al 20 % el riesgo de enfermedades cardiovasculares (36).

Las recomendaciones actuales para una dieta saludable indican aumentar el consumo de fibra proveniente de frutas, vegetales y cereales integrales (36), puesto que cada gramo de fibra soluble a partir de una dosis de 10 g/día disminuiría en promedio 1.73 mg/dL el colesterol total y 2.21 mg/dL el colesterol LDL (38,39).

Según la solubilidad de las sustancias que la componen se divide en fibra dietética soluble e insoluble y se basa en su posible fermentación por la microbiota colónica: soluble sería igual a fermentable (pectinas, mucílagos, inulina y almidón),

e insoluble igual a no fermentable siendo excretada prácticamente íntegra en las heces (hemicelulosas, celulosas, lignina) (40).

Las fibras insolubles principalmente poseen gran capacidad para retener moléculas (propiedades funcionales o tecnológicas), favoreciendo la función intestinal (41).

La cáscara posee una importante cantidad de fibra dietética insoluble, como ocurre en la mayoría de las cáscaras de frutos (7). En algunos estudios se reportan concentraciones del 43 al 45 % de fibra dietética total, de los cuales, del 35 al 33 % es fibra insoluble y del 9 al 10 % fibra soluble (7), siendo aproximadamente el 20.8 % hemicelulosa, el 71.4 celulosa, el 7.71 % pectina y el 0.06 % lignina, lo que representa aproximadamente el doble de lo que aporta la pulpa (19). Tomando en cuenta lo anterior, en una tuna de 163 g (peso promedio de una tuna púrpura), se obtendrían aproximadamente 76.4 g de cáscara (46.9 % del peso del fruto), dando 32 g de fibra total (7), que permitirían cubrir más de la ingesta diaria recomendada (IDR) de fibra para una persona adulta, que es de 25 g/día (37), por lo que los desechos de la tuna son considerados una fuente de fibra de buena calidad, además de tener en su matriz gran cantidad de compuestos antioxidantes que se encuentran unidos a la estructura de la fibra (3).

1.3.4.1 Propiedades funcionales de la fibra dietética

La fibra juega un papel importante en todas las funciones del sistema digestivo, desde la masticación hasta la evacuación. Las dietas con un contenido en fibra elevado requieren más tiempo de masticación, haciendo más lenta la velocidad de deglución, lo que implica una mayor salivación que repercute en la mejora de la higiene bucal. A nivel estomacal las fibras solubles, como consecuencia de su viscosidad, enlentecen el vaciamiento gástrico y aumentan su distensión prolongando la sensación de saciedad; en el intestino delgado la fibra soluble enlentece el tiempo de tránsito y aumenta el espesor de la capa de agua que deben traspasar los solutos para alcanzar la membrana del enterocito (42).

Las propiedades funcionales de la fibra son las responsables de los efectos fisiológicos que desarrolla, y están influenciadas por la matriz estructural de la fibra, el tamaño de la partícula, la fuente, así como por el grado y el tipo de procesamiento llevado a cabo; son determinadas por lo general *in vitro* y sirven para dar una idea de su comportamiento *in vivo*, ya que en este medio están sometidas a un entorno fisiológico muy complejo y a una serie de mecanismos que pueden modificarla (43), cuando las fibras son utilizadas en la elaboración de alimentos, las propiedades fisicoquímicas influyen también en las características físicas de estos, especialmente cuando se usan como agentes gelificantes, espesantes o estabilizadores (44).

Algunas de las propiedades funcionales de la fibra son: la capacidad de retención de lípidos (CRL) y la capacidad de retención de agua (CRA). Consisten en la máxima cantidad de lípidos o agua en gramos, que puede ser retenida por cada gramo de material seco en presencia de un exceso de aceite o agua bajo la acción de una fuerza (44), las cuales además tienen efectos que permiten mejorar la salud gastrointestinal (37).

1.3.4.2 Importancia de las propiedades funcionales de la fibra en la salud

Las propiedades antes mencionadas juegan un papel importante en la salud humana. La CRA permite dar volumen a las heces aumentando el volumen del contenido intestinal, favoreciendo el peristaltismo, facilitando, el tránsito intestinal y la función evacuatoria, asimismo retiene sustancias tóxicas evitando que entren en contacto con la mucosa intestinal (45,46).

La CRL está relacionada con la excreción de esteroides y ácidos biliares, disminuyendo el colesterol LDL que está directamente relacionado con las enfermedades cardiovasculares, ayudando a prevenir y tratar padecimientos como, hiperglucemia, hipertensión, obesidad y ciertos tipos de cáncer (45). Las cáscaras de los frutos poseen mejores propiedades fisicoquímicas que la fibra soluble contenida en la pulpa, además de ser una prometedora fuente alimentaria de bajo aporte calórico (46).

1.4 Métodos de extracción

Debido al alto contenido de compuestos de interés nutricional que contienen los residuos de tuna, se han realizado métodos de extracción con solventes o en medio acuoso, para aplicarlos como aditivos, conservadores o complementos alimentarios (13), siendo más comunes en la actualidad los métodos en los que se aplican disolventes polares, temperatura o agitación para la extracción de compuestos (47,48), aunque también existen tratamientos tecnológicos no convencionales, que se fundamentan en la mejora de la eficiencia por acción física sobre el medio, además de ser inofensivas con el medio ambiente (49) y estar libres de solventes que impacten en la calidad de los alimentos o en la salud de los consumidores (50).

1.4.1 Tecnologías no convencionales

Las tecnologías emergentes presentan varias ventajas sobre los métodos convencionales, ya que pueden llevarse a cabo a bajas temperaturas y permiten la liberación de compuestos, la inactivación de enzimas y de microorganismos patógenos, sin generar contaminación, ni afectar de manera significativa el color, sabor y sus propiedades nutricionales. Entre ellas se encuentran las altas presiones hidrostáticas, pulsos de campos eléctricos y magnéticos de alta intensidad, irradiación, la ultra alta presión de homogeneización, el ultrasonido, entre otros (47,48).

1.4.2 Ultrasonido

El uso de ultrasonido como una tecnología alternativa a las tecnologías de procesamiento convencionales, ha captado gran interés debido a la disminución en el tiempo de procesamiento, lo que reduce el consumo de energía, aumenta la eficiencia y mejorar la vida útil y la calidad del producto. Estas mejoras son posibles

debido a la transferencia instantánea de energía acústica que penetra las membranas de los extractos de frutas (51).

Esta se caracteriza por ondas longitudinales que se producen cuando una onda sonora se encuentra con un medio líquido, creando regiones de compresión y explosión alterna (52), dichas regiones de cambio de presión causan cavitación que genera burbujas de gas, con un área superficial más grande durante el ciclo de expansión, lo que aumenta la difusión de gas haciendo que la burbuja se expanda, alcanzando un punto donde la energía ultrasónica suministrada no es suficiente para retener la fase de vapor en las burbujas, por lo que se produce una condensación rápida. Las moléculas condensadas chocan violentamente creando ondas de choque que originan implosión (figura 9) y zonas con temperaturas de hasta 5500 °C y presiones de 50000 kPa, que son las responsables del efecto bactericida (53).

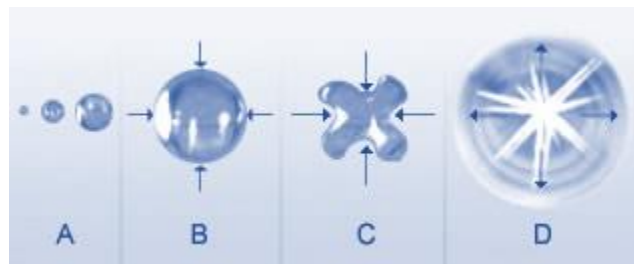


Figura 9. Implosión de burbujas generada por ultrasonido (54).

Estudios realizados en jugos de vegetales han demostrado las ventajas del uso de ultrasonido, siendo capaz de sustituir el tratamiento convencional, evitando la pérdida del sabor y la degradación de nutrientes, logrando además una mayor homogeneidad, la inactivación microbiana, mejorar la estabilidad física, la retención y liberación de compuestos antioxidantes (50,55).

1.4.3 Efecto del ultrasonido sobre los alimentos

Se ha aplicado también dicha tecnología en cáscaras de frutos como el tomate, granada, plátano, ciruela, uva, entre otros (56–59), reportando que el

tratamiento permite la liberación de compuestos antioxidantes, mejorando la actividad antirradical de los compuestos, para aprovechar los remanentes en forma de subproductos o aditivos alimentarios (59).

Se han realizado estudios de optimización por ultrasonido, permitiendo la condición óptima de proceso donde se obtienen mejores extracciones en los productos con propiedades de interés nutricional, evitando pérdidas de elementos de importancia nutrimental (50,60), que al producir la mejor respuesta posible y obtener alimentos con mejores propiedades, pueden representar opciones de consumo para la población (61) .

Estudios han reportado el uso de los residuos vegetales como complementos y productos comestibles como fibras comerciales, mermeladas, margarinas y gelatinas (13,61,62). Por lo que la elaboración de un producto de consumo habitual en la dieta, como la gelatina adicionada con cáscara de tuna ultrasonicada, permitiría que los consumidores puedan disponer de un producto en el que la cáscara aporte las propiedades organolépticas características del fruto, como color, sabor y olor.

1.5 Gelatinas

La Norma Oficial Mexicana NMX-F-041-1983 define el postre de gelatina como “el producto elaborado por la mezcla de azúcar refinada, gretina de grado comestible, con aditivos permitidos, deben cumplir con un color característico de acuerdo con la composición del producto, olor, sabor y aspecto agradable y característico del sabor del producto, el contenido de gretina de grado comestible debe ser del 8.0 %; sacarosa de 60%; humedad de 2 %; proteínas (N x 5.55) base seca de 7.0 ± 1 %; acidez (ácido cítrico) base seca de 3.0 % y cenizas de 3.0 %. El producto no debe contener microorganismos patógenos, toxinas o inhibidores microbianos, ni otras sustancias tóxicas que puedan afectar la salud del consumidor o provocar el deterioro del producto; debe estar libre de: fragmentos de insectos, pelo o excretas, así como de cualquier materia extraña; además no deberá contener ningún contaminante químico en cantidades que puedan representar un riesgo para la salud” (63).

Es común desarrollar gelatinas comestibles, adicionando fracciones de vegetales; por lo que al incluir los remanentes, representan una fuente agregada de fibra y antioxidantes (61).

1.5.1 Productos elaborados con residuos de fruta

Se han realizado estudios en los que adicionan los epicarpios de frutos como el plátano y el mamey en productos de gelatina, como una manera de lograr el aprovechamiento de los componentes del vegetal, lo cual conlleva a minimizar los desechos producidos por la industria alimentaria. Dichos productos, además de poseer características organolépticas que las hacen aceptables ante los consumidores aportan beneficios a la salud, reportando las concentraciones de antioxidantes y demás compuestos bioactivos presentes en ellos (61,62).

II. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

Actualmente no existen estudios que reporten el efecto del ultrasonido en las propiedades funcionales y antioxidantes de la fibra de cáscara de tuna; para la realización de este estudio, los antecedentes más cercanos fueron aquellas investigaciones en las que se reporta el contenido proximal de la cáscara (19), la evaluación de su capacidad antioxidante (27); y aquellos estudios donde se reporta el efecto de la aplicación de ultrasonido en cáscaras de jaborcabe (*Myrciaria cauliflora*) y tomate (*Lycopersicon esculentum*), donde se reporta el efecto del ultrasonido en las propiedades de la fibra y sobre los compuestos antioxidantes (56,64). De la misma manera, se revisaron las investigaciones en las que se ha aplicado ultrasonido en jugos de tuna (60) y aquellas en las que se aplica tratamiento de ondas sónicas en cáscara de tuna para la cuantificación de antioxidantes (25).

Para el desarrollo de la gelatina adicionada con cáscara de tuna ultrasonicada, se tomaron en cuenta estudios llevados a cabo en gelatinas de grado alimenticio elaboradas a partir de residuos de plátano (*Musa acuminata*) (61) y de mamey (*Pouteria sapota*) (62), para obtener un producto con propiedades organolépticas agradables y alta actividad antioxidante aprovechando los remanentes de los frutos, apoyándose de la Norma Oficial Mexicana NMX-F-041-1983 (63), que establece los estándares de calidad para los productos de gelatina de sabores.

III. MARCO TEÓRICO

Para la industria alimentaria es importante conocer la concentración de compuestos bioactivos de cada uno de los constituyentes de los frutos u hortalizas, lo cual permitirá su máximo aprovechamiento. Los estudios realizados en remanentes de frutos como la tuna, pretenden evitar las pérdidas que representa para los productores el desechar la porción no comestible, ya que no son tomados en cuenta los beneficios que podrían aportar a la salud humana.

Las porciones no comestibles como las semillas y cáscaras tienen propiedades y compuestos de interés nutricional, por lo cual es necesario aplicar métodos emergentes amigables con el medio ambiente y libres de residuos. Como el ultrasonido, que no altera las propiedades físicas o sensoriales del alimento y permite la liberación de compuestos del medio intracelular, además de inactivar microorganismos.

Al propiciar la liberación de compuestos, aumentan las propiedades antioxidantes, lo cual podría mejorar sus propiedades como hipoglucemiante e hipolipemiante, ayudando además a prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como diabetes, hipertensión, Alzheimer, cáncer, y las relacionadas al bajo consumo de fibra dietética, debido a las propiedades funcionales de la fibra presente en la cáscara.

Es además de gran importancia poner al alcance del consumidor opciones saludables y accesibles, generando productos comerciales que favorezcan la salud por medio de la dieta.

IV. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La tuna es un fruto de temporada que forma parte de la dieta tradicional de los mexicanos, que derivado de su producción y consumo genera una gran cantidad de desechos.

Es necesario fomentar el aprovechamiento de los residuos de alimentos ricos en compuestos bioactivos, para prevenir enfermedades crónicas no transmisibles, ligadas al estrés oxidativo y también enfermedades que puedan tratarse a partir de las propiedades funcionales de la fibra dietética, que representen una opción de consumo para personas con dichos padecimientos.

Estudios realizados en el epicarpio de diferentes frutos, reportan la importancia del uso de las sustancias activas presentes en ellos. Además, en la actualidad hay un uso creciente de tecnologías emergentes como el ultrasonido, para la extracción de compuestos en los residuos, preservando sus propiedades, sin la necesidad de utilizar solventes para la extracción de compuestos.

Son pocas las investigaciones realizadas en los desechos como las cáscaras del fruto, que podrían ser una fuente prometedora y económica de fibra dietética y antioxidantes en alimentos de uso convencional.

V. JUSTIFICACIÓN

La tuna es un fruto que posee una cáscara gruesa, representando una porción importante del peso total, que es generalmente desechada o utilizada como forraje, sin embargo, podría ser aprovechada por las propiedades de su fibra y los antioxidantes asociados a ésta, además de sus propiedades como hipolipemiantes e hipoglucemiantes ya comprobadas.

Los estudios sobre las propiedades de la cáscara de tuna púrpura tratada por ultrasonido son pocos, y se desconoce su comportamiento al aplicar tecnologías emergentes para la extracción de compuestos, por lo que en este trabajo se analizó el tratamiento con ultrasonido, para obtener mejores propiedades, que se adicionen a un producto de consumo común, el cual permita que las propiedades de la cáscara sean aprovechadas no sólo en la temporada de producción de tuna. Además, el uso de tecnología emergente y amigable con el medio ambiente, permite mejorar y optimizar la extracción de compuestos, obteniendo un máximo rendimiento, ya que propicia la liberación de los compuestos atrapados en el interior de las células vegetales.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Optimizar el proceso de extracción acuosa por ultrasonido de la cáscara de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) utilizando metodología de superficie de respuesta y la caracterización de las propiedades funcionales del residuo de la extracción para su utilización como aditivo en una gelatina.

6.2 Objetivos específicos

- a) Obtener el **extracto acuoso y sedimento** de los tratamientos experimentales realizados en cáscara de tuna, por ultrasonido utilizando la metodología de superficie de respuesta, con amplitudes de 70 a 80 % y tiempo de 3 a 13 minutos.
- b) Hallar el punto óptimo de extracción por ultrasonido, para realizar la **reproducibilidad** del estudio y establecer comparaciones entre las muestras.
- c) Utilizar el extracto de cáscara de tuna optimizado por ultrasonido, para **elaborar una gelatina**, para evaluar sus propiedades físico-químicas, microbiológicas y antioxidantes.

VII. HIPÓTESIS

Al realizar optimización por ultrasonido aplicando la metodología de superficie de respuesta en cáscara de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*), obteniendo extractos con propiedades funcionales y antioxidantes, para elaborar una gelatina con propiedades benéficas para la salud humana.

VIII. DISEÑO METODOLÓGICO

La figura 10 describe la metodología empleada para este estudio, el cual se dividió en tres etapas; etapa 1 (Obtención del proceso de optimizado) figura 10.1, etapa 2 (Optimización del proceso, comparación y reproducibilidad) figura 10.2 y etapa 3 (Elaboración de gelatina a partir de extracto optimizado) figura 10.3.

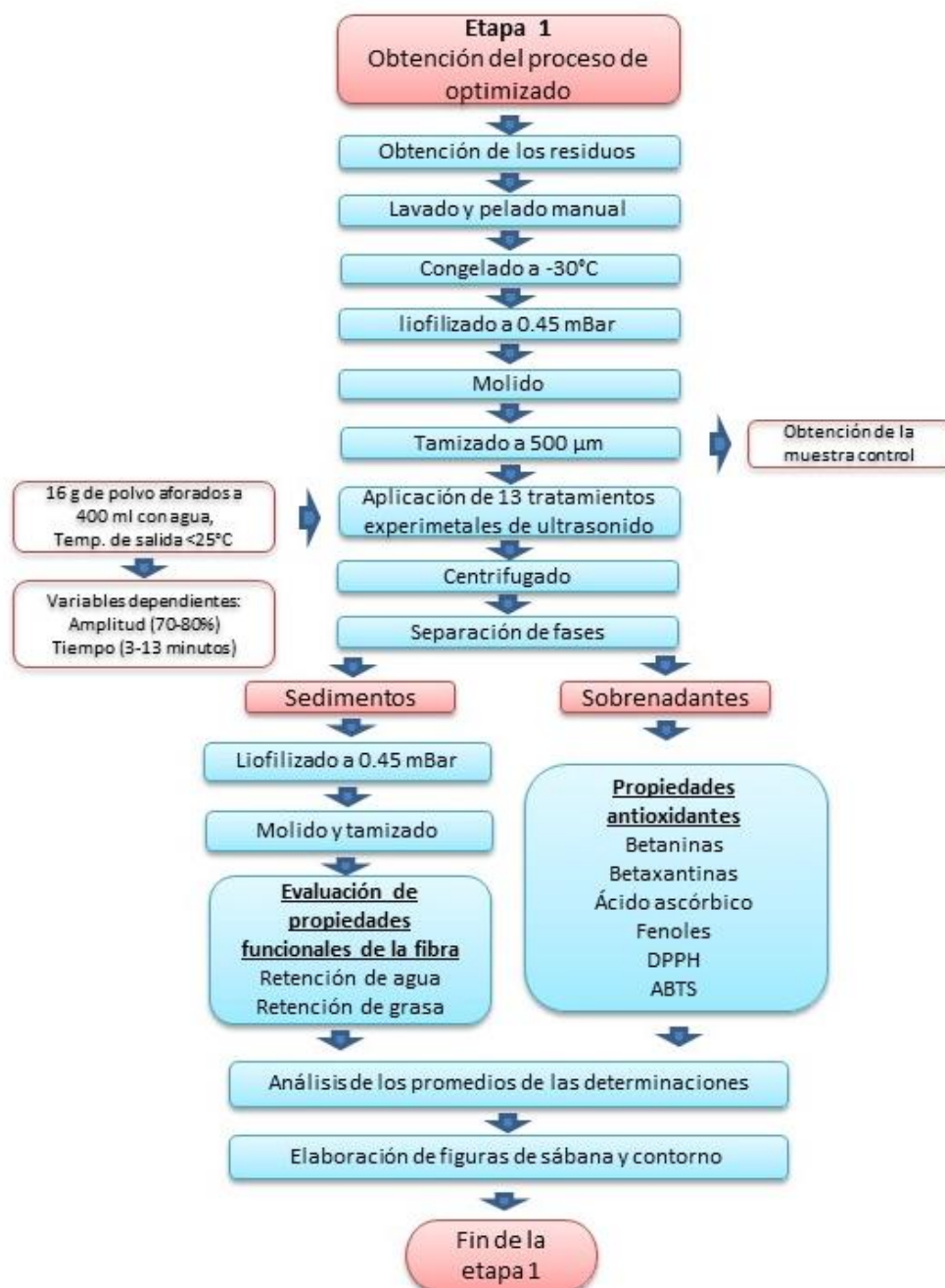


Figura 10.1 Diagrama del diseño metodológico (fase 1).

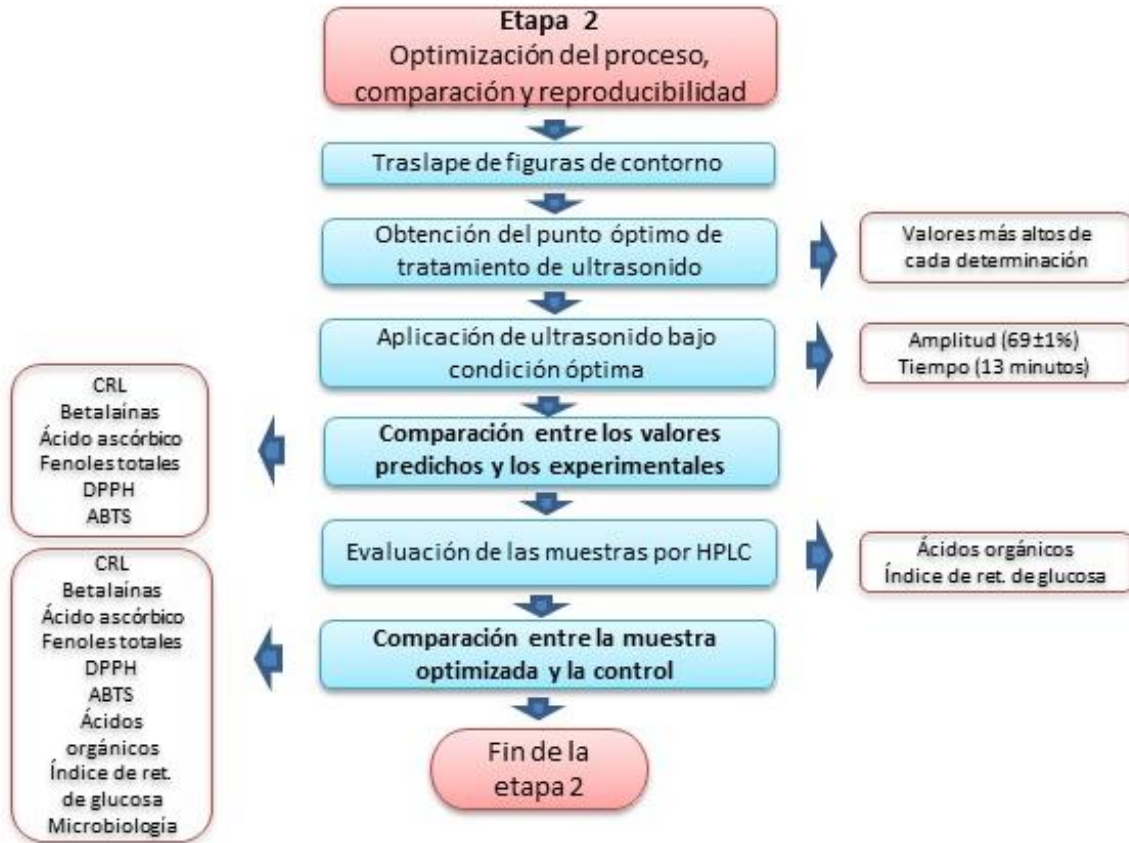


Figura 10.2 Diagrama del diseño metodológico (fase 2).

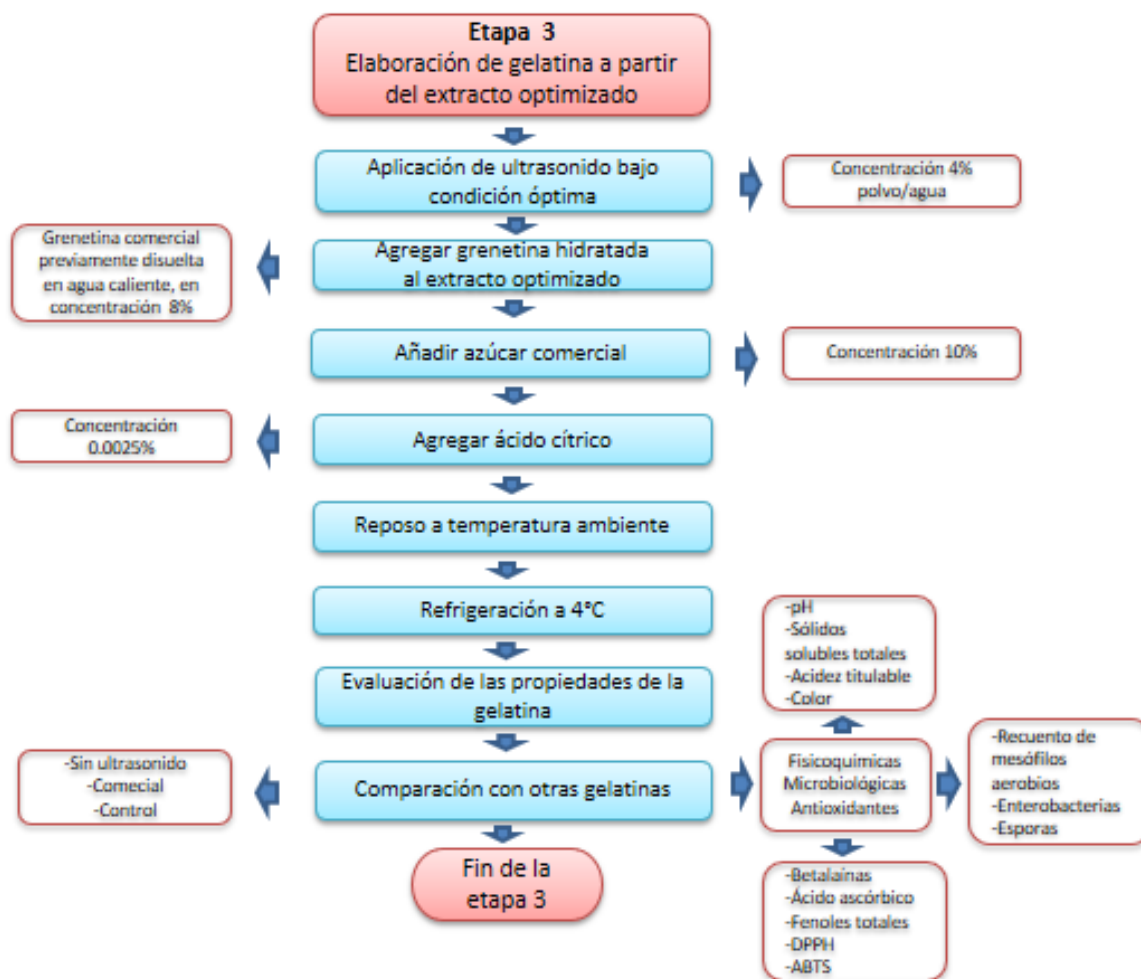


Figura 10.3 Diagrama del diseño metodológico (fase 3).

IX. METODOLOGÍA

9.1 Obtención de la materia prima

Las muestras de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) fueron proporcionadas por el Consejo Mexicano del Nopal y la Tuna (CoMeNTuna), ubicado en Actopan Hidalgo. Los frutos fueron lavados y pelados manualmente, separando el pericarpio del resto de los componentes y se descartaron todas aquellas piezas que presentaron lesiones externas.

Las cáscaras fueron congeladas a -30 °C, posteriormente picadas manualmente y liofilizadas (liofilizadora VWR26671-581 Labconco, USA). La muestra seca, fue molida (Waring Comercial Blender 38BL52 LBC10, USA), posteriormente homogeneizada tamizada para lograr un tamaño de partícula de 500 µm.

9.2. Extracción por ultrasonido

A partir de los tratamientos experimentales obtenidos de la metodología de superficie de respuesta, se mezclaron 16 g de muestra liofilizada y se aforó a 400 mL, homogeneizando manualmente, para llevar al procesador de ultrasonidos (VCX -1500, Sonics & Materials, Inc. Newtown, CT, USA) con una potencia de 1500 W, frecuencia constante de 20 kHz y tiempos de impulso de onda de 2 s de encendido y 4 s de apagado. En los diferentes tratamientos experimentales se controló la amplitud de onda (entre 70 y 80 %), el tiempo de sonicado (de 3 a 13 minutos) y la temperatura de salida <25 °C.

9.2. Separación de fases

La suspensión ultrasonicada fue centrifugada (Allegra 25TM, Beckman Coulter, California, USA) a 10000 rpm durante 25 minutos. Esta operación se realizó

para separar el sedimento, el cual fue liofilizado para la evaluación de propiedades funcionales de la fibra y en el sobrenadante se evaluó la actividad antioxidante.

9.2.3 Obtención de la condición óptima de extracción

Los promedios de los datos obtenidos fueron procesados, para realizar figuras de contorno de las determinaciones que se ajustaron al modelo matemático y posteriormente hacer un traslape de éstas, para obtener la condición óptima del proceso de ultrasonido.

9.3 Elaboración de la gelatina

Una vez obtenidas las condiciones óptimas de tratamiento se prepararon cuatro tipos diferentes de gelatina, para establecer comparaciones entre ellas.

- Gelatina A Con ultrasonido: A la muestra optimizada se le añadió azúcar de mesa (10 %), grenetina comercial (8 %) y ácido cítrico (0.0025 %).
- Gelatina B Sin ultrasonido: El polvo de cáscara homogeneizada fue disuelto en agua en una concentración del 16 % (p/v), añadiendo azúcar, grenetina y ácido cítrico en la misma proporción que la gelatina A.
- Gelatina C: Comercial: Se adquirió una gelatina marca Dany ® sabor frambuesa.
- Gelatina D: Control: Se preparó utilizando colorante vegetal comercial y añadiendo azúcar, grenetina y ácido cítrico en la misma proporción que la gelatina A.

9.4 Metodologías

9.4.1 Propiedades funcionales de la fibra

La capacidad de retención de agua (CRA) y capacidad de retención de lípidos (CRL) fueron medidas en los sedimentos liofilizados.

En tubos de centrífuga de 15 mL se pesaron 250 mg del sedimento tamizado a un tamaño de partícula 500 μm y se añadieron 10 mL de agua desionizada o aceite vegetal para dejar en reposo a temperatura ambiente por 24 hrs. Posteriormente fue centrifugada (Beckman Coulter Allerga 25r USA) a 3000 rpm por 25 min. El sobrenadante fue decantado y pesado en balanza analítica, para conocer la cantidad de agua o aceite que absorbió el polvo. La CRA fue reportada como gramos de agua / gramos de muestra seca. Para la CRL se utilizó aceite de soya y se reportó como gramos de lípidos / gramos de muestra seca (64).

9.4.2 Betaninas y betaxantinas

Se realizó diluyendo la muestra en agua desionizada en una proporción 1:10 y se colocaron 200 µL con un blanco de agua desionizada en microplacas. Se realizó la lectura por espectrofotometría (Power Wave XS UV-Biotek, USA), con una longitud de onda de 535 nm para cuantificación de betaninas (pigmentos rojos-púrpura) y de 480 nm para betaxantinas (pigmentos amarillos). El contenido de betaninas y betaxantinas se reportó como miligramos equivalentes de betalaínas por litro (mg EB/L) y se calculó con la siguiente ecuación (26):

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

En donde:

A= Absorbancia a 535 o 480 nm

FD= Factor de dilución

PM= Peso molecular

ϵ = Coeficiente de extinción molar

l= Volumen de celda (0.316 cm³)

Coeficientes de extinción molar:

Betaninas: ϵ =60000 L/(mol cm). PM = 550 gr/mol

Betaxantinas: ϵ =48000 L/(mol cm).PM= 308 gr/mol (26).

9.4.3 Ácido ascórbico

Se preparó solución de 2,6-Diclorofenolindofenol con 3 mg de DCPI diluido en 250 mL de agua desionizada; solución de ácido oxálico con 1 g de ácido oxálico diluido a 250 mL de agua desionizada; solución de 5 mg de ácido ascórbico diluido con 100 mL de la solución de ácido oxálico antes preparada y con una solución amortiguadora (3 g de acetato de sodio aforado con 10 mL de ácido acético glacial y 7 mL de agua desionizada).

Se construyó una curva estándar de ácido ascórbico usando concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L (Ácido ascórbico / agua desionizada). La concentración se determinó por espectrofotometría y la absorbancia se midió a 520 nm en un lector de microplacas utilizando como blanco ácido oxálico.

Se tomaron 100 μL de muestra de cada uno de los tratamientos, se les adicionó 100 μL de amortiguador y 800 μL de DCPI en viales Eppendorf y se agitaron en Vortex. Se determinó la concentración de ácido ascórbico igual que en la curva estándar, el análisis se realizó por triplicado, expresando los resultados como mg equivalentes de ácido ascórbico por 100 gramos (mg EAA/100 g) (30).

9.4.4 Compuestos fenólicos totales

Se realizó utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu, aplicando una solución de 1 mL de Folin aforando a 10 mL con agua desionizada; solución de Carbonato de sodio (7.5 g en 100 mL de agua); solución de Ácido gálico (15 mg en 50 mL de agua). Se construyó una curva estándar de ácido gálico, con concentraciones de 0, 100, 200, 300 mg/L (Ácido gálico / agua desionizada). La concentración se determinó por espectrofotometría y la absorbancia se midió a 765 nm en un lector de microplacas utilizando como blanco agua desionizada.

Se tomaron 100 μL de muestra de cada uno de los tratamientos, se les adicionó 500 μL de folin y 400 μL de carbonato de sodio en viales Eppendorf y se agitaron en Vortex, dejando reposar 30 minutos. Se determinó el contenido de fenoles totales al igual que en la curva estándar, el análisis se realizó por triplicado, expresando los resultados como mg equivalentes de ácido gálico por 100 gramos (mg EAG/100 g) (26).

9.4.5 Actividad antioxidante por el método de ABTS

Se realizó preparando una solución de ABTS al 7 mmol (76.8 mg de ABTS diluido en 20 mL de agua desionizada), se agregó persulfato de potasio al 2.45 mMol, (6.6mg en 10 mL de agua); se dejó reposar por 16 horas y se realizó una dilución en agua desionizada, hasta obtener una lectura de absorbancia de 0.7 ± 0.1 a 754 nm. Se utilizó una curva estándar, con una solución con 3.75 mg de Trolox en 50 mL de etanol, realizando concentraciones de 0, 60, 120, 180, 240, 300 $\mu\text{mol/L}$

Se tomaron 20 μL de muestra y 980 μL de la dilución de ABTS, se dejó reposar 7 min y se realizó la lectura espectrofotométrica a 754 nm en el lector de microplacas. La actividad antioxidante se expresó como micro moles equivalentes de trolox por 100 gramos ($\mu\text{mol ET}/100\text{g}$) (65).

9.4.6 Actividad antioxidante por el método de DPPH

Se preparó una solución con 7.4 mg de DPPH aforando a 100 mL de etanol. Se utilizó una curva estándar de Trolox, en concentraciones de 0, 100, 200, 300 $\mu\text{mol ET}/\text{L}$. Se colocaron 100 μL de las muestras y 500 μL de la solución de DPPH, agitando en vórtex y dejando reposar durante una hora. Se midió la absorbancia del sobrenadante a 520 nm, utilizando el lector de microplacas.

La actividad antioxidante, se expresó en micro moles equivalentes de trolox por litro ($\mu\text{mol ET}/\text{L}$) (66).

9.4.7 Contenido de ácidos orgánicos por HPLC

El contenido de ácidos orgánicos individuales (málico, oxálico, cítrico y ascórbico) Fueron cuantificados por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), donde una cantidad de 500 mg polvo homogeneizado de cáscara de tuna púrpura fue puesta en 25 mL 4.5 % (p/v) de ácido meta-fosfórico, con agitación magnética (P-Selecta, Asincro) durante 15 min.

Los extractos se filtraron con papel filtro no. 1242; posteriormente se filtró a través de un cartucho de membrana PVDF de 0.45 μm , para inyección en HPLC (determinación de AA y ácidos orgánicos), mientras que se añadió otra alícuota de 3 ml de filtrado con 2.5 ml de 4 % (p/v) de L-cisteína, ajustada a pH 7 con K_2HPO_4 al 20 % (p/v), y se dejó reposar durante 5 minutos para permitir la reducción del ácido ascórbico a ácido dehidroascórbico.

Después se ajustaron de nuevo a pH 3 con 20 % (p/v) de ácido meta-fosfórico y se completó con agua destilada Hasta un volumen final de 10 mL, antes de la filtración a través de un cartucho PVDF 0.45 m para su inyección en el sistema

de cromatografía líquida (Micron analítica, Madrid, España), equipado con una bomba isocrática (modelo PU II), un inyector automático (AS-1555 Jasco, Japón), un inyector Sphereclone ODS (2) (250 x 4,60 mm, 5 μ m), una columna de Phenomenex, una capa UV visible, un detector (Thermo Separation Specta Series UV100); y usando el Software Cromanec XP (Micronec, España). La fase móvil fue 1,8 mM H₂SO₄ (pH = 2,6).

Para el análisis de ácido ascórbico se utilizó un flujo de 0,9 mL/min, con el detector de UV a 245 nm, mientras que las condiciones para los demás ácidos orgánicos fueron 0,4 mL/min y 215 nm. La identificación de cada compuesto se hizo comparando los tiempos de retención de cada pico cromatográfico con los de los productos estándar preparados a partir de ácido oxálico, málico, ascórbico y cítrico, diluidos en 4,5% (p/v) de ácido meta-fosfórico. La cuantificación se realizó mediante construcción de líneas de calibración para cada compuesto (67).

9.4.8 Índice de retención de glucosa (IRG) por HPLC

Para la determinación del IRG se utilizó un método que consiste en un proceso de diálisis. Las muestras utilizadas fueron previamente tratadas (etanol 80%, 60°C, 45 min) para eliminar los azúcares solubles. Posteriormente las muestras fueron centrifugadas por 15 min, a 300 G, los sobrenadantes fueron eliminados y los residuos fueron desecados a 60 °C durante 16 horas. Finalmente, los residuos libres de azúcares se homogeneizaron a un tamaño uniforme de partícula (0.5 mm).

Se utilizaron membranas de diálisis con una longitud de 17 cm (talla 9 91-4/81-3 cm Medicell International Ltd, London), las cuales fueron preparadas e hidratadas en un desecador a 100% de humedad relativa durante 1 h. Las bolsas de diálisis se llenaron con 7.5 mL de agua, conteniendo únicamente 18 mg de glucosa (control) o la misma cantidad de glucosa con 250 mg de la muestra de cáscara de tuna púrpura libre de azúcares. Las bolsas de diálisis fueron colocadas en un contenedor con 200 mL de agua para permitir la diálisis (agitación constante en baño de agua por 1 h a temperatura ambiente). Los dializados fueron

concentrados y reconstituidos en agua y acetonitrilo para realizar la cuantificación de glucosa por HPLC (68).

9.4.9 Determinación de pH

El pH de las muestras de gelatina tratadas y no tratadas se midió usando un medidor de pH digital (HANNA pH 210 USA). El cual se calibró con soluciones tampón comercial a pH 7.0 y 4.0. Se colocó 1 mL de gelatina aforado a 10 mL con agua desionizada en un vaso de precipitado, con un agitador magnético y se insertó el electrodo de pH (69).

9.4.10 Acidez titulable.

Se colocaron muestras de 1 mL en un matraz Herlenmayer de 50 mL y se aforó a 10 mL con agua destilada. Esta solución se tituló después utilizando NaOH 0.1 N normalizado (Sigma Aldrich, Dublín, Irlanda) hasta el punto final de fenolftaleína (pH 8.2). El volumen de NaOH se convirtió en g de ácido cítrico / 50 mL de y gelatina se calculó usando la siguiente ecuación (69):

$$TA = \frac{[V \times 0.1 \text{ N NaOH} \times 0.067 \times 100]}{m}$$

Donde:

V es el volumen de NaOH utilizado para la titulación.

m es la masa de la gelatina en gramos (69).

9.4.11 Sólidos solubles totales

Los sólidos solubles se midieron usando un refractómetro (Trading Co. Brix/ATC FG-113, Chincan) registrado como °Brix. Las mediciones se realizaron por triplicado, a temperatura ambiente y el prisma del refractómetro se limpió con agua desionizada después de cada análisis (69).

9.4.12 Análisis microbiológico

Se realizaron diluciones decimales por triplicado, en una solución de agua de peptona para la enumeración microbiana. El recuento de microorganismos aerobios mesófilos, se determinó en agar para métodos estándar (PCA), incubando a 30 °C durante 48 h (LSI-3016^a, Labtech, Korea). El recuento de enterobacterias se determinó en medio de glucosa biliar rojo violeta (VRBG) incubado a 37 °C durante 24 h. Para el recuento de esporas, las diluciones decimales en solución de agua de peptona se sometieron a un choque térmico a 80 °C durante 10 min, se enfriaron rápidamente en hielo y se vierte en placas de PCA. Los resultados se expresaron como logaritmo 10 de unidades de formación de colonias de por mililitro de muestra (\log^{10} UFC/mL) (70).

9.4.13 Colorimetría

Para llevar a cabo la evaluación colorimétrica, se colocaron alícuotas de gelatina en recipientes circulares con 10 mL cada una; el análisis se realizó con un equipo de colorimetría Minolta CM-80 (500 SM-508D, Japón), obteniendo tres coordenadas de color L^* , a^* , b^* . El instrumento fue calibrado de acuerdo a las instrucciones del fabricante y los valores de color se expresaron como L^* (blancura o luminosidad/oscuridad), a^* (rojo-verde) y b^* (amarillo-azul).

9.5 Diseño experimental

La optimización de los procedimientos se llevó a cabo mediante estadística de técnicas multivariantes, utilizando metodología de superficie de respuesta (RSM, por sus siglas en inglés: Response Surface Methodology), con el objetivo de hacer previsiones estadísticas, para optimizar simultáneamente los niveles de las variables y alcanzar el mejor sistema de rendimiento.

El diseño experimental empleado fue un diseño central rotatorio, compuesto por dos variables independientes, cada uno en cinco niveles, ordenados aleatoriamente (Tabla 4).

Tabla 4. Diseño experimental de tratamientos de ultrasonido

Nº	Patrón	Tiempo (min)	Amplitud (%)
1	0A	8	82
2	a0	1	75
3	++	13	80
4*	0	8	75
5	--	3	70
6*	0	8	75
7*	0	8	75
8*	0	8	75
9	-+	3	80
10*	0	8	75
11	A0	15	75
12	0a	8	68
13	+–	13	70

*Puntos centrales

Los niveles de variables independientes, es decir, el nivel de amplitud (X1 %) y tiempo de extracción por ultrasonido (X2, min) fueron seleccionados en base a los valores obtenidos en experimentos preliminares. Los niveles de amplitud (X1) fueron de 70 a 80 % y el tiempo de extracción (X2) de 3 a 13 min. Los valores codificados de las variables independientes fueron $-\alpha$, -1, 0, +1, $+\alpha$. El diseño arrojó 13 tratamientos, de los cuales 5 serán puntos centrales, 4 puntos factoriales y 4 puntos axiales, a una distancia de 1.414 de cada diseño central. El análisis de regresión se realizó sobre los datos de las variables dependientes obtenidos por triplicado como observaciones efectuadas por las condiciones de extracción y el

valor medio de cada atributo se tomó como la respuesta Y. Los datos experimentales fueron sometidos a análisis de regresión lineal múltiple utilizando JMP® 5.1 software estadístico (SAS Institute, Cary, NC, USA).

9.6 Análisis estadístico

Los valores predichos del optimizado fueron comparados con los valores experimentales y la comparación del optimizado con el control, fueron analizados por medio de una prueba de T de Student ($p < 0.05$).

Las muestras de gelatina fueron obtenidas por triplicado, se realizó un análisis unidireccional de varianza (ANOVA) y las diferencias entre medias (\pm desviación estándar, abreviado como: \pm DE), con una confiabilidad del 95%, utilizando el paquete estadístico SPSS versión 23 (SPSS® para Windows™ Chicago Illinois).

X. RESULTADOS

10.1 Proceso de optimizado

10.1.1 Optimización mediante metodología de superficie de respuesta

Los promedios de los valores obtenidos de las determinaciones realizadas en la cáscara de tuna homogeneizada y ultrasonicada se presentan en la Tabla 5.

Se aprecia que en la determinación de la capacidad de retención de agua (CRA) se presentaron valores de entre 10.40 y 14.26 g/g; y los valores obtenidos de capacidad de retención de lípidos (CRL) fueron de entre 6.93 y 8.42 g/g.

Para la determinación de pigmentos (betaninas y betaxantinas), se observaron valores de 15.50 a 19.30 y 7.54 a 11.81 mg EB/100 g respectivamente. En cuanto al contenido de antioxidantes, los valores de ácido ascórbico fueron de 221.59 a 335.23 mg EAA/100 g y de 639.13 a 811.23 mg EAG/100 g para el contenido de fenoles totales.

En la evaluación de la capacidad antioxidante por inhibición de los radicales ABTS y DPPH, se obtuvieron valores de entre 9563 a 11505 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ y de 661.00 a 788.00 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, respectivamente.

Tabla 5. Promedios de las determinaciones de propiedades de fibra y antioxidantes a diferentes amplitudes de onda y tiempos de ultrasonido de acuerdo al diseño de superficie de respuesta.

Trat	Min	Amp	CRA	CRL	Betaninas	Betaxantinas	Ácido Ascórbico	Fenoles	ABTS	DPPH
		(%)	(g/g)	(g/g)	(mg EB/100 g)	(mg EB/100 g)	(mg EAA/100 g)	(mg EAG/100 g)	(μ mol ET/100 g)	(μ mol ET/100 g)
1	8	82	14.2 \pm 0.23	7.6 \pm 0.92	18.00 \pm 1.35	9.77 \pm 1.33	250.00 \pm 11.02	667.66 \pm 18.03	9663 \pm 56	788.00 \pm 2.79
2	1	75	13.6 \pm 0.80	6.8 \pm 0.92	15.50 \pm 0.24	7.54 \pm 0.50	272.00 \pm 14.30	735.30 \pm 104.81	10380 \pm 54	703.00 \pm 45.10
3	13	80	12.5 \pm 0.46	7.9 \pm 0.12	17.40 \pm 1.34	11,81 \pm 1.64	255.68 \pm 9.93	639.13 \pm 15.63	9563 \pm 43	739.80 \pm 45.50
4	8	75	12.8 \pm 0.80	8.1 \pm 0.46	17.40 \pm 1.03	10.61 \pm 0.74	232.00 \pm 12.01	760.66 \pm 18.77	10000 \pm 10	767.00 \pm 6.21
5	3	70	14.1 \pm 0.46	7.1 \pm 1.67	16.96 \pm 1.07	8.58 \pm 1.20	250.00 \pm 13.58	684.65 \pm 25.43	10655 \pm 45	754.70 \pm 67.10
6	8	75	13.2 \pm 0.56	8.4 \pm 0.46	17.00 \pm 0.41	10.59 \pm 0.56	261.00 \pm 18.55	811.23 \pm 279.80	9600 \pm 77	730.00 \pm 49.60
7	8	75	13.6 \pm 0.80	8.4 \pm 0.46	17.70 \pm 1.35	10.32 \pm 1.47	244.32 \pm 14.89	787.59 \pm 6.84	10133 \pm 97	731.00 \pm 6.90
8	8	75	13.3 \pm 0.46	8.4 \pm 0.92	18.20 \pm 0.54	10.41 \pm 1.31	244.32 \pm 15.03	751.90 \pm 5.43	10205 \pm 10	745.00 \pm 12.70
9	3	80	12.0 \pm 0.80	7.9 \pm 0.92	17.24 \pm 1.02	8.13 \pm 1.45	316.00 \pm 6.69	768.75 \pm 51.64	10173 \pm 15	725.35 \pm 32.50
10	8	75	10.4 \pm 0.00	8.4 \pm 0.92	17.40 \pm 3.15	10.80 \pm 0.91	221.59 \pm 15.02	772.37 \pm 7.84	10205 \pm 10	770.00 \pm 13.80
11	15	75	12.6 \pm 0.52	8.4 \pm 0.46	17.50 \pm 2.10	11.37 \pm 3.15	306.00 \pm 29.48	659.06 \pm 16.43	10136 \pm 16	661.00 \pm 14.60
12	8	68	13.0 \pm 0.46	7.6 \pm 0.46	19.30 \pm 1.85	9.37 \pm 1.94	278.41 \pm 3.31	656.11 \pm 7.48	11505 \pm 16	768.00 \pm 46.70
13	13	70	13.8 \pm 0.92	8.3 \pm 0.46	18.69 \pm 2.58	9.98 \pm 2.15	335.23 \pm 4.72	731.07 \pm 5.66	11100 \pm 21	690.00 \pm 61.30
	R²		0.50	0.93	0.90	0.98	0.90	0.90	0.91	0.90

g/g (gramos por gramo); mg EB/100 g (miligramos equivalentes de betalainas por 100 gramos); mg EAA/100 g (miligramos equivalentes de ácido ascórbico por 100 gramos); mg EAG/100 g (miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 gramos); μ Mol ET/100 g (micromoles equivalentes de Trolox por 100 gramos).

La mayoría de las variables de respuesta se ajustaron al modelo matemático de superficie de respuesta, presentando una $R^2 \geq 0.90$, excepto para CRA que mostró una R^2 de 0.50 (Tabla 5).

Para realizar el análisis de regresión, se contemplaron únicamente las variables de respuesta que se ajustaron al modelo matemático, las cuales se presentan en la tabla 6.

Tabla 6. Coeficientes de regresión del modelo y significancia para las diferentes variables

Coeficientes	CRL	Betaninas	Betaxantinas	Ácido Ascórbico	Fenoles Totales	DPPH	ABTS
b_0 (intercepto)	9.02 ^a	17.54 ^a	10.54 ^a	240.64 ^a	776.75 ^a	748.6 ^a	10028.6 ^a
b_1 (tiempo)	0.4528 ^b	0.589 ^c	1.312 ^a	9.12	-23.877 ^d	-13.705 ^d	-63.71
b_2 (amplitud)	0.0193	-0.356 ^d	0.243 ^c	-6.71	1.061	6.091	-577.89 ^a
b_{12} (tiempo*amplitud)	-0.325 ^c	-0.392	0.57 ^b	-36.38 ^c	-44.01 ^c	19.787 ^d	-263.66 ^d
b_{11} (tiempo*tiempo)	-0.3275 ^c	-0.520 ^c	-0.517 ^b	27.33 ^c	-33.193 ^c	-33.93 ^b	102.63
b_{22} (amplitud*amplitud)	-0.3425 ^c	0.554 ^c	-0.459 ^b	14.93 ^d	-50.840 ^b	14.065 ^d	265.72 ^c

Niveles de significancia: a, $p < 0.0001$; b, $p < 0.001$; c, $p < 0.01$ y d $p < 0.5$

10.1.2 Propiedades funcionales de la fibra

10.1.2.1 Capacidad de retención de lípidos (CRL)

Los resultados del coeficiente de regresión, demuestran que la CRL fue influenciada significativamente ($p < 0.001$) por el tiempo en su término lineal (b_1), (Tabla 6), por lo que al incrementar el tiempo se obtuvo una mayor CRG (Figura 11).

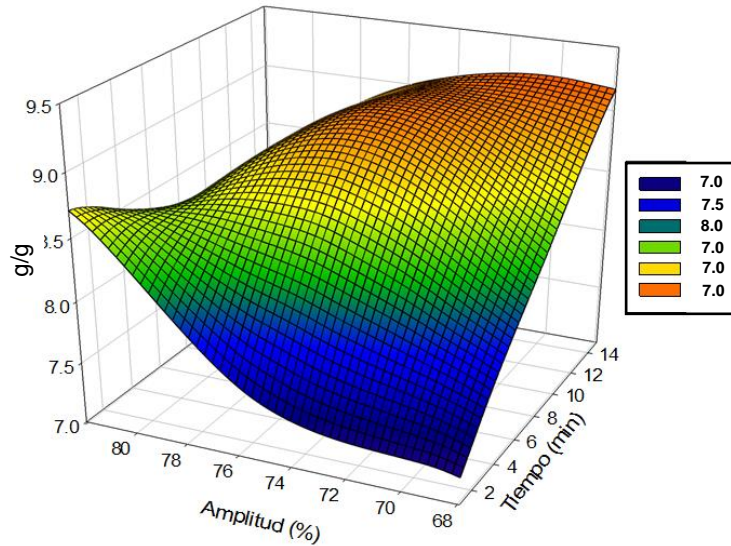


Figura 11. Capacidad de retención de lípidos de la fibra (g/g)

10.1.3 Antioxidantes

10.1.3.1 Betaninas

En el coeficiente de regresión en cuanto al contenido de betaninas, se vio influenciado por la interacción del tiempo en su término lineal (b_1) y cuadrático (b_{11}) ($p < 0.01$) (Tabla 6), esto indica que, al aumentar el tiempo de aplicación de tratamiento de ultrasonido, hubo mayor concentración del compuesto, pero un aumento prolongado del tiempo de sonicación propicia la pérdida del mismo (Figura 12).

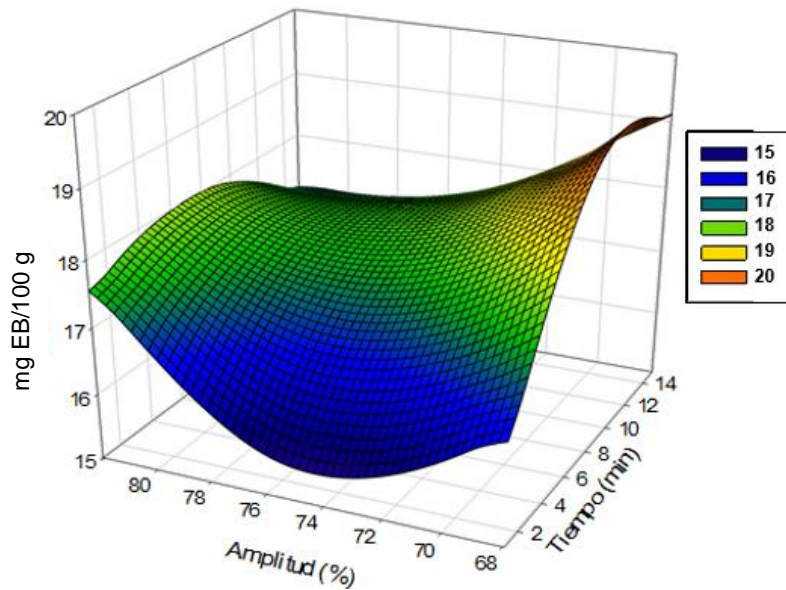


Figura 12. Contenido de betaninas (mg EB/100 g)

10.1.3.2 Betaxantinas

Del mismo modo en el contenido de betaxantinas, se pudo apreciar una influencia significativa ($p < 0.0001$) del tiempo (b_1) (Tabla 6) y de la interacción tiempo-amplitud (b_{12}) ($p < 0.001$), como lo expresa la figura 13, a mayor tiempo de aplicación de ultrasonido y mayor amplitud de onda, se apreció mayor contenido de betaxantinas.

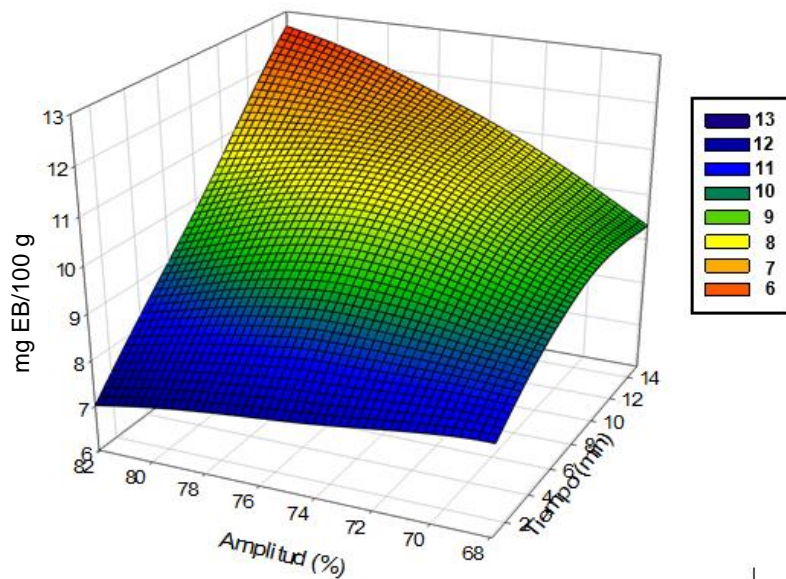


Figura 13. Contenido de betaxantinas (mg EB/100 g)

10.1.3.3 Ácido ascórbico

El coeficiente de regresión en cuanto al contenido de ácido ascórbico, indica que la interacción del tiempo con la amplitud (b_{12}) y el tiempo en su término cuadrático (b_{11}), presentaron influencia significativa ($p < 0.01$) (Tabla 6), esto quiere decir que a menor amplitud y mayor tiempo, así como a mayor tiempo, hubo mayor contenido de ácido ascórbico (Figura 14).

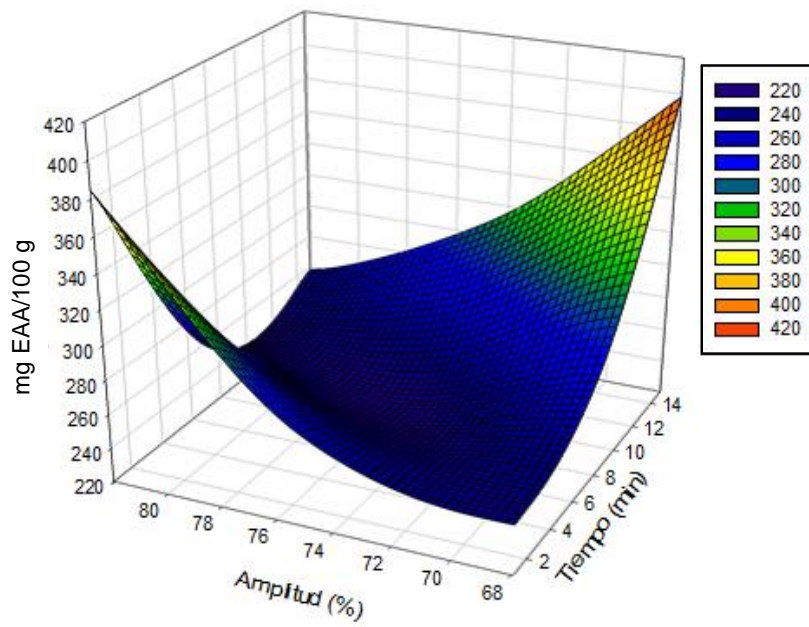


Figura 14. Contenido de ácido ascórbico (mg EAA/100 g)

10.1.3.4 Fenoles totales

En el coeficiente de regresión, para el contenido de fenoles totales, se observó que la amplitud en su término cuadrático (b_{22}) afectó significativamente ($p < 0.001$). La interacción del tiempo con la amplitud (b_{12}) y el tiempo en su término cuadrático (b_{11}) tuvieron el mismo nivel de significancia ($p < 0.01$) (Tabla 6), de modo que se obtiene una menor concentración al incrementar la amplitud y el tiempo, como se aprecia en la figura 15.

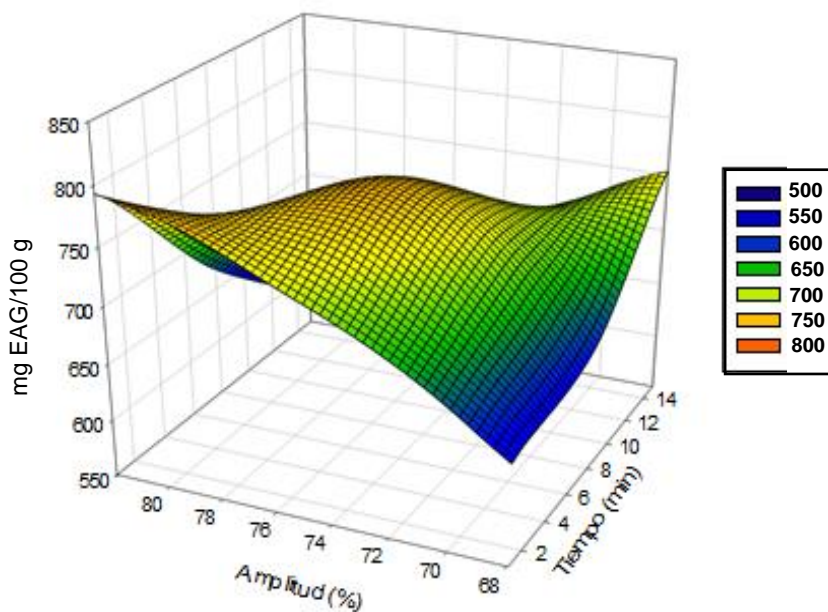


Figura 15. Contenido de fenoles totales (mg EAG/100 g)

10.1.3.5 Actividad antioxidante por ABTS•

La actividad antioxidante por ABTS• se vio influenciada por la amplitud en su término lineal (b_2) ($p < 0.0001$) (Tabla 6), esto indica que a mayor amplitud se presentó una menor capacidad antioxidante, como se observa en la figura 16.

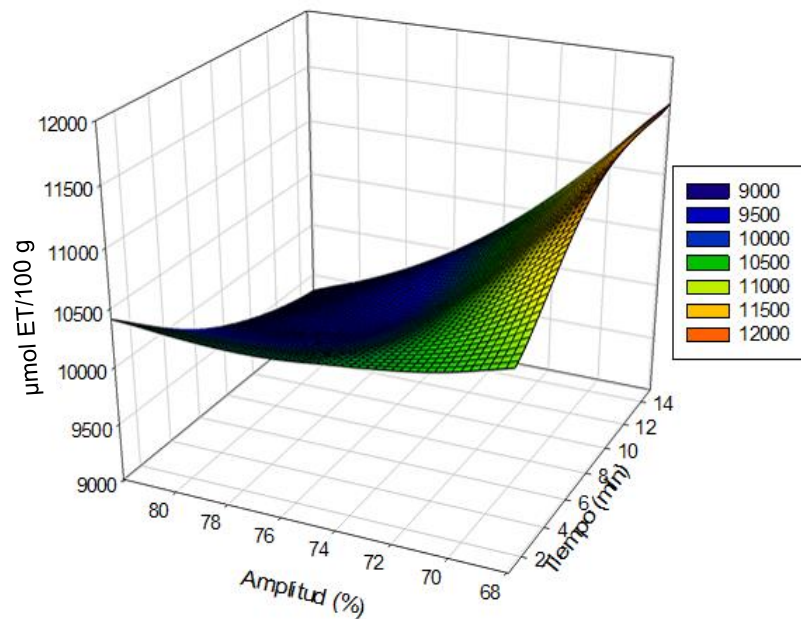


Figura 16. Actividad antioxidante por inhibición del radical ABTS• (µmol ET/100 g)

10.1.3.6 Actividad antioxidante por DPPH•

Al analizar el coeficiente de regresión de DPPH•, se observó una influencia significativa ($p < 0.0001$) del tiempo en términos cuadráticos (b_{11}) (Tabla 6). Por lo que al incrementar el tiempo de aplicación de ultrasonido, se favorece la inhibición del radical, aunque un aumento prolongado propició la disminución de la actividad. (Figura 17).

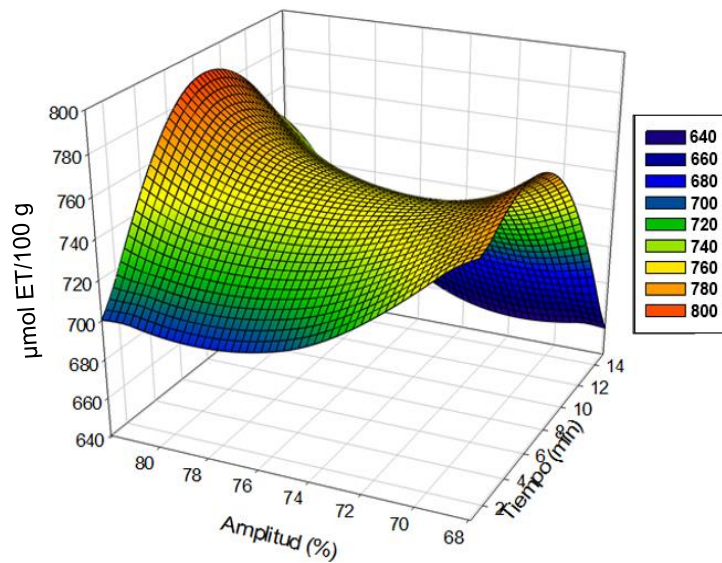


Figura 17. Actividad antioxidante por inhibición del radical DPPH• (µmol ET/L)

10.2 Optimización del proceso, comparación y reproducibilidad

10.2.1 Optimización de las condiciones de extracción por ultrasonido

Para realizar la optimización se efectuó una inspección por medio de figuras de contorno (Figura 17), donde se determinaron zonas de intersección que brinden el valor más alto posible para las variables en consideración.

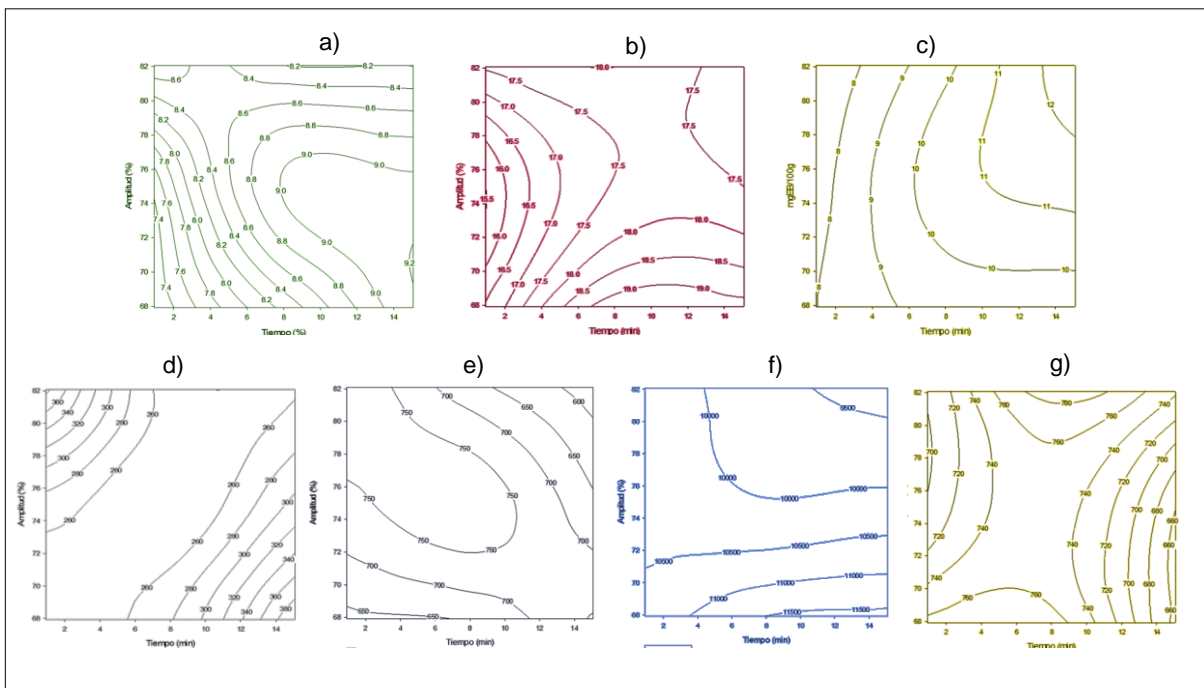


Figura 18. Gráficas de contorno de las pruebas realizadas (a: CRL; b: betaninas; c: betaxantinas; d: ácido ascórbico; e: fenoles; f: ABTS; g: DPPH)

Se llevó a cabo el traslape de figuras de contorno, para obtener la condición óptima del proceso de extracción de la cáscara de tuna púrpura mediante ultrasonido, utilizando los resultados obtenidos de las distintas variables de respuesta. Se encontró que en la condición de 69 ± 1 % de amplitud y con un tiempo de 13 minutos de aplicación, se alcanzaron valores de CRL de 8.43 g/g, betaninas de 18.9 mg EB/100 g, betaxantinas, 10.06 mg EB/100 g, ácido ascórbico 335 mg EAA/100 g, fenoles totales de 711.787 mg EAG/100 g, ABTS, y 11174.86 μmol ET/100 g y DPPH 689.146 μmol ET/100 g (Figura 19).

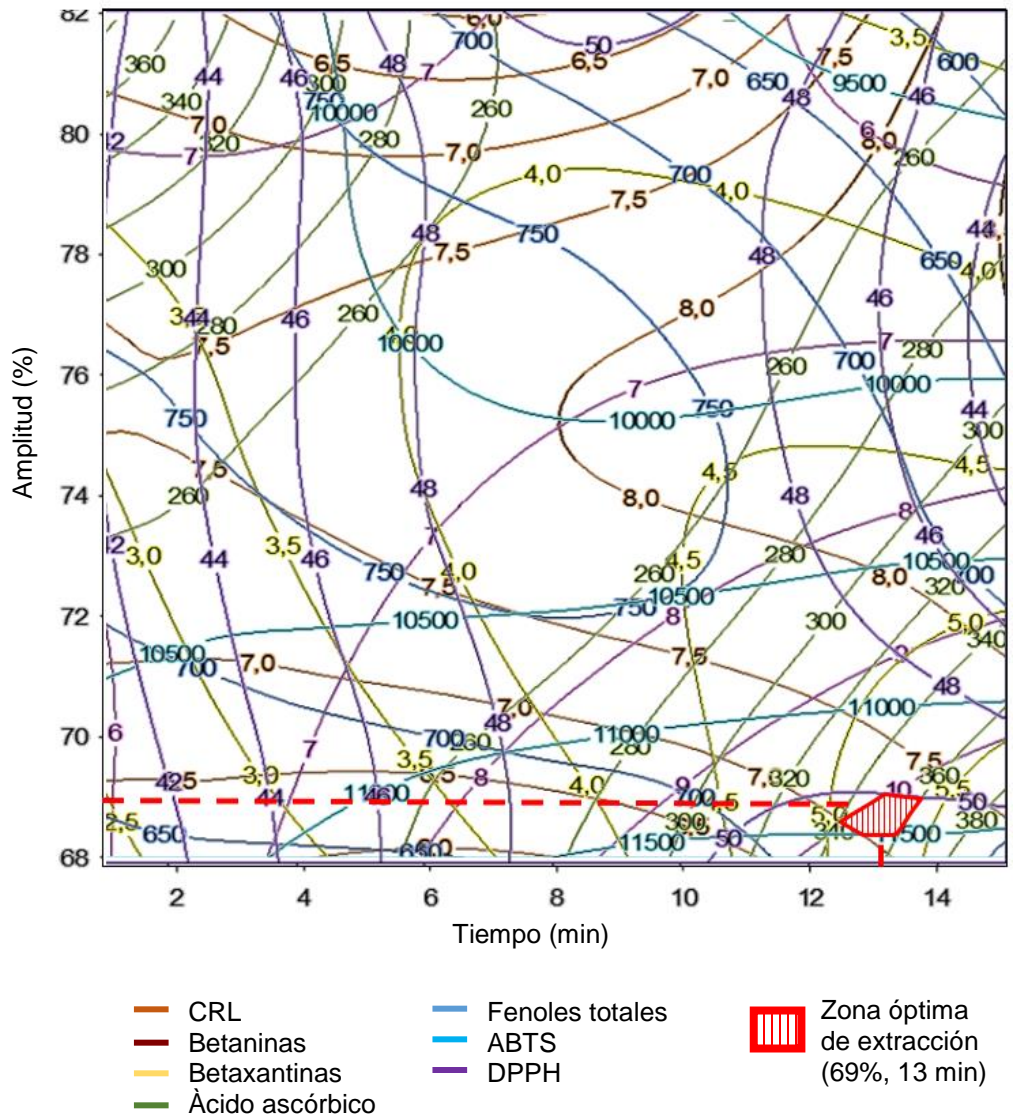


Figura 19. Condición óptima del proceso (CRL, betaninas, betaxantinas ácido ascórbico, fenoles, ABTS y DPPH)

10.2.2 Reproducibilidad del estudio

En este trabajo se investigó el efecto del tiempo de extracción y la amplitud en las propiedades fisiológicas de la fibra, la concentración de compuestos antioxidantes y la actividad antioxidante de la cáscara de tuna púrpura.

Una vez realizada la reproducibilidad del proceso por ultrasonido, bajo las condiciones óptimas proporcionadas por el modelo de superficie de respuesta, se comparó con los valores predichos (Tabla 7). No se obtuvieron diferencias significativas entre los valores predichos y experimentales en cuanto al contenido de antioxidantes y la actividad antioxidante, por lo que se puede afirmar que este proceso es viable para su reproducción. La única variable en la que se encontró diferencia estadísticamente significativa fue en la CRL, que presentó valores mayores a los predichos.

Tabla 7. Comparación de los valores predichos y experimentales de las variables de estudio

Determinación	Predicho	Experimental (optimizado)
CRL(g/g)	8.43 ± 0.34	11.16 ± 0.8*
Betaninas (mg EB/100 g)	18.91 ± 0.70	19.16 ± 0.91
Betaxantinas (mg EB/100 g)	10.06 ± 0.36	11.43 ± 0.70
Ácido ascórbico (mg EAA/100 g)	335.00 ± 25	342.80 ± 17
Fenoles totales (mg EAG/100 g)	711.78 ± 43	709.66 ± 23
ABTS (μmol ET/100 g)	11174.86 ± 392	11193 ± 333
DPPH (μmol ET/100 g)	689.14 ± 27	719.86 ± 25

* Indica diferencias significativas ($p < 0.05$).

10.2.3 Comparación de la optimización por ultrasonido con la muestra control

Después de realizar la optimización por ultrasonido, se llevó a cabo la comparación de las variables entre la muestra optimizada por ultrasonido y la muestra control.

10.2.3.1 Análisis microbiológico

Con la finalidad de evaluar la carga microbiana de las muestras de cáscara de tuna púrpura control y la optimizada por ultrasonido, se llevó a cabo el análisis microbiológico, evaluando el recuento de microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias y esporas, cuyos resultados se muestran en la tabla 8, observando una disminución estadísticamente significativa en la muestra optimizada por ultrasonido, en recuento de microorganismos aerobios mesófilos y enterobacterias, ($p < 0.0001$ y $p < 0.5$ respectivamente). Por su parte, se observó una inactivación total de las esporas al realizar el tratamiento por ultrasonido.

Tabla 8. Valores microbiológicos (UFC log¹⁰/ml) de la muestra control y la muestra optimizada

Microorganismos	Control	Optimizado
Microorganismos aerobios mesófilos	2.85 ± 0.06	2.32 ± 0.06*
Enterobacterias	2.26 ± 0.01	1.47 ± 0.47**
Esporas	1.70 ± 0.12	N/D

*indican diferencias significativas ($p < 0.0001$), ** ($p < 0.05$). N/D: No detectado

10.2.3.2 Capacidad de retención de lípidos y propiedades antioxidantes

Fue posible apreciar que en la mayoría de las variables, la muestra optimizada por ultrasonido obtuvo los valores más altos, como se muestra en la figura 20.

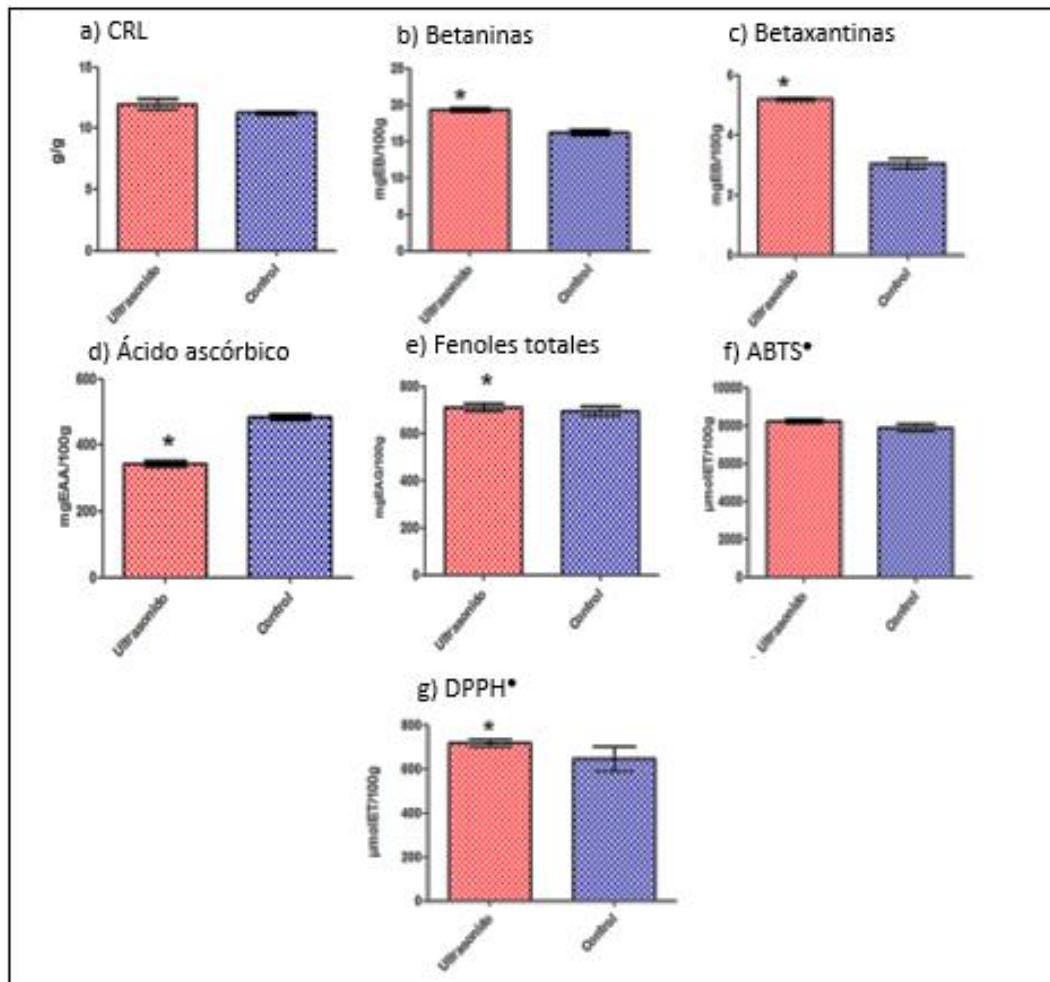


Figura 20. Comparación de las diferentes variables de respuesta entre la muestra control y la muestra optimizada (a: CRG; b: betaninas; c: betaxantinas; d: ácido ascórbico; e: fenoles; f: ABTS; g: DPPH) *indican diferencias significativas ($p < 0.5$) entre las muestras

La única variable donde la muestra optimizada obtuvo valores significativamente menores ($p < 0.05$) que la muestra control, fue en el ácido ascórbico, con cifras de 342.80 mg EAA/100 g y 479.16 mg EAA/100 g respectivamente (figura 20d).

En las condiciones óptimas de tratamiento, los fenoles totales presentaron diferencias significativamente mayores ($p < 0.05$) comparadas con la muestra no sonicada (709.66 mg EAG/100 g y 690.00 mg EAG/100 g, respectivamente) (figura 20e).

La actividad antioxidante por ABTS no arrojó diferencias significativas, alcanzando con el tratamiento óptimo valores de 11193 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ y en el control 7861.25 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ (figura 20f); por el contrario, la muestra optimizada en DPPH fue significativamente mayor que en el control (719.86 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ y 669.64 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, respectivamente) (figura 20g).

10.2.3.3 Análisis de ácidos orgánicos

La tabla 9 muestra los resultados obtenidos de la cuantificación de ácidos málico, oxálico, cítrico y ascórbico, para comparar el optimizado con la muestra control.

Tabla 9. Ácidos orgánicos de la muestra control y la muestra optimizada

Ácido orgánico	Muestra control	Muestra optimizada
Ácido málico (mg EAM/100 g)	1355.32 \pm 27.56	1130.69 \pm 8.46*
Ácido oxálico total (mg EAO/100 g)	663.34 \pm 17.71	668.89 \pm 5.69
Ácido cítrico (mg EAC/100 g)	4762.13 \pm 136	4196.28 \pm 16.39*
Ácido ascórbico (mg EAA/100 g)	46.06 \pm 1.11	N/D

* Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) N/D: No detectado.

Se encontró que los ácidos málico y cítrico fueron los que se encontraron en mayor proporción para ambas muestras, siendo significativamente mayores en la muestra optimizada.

En el contenido de ácido oxálico no se presentaron diferencias significativas y en cuanto al ácido ascórbico, se observó una pérdida total en la muestra optimizada por ultrasonido.

10.2.3.4 Análisis del índice de retención de glucosa

El índice de retención de glucosa se muestra en la figura, se encontró que la muestra de cáscara control retuvo 1.826 ± 0.396 mg Glucosa/100 g en comparación de la muestra optimizada, donde se obtuvo un 26 % más, registrando una retención de 2.308 ± 0.898 mg Glucosa/100 g (figura 21).

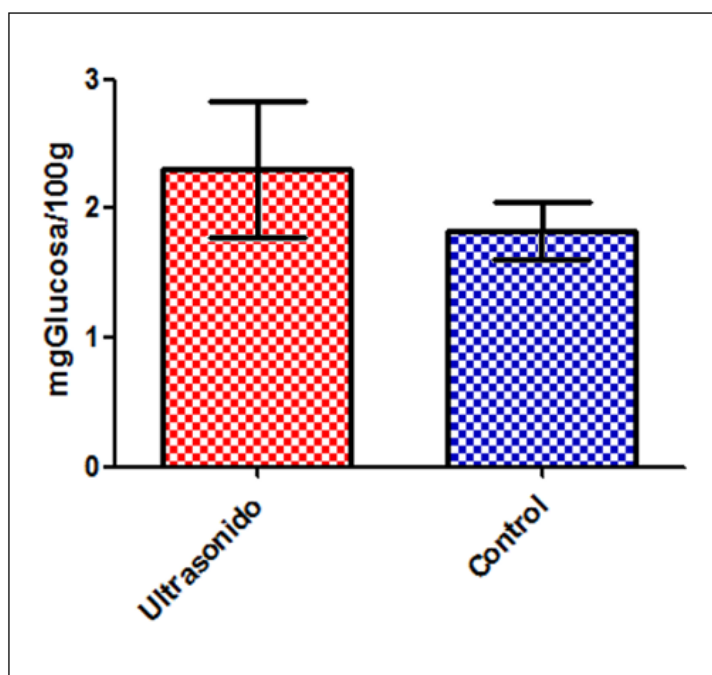


Figura 21. Índice de retención de glucosa de la muestra optimizada y control

10.3 Evaluación de la gelatina

A partir de la obtención de la cáscara de tuna optimizada por ultrasonido, se elaboró una gelatina que proporcionará la propiedad funcional (CRL) y los antioxidantes (figura 22), cubriendo el 86% y 93% de IDR de vitamina C y fenoles, respectivamente.



Figura 22. Gelatinas elaboradas a partir de la cáscara de tuna púrpura optimizada por ultrasonido

La gelatina con la muestra optimizada por ultrasonido (figura 23 a) se comparó con una muestra sin ultrasonido, una gelatina comercial marca Dany® sabor frambuesa y una gelatina control, (agua, grenetina y colorante), (figuras 23 b-d).

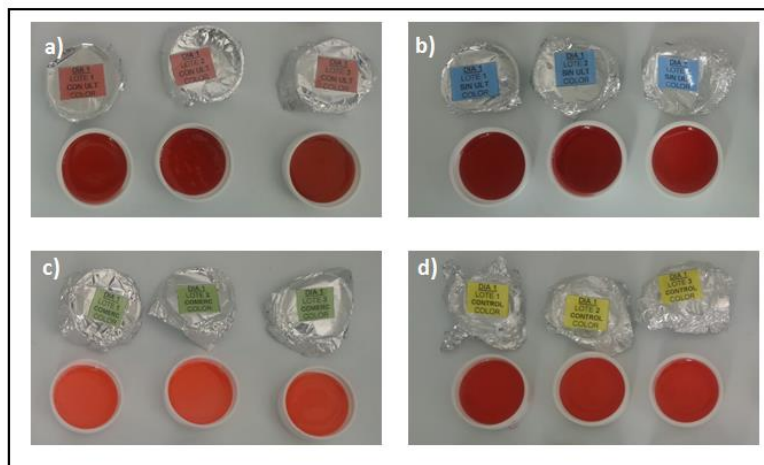


Figura 23. Lotes de gelatinas elaboradas para la comparación de sus propiedades (a: con ultrasonido; b: sin ultrasonido; c: comercial; d: control)

10.3.1 Análisis físico químico de las gelatinas

La tabla 10 muestra los promedios obtenidos de las determinaciones de las propiedades físico-químicas de las diferentes muestras de gelatina. El pH del producto comercial fue significativamente más alto que las demás muestras, la acidez titulable fue mayor ($p < 0.05$) en la muestra control en comparación con las otras gelatinas y los sólidos solubles totales fueron significativamente más altos en el producto sin ultrasonido.

Tabla 10. Propiedades físico químicas en las muestras de gelatina

Parámetros	Control	Comercial	Sin ultrasonido	Con ultrasonido
pH	3.14 ± 0.04 ^d	4.00 ± 0.05 ^a	3.6 ± 0.00 ^c	3.71 ± 0.05 ^b
Acidez titulable (% AT)	0.105 ± 0.004 ^a	0.015 ± 0.004 ^d	0.083 ± 0.006 ^b	0.360 ± 0.004 ^c
Sólidos solubles (°Brix)	14.16 ± 0.28 ^c	12.83 ± 0.28 ^d	17.16 ± 0.28 ^a	14.83 ± 0.28 ^b

^{a-d} Superíndices indican diferencias significativas: ($p < 0.05$).

Los valores de las coordenadas de color se muestran en la tabla 10 y la figura 24, donde se observa que las muestras presentaron valores ligeramente altos para la coordenada L^* , con valores de 16 a 33, mientras que los valores de las coordenadas a^* y b^* fueron de 29 a 31 y 18 a 36, respectivamente ubicándose en el cuadrante rojo – amarillo.

La gelatina comercial, fue la que obtuvo los valores significativamente mayores en la coordenada L^* (luminosidad). En cuanto a la coordenada a^* (color rojo-verde), todas las muestras obtuvieron valores similares ($p > 0.05$) y para la coordenada b^* fue la muestra control en la que se encontró mayor diferencia significativa con respecto a las demás muestras (figura 24, tabla 11).

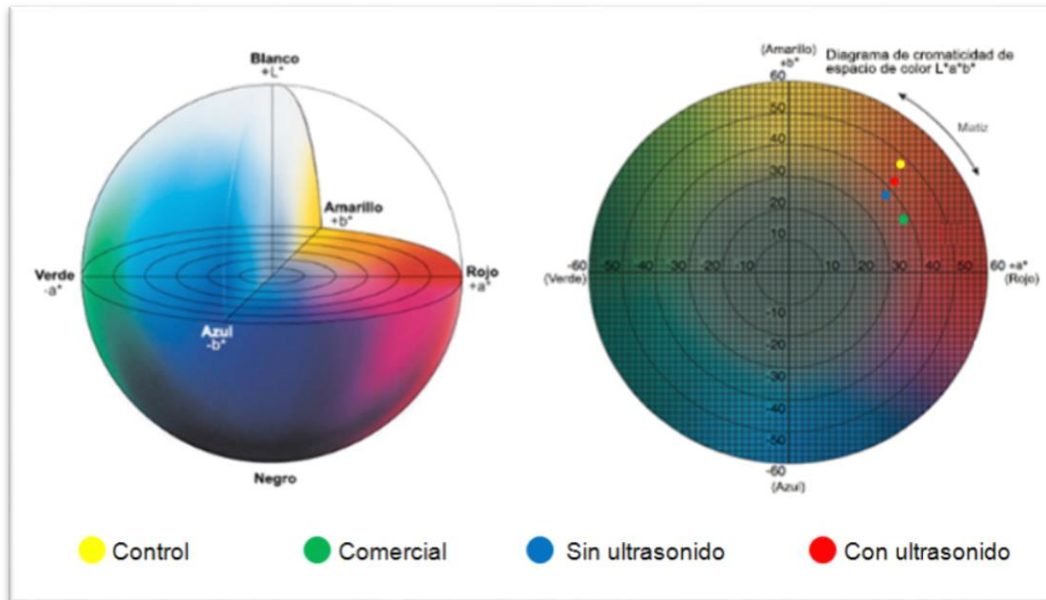


Figura 24. Ubicación de las muestras de gelatina en el diagrama de cromaticidad (Coordenadas $L^* a^* b^*$)

Tabla 11. Determinación de color (coordenadas $L^* a^* b^*$) de las muestras de gelatina

Coordenada	Control	Comercial	Sin ultrasonido	Con ultrasonido
L^*	24.47 ± 1.6^b	33.48 ± 1.5^a	16.35 ± 1.8^d	18.74 ± 1.5^c
a^*	31.28 ± 2.3^a	33.48 ± 1.5^a	30.74 ± 3.7^a	29.67 ± 2.3^a
b^*	36.74 ± 1.4^a	18.49 ± 1.7^d	28.16 ± 2.3^c	32.04 ± 3.1^b

^{a-d} Superíndices indican diferencias significativas: ($p < 0.05$).

10.3.2 Análisis microbiológico de las gelatinas

El análisis microbiológico permitió conocer la inocuidad de las muestras, evidenciando que la gelatina obtenida a partir del proceso de optimización por ultrasonido, estuvo libre de microorganismos, al igual que la gelatina control y la comercial, siendo la gelatina sin ultrasonido la que presentó carga microbiana en recuento de microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias y esporas (tabla 12).

Tabla 12. Análisis microbiológico de las muestras de gelatina

Microorganismos	Control	Comercial	Sin ultrasonido	Con ultrasonido
Aerobios mesófilos (log ¹⁰ UFC/mL)	N/P	N/P	2.38 ± 0.01	N/P
Enterobacterias (log ₁₀ UFC/mL)	N/P	N/P	1.90 ± 0.00	N/P
Esporas (log ¹⁰ UFC/mL)	N/P	N/P	2.34 ± 0.04	N/P

N/P: No presentó

10.3.3 Propiedad antioxidante de la gelatina

Los resultados de las determinaciones de las propiedades antioxidantes de las diferentes muestras de gelatina se presentan en la tabla 13, la gelatina control y comercial no presentaron actividad antioxidante por ABTS y DPPH, las gelatinas con ultrasonido y sin ultrasonido mostraron similares valores, y fueron significativamente mayores a las demás muestras, mientras que en ácido ascórbico, betaninas, betaxantinas y fenoles totales, fue la gelatina sin ultrasonido la que obtuvo los mayores promedios.

Tabla 13. Promedios de propiedades antioxidantes de muestras de gelatina

	Control	Comercial	Sin ultrasonido	Con ultrasonido
Betaninas (mg EB/50 mL)	0.36 ± 0.03 ^c	0.52 ± 0.04 ^b	1.17 ± 0.12 ^a	1.23 ± 0.09 ^a
Betaxantinas (mg EB/50 mL)	0.27 ± 0.09 ^d	0.48 ± 0.04 ^c	2.63 ± 0.31 ^a	1.68 ± 0.03 ^b
Ácido ascórbico (mg EAA/50 mL)	432.37 ± 20 ^a	N/P	173.63 ± 10 ^b	154.67 ± 11 ^c
Fenoles totales (mg EAG/50 mL)	62.93 ± 6.25 ^c	32.37 ± 6.94 ^c	4687.73 ± 68 ^a	4475.09 ± 323 ^b
ABTS (μmol ET/50 mL)	N/P	N/P	10.34 ± 0.5 ^a	1.70 ± 0.2 ^b
DPPH (μmol ET/50 mL)	N/P	N/P	166.5 ± 8 ^a	138.5 ± 13 ^b

^{a-d} Superíndices indican diferencias significativas: p < 0.05. N/P: No presentó.

XI DISCUSIÓN

11.1 Obtención del proceso de optimizado

Son pocos los estudios realizados en cáscara de tuna, ya que no se han investigado los efectos de la aplicación de ultrasonido en las propiedades funcionales de la fibra o los antioxidantes en esta fracción, sin embargo, estudios realizados en otras matrices aportaron evidencias sobre los parámetros obtenidos en este estudio.

11.1.1 Propiedades funcionales de la fibra de cáscara de tuna

La CRA se define como la cantidad de agua añadida que puede unirse a la estructura de una fibra bajo la acción de una fuerza, del mismo modo, la CRL es la máxima cantidad de aceite, que puede ser retenida por cada gramo de material seco. Estas dos propiedades funcionales de interés fisiológico se asocian a los efectos deseables y benéficos que presenta un alimento en el organismo (44).

Estudios realizados en cáscaras tratadas por ultrasonido, reportan promedios de CRA y CRL; como en la cáscara de tomate (*Lycopersicum esculentum*), donde obtuvieron una CRA de 6.76 g/g y CRG de 1.69 g/g (56). En cáscara de jaborcabe (*Myrciaria cauliflora*), encontraron una CRA de 3.81 g/g y CRL de 3.47 mL/g (71), mientras que las muestras de los diferentes tratamientos experimentales de este estudio retuvieron de 10.40 a 14.26 g/g y de 7.46 a 9.06 mL/g respectivamente.

Cabe recordar que la CRA no se consideró para el análisis del coeficiente de regresión, debido a que no se ajustó al modelo matemático; sin embargo, la cáscara de tuna púrpura tuvo una CRA de entre 6.8 y 13.2 g/g y es de gran importancia tecnológica y fisiológica, ya que influye en la viscosidad, confiere efectos de suavidad y frescura en los productos y ayuda a generar heces más blandas facilitando el tránsito intestinal (38, 64).

Al aplicar la metodología de superficie de respuesta se observó que al aumentar el tiempo, incrementó significativamente la CRL en el producto estudiado; del mismo modo en cáscara de tomate, se aplicó ultrasonido al 100% de amplitud, en tiempos fijos (5, 10 y 15 min), observando que al máximo tiempo de aplicación se vio favorecida la CRL (56), esto es debido a que al aumentar el tiempo de aplicación de ultrasonido, hay mayor formación de micro fracturas en las paredes vegetales, propiciando fragmentación en las estructuras de la fibra, aumentando la superficie de contacto (72), lo que genera mayor capacidad para absorber y atrapar componentes de naturaleza aceitosa (44).

La relación de la CRL con la salud humana, tiene que ver directamente con la reducción de colesterol en plasma (73), debido a que se produce una disminución en la absorción de los ácidos biliares, alterando la formación de micelas y la absorción de las grasas (56). En un estudio en ratas en el que se administraron dietas suplementadas con cáscara de manzana (*Malus domestica*), y una con la pulpa del fruto, los niveles de lípidos plasmáticos redujeron significativamente en las ratas suplementadas con cáscara (74).

11.1.2 Propiedades antioxidantes

11.1.2.1 Contenido de betaninas y betaxantinas

Las betalaínas son un grupo de pigmentos que se dividen en betaninas (más abundantes en el fruto y dan la coloración rojo-púrpura) y betaxantinas (aportan la pigmentación amarillo – naranja) (26).

Los promedios de betaninas de los tratamientos experimentales fueron de 15.50 a 19.30 mg EB/100 g y de 7.54 a 11.81 mg EB/100 g para betaxantinas.

En un estudio donde se realizaron extracciones de betalaínas bajo ultrasonido combinado con solventes polares, obtuvieron cantidades de betalaínas (betaninas y betaxantinas) de hasta 89 mg EB/100 g en cáscara de tuna roja, esto se atribuye a que los solventes facilitan la extracción de estos compuestos (25).

Los resultados del presente estudio mostraron que, a mayor tiempo de tratamiento se presentó mayor concentración de betalaínas. Este comportamiento

fue similar a lo observado en cáscara de betabel (*Beta vulgaris*), donde se aplicó con amplitudes del 50 al 100% durante 100 a 120 segundos y del mismo modo, al aumentar el tiempo de sonicado (5, 10 y 15 minutos) se observaron mayores concentraciones de betalaínas (75).

Cabe resaltar que en las cáscaras de diversos frutos como manzanas, duraznos y uvas, se han encontrado hasta 10 veces más betalaínas que en las partes comestibles (76), principalmente los pigmentos rojos del epicarpio, los cuales tienen una función protectora contra los rayos UV (25).

Actualmente, la cuantificación de estos pigmentos es de gran interés, debido a su capacidad donante de átomos de hidrógeno, que lo convierte en una alternativa para prevenir y contrarrestar enfermedades asociadas al estrés oxidativo, manteniendo el balance entre neutralización de los radicales libres y evitando la oxidación de la hemoglobina (23).

11.1.2.2 Contenido de ácido ascórbico

El ácido ascórbico es una vitamina hidrosoluble de gran importancia, que influye en la síntesis de proteínas y algunos neurotransmisores en el cuerpo (77).

Los tratamientos experimentales de ultrasonido mostraron valores de 221.59 a 335.23 mg EAA/100 g, cantidad mayor a lo reportado en cáscara de plátano (*Musa acuminata*) ultrasonicada (4.3 a 4.5 mg EAA/100 g) (58), y similar a lo encontrado en cáscara de uva (*Vitis vinífera*) 355.33 a 434.28 mg EAA/100 g (59).

Los resultados del coeficiente de regresión mostraron que, a menor amplitud y mayor tiempo, se obtuvieron mayores cantidades de ácido ascórbico, sin embargo, estudios en cáscara de uva por RSM encontraron que al incrementar el tiempo de sonicación, se genera una degradación de ácido ascórbico (78). En otros estudios por ultrasonido obtuvieron un incremento de ácido ascórbico, realizado a 100% de amplitud en plátano por 15 min en ciruela y uva (59).

Resulta de gran importancia conservar el ácido ascórbico presente en la muestra, ya que actúa como eliminador de nitritos, aumenta la función inmunitaria e induce apoptosis en células cancerígenas (21,79). Estudios *in vivo* han

evidenciado el poder de la vitamina C obtenida de cáscaras de frutos como el mango (*Mangifera indica*) y la granada (*Punica granatum*), que inhiben el daño oxidativo inducido por peróxido de hidrógeno y también ayuda a disminuir niveles de colesterol LDL (80, 81).

11.1.2.3 Contenido de fenoles totales

Los compuestos fenólicos comprenden flavonoides y ácidos fenólicos, son los antioxidantes más abundantes en nuestra dieta, pues están ampliamente distribuidos en los alimentos de origen vegetal; su ingesta se asocia con un menor riesgo de desarrollar enfermedades debido a su poderosa actividad antirradical (82,83).

Los valores de fenoles totales en cáscara fueron de entre 639.13 y 811.23 mg EAG/100 g, cantidades que superan a lo encontrado en otras cáscaras estudiadas por RSM, como la cáscara de uva, (275.5 a 329 mg EAG/100 g) o de rambután (*Nephelium lappaceum*) (167.58 a 540 mg EAG/100 g) (84, 85).

Este estudio mostró que si se incrementa la amplitud y el tiempo de ultrasonido en la cáscara de tuna púrpura, disminuye la concentración de fenoles; similar al comportamiento de la cáscara de naranja (*Citrus cinesis*) ultrasonificada (86) y a diferencia de lo encontrado en cáscara de uva, donde al prolongar el tiempo de tratamiento de ultrasonido, se obtuvo una mayor cantidad de compuestos fenólicos (84), las variedades de tuna púrpura contienen mayores cantidades de estos fitoquímicos en comparación con las verdes o amarillas (87); por lo que al tener mayor presencia de compuestos fenólicos, puede aportar beneficios más allá de los antioxidantes, ya que poseen la capacidad de quelar metales pesados como el cadmio, cobalto, cromo, mercurio, manganeso, níquel, plomo y zinc (88); además de que se ha demostrado que estudios *in vivo*, los compuestos fenólicos se unen a los ácidos biliares, alterando la formación de las micelas permitiendo disminuir niveles de colesterol plasmático (56).

11.1.2.4 Actividad antioxidante por inhibición de los radicales ABTS• y DPPH•

La utilización del sustrato 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazolina-6-ácido sulfónico) (ABTS•), es un método muy eficaz al actuar con compuestos de naturaleza lipofílica e hidrofílica (89). Por su parte la molécula de DPPH• se caracteriza por ser un radical libre muy susceptible, al reaccionar con compuestos antioxidantes lipofílicos (90).

En la cáscara de tuna se obtuvieron de 9563 a 11505 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ para ABTS• y de 661.00 a 788.00 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ para DPPH•. Las condiciones del proceso reflejaron que a menor amplitud por mayor tiempo, se presentó mayor inhibición del radical ABTS•, un comportamiento similar fue reportado en residuo de zarzamora (*Rubus fruticosus*), donde observaron que la amplitud tiene una influencia significativa (91), mientras que en cáscaras de mandarina (*Citrus unshiu*) se encontró que al aumentar el tiempo de sonicado se favorece la actividad antioxidante (92).

El comportamiento de la actividad por DPPH• fue diferente al de ABTS•, donde el tiempo de aplicación de ultrasonido fue el que influyó significativamente, este resultado también fue observado en cáscaras de manzana, naranja y papa, donde al prolongar los tiempos de extracción por ultrasonido incrementó la inhibición del radical DPPH• (93, 94, 95).

Las diferencias que se presentan en la actividad antioxidante de la cáscara de tuna, con otras matrices, están relacionadas directamente al contenido de compuestos fenólicos presentes en las fracciones estudiadas, pues estos actúan directamente inhibiendo el radical, por lo que a mayor concentración de compuestos fenólicos, mayor será la inhibición de radicales (3).

11.2 Comparación y reproducibilidad del estudio

Como se mencionó anteriormente se utilizaron las variables de respuesta de los diferentes tratamientos para obtener la condición óptima del proceso de ultrasonido de la cáscara de tuna.

11.2.1 Comparación de la optimización por ultrasonido con la muestra control

11.2.1.1 Microbiología

Cuando se utiliza ultrasonido en la industria del procesado de alimentos, se utiliza generalmente como método para inactivar los agentes patógenos transmitidos por los alimentos, sin comprometer la calidad de los alimentos (96). Para asegurar la inocuidad de la muestra, se analizó la carga microbiológica, comparando la muestra optimizada por ultrasonido con la muestra sin sonicar obteniendo una disminución de la carga microbiana en la muestra optimizada.

En estudios realizados en jugos de naranja, lima, zanahoria, espinaca, tuna y zarzamora, se demostró el efecto del ultrasonido en la disminución o total inactivación de microorganismos (51, 60, 91). Esto se debe a que la intensidad de la implosión de las ondas generadas por el ultrasonido, genera puntos microscópicos con altas temperaturas y altas presiones locales (97), liberando de radicales libres y peróxido de hidrógeno, que ocasionan un adelgazamiento membranal de las células microbianas, seguido de una ruptura celular causando la muerte de los microorganismos (51,70).

11.2.1.2 Propiedad funcional de la fibra (CRL)

Al realizar la optimización del proceso de ultrasonido en la cáscara de tuna púrpura, se obtuvo una CRL de 11.16 g/g, cantidad superior a lo encontrado en cáscaras de tomate y jaborcaba tratadas con ultrasonido (1.69 y 3.47 g/g respectivamente) y similar a lo reportado en concentrados comerciales de fibra

dietética de trigo y avena (12.04 y 10.04 g/g respectivamente) (56,71,43). La CRL de las cáscaras se asocia a la naturaleza fisicoquímica de sus constituyentes, como las pectinas, gomas, mucílagos y hemicelulosas, así como al tipo de fibra (soluble e insoluble) presente en la matriz (98).

11.2.1.3 Propiedades antioxidantes

En la muestra optimizada se encontraron 19.16 mg EB/100 g para betaninas y 11.43 mg EB/100 g para betaxantinas, se han realizado estudios en cáscaras por ultrasonido combinado con disolventes en cáscaras de Pitaya y de Djulis (*Chenopodium formosanum*), obteniendo valores de hasta 101.04 mg EB/100 g y 204 mg EB/100 g, respectivamente (99,100).

Aunque se observó una ligera disminución del ácido ascórbico de la muestra al sonicar, las concentraciones de dicho compuesto en la cáscara optimizada pueden considerarse altas (342.80 mg EAA/100 g), en comparación de estudios similares realizados en cáscaras de plátano, ciruela y uva, donde reportaron cifras de 4.9, 120 y 100 mg EAA/100 g, respectivamente (58, 59); contrario a lo que sucedió con los fenoles totales, en donde se observó un aumento considerable, obteniendo 690 mg EAG/100 g, siendo mayor a lo reportado en cáscaras de uva, rambután y naranja (333.5, 275.8 y 552.64 mg EAG/100 g, respectivamente) (84,85,86).

En cuanto a la inhibición de los radicales ABTS• y DPPH•, en la cáscara de tuna optimizada, se obtuvieron 11193 y 719.86 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ respectivamente. Los resultados de ABTS• son similares a lo obtenido en cáscara de manzana (12000 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$) y superior a lo encontrado en cáscaras de mandarina y lima (2521 y 1.47 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$) (98, 94). Por otro lado, la actividad antioxidante en la cáscara de tuna es menor a lo reportado en cáscaras de mandarina o plátano (1676 y 18810 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$) (94, 58).

La diferencia entre la actividad antioxidante de la tuna con la de otros frutos se debe a la asociación de compuestos fenólicos asociados a la fibra insoluble de su matriz (3), la concentración y tipo de disolvente utilizado (101), y a las condiciones

de aplicación de ultrasonido, que generan daño en la pared celular, aumentando la absorción del disolvente y el rendimiento de extracción (102).

11.2.1.4 Identificación de ácidos orgánicos

Los principales ácidos orgánicos presentes en los frutos de *Opuntia ficus-indica* son el ácido málico, oxálico y cítrico (103). Para identificar el contenido de los compuestos orgánicos de la cáscara, se realizó la determinación por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC por sus siglas en inglés).

La muestra control mostró valores ligeramente superiores comparados con la muestra optimizada excepto en el ácido ascórbico. Una ligera disminución del contenido de ácido málico y cítrico en la muestra optimizada por ultrasonido fue observada; comparada con lo reportado en desechos de uva, en donde después de aplicar ultrasonido, obtuvieron menores cantidades de dichos compuestos, explicando que la disminución se debe a la amplitud, el tiempo y largos periodos de extracción, que generan mayor pérdida del compuesto (104).

El ácido oxálico no registró pérdidas en la muestra optimizada, esto parece indicar que es debido a que es resistente a las condiciones de ultrasonido que se aplicó. Esta resistencia se debe a la presencia de fuertes enlaces entre los grupos carboxilos, ya que al incrementar la temperatura y prolongar el tiempo de extracción se degrada dicho ácido (105).

Se presentó una pérdida total de ácido ascórbico en la muestra optimizada, el mismo fenómeno fue reportado en hojas de acerola (*Malpighia emarginata*), explicando que la disminución se debe a la interacción del ácido ascórbico con el radical hidroxilo y al efecto adverso que causa la variación de temperatura sobre la estructura del compuesto (106). Sin embargo, si se aplica ultrasonido con menor intensidad de onda por cortos periodos, significaría una menor pérdida (107).

11.2.1.5 Identificación del índice de retención de glucosa

El índice de retención de glucosa está dado por la fibra dietética presente en la matriz de cada producto (108).

Como se mencionó anteriormente la muestra ultrasonicada tuvo mayor índice de retención de glucosa, debido al efecto de despolimerización ocasionado por las ondas sónicas, degradando los polímeros de los carbohidratos por la cavitación, al colapsar con las burbujas e interactuar con el radical hidroxilo (72).

No existe evidencia de cuantificación del índice de retención de glucosa en cáscaras ultrasonicadas. Sin embargo, un estudio realizado en bagazo de naranja, mostró que el aumento en la capacidad de retener moléculas de glucosa, permite la regulación de los niveles de glucosa en sangre (109), lo cual podría ayudar a personas con enfermedades como diabetes o algunas otras afecciones pancreáticas, a evitar picos en las glicemias, permitiendo establecer un control a través de la dieta (110).

11.2.2 Reproducibilidad del estudio

Al no obtener diferencias significativas entre los valores predichos y experimentales en el contenido de antioxidantes y la actividad antioxidante, lo que indica que este proceso es viable para su reproducción, de modo que al utilizar los datos de la condición óptima se obtengan obteniendo valores experimentales similares, tal como se ha reportado en estudios de aplicación de superficie de respuesta (60).

11.3 Evaluación de las propiedades físicoquímicas y microbiológicas de la gelatina

Los resultados mostraron que las gelatinas presentaron un pH de 3.6 a 4.0, acidez titulable de 0.015 a 0.105 % AC y un contenido de sólidos solubles de 12.83 a 17.16 °Brix. No existen antecedentes sobre gelatinas de cáscara de tuna, sin embargo, en un estudio de gelatina elaborada con cáscara de mamey reportó un pH de 6.57 (62). El contenido de sólidos solubles fue mayor en la gelatina sin ultrasonicar, por lo que es la que posee una mayor concentración de azúcares.

La Norma Oficial Mexicana NMX-F-041-1983 (63) indica que los productos de gelatina de sabores deben presentar un color característico de acuerdo con la composición del producto, por ende se realizó análisis de color, obteniendo ligeros cambios manteniendo la muestra en el cuadrante rojo-amarillo, conservando la coloración propia del fruto, esto debido a que el ultrasonido no afecta las propiedades organolépticas o sensoriales del fruto (53). Los ligeros cambios presentados en la muestra ultrasonificada se deben a la cavitación que induce la aceleración de reacciones químicas incrementando la dispersión y agregación de partículas, como se observó en un estudio de jugo de tuna púrpura ultrasonificada (111).

Una total inactivación de microorganismos se obtuvo en todas las gelatinas excepto la gelatina con cáscara sin ultrasonido. Esto asegura la inocuidad de la gelatina con ultrasonido, permitiendo que el producto cumpla con lo estipulado en la norma antes mencionada puesto que se indica que debe estar libre de microorganismos patógenos.

En general, la gelatina con el extracto optimizado presentó una ligera disminución del contenido de antioxidantes comparado con la gelatina sin ultrasonido. Sin embargo, tuvo una concentración de ácido ascórbico de 154.67 mg EAA/50 mL, lo que permitiría cubrir aproximadamente el 86% de la ingesta diaria recomendada de esta vitamina para una persona adulta (112). El contenido de fenoles totales fue de 4475.09 mg EAG/50 mL, que son superiores a lo reportado en gelatina de cáscara de plátano y mamey (2.16 mg EAG/50 mL y 464.5 mg

EAG/50 mL, respectivamente) (61, 62). Cabe mencionar que la gelatina comercial tuvo concentraciones muy bajas de antioxidantes y no presentó actividad antirradical, por lo que el desarrollo de gelatinas comestibles elaboradas a partir de residuos vegetales, se propone como una opción de consumo que aportaría a la dieta compuestos bioactivos de interés nutricional, para contrarrestar el daño ocasionado por radicales libres.

XII. CONCLUSIONES

a) Las determinaciones que se ajustaron al modelo matemático para la aplicación de la metodología de superficie de respuesta fueron: Capacidad de retención de grasa, betaninas, betaxantinas, ácido ascórbico, fenoles totales y la actividad anti-radical por ABTS• y DPPH•; todas ellas al presentar una $R^2 > 90$.

El tiempo en su término lineal y cuadrático fue el parámetro que presentó una influencia significativa en la mayoría de las determinaciones, tanto para las propiedades funcionales de la fibra, como para las propiedades antioxidantes.

b) La metodología de superficie de respuesta permitió la optimización del proceso de extracción de compuestos antioxidantes por ultrasonido. La condición óptima de proceso se obtuvo a 69 ± 1 % de amplitud, por 13 minutos.

Al analizar los valores obtenidos en las pruebas de contenido de antioxidantes y actividad anti-radical, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre lo predicho por el programa estadístico y los valores experimentales; por lo que este proceso puede reproducirse, obteniendo resultados similares.

La capacidad de retención de grasa del sedimento, fue el único parámetro en el que se encontró diferencia estadísticamente significativa, siendo aún mayor que lo predicho por el programa.

En cuanto a las determinaciones llevadas a cabo por HPLC; se observó una pérdida significativa de algunos de los ácidos orgánicos en la muestra ultrasonificada, al compararlo con la muestra control. Sin embargo, se presentó un incremento en el índice de retención de glucosa.

Al analizar el contenido microbiológico de las muestras, mediante recuento de microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias y esporas; se observó una disminución significativa de unidades formadoras de colonias, por lo que la muestra ultrasonificada puede ser apta para el consumo humano, al estar libre de agentes patógenos.

c) La gelatina elaborada con la cáscara de tuna púrpura ultrasonicada, presentó una consistencia firme, color rojo intenso, sabor dulce, ligeramente ácido y olor característico al fruto. No se detectó presencia de microorganismos y presentó buenas propiedades antioxidantes, en comparación con la gelatina control o con gelatina comercial.

Al realizar extracción por ultrasonido en cáscara de tuna púrpura, se obtiene fibra con mayor capacidad de retención de lípidos y un extracto inocuo, con mayor cantidad de antioxidantes que, al incorporarlos a un producto, represente una opción de consumo que podría reducir el estreñimiento y los daños causados por el estrés oxidativo; generando beneficios a la salud humana.

PERSPECTIVAS

Se sugiere evaluar en un modelo *in vivo* los efectos de la cáscara de tuna ultrasonicada, para comprobar las propiedades funcionales de su fibra y el poder de su actividad antioxidante.

Se recomienda identificar cuáles son los compuestos antioxidantes presentes en la cáscara de tuna púrpura, principalmente los compuestos fenólicos que le confieren su poder como agente anti radical.

Es necesario refinar el proceso de elaboración de gelatina adicionada con cáscara de tuna púrpura, para ofrecer mejores propiedades organolépticas a los potenciales consumidores, lo que permita realizar pruebas sensoriales y de aceptación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rural, F. Monografía del Nopal y la Tuna. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial. Dirección Ejecutiva de Análisis Sectorial. 2011; (1):1-15.
2. Chong P, Lau K, Gruenwald J, Uebelhack R. A Review of the Efficacy and Safety of Litramine IQP-G-002AS, an *Opuntia ficus-indica* Derived Fiber for Weight Management. Hindawi Publishing Corp. 2014; (1): 1-7.
3. Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S. G., & Goñi, I. By-products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. Plant foods for human nutrition. 2010; 65 (3): 210-216.
4. Drennan P. M. Root growth dependence on soil temperature for *Opuntia ficus-indica*: influences of air temperature and a doubled CO² concentration. Functional Ecology. 1998; 1 (12): 959–964.
5. Moßhammer, M. R., Stintzing, F. C., & Carle, R. Cactus pear fruits (*Opuntia* spp.): a review of processing technologies and current uses. Journal of the Professional Association for Cactus Development. 2006; (8): 1-25.
6. Ongiorno A, Llegra M, Intaudi A, Ohen R, Ivrea M. Antioxidant Activities of Sicilian Prickly Pear (*Opuntia ficus indica*) Fruit Extracts and Reducing Properties of Its Betalains: Betanin and Indicaxanthin. Agricultural and Food Chemistry. 2002; (50): 6895-6901.
7. Jiménez-Aguilar D, López Martínez J, Hernández-Brenes M. Et al. Dietary fiber, phytochemical composition and antioxidant activity of Mexican commercial varieties of cactus pear. Journal of Food Composition and Analysis. 2015; (41): 66–73.

8. Aguirre-Rivera J. Systematic notes and a detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (*Cactaceae*). *Revista Agrociencia*, 2005; 39 (4): 395–408.
9. Castro, J., Paredes, C., Muñoz, D. El cultivo de tuna *Opuntia ficus indica*. Gerencia Regional Agraria La Libertad. 2009; (18): 5-8.
10. Carrasco R. Determination of antioxidant capacity and bioactive compounds in native peruvian fruits. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 2008; (2): 108–24.
11. Méndez Gallegos, S.J., J. García Herrera. La tuna: Producción y diversidad. Publicaciones CONABIO. *Biodiversitas*. 2006; (68):1-5.
12. Jolalpa Barrera JL. Production and commercialization of fresh prickly pear under different modalities in Hidalgo, Mexico. *Revista Mexicana de Agronegocios*. 2011; 15 (28): 605–14.
13. Chougui N, Djerroud N, Naraoui F, Hadjal S, Aliane K, Zeroual B, et al. Physicochemical properties and storage stability of margarine containing *Opuntia ficus-indica* peel extract as antioxidant. *Food Chemistry*. 2015; (173): 382–90
14. García, F. P., Kerstup, S. F., Gutiérrez, A. R., Marzo, M. M., Cruz, E. P. Caracterización físicoquímica de semillas de Opuntias (*O. Imbricata* sp y *O. Matudae* sp) cultivadas en el estado de Hidalgo, México. *Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó*. 2008; 27 (1): 76-84.
15. Ochoa, C. E., Guerrero, J. A. Efecto del almacenamiento a diferentes temperaturas sobre la calidad de tuna roja (*Opuntia ficus indica* (L. Miller). *Revista Información Tecnológica*. 2012; 23 (1): 117-128.

16. Kabas, Onder, Aziz Ozmerzi, Ibrahim Akinci. Physical properties of cactus pear (*Opuntia ficus india* L.) grown wild in Turkey. *Journal of food Engineering*. 2006; 73 (2): 198-202.
17. Chiteva R, Wairagu N. Chemical and nutritional content of *Opuntia ficus-indica* (L.). *African Journal of Biotechnology*. 2013; 12 (21): 3309–3312.
18. Cerezal, P., Duarte, G. Algunas características de tunas (*Opuntia ficus indica* (L. Miller) cosechadas en el altiplano andino de la 2 da Región de Chile. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 2005; (7): 34-60.
19. Salim, N., Abdelwaheb, C., Rabah, C., Ahcene, B. Chemical composition of *Opuntia ficus-indica* (L.) fruit. *African Journal of Biotechnology*. 2009; (8): 8.
20. El Kossori, R. L., Villaume, C., El Boustani, E., Sauvaire, Y., Méjean, L. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.). *Plant Foods for Human Nutrition* 1998; 52 (3); 263-270.
21. Zamora J. D. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*, 2007; 34 (1): 17-26.
22. Venereo Gutiérrez J. R. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar*. 2002; 31 (2): 126-133.
23. Delgado L., Betanzos G., Sumaya M. T. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Rev. Investigación y ciencia*. 2010; (50):10-15.

24. Leopoldini M., Marino T., Russo N., Toscano, M. Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism. *Journal of Physical Chemistry*. 2004; 108 (22): 4916-4922.
25. Koubaa, Mohamed, et al. Recovery of colorants from red prickly pear peels and pulps enhanced by pulsed electric field and ultrasound. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2016; (37): 336-344.
26. Stintzing, Florian C., et al. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *Journal of Agriculture and Food Chem*. 2005; 53 (2): 442-451.
27. Abou-Ellella, F. M., Ali, R. F. M. Antioxidant and anticancer activities of different constituents extracted from Egyptian prickly pear Cactus (*Opuntia ficus-indica*) Peel. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*. 2014; 3 (2): 1-9.
28. Allegra M., Tesoriere L., Livrea M. A. Betanin inhibits the myeloperoxidase/nitrite-induced oxidation of human low-density lipoproteins. *Free Radical Research*. 2007 41 (3): 335-341.
29. Serra H. M., Cafaro T. A. Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectora en ojo. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 2007; 41 (4): 525-532.
30. Dürüst, Nedime, Doğan Sümengen, Yaşar Dürüst. Ascorbic acid and element contents of foods of Trabzon (Turkey). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 1997; 45 (6): 2085-2087.
31. Scalbert A., Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of nutrition*. 2000; 130 (8): 2073S-2085S.

32. Porrás-Loaiza, A. P., and A. López-Malo. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 2009 3(1): 121-134.
33. Sáyago-Ayerdi SG, Goñi I. Hibiscus sabdariffa L: Fuente de fibra antioxidante. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2010; (60): 79-84.
34. Saura-Calixto F, Goñi I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry* 2007; (101): 492–501.
35. Saura-Calixto F. Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 1998; 46 (10): 4303-4306.
36. Quevedo Tello C. M. Perspectivas tecnológicas y nutricionales de la fibra dietética *Revista Pueblo Continente*. 2016; 18 (2): 253-265.
37. Grey J. Fibra dietética. Definición, análisis, fisiología y salud. Series Monográficas ILSI Europe. 2006; (1): 10-12.
38. Mateu X. La fibra en la alimentación. Hospital del Mar. Editorial Grafiques Celler S.A. Barcelona, España. 2004; 1-17.
39. Pak, N. La fibra dietética en la alimentación humana, importancia en la salud. *Anales de la Universidad de Chile*. 2000; 1 (11): 1-15.
40. García, P. Apuntes sobre la fibra. Novartis Medical Nutrition. 2003; (1): 2-11.
41. Laurentin A., Douglas M., Edwards C. Dietary fibre in health and disease. *Nutrition Bulletin*. 2003; 28 (1): 69-72.

42. Cherbut, C. Fibras alimentarias: Que devient l'hypothèse de Burkitt? Etat des connaissances et questions non résolues. Cahiers de Nutrition et de Diététique. 1998; 33 (2): 95-104.
43. Valencia, Francia E., Román M. Physicalchemical and functional characterization of three commercial concentrates from dietary fiber. Revista Vitae. 2009; 13 (2): 54-60.
44. Chamorro R., Matos A., Chambilla E. Importancia de la fibra dietética, sus propiedades funcionales en la alimentación humana y en la industria alimentaria. Revista de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos. 2015; 1 (1): 4-17.
45. Molina M, Paz M. La Fibra Dietética Procesada como Alimento Funcional. Escuela Andaluza de Salud Pública. Consejería de Salud. Junta de Andalucía. Granada. CSIC. Estación experimental del Zaidón. Granada. 2007; (1): 70-77.
46. Chau, Chi-Fai, Ya-Ling, Huang. Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibers prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003; 51 (9): 2615-2618.
47. Sun DW. Emerging technologies for food processing, Second Edition. National University of Ireland. Dublin 2014.
48. Morata A. Nuevas tecnologías de conservación de alimentos, Madrid. 2010; (1): 16.
49. Pereira R. N., Vicente A. A. Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing. Food Research International. 2010; 43 (7): 1936-1943.

50. Walkling-Ribeiro M., Noci F., Riener J., Cronin D.A., Et. al. The Impact of Thermosonication and Pulsed Electric Fields on *Staphylococcus Aureus* Inactivation and Selected Quality Parameters in Orange Juice. *Food and Bioprocess Technology*. 2009; 2 (4): 422–430.
51. Abdullah N, Chin NL. Application of Thermosonication Treatment in Processing and Production of High Quality and Safe-to-Drink Fruit Juices. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 2014; (2): 320-327.
52. Patist, A., & Bates, D. Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2008; 9 (2): 147-154.
53. Chemat, Farid, and Muhammed Kamran Khan. Applications of ultrasound in food technology processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2011; 18 (4): 813-835.
54. Ultratecno. Technology high power ultrasound (HPU). Disponible en: <http://www.ultratecno.nl/technologie/high-power-ultrasound-hpu/>.
55. Cansino NC, Carrera GP, Rojas QZ, Olivares LD, García EA, et al. Ultrasound Processing on Green Cactus Pear (*Opuntia ficus Indica*) juice: physical, microbiological and antioxidant properties. *Journal of Food Processing Technology*. 2013; 4 (9):1-6.
56. Navarro-González, I., García-Valverde, V., García-Alonso, J., & Periago, M. J. Chemical profile, functional and antioxidant properties of tomato peel fiber. *Food Research International*. 2011; 44 (5): 1528-1535.

57. Tabaraki, R., Heidarizadi, E., & Benvidi, A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum L.*) peel antioxidants by response surface methodology. *Separation and Purification Technology*. 2012; 1 (98): 16-23.
58. Said K. A. M., Radzi Z., Yakub I., Amin M. A. M. Extraction and Quantitative Determination of Ascorbic Acid from Banana Peel (*Musa Acuminata* 'Kepok'). *Engineering Journal*. 2016; 17 (1): 103-114.
59. Medina-Meza I. G., Barbosa-Cánovas G. V. Assisted extraction of bioactive compounds from plum and grape peels by ultrasonics and pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*. 2015; 1 (166): 268-275.
60. Zafra-Rojas QY, Cruz-cansino N, Ramírez-moreno E, Delgado-olivares L, Sánchez JV-, Alanís-garcía E. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. *Ultrasonic Sonochemistry*. 2013; 20 (5):1283–1288.
61. Lee, Eun Hye. Development of banana peel jelly and its antioxidant and textural properties. *Food Science and Biotechnology*. 2010; 19 (2): 449-455.
62. Velázquez-Paulin K., Reyes-Munguía, A., Carrillo-Inungaraya, M. L., Et. al. Gelatina adicionada con microcápsulas de ingredientes bioactivos de mamey (*Pouteria sapota*). *Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí*. 2017; 1 (2): 442-448
63. Dirección General de Normas. Normas Mexicanas. NMX-F-041-1983. Alimentos. postre de gelatina de sabores;1983.
64. Ghanem N., Mihoubi D., Kechaou N., Mihoubi N. B. Microwave dehydration of three citrus peel cultivars: Effect on water and oil retention capacities, color,

- shrinkage and total phenols content. *Industrial Crops and Products*. 2012; 40 (1): 167-177.
65. Kuskoski E. M., Asuero A. G., Troncoso A. M., Mancini-Filho J., Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*. 2005; 25 (4): 726-732.
66. Morales F. J., Jiménez-Pérez S. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chemistry*. 2001; 72 (1): 119-125.
67. Ruiz-Rodríguez B. M., Morales P., Fernández-Ruiz, V., Sánchez-Mata M. C., Et. al. Valorization of wild strawberry-tree fruits (*Arbutus unedo* L.) through nutritional assessment and natural production data. *Food Research International*. 2011; 44 (5): 1244-1253.
68. Goni I., Valdivieso L., Gudiel-Urbano M. Capacity of edible seaweeds to modify in vitro starch digestibility of wheat bread. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2002; 46 (1): 18.
69. Rojas, M., Andres, A. Extracto colorante de tuna purpura (*Opuntia ficus indica* L.): obtención y comparación con un colorante comercial de betarraga (*Beta vulgaris* var. *hortensis* L.). Universidad de Chile. Fac. de Ciencias Agronomicas. 2000
70. Cruz N., Capellas M., Hernández M., Trujillo A. J., Guamis B., Et. al. Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. *Food Research International*. 2007; 40 (6): 725-732.

71. Gurak, Poliana Deyse. Jaboticaba pomace powder obtained as a co-product of juice extraction: A comparative study of powder obtained from peel and whole fruit. *Food Research International* 2014; 1 (62): 786-792.
72. Chua S. C., Tan C. P., Mirhosseini H., Lai O. M., Et. al. Optimization of ultrasound extraction condition of phospholipids from palm-pressed fiber. *Journal of Food Engineering*. 2009; 92 (4): 403-409.
73. Schneeman B. O. Fiber, inulin and oligofructose: similarities and differences. *The Journal of Nutrition*. 1999; 129 (7): 1424S-1427S.
74. Leontowicz M., Gorinstein S., Leontowicz H., Krzeminski R., Et al. Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2003; 51 (19): 5780-5785.
75. Cardoso-Ugarte, G. A., Sosa-Morales, M. E., Ballard, T. Et al. Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). *Food Science and Technology*. 2014; 59(1): 276-282.
76. Tenore G. C., Novellino E., Basile A. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. *Journal of Functional Foods*. 2012; 4 (1): 129-136.
77. Tuero B. B. Funciones de la vitamina C en el metabolismo del colágeno. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*. 2000; 14 (1): 46-54.
78. Adekunle, A. O., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., Et al. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*. 2010; 122 (3): 500-507.

79. Feugang J. M., Konarski P., Zou D., Stintzing F. C., Et. al. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia spp.*) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience*. 2006; 11(1): 2574-2589.
80. Ajila C. M., & Rao U. P. Protection against hydrogen peroxide induced oxidative damage in rat erythrocytes by *Mangifera indica L.* peel extract. *Food and Chemical Toxicology*. 2008; 46 (1): 303-309.
81. Singh R. P., Chidambara-Murthy K. N., Jayaprakasha G. K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using *in vitro* models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002; 50 (1): 81-86.
82. Hayat K., Hussain S., Abbas S., Farooq U., Ding, Et. al. Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity *in vitro*. *Separation and Purification Technology*. 2009; 70 (1): 63-70.
83. Halliwell B., Rafter J., Jenner A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *American Journal of Clinical Nutrition*. 2005; 81 (1): 268S-276S.
84. Ghafoor, K., & Choi, Y. H. Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds and antioxidants from grape peel through response surface methodology. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 2009; 52 (3): 295-300.
85. Maran J. P., Manikandan S., Nivetha C. V., Dinesh R. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum L.* fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arabian Journal of Chemistry*. 2013; 1 (10): S1145-S1157.

86. Khan M. K., Abert-Vian M., Fabiano-Tixier A. S., Dangles O., Chemat F. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*. 2010; 119 (2): 851-858.
87. Kuti, J. O. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food chemistry*. 2004; 85 (4): 527-533.
88. Michalak, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2006; 15 (4): 523.
89. Tirzitis G., Bartosz G. Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Biochimica Polonica*. 2010; 57 (1): 139-142.
90. Wu L. C., Hsu H. W., Chen Y. C., Et. al. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry*. 2006; 95 (2): 319-327.
91. Zafra-Rojas, Q. Y., Cruz-Cansino, N. S., Quintero-Lira, A., Gómez-Aldapa, C. A., Et. al. Application of ultrasound in a closed system: Optimum condition for antioxidants extraction of Blackberry (*Rubus fruticosus*) residues. *Molecules*. 2016; 21 (7): 950.
92. Ma Y. Q., Ye X. Q., Fang Z. X., Et. al. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008; 56 (14): 5682-5690.
93. Deng G. F., Xu D. P., Li S., Et. al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from sugar apple (*Annona squamosa* L.)

- peels using response surface methodology. *Molecules*. 2015; 20 (11): 20448-20459.
94. Singanusong R., Nipornram S., Tochampa W., Et. al. Low power ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco cv. *Sainampueng*) and Lime (*Citrus aurantifolia*) peels. *Food Analytical Methods*. 2015; 8 (5): 1112-1123.
95. Amado I. R., Franco D., Sánchez M., Zapata C., Et. al. Optimization of antioxidant extraction from *Solanum tuberosum* potato peel waste by surface response methodology. *Food Chemistry*. 2014; 165 (1): 290-299.
96. Ashokkumar M., Sunartio D., Kentish S., Et. al. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: a preliminary study on a model system. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2008; 9 (2); 155-160.
97. Valero M., Recrosio N., Saura D., Et. al. Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*. 2007; 80 (2): 509-516.
98. Figuerola F., Hurtado M. L., Estévez A. M., Et. al. Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*. 2005 91 (3): 395-401.
99. Mello F. R. D., Bernardo C., Díaz C. O., Gonzaga L., Et. al. Antioxidant properties, quantification and stability of betalains from pitaya (*Hylocereus undatus*) peel. *Ciência Rural*. 2015; 45 (2): 323-328.
100. Tsai P. J., Chen Y. S., Sheu C. H., Chen C. Y. Effect of nanogrinding on the pigment and bioactivity of djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011; 59 (5): 1814-1820.

101. Toma M., Vinatoru M., Paniwnyk L., Mason T. J. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2001; 8 (2): 137-142.
102. Khandpur P., Gogate P. R. Evaluation of ultrasound based sterilization approaches in terms of shelf life and quality parameters of fruit and vegetable juices. *Ultrasonics Sonochemistry* 2016; 29 (1): 337-353.
103. Teles, F. F., Stull, J. W., Brown, W. H., Et al. Amino and organic acids of the prickly pear cactus (*Opuntia ficus indica L.*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1984; 35 (4): 421-425.
104. Palma M., Barroso C. G. Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products. *Analytica Chimica Acta*. 2002; 458 (1): 119-130.
105. Dükkancı M., Gündüz G. Ultrasonic degradation of oxalic acid in aqueous solutions. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2006; 13 (6): 517-522.
106. Le H. V., Le V. V. Comparison of enzyme-assisted and ultrasound-assisted extraction of vitamin C and phenolic compounds from acerola (*Malpighia emarginata DC.*) fruit. *International Journal of Food Science Technology*. 2012; 47 (6): 1206-1214.
107. Entezari M. H., Pétrier C., Devidal P. Sonochemical degradation of phenol in water: a comparison of classical equipment with a new cylindrical reactor. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2003; 10 (2): 103-108.
108. Femenia A., Bestard M. J., Sanjuan N., Et. al. Effect of rehydration temperature on the cell wall components of broccoli (*Brassica oleracea L. Var. italica*) plant tissues. *Journal of Food Engineering*. 2000; 46 (3): 157-163.

109. Gómez Aldapa, C. A. Evaluación del Efecto Antihiper glucémico del Bagazo de Naranja (*Citrus sinensis* var. Valencia) en estudios *in vivo*. Foro de ciencia y tecnología de alimentos Universidad de Guanajuato. 2008; (1): 730-737.
110. Adams G. G., Imran S., Wang S., Mohammad A. Et. al. The hypoglycemic effect of pumpkins as anti-diabetic and functional medicines. Food Research International. 2011; 44 (4): 862-867.
111. Cruz-Cansino N., Ramírez-Moreno E., León-Rivera J. E., Delgado-Olivares L., Et. al. Shelf life, physicochemical, microbiological and antioxidant properties of purple cactus pear (*Opuntia ficus indica*) juice after thermoultrasound treatment. Ultrasonics Sonochemistry. 2015; 27 (1): 277-286.
112. Levine M., Rumsey S. C., Daruwala R., Et. al. Criteria and recommendations for vitamin C intake. Journal of the American Medical Association. 1999; 281 (15): 1415-1423.