



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

DESARROLLO DE UN HELADO FUNCIONAL ADICIONADO CON
EXTRACTO DE LA CÁSCARA DE TUNA (*Opuntia streptacantha*)

T E S I S

Para obtener el grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a:

IIA. Iván Ulises Castillo Garibay

Asesores

Director: Dr. Rafael Zamora Vega

Co-Directora: Dra. Eréndira Valencia Avilés

Morelia, Michoacán. Agosto del 2022.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, mi madre Marta Garibay por siempre apoyarme y darme cariño y apoyo incondicional al igual que mis hermanos Jorge y Yanet.

A la Dra. Ernestina por haberme facilitado las muestras de tuna.

A mis compañeros de laboratorio, al M.C. Miguel Avalos por ser un excelente compañero y siempre tener la disponibilidad de apoyarme en mis experimentos técnicos en el laboratorio, a la Dra. Eunice por brindarme orientación y ayudarme con dudas cuando las necesite, al laboratorista QFB Miguel por brindarme su apoyo y orientación técnica.

Al QFB Víctor por permitirme trabajar y prestarme sus herramientas de trabajo en la elaboración del helado.

Al Dr. Octavio Rodiles por su buena disposición en el asesoramiento, aportaciones y su tiempo brindado al proyecto.

Y un especial agradecimiento a mis asesores de tesis, Dra. Eréndira Valencia por ser una excelente maestra, brindarme su tiempo y valiosos conocimientos durante la maestría y por siempre tener una brillante y amable actitud hacia mí, y a mi mentor y excelente maestro Dr. Rafael Zamora por brindarme su tiempo e infinita paciencia y dedicación durante 2 años, por siempre le estaré agradecido.

A mis sinodales, Dr. Héctor Martínez, Dra. Martha E. García y el Dr. Rafael Salgado por haberme guiado y dado sus valiosos conocimientos en la elaboración de mi tesis.

A nuestra valiosa institución gubernamental CONACYT por haberme financiado mi proyecto de tesis, espero devolver mis conocimientos y aportar al desarrollo de mi país México.

ÍNDICE GENERAL

I. ANTECEDENTES	14
1. Alimentos funcionales	14
2. Desarrollo y clasificación de los alimentos funcionales	15
2.1 Nopal y Tuna	16
2.1.1 Origen.....	17
2.1.2 Distribución.....	17
2.1.3 Características.....	18
2.2 Especies <i>Opuntia</i>	18
2.3 <i>Opuntia streptacantha</i>	20
2.3.1 Descripción de los frutos	20
2.3.2 Componentes nutricionales	20
2.3.3 Compuestos bioactivos de la tuna <i>O. streptacantha</i>	23
3. Antioxidantes	24
3.1 Estrés oxidativo y radicales libres	25
3.2 Betalaínas.....	27
3.2.1 Betacianinas	29
3.2.2 Betaxantinas	29
3.2.3 Mecanismo de Acción.....	30
3.2.4 Características de estabilidad.....	30
3.2.5 Toxicidad.....	31
3.3 Compuestos fenólicos	32
3.3.1 Clasificación y estructura.....	33
3.3.2 Los ácidos fenólicos	35
3.4 Flavonoides.....	36
4. Helado	40
4.1 Características y Desarrollo	40
4.2 Valor nutricional	41

4.3 Helados funcionales.....	43
II. HIPÓTESIS.....	44
III. OBJETIVOS.....	45
1. Objetivo General	45
2. Objetivos específicos	45
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	46
1.1 Colecta de la tuna y análisis botánico	46
1.2 Determinación de humedad y la curva de secado.....	47
1.3 Obtención en polvo de la cáscara de la tuna <i>O. streptacantha</i>	47
1.3.1 Selección de la tuna	47
1.3.2 Colorimetría de la tuna.....	49
1.4 Extracción por maceración.....	49
1.5 Concentración del extracto por evaporación.....	50
1.6 Contenido de fenoles totales.....	51
1.7 Contenido de flavonoides totales	52
1.8 Contenido de betalaínas	52
1.9 Capacidad antioxidante	52
1.9.1 Capacidad de captar radicales peroxilo (ROO-)	53
1.9.2 Capacidad para captar el anión superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$).....	53
1.9.3 Capacidad para captar el radical óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$)	54
1.9.4 Capacidad para captar el peróxido de hidrógeno (H_2O_2)	55
1.9.5 Capacidad para captar al ácido hipocloroso (HClO).....	55
1.9.6 Capacidad para captar el hidroxilo (OH^-)	56
2. Elaboración del helado	56
2.1 Cuantificación de componentes bioactivos y determinación de la capacidad antioxidante del helado	58
2.2 Análisis químico proximal del helado.....	58

2.3	Análisis sensorial	62
2.4	Vida de anaquel	62
2.5	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	64
2.6	Microscopía electrónica de barrido	64
2.7	Análisis estadístico	65
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	66
1.	Identificación botánica de la tuna <i>O. streptacantha</i>	66
2.	Determinación de humedad y la curva de secado	67
3.	Colorimetría de la tuna	68
4.	Rendimiento de la extracción	68
5.	Composición de fitoquímicos presentes en la cáscara de tuna de la especie <i>O. streptacantha</i>	69
5.1	Fenoles totales	69
5.2	Flavonoides totales	71
5.3	Betalainas.....	72
6.	Capacidad antioxidante	74
6.1	Peróxido de hidrógeno.....	76
6.2	Peroxilo	78
6.3	Óxido nítrico	80
6.4	Hidroxilo	82
6.5	Anión superóxido	83
6.6	Ácido hipocloroso	85
7.	Caracterización química de compuestos volátiles y semivolátiles del extracto etanólico de cáscara de tuna.	87
8.	Estandarización de la formulación del helado funcional con extracto de cáscara de tuna	100

9. Análisis químico proximal del helado	100
10. Compuestos bioactivos del helado funcional	104
10.1 Capacidad antioxidante del helado funcional	105
11. Evaluación sensorial del helado	107
12. Vida de anaquel.....	108
12.1 Resultados obtenidos de vida de anaquel.....	115
13. Microcomposición estructural del helado	116
VI. CONCLUSIONES	117
VII. REFERENCIAS.....	118
1. ANEXOS	132

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Composición nutrimental de la tuna fresca	21
Tabla 2.	Presencia de fenoles y flavonoides en pulpa y cáscara de la tuna <i>o. ficus-indica</i>	22
Tabla 3.	Compuestos bioactivos de especies de tunas.....	23
Tabla 4.	Contenido de compuestos bioactivos en la cáscara de tuna <i>o. streptacantha</i> con agua y etanol.	24
Tabla 5.	Factores que influyen en la estabilidad de las betalaínas.	31
Tabla 6.	Clasificación de compuestos fenólicos por estructura del carbono, número de anillos aromáticos y estructura química básica.	34
Tabla 7.	Contenido nutrimental de un helado común sabor vainilla.	42
Tabla 8.	Métodos y referencias para el análisis químico proximal del helado.	59
Tabla 9.	Composición total de fitoquímicos extraídos de la cáscara de la tuna <i>O. streptacantha</i>	70
Tabla 10.	capacidad antioxidante de los extractos de la cáscara de tuna <i>O. streptacantha</i>	75
Tabla 11.	Correlación (spearman) de la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales, flavonoides, betacianinas y betaxantinas de los extractos agua y etanol de <i>O. streptacantha</i>	76
Tabla 12.	Compuestos identificados (extraídos con tolueno) en el extracto etanólico <i>o. streptacantha</i> por gc-ms.....	88

Tabla 13. Compuestos identificados (extraídos con acetonitrilo) en el extracto etanólico <i>o. streptacantha</i> por GC-MS.....	95
Tabla 14. Análisis químico proximal del helado funcional.	102
Tabla 15. Porcentajes de reducción del helado HA con respecto al helado HS	103
Tabla 16. Compuestos bioactivos del helado HA y HS.	104
Tabla 17. Capacidad antioxidante del helado funcional.	105
Tabla 18. Grado de aceptabilidad de las dos formulaciones del helado.	107
Tabla 19. Cálculo de los logaritmos del tiempo crítico.	112
Tabla 20. Resultados del q ₁₀ de los análisis sensorial y fisicoquímicos.	113
Tabla 21. Cálculo de la correlación del análisis sensorial y fisicoquímicos para la obtención de vida de anaquel a -6 °c.	114
Tabla 22. Resultados de la vida de anaquel del helado stevia con los extractos de <i>O. streptacantha</i>	115

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Desarrollo de alimentos funcionales.....	15
Figura 2.	Taxonomía del nopal.....	16
Figura 3.	Ejemplos de diferentes nombres y estructuras de betalaínas.	28
Figura 4.	Estructura química básica de los flavonoides y sus anillos a, b y c.....	36
Figura 5.	Estructuras químicas básicas de las principales clases de: a) flavonoides, b) isoflavonoides, c) neoflavonoides, d) flavonoides menores.	39
Figura 6.	Diagrama de flujo de la elaboración de un helado común.....	41
Figura 7.	Amacueca-jalisco, lugar de la obtención de tuna de la especie <i>O. streptacantha</i>	46
Figura 8.	Penca de nopal <i>O. streptacantha</i> con tuna.	47
Figura 9.	Secado en horno de la cáscara de tuna.	48
Figura 10.	Diagrama espacial del modelo CieLab	49
Figura 11.	Muestras de agua y etanol-agua filtrándose.	50
Figura 12.	Concentración del extracto en rotaevaporador.	51
Figura 13.	Extracto concentrado de tuna.	51
Figura 14.	Elaboración del helado funcional.	57
Figura 15.	Nopal <i>O. streptacantha</i>	66

Figura 16.	Curva de secado para la cáscara de tuna <i>O. streptacantha</i> .	67
Figura 17.	Rendimiento (%) de los extractos de la cáscara de la tuna <i>O. streptacantha</i> .	69
Figura 18.	Compuestos fenólicos totales presentes en la cáscara de la tuna <i>O. streptacantha</i> .	71
Figura 19.	Contenido de flavonoides en la cáscara de tuna <i>O. streptacantha</i> .	72
Figura 20.	a) Contenido de betacianinas, b) Contenido de betaxantinas.	73
Figura 21.	Gráfico EC ₅₀ para el peróxido de hidrógeno	77
Figura 22.	Gráfico EC ₅₀ para el radical peroxilo.	79
Figura 23.	Gráfico EC ₅₀ para el óxido nítrico.	81
Figura 24.	Gráfico EC ₅₀ para el radical hidroxilo.	83
Figura 25.	Gráfico EC ₅₀ para el radical anión superóxido.	84
Figura 26.	Gráfico EC ₅₀ para el radical ácido hipocloroso.	86
Figura 27.	Compuestos identificados por GC-MS.	87
Figura 28.	Compuestos identificados por GC-MS.	94
Figura 29.	Evaluación sensorial hedónica del helado a -6°C	108
Figura 30.	Evaluación hedónica del helado a -18 °C	109

Figura 31. a) Gráfica de dispersión para los valores obtenidos del análisis sensorial a -18 °C, b) gráfica de dispersión para los valores obtenidos del análisis sensorial a -6 °C, c) gráfica de dispersión para los valores obtenidos del pH a -18 °C, d) gráfica de dispersión para los valores obtenidos del pH a -6 °C.....110

Figura 32. Gráfica de dispersión para los valores obtenidos de la acidez a -18 °C. b) gráfica de dispersión para los valores obtenidos de la acidez a -6 °C.111

Figura 33. Gráfica de dispersión para los valores obtenidos del índice de peróxidos a -6°C.....112

Figura 34. a) Micrografía a 100x, b) micrografía a 250x, c) micrografía a 500x, d) micrografía a 1000x.....116

RESUMEN

Ante la necesidad de producir alimentos con características funcionales, se ha innovado adicionando compuestos como los polifenoles y betalaínas (pigmentos). El uso de desechos de frutas hoy en día representa una alternativa económica para obtener compuestos bioactivos de interés alimentario. El objetivo de esta investigación fue el desarrollo de un helado funcional formulado con extractos de la cáscara de la tuna (*Opuntia streptacantha*). La extracción se realizó con etanol (60%) y agua por maceración y se analizó su contenido en fenoles totales, flavonoides y betalaínas. La extracción con etanol (60%) resultó con una mayor concentración de fenoles totales, 19.98 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/g; flavonoides, 14.72 mg equivalentes de catequina (ECAT)/g; betalaínas, 0.77 mg de betanina/g; 0.58 mg de indicaxantina/g. Para la capacidad antioxidante, se determinó la capacidad de captar radicales de importancia biológica, obteniendo la concentración efectiva media máxima (EC_{50} μ g/mL): H_2O_2 = 1141, $ROO\bullet$ = sin reacción, $NO\bullet$ = 87, $OH\bullet$ = 1017, $O_2\bullet$ = 26.9, $HClO$ = 1731. El estudio del extracto etanólico por GC-MS detectó probucol, ácido hexadecanoico, 2-metoxi-4-vinilfenol, compuestos que se han asociado con características benéficas a la salud. Se elaboraron dos formulaciones de helado, una con azúcar común y la segunda con estevia, a estos helados, se les añadió 0.5%, 1% ó 1.5% del extracto etanólico de cáscara de tuna. Se eligió, para posteriores análisis, la formulación con estevia y con la mayor concentración (1.5%) de extracto, debido a que presenta superior concentración de fenoles totales, flavonoides totales y betalaínas, así como una mejor capacidad de captar las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, obteniéndose (EC_{50} mg/mL): H_2O_2 = 45.34, $NO\bullet$ = 0.432, $OH\bullet$ = 4.52, $O_2\bullet$ = 0.580. Esta formulación, se sometió a análisis químico proximal, sensorial y de vida de anaquel; obteniendo un contenido proteico de 4.5 g, grasas 14.1 g, carbohidratos totales 2 g y un aporte calórico de 152.7 kcal. Se alcanzó una calificación hedónica global aceptable, con una vida de anaquel de 6 meses. El helado funcional con estevia presentó una reducción en kcal, en comparación con el helado con sacarosa, tuvo aceptación sensorial positiva y demostró una eficiente captación del radical $NO\bullet$ y $O_2\bullet$.

Palabras clave: tuna, helado, nopal, polifenoles, antioxidantes.

ABSTRACT

Faced with the need to produce foods with functional characteristics, it has innovated by adding compounds such as polyphenols and betalains (pigments). The use of fruit waste today represents an economical alternative to obtain bioactive compounds of food interest. The objective of this research was the development of a traditional functional ice cream formulated with prickly pear peel extracts (*Opuntia streptacantha*). The prickly pear peel was extracted with ethanol (60%) and water by maceration and its content in total phenols, flavonoids and betalains was analyzed. Extraction with ethanol (60%) resulted in a higher concentration of total phenols, 19.98 mg gallic acid equivalents (EAG)/g; flavonoids, 14.72 mg catechin equivalents (ECAT)/g; betalains, 0.77 mg betanin/g; 0.58 mg indicaxanthin/g. For the antioxidant capacity, the ability to capture radicals of biological importance is limited, obtaining the maximum average effective concentration (EC50 $\mu\text{g/mL}$): H_2O_2 = 1141, $\text{ROO}\cdot$ = no reaction, $\text{NO}\cdot$ = 87, $\text{OH}\cdot$ = 1017, $\text{O}_2\cdot$ = 26.9, HClO = 1731. The study of the ethanolic extract by GC-MS detected probucol, hexadecanoic acid, 2-methoxy-4-vinylphenol, compounds that have been associated with beneficial characteristics for health. Two formulations of ice cream were made, one with common sugar and the second with stevia, to these ice creams, 0.5%, 1% or 1.5% of the ethanolic extract of prickly pear peel was added. For further analysis, the formulation with stevia and with the highest concentration (1.5%) of extract was chosen, because it has a higher concentration of total phenols, total flavonoids and betalains, as well as a better ability to capture the reactive species of oxygen and nitrogen, obtaining (EC50 mg/mL): H_2O_2 = 45.34, $\text{NO}\cdot$ = 0.432, $\text{OH}\cdot$ = 4.52, $\text{O}_2\cdot$ = 0.580. This formulation was subjected to a proximal, sensory and shelf life chemical analysis; obtaining a protein content of 4.5 g, fat 14.1 g, total carbohydrates 2 g and a caloric intake of 152.7 kcal. An acceptable global hedonic rating was achieved, with a shelf life of 6 months. Ice cream functional with this pathway presented a reduction in kcal, compared to sucrose ice cream, had positive sensory acceptance and showed efficient scavenging of $\text{NO}\cdot$ and $\text{O}_2\cdot$ radicals.

Keywords: prickly pear, ice cream, nopal, polyphenols, antioxidants.

I. ANTECEDENTES

1. ALIMENTOS FUNCIONALES

Se tiene registro de culturas antiguas indígenas y orientales que hacían uso de alimentos con el objetivo de poder curar o aliviar determinada enfermedad. Durante la Edad Media, los monjes escribían textos donde explicaban el poder curativo de algunos alimentos. No fue hasta tiempo después, con el desarrollo de la farmacología, que el uso de los alimentos como medicina o paliativos, que perderían su importancia, no obstante, viene el resurgimiento de los alimentos como agentes curativos, ello respaldado con investigaciones científicas de hoy en día. En el siglo XX, los alimentos funcionales surgen por motivos meramente políticos, como planes de programas gubernamentales en la lucha contra el hambre y el combate de enfermedades de países industrializados (Sánchez *et al.*, 2010).

El término alimento funcional, se usó por primera vez en Japón, en 1984, en aquel entonces, el gobierno japonés asignó fondos para realizar investigaciones con alimentos funcionales y fortificados o alimentos para el uso exclusivo de la salud. El gobierno japonés ha etiquetado a la comida funcional con el término FOSHU, el cual debe reunir tres requisitos importantes: el primero, es que debe obtener una efectividad en estudios clínicos; el segundo, demostrar seguridad en los estudios clínicos y no clínicos, y el tercero, la determinación de componentes efectivos o activos (Martirosyan & Singh, 2015).

Uno de los conceptos mejor explicados y aceptados a nivel mundial del término “alimento funcional” según Document, (1999) fue en el consenso de la *Functional Food Science in Europe* (FUFOSE) donde se propuso que un alimento funcional debe demostrar de manera clara que posee un beneficio en la salud del ser humano, más allá de los que ofrecen los nutrientes contenidos en el alimento.

Un alimento funcional (Figura 1) tiene como principal objetivo reducir el riesgo de padecer enfermedades como las cardiovasculares, el cáncer, la osteoporosis, o el mejorar funciones fisiológicas como la digestión con el efecto prebiótico, por ejemplo. Mientras que los suplementos alimentarios o dietéticos corresponden más al tema de la farmacología y no tanto a la nutrición (Sánchez *et al.*, 2010).



Figura 1. Desarrollo de alimentos funcionales (Sánchez *et al.*, 2010).

2. DESARROLLO Y CLASIFICACIÓN DE LOS ALIMENTOS FUNCIONALES

Para desarrollar un alimento funcional, se deben estudiar e identificar ciertos marcadores con un determinado valor predictivo con respecto a sus beneficios potenciales para una función objetivo o el riesgo de una enfermedad en particular, un marcador puede ser de naturaleza bioquímica, fisiológica, conductual o psicológica y deben cumplir ciertas características como ser factibles, válidos, reproducibles, sensibles y específicos. Por ejemplo, las muestras que se analizan son heces, suero, nivel de orina y los tejidos en función del componente bioactivo consumido en diferentes concentraciones y posteriormente se valora el nivel de bienestar o reducción del riesgo de determinada enfermedad (Roberfroid, 2011).

Martirosyan y Singh (2015) establecieron una serie de pasos a seguir para desarrollar un alimento funcional hasta su comercialización. Primero analizaron el vínculo entre un alimento y los beneficios a la salud, después se ejecutan pruebas *in vitro* e *in vivo* y estudios en humanos y se comprueba que no existan efectos secundarios a determinadas

concentraciones del compuesto bioactivo. Además, se crea un vehículo alimenticio apropiado para los compuestos bioactivos, se lleva a cabo su comercialización y se informa sobre los potenciales beneficios a la salud, del producto. Finalmente se realizan pruebas en poblaciones para evaluar los efectos del consumo del producto a largo plazo y su posterior efectividad, y se miden las actitudes públicas hacia la comida funcional.

2.1 NOPAL Y TUNA

El nopal (*Opuntia spp.*) es una planta cactácea del género *Opuntia* (figura 2), que se desarrolla en regiones subtropicales semiáridas alrededor del mundo, principalmente en Chile, Italia, México, Sudáfrica y Estados Unidos. Su importancia radica en la producción de forraje en relación con la superficie total cultivada, México es el principal productor de nopal (Sáenz *et al.*, 2006).

Reino	Vegetal
Subreino	Embryophyta
División	Angioserma
Clase	Dicotiledoneae
Subclase	Dialipetalas
Orden	Opuntiales
Familia	Cactaceae
Tribu	Opuntiae
Subfamilia	Opuntioideae
Género	Opuntia
Subgénero	Platyopuntia
Especie	Varios nombres

Figura 2. Taxonomía del nopal (Bravo-Hollis, 1978).

2.1.1 ORIGEN

Durante la llegada de los españoles al continente americano, los frutos de *Opuntia* eran ofrecidos a los españoles como regalos, estos frutos eran dulces de color rojizo. La palabra “tuna” viene del nativo “tun”. Hernán Cortez era consciente de la gran importancia cultural y económica que representaba el nopal en la sociedad azteca, de hecho, la palabra Tenochtitlan significa “nopal sobre una roca”. Además de como alimento, el pueblo azteca usaba diferentes especies de *Opuntia* con objetivos medicinales y para producir un pigmento muy valioso de importancia comercial, extraído de un insecto que se desarrollaba en las pencas de los nopales llamada “cochinilla”. El nopal se dispersó por toda la costa del mediterráneo y África, era una fuente importante de vitamina C ya que se les daba a los marineros que padecían escorbuto. En el siglo XVIII se dispersó hasta China y la India y en el siglo XX ya era conocido en Europa, África y Asia (Ochoa & Barbera, 2018).

El nopal fué una fuente de alimentación para los pueblos precolombinos de América, en el periodo 14 000-8 000 a. de C. Se tienen registros arqueológicos de restos de nopales en cuevas, las especies de nopal común, la *O. ficus-indica*, fue domesticada a partir de especies silvestres como la *O. megacantha* y *Streptacantha lemaire*, aunque hoy en día por estudios moleculares se sabe que *O. megacantha* es la que dio origen a la especie *ficus-indica* mediante selección artificial e hibridaciones realizadas por el hombre, todo con el objetivo de obtener un cladodio de calidad para consumo humano y forraje para el ganado tanto en peso, pulpa del fruto, y que no presentara exceso de espinas (Kiesling & Metzing, 2018).

2.1.2 DISTRIBUCIÓN

El nopal una vez introducido en España se extendió por toda Europa, debido a que el nopal es una cactácea que fácilmente se adapta a climas cálidos y desérticos, por lo que se adaptaron a los climas cálidos de África, Asia y Australia, convirtiéndose en plantas invasoras afectando a la biodiversidad propia de estas regiones, por otra parte, en 26 países ya está naturalizado el nopal como una planta nativa propia de esa región (Kiesling &

Metzing, 2018). En México diferentes nopales silvestres se encuentran distribuidos principalmente en los estados del norte y centro de México: Chihuahua, Baja California Norte y Sur, Sonora, Nuevo León, estados como San Luis Potosí, Zacatecas y Aguascalientes presentan una gran variedad de nopal silvestre en comparación con los demás estados de México (Scheinvar *et al.*, 2009).

2.1.3 CARACTERÍSTICAS

El nopal tiene un sistema de raíces que se distribuye horizontalmente de características xeromórficas y carnosas con el objetivo de sobrevivir a condiciones áridas y poca agua, se extienden por debajo del suelo hasta 8 metros. La penca o cladodio posee yemas o áreas cortas llamadas “areolas”, contienen pelos y espinas; el tallo succulento con córtex verde y no posee follaje, de forma oblonga o espatulada-oblonga de 30 a 40 cm de largo o incluso más grandes (70-80 cm) y de ancho 18 a 25 cm. Las espinas son rugosas y los gloquidios son lisos de color blanco, las flores poseen características únicas como los estambres, estos tienen forma de espiral, el pistilo posee cuatro o más carpelos. El fruto es una baya carnosa, tiene un ovario inferior que está hundido en el tejido del tallo del receptáculo, su cáscara se origina en el receptáculo y tienen una morfología similar con su cladodio (Prat *et al.*, 2018).

2.2 ESPECIES *Opuntia*

Según Scheinvar *et al.* (2009) México posee 103 especies silvestres de *Opuntia*, 62 de ellas endémicas. A continuación, se describen algunas especies de nopal ubicados en los estados de la república Mexicana de acuerdo con Bravo-Hollis (1978) y CONABIO (2018).

- *Opuntia hyptiacantha*. Nombre común nopal chavena y cascarón, es un nopal que alcanza los 2 a 3 metros de alto con ramificaciones, sus pencas son de color verde amarillento con formas ovoides de 22 a 30 cm, areolas circulares, con espinas blancas en punta transparentes de 3 cm de largo en pencas viejas, flores amarillas y sus frutos presentan una coloración roja con la cáscara gruesa y pulpa roja. Esta

especie se le encuentra principalmente en Aguascalientes (Bravo-Hollis, 1978; CONABIO, 2018).

- *Opuntia joconostle*. Llamado comúnmente como tuna blanca o xoconostle. Es una planta arborescente de 2 a 3 metros de altura, tronco definido de 20 cm de diámetro de color grisáceo, presenta una ramificación extendida de pencas ovales sin pelos, epidermis lisa de color verde claro ligeramente amarillenta. Tiene espinas blancas, con longitudes variables; flores de color amarillas; los frutos son globosos de 2 cm de diámetro de pulpas ácidas de color rosado, con olor ligeramente perfumado. Distribuido en el Estado de México, Jalisco, Querétaro y Michoacán. A veces se le encuentra en el Altiplano (Bravo-Hollis,1978; CONABIO, 2018).
- *Opuntia leucotricha*. Llamado nopal duraznillo y “duraznillo blanco”. Esta es una planta arborescente de 3 a 5 metros de altura con una condición ramosa de tronco por lo regular bien definido, está recubierto con unos largos pelos setosos blancos y flexibles que miden hasta los 8 cm de longitud. Pencas oblongas de 15 a 30 cm de largo. Areolas numerosas juntas entre sí por 1 cm, con gloquidios amarillos en la parte superior y espinas en la parte inferior. Las flores son de 5 a 8 cm de largo, de coloración amarilla. El fruto globoso mide de 4 a 6 cm de longitud y su color va del blanco hasta el púrpura; se le localiza en San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Guanajuato, Querétaro e Hidalgo (Bravo-Hollis,1978; CONABIO, 2018).
- *Opuntia megacantha*. Conocido comúnmente como nopal blanco. Es una planta de gran altura de 4 a 5 metros o incluso más, con troncos leñosos por lo regular de forma definida, de pencas grandes de 40 a 60 cm de largo o más, obovadas hasta oblongos por lo regular oblicuos, de color verde oscuro. Areolas pequeñas distanciadas entre sí de 4 a 5 cm, de 1 a 5 espinas aplanadas blancas, ligeramente extendidas de 2 a 3 cm de largo a veces escasas. Presenta pocos gloquideos de color amarillo. El color de las flores va del amarillo al anaranjado y miden alrededor de 8 cm de ancho. Los frutos miden de 7 a 8 cm de largo y son de color amarillento. Se encuentra en San Luis Potosí, Guanajuato y Zacatecas (Bravo-Hollis,1978; CONABIO, 2018).

2.3 *Opuntia streptacantha*

Especie de interés comercial y conocida con diferentes nombres como "tuna cardona"; "nopal, cardón", "nopal hartón". Pertenece a las angiospermas dicotiledóneas de la familia de las cactáceas, endémica de México, de característica arborescente, con ramificaciones de hasta 5 m de alto, su tronco definido de 45 cm de diámetro, las pencas obovadas miden 30 cm de longitud, son de color verde oscuro, presenta areolas pequeñas cercanas entre sí, tiene espinas distribuidas por toda la penca de color blanquecinas y sus gloquidios son de color café rojizo. Se le cultiva y domestica para su consumo aunque también de manera silvestre, crece en las laderas de los cerros, en corrientes pluviales, y llanuras, es común encontrarla en vegetación de matorrales, donde coexiste con otras especies del género *Opuntia* como *O. leucotricha*, *O. megacantha*, *O. cantabrigiensis* y *O. robusta*.

Su distribución se da en zona árida a lo largo del Altiplano. Se le encuentra en los estados de Hidalgo, Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí, Aguascalientes y Zacatecas, hacia el sur comenzando con el valle de México, Puebla y Oaxaca, al occidente con el estado de Jalisco. Tiene una gran importancia económica debido a que sus frutos (tunas) son comestibles, se utilizan para la producción de jugos, sus pencas suelen emplearse como forraje para el ganado y consumo en forma de verdura (Bravo-Hollis, 1978; Aparicio-Fernández *et al.*, 2017).

2.3.1 DESCRIPCIÓN DE LOS FRUTOS

El nopal presenta flores de color amarillas hasta anaranjadas que miden de 7 a 9 cm de ancho, sus frutos son pequeños comparados con los de *figus-indica*, con 5 cm de diámetro cuyo color va del rojo oscuro, rosado intenso y amarillento tanto en la pulpa como en su cáscara (Bravo-Hollis, 1978; Aparicio-Fernández *et al.*, 2017).

2.3.2 COMPONENTES NUTRICIONALES

Los frutos del nopal tienen mucho valor comercial. Son muy aromatizados y tienen excelentes propiedades nutricionales. Los frutos se utilizan para la fabricación de productos alimenticios como zumos, bebidas alcohólicas, mermeladas y edulcorantes líquidos

naturales. Una de las contribuciones más valiosas de las frutas frescas de nopal a la dieta es su contenido nutrimental (tabla 1) de carbohidratos, lípidos, fibra, minerales como el calcio, magnesio, hierro y potasio, además de vitamina C. Además de sus propiedades nutricionales, estos frutos contienen biocompuestos con diversas aplicaciones comerciales. Uno de estos compuestos es la betalaína, un pigmento que contiene nitrógeno soluble en agua y que se encuentra en altas concentraciones en los frutos del nopal en forma de ácido betalámico.

Tabla 1. Composición nutrimental de la tuna fresca (USDA, 2019).

Componente	Cantidad
Agua	87.5 g
Proteína	0.73 g
Lípidos	0.5 g
Cenizas	1.64 g
Carbohidratos totales	9.6 g
Fibra total	3.6 g
Calcio	56 mg
Magnesio	85 mg
Potasio	220 mg
Hierro	0.3 mg
Vitamina C	14 mg

El ácido betalámico es la molécula base común de los pigmentos betalaínicos utilizados como colorantes alimentarios naturales. Las betacianinas y betaxantinas contienen potentes propiedades antioxidantes. La estructura química y la concentración son muy variables y dependen de la variedad, las etapas de maduración y el tipo de tejido vegetal (Yeddes *et al.*, 2013). Otros compuestos bioactivos como los fenoles y los flavonoides han sido identificados en la pulpa y cáscara de la tuna del nopal (tabla 2).

Tabla 2. Contenido de fenoles y flavonoides en pulpa y cáscara de la tuna *O. ficus-indica* (Corzo-Ríos *et al.*, 2017).

Tejido	Compuesto identificado
Pulpa	Ácidos fenólicos totales Kaempferol Quercetina Luteolina Isorhamnetina Isorhamnetin-glucosidos
Cáscara del fruto	Ácidos fenólicos totales Ketracetina Flavonoides totales Isorhamnetina Kaempferol

Patil & Dagadkhair (2019), analizaron la cantidad de ácidos fenólicos, flavonoides y betalaínas de varias especies de tuna fresca. En la tabla 3 se muestra un resumen de los compuestos bioactivos de varias especies de tuna. *O. stricta* y *O. ficus-indica* destacan por su elevada cantidad de ácidos fenólicos, *O. megacantha* y *O. ficus-indica* por la cantidad de flavonoides totales, y *O. stricta* y *O. ficus-indica* por su elevada cantidad de betalaínas. Ramírez-Ramos *et al.* (2015) analizaron pulpas de tunas de variedades mexicanas, y observaron concentraciones más altas de compuestos fenólicos en las variedades verdes, amarillas, anaranjadas y en algunas rojas, en la etapa de inmadurez hortícola; las especies *O. megacantha* de tuna morada y *O. ficus-indica* (jade) tuna roja destacaron por su alta cantidad de betalaínas en comparación con otras variedades de tuna. También García-Cayuela *et al.* (2019) identificaron flavonoides en la pulpa y cáscara de tuna mexicanas y españolas.

La producción de compuestos fenólicos y flavonoides en el fruto de la tuna depende mucho del sistema de riego, abono y factores climáticos, para así obtener una tuna de contenido nutricional óptimo (Sáenz *et al.*, 2006). Las cantidades reportadas por varios autores varían según el área de cultivo, condiciones climáticas, variedad del fruto y métodos de extracción. Es bien sabido que las cáscaras de los frutos externos que están

más expuestas a la luz solar contienen una elevada cantidad de flavonoides en comparación con las capas internas y pulpa (Suleria *et al.*, 2020).

Tabla 3. Compuestos bioactivos en diferentes especies de tuna (Patil & Dagadkhair, 2019).

Especies	Ácidos Fenólicos Totales	Flavonoides Totales	Betalaínas
<i>O. stricta</i>	204.4 GAE/100g peso fresco	9.8 mg QE/100g peso fresco	80.1 (mg/100g peso fresco)
<i>O. streptacantha</i>	120 GAE/100g peso fresco	18.0 mMol de quercetina /g	3.5 (mg/100g peso fresco)
<i>O. hyptiacantha</i>	33.4 mMol de ácido gálico /g	17.1 mMol de quercetina /g	-
<i>O. megacantha</i>	130 GAE/100 g peso fresco	50.24 mg quercetina/100g peso fresco	27 µg/g peso fresco
<i>O. albicarpa</i>	40.8 mMol de ácido gálico /g	17.2 mMol de quercetina /g	1 (mg/100g peso fresco)
<i>O. ficus-indica</i>	218 mg GAE/100g peso fresco	19.4 mMol de quercetina /g	39.3 (mg/100g peso fresco)

*GAE: equivalentes de ácido gálico

*QE: equivalentes de quercetina

2.3.3 COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA TUNA *O. streptacantha*

Esta especie de tuna tiene características silvestres, con un color rojo a violeta intenso. De acuerdo con la tabla 4, se ha reportado que el contenido de betalaínas es menor con respecto a *O. ficus-indica*, mientras que el contenido de flavonoides es similar a *ficus-indica*. El contenido en ácidos fenólicos es similar a otra especie silvestre *O. megacantha*, y estos varían de acuerdo a condiciones ambientales, la etapa de madurez y el tratamiento postcosecha (Patil & Dagadkhair, 2019).

Tabla 4. Contenido de compuestos bioactivos en la cáscara de tuna *O. streptacantha* con agua y etanol (Zourgui *et al.*, 2020).

	Polifenoles Totales (mg Ácido Gálico /g)	Flavonoides Totales (mg Catequina/g)	Taninos (mg Catequina/g)
Agua destilada	12.78	8.95	1.98
Etanol	24.65	14.08	2.65

En una investigación de Kuti (2004) se analizó el contenido de flavonoides de diferentes especies de tunas en peso fresco, la cantidad de quercetina es mayor en las especies *O. lindheimeri* (90.5 µg/g), *O. streptacantha* (51 µg/g), *O. ficus-indica* (43.2 µg/g) y *O. stricta* (9.8 µg/g). El flavonoide Kaempferol fué mayor en *O. streptacantha* (3.8 µg/g), seguido de *O. ficus-indica* (2.2 µg/g) y *O. lindheimeri* (1.1 µg/g).

3. ANTIOXIDANTES

Un antioxidante es un compuesto que concentraciones bajas y en comparación con un sustrato oxidable, puede retrasar o prevenir la oxidación del sustrato. Estos son sustancias solubles en lípidos y solubles en agua. Los antioxidantes de origen vegetal en su mayoría son de tipo hidrófilos como los compuestos fenólicos, glutatión peroxidasa (GPx), superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), ácido úrico, lipoico, y ascórbico. Los antioxidantes hidrófobos están vinculados a la membrana biológica funcional y se encuentran los carotenoides, vitamina K, fosfolípidos, tocoferoles y la ubiquinona. Los antioxidantes se clasifican de acuerdo con su acción catalítica, como en enzimáticos y no enzimáticos. Los enzimáticos tienden a ser muy específicos a sus especies reactivas al sustrato y poseen ciertos cofactores, los más comunes son los SOD, CAT y GPx. Los no enzimáticos no contienen ningún sustrato en específico y por consecuencia podrían anular ciertos efectos negativos de las especies reactivas del oxígeno como el glutatión, proteínas (ferritina, transferrina, ceruloplasmina, albúmina), ácido úrico, ácido lipoico y coenzima Q (Pisoschi & Pop, 2015; Haida & Hakimian, 2019).

Los antioxidantes poseen un sistema de defensa que contribuye a evitar enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo contrarrestando a las nocivas especies reactivas de oxígeno (ERO). Los antioxidantes evitan que los radicales libres provoquen estragos en funciones celulares vitales del ser humano (Haida & Hakiman, 2019).

3.1 ESTRÉS OXIDATIVO Y RADICALES LIBRES

El estrés oxidativo es una condición donde los radicales libres aumentan su concentración de manera descontrolada y la concentración de antioxidantes es relativamente baja en el organismo. Los prooxidantes y radicales libres contienen más de un electrón desapareado, es decir, que son moléculas inestables y muy reactivas. Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son por las rutas metabólicas continuas en el sistema humano, las ERO atacan y reaccionan con los almidones, grasas, proteínas y ácidos nucleicos. La fuente de producción endógena de las ERO son las mitocondrias, xantina oxidasa, inflamaciones, fagocitosis, vías del ácido araquidónico, ejercicio extenuante, lesiones por isquemia, iones metálicos libres, el estallido respiratorio. Fuentes exógenas son los contaminantes ambientales y la radiación UV (Neha *et al.*, 2019). Los radicales libres y agentes oxidantes más importantes son:

Hidroxilo ($\text{OH}\cdot$). De características reactivas, se convierten fácilmente en grupos hidroxilo y por consecuencia tienen una vida muy corta de 10^{-9} segundos, todos los días una célula humana es atacada por un radical hidroxilo y otras especies de radicales. Este radical se genera como un subproducto de la acción inmunitaria, como los macrófagos que generan una importante cantidad de este radical cuando se exponen a patógenos y muy específicos a ciertas bacterias. Los efectos nocivos de este radical en la salud humana se vinculan con problemas autoinmunes neurológicos cuando las células inmunes se activan en exceso y producen una cierta toxicidad para las células vecinas sanas. El radical hidroxilo puede formarse por la radiación de alta energía que provoca una división hemolítica del agua corporal o del peróxido de hidrógeno endógeno en procesos catalizados por metales. La luz UV puede dividir el peróxido y generar dos moléculas del radical hidroxilo (Gulcin, 2020).

Óxido nítrico (NO-). Se produce por la acción activa de los macrófagos que contribuyen en la defensa inmune primaria. Funciona como un compuesto de señalización formado enzimáticamente de la arginina, además que relaja los músculos lisos de las paredes de los vasos sanguíneos. Si se produce en exceso es citotóxico, y por consecuencias podría reaccionar directamente con las biomoléculas o combinarse con el O₂ para formar peroxinitrito (ONOO-) (Gulcin, 2020).

Peroxilo (ROO). Este radical se produce durante la peroxidación de lípidos mediante la eliminación de un átomo de H de los ácidos grasos poliinsaturados. Tienen una vida relativamente larga con un grado de difusividad alto en los sistemas biológicos. Los productos generados en la peroxidación lipídica son los radicales alcóxido (RO) y los hidroperóxidos orgánicos (ROOH), este último podría reorganizarse en intermedios de endoperoxidos, los cuales se dividen y dan origen a aldehídos, la reacción de los aldehídos con grupos amina de proteínas participan en la modificación de la parte proteínica de las lipoproteínas (Gulcin, 2020).

Peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Es un agente oxidante, no es un radical libre, está constituido por la reducción de dos electrones de O₂. En presencia de O₂ y iones metálicos de transición el peróxido de hidrógeno puede generar el ión hidroxilo OH⁻, mediante la reacción de Fenton. Con la reacción de Haber-Weiss produce OH⁻ a partir de H₂O₂ y superóxido O₂⁻, catalizados por iones de hierro. Estas dos reacciones son las principales fuentes de producción de radicales libres que provocan el estrés oxidativo y daños celulares.

$$\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH} \cdot \text{ (reacción de Fenton)}$$

$$\text{O}_2 \cdot^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{OH} \cdot \text{ (reacción de Haber-Weiss)}$$

El peróxido de hidrógeno forma parte de los sistemas biológicos y se produce naturalmente en los organismos como subproducto del metabolismo oxidativo, las enzimas que lo usan o descomponen se clasifican como peroxidasas. El peróxido de hidrógeno funciona como sustrato de la reacción de Fenton y puede difundirse fácilmente entre las células vivas, debido al efecto de la enzima catalasa se transforma en agua común. Se sugiere que el peróxido de hidrógeno participa en transducciones de señales en la

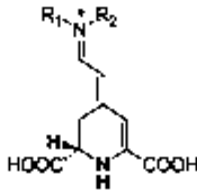
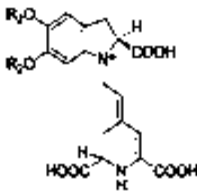
regulación de expresión de genes a través del factor nuclear y las vías de la apoproteína -1 (Gulcin, 2020).

Ácido hipocloroso (HOCl). Pertenece y se clasifica dentro del grupo de las especies reactivas del oxígeno que son sintetizadas por células del sistema inmune (neutrófilos y macrófagos) en un proceso llamado "estallido respiratorio" durante la fagocitosis de antígenos. Durante el ataque de un patógeno a los tejidos los polimorfonucleares neutrófilos y macrófagos entran en acción y la fagocitosis de los antígenos es el resultante de la unión e inicio del estallido respiratorio, el cual está regulado por la NADPH oxidasa en la membrana de la fagolisosoma. Se necesitan grandes cantidades de oxígeno molecular para generar radicales libres. La enzima NADPH oxidasa fomenta una reducción del oxígeno molecular catalizado en la membrana del fagosoma obteniéndose el anión superóxido (O_2^-) (Lafaurie *et al.*, 2015).

3.2 BETALAÍNAS

Las betalaínas son un grupo de 70 pigmentos aproximadamente, nitrogenados y solubles en agua con estructuras de glucósidos, derivados de la 1,7-diazoheptametina, y se encuentran divididos en dos grandes clases, los rojos o betacianinas, y los amarillos o betaxantinas. Visualmente muy parecidas a las antocianinas y flavonoides y anteriormente se les conocía como "antocianinas nitrogenadas". Estos pigmentos se les encuentra en 10 familias de plantas como, Aizoaceae, Amaranthaceae, Basellanaceae, Cactaceae, Chenopodaceae, Didiereaceae, Holophytaceae, Nyctaginaceae, Phytolaccaceae y Portulacaceae. También se les encuentra en hongos. Se albergan dentro de las vacuolas en las células de flores, frutas, y hojas sobre la epidermis y subdermis. Las principales fuentes de betalaínas son el betabel, el amaranto, las frutas de cactáceas (tunas rojas, pitaya, garambullo, jiotilla) (Badui, 2012).

Todas las betalaínas tienen una estructura básica con respecto a su grupo sustituyente (R1 y R2) que pueden ser sustituidos por un hidrógeno y un grupo aromático con los grupos sustituyentes (R1 y R2) que forman los distintos compuestos betalaínicos (figura 3).

Betalainas	Nombre	Grupo sustituyente ^a R ₁	R ₂	Fuente botánica
	Betanina	β-glucosa	H	<i>Beta vulgaris</i>
	Filocactina	6-O-(Malonil)-β-glucosa	H	<i>Phyllocactus hybridus</i>
	Lamprantina I	6-O-p-Coumaroyl-β-glucosa	H	<i>Lampranthus spp.</i>
	Amarantina	2-O-(β-glucurónico ácido)-β-glucosa	H	<i>Amaranthus tri-color</i>
	Celosianina II	2-O-[O-(trans-feruloyl)-β-ácido glucurónico]-β-glucosa	H	<i>Celosia cristata L.</i>
	Indicaxantina	Ambos grupos juntos forman prolina		<i>Opuntia ficus-indica</i>
	Portulacaxantina I	Ambos grupos juntos forman Hidroxiprolina		<i>Portulaca grandiflora</i>
	Vulgaxantina I	H	Glutamina	<i>Beta vulgaris</i>
	Vulgaxantina II	H	Ácido glutámico	<i>Beta vulgaris</i>
	Dopaxantina	H	L-DOPA	<i>Glottiphyllum longum</i>

^aR₃ y R₄ pueden ser grupos sustituyentes acilo o glicosilo

Figura 3. Ejemplos de diferentes nombres y estructuras de betalainas (Hussain *et al.*, 2018).

El color de las betalainas se debe a la resonancia de los dobles enlaces, un sustituyente llamado di-hidropiridina se conjuga con los dobles enlaces de la estructura, el ácido betalámico que forma conjugado con las aminas y el cyclo-3-(3dihydroxyfenil) –L-alanina) llamado el ciclo DOPA para formar a las betalainas. Más de 100 betalainas son clasificadas

en 2 grupos (betaxantinas, betacianinas) ello depende de la ligadura R1-N-R2. La absorción de longitud de onda que presenta las betacianinas rojo-purpura es de 540 nm, y de 480 nm para las betaxantinas. Las diferentes variedades de betaxantinas y betacianinas depende de la variabilidad de sustituyentes aminoácidos en la cadena R1 y R2. Las betacianinas se diferencian de las betaxantinas por sus grupos acilo y azúcar (5-O-D-glucosa). La estructura de las betaxantinas presenta una alta gama de conjugación con aminoácidos (tirosina) y aminas (glutamina) en su molécula (Hussain *et al.*, 2018).

3.2.1 BETACIANINAS

La aglicona betanidina es la columna vertebral de todo el grupo de betacianinas, glicosilación y acilación de los 5-O- o 6-O-glucósidos dan origen a las diferentes formas de betacianinas. La betanina pertenece a este grupo y ha sido una de las más estudiadas y es extraída comúnmente de la remolacha (Slimen *et al.*, 2017).

La betanina es el pigmento de color rosa-violeta, es usado como aditivo alimentario con el código E-162 y fue aprobado como seguro e inocuo por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). Las betacianinas extraídas del amaranto demostraron un alto potencial para ser utilizadas como colorante natural en helados, bebidas, gelatinas, salsas, sopas, chicles, mermeladas y yogures. El efecto del colorante en la aplicación de harinas comerciales de trigo se ha investigado para mejorar la calidad de este tipo de alimentos (Choo, 2018; Miguel, 2018).

3.2.2 BETAXANTINAS

La unidad ciclo-DOPA de las betacianinas son sustituidas por un grupo amina o un aminoácido, en este grupo es muy común la indicaxantina que es extraída del fruto del nopal el cual fue el primer pigmento amarillo analizado e identificado y que posee un residuo de prolina. Las betaxantinas contienen residuos de aminoácidos como la glutamina y metionina. Las betaxantinas de color amarillo presentan una menor inestabilidad en comparación con las betacianinas de color rojo y estas presentan isomerizaciones ante efectos térmicos (Slimen *et al.*, 2017).

Las betaxantinas tienen la coloración amarillo-naranja y se han utilizado en vinos para darle un color adicional en combinación con las betacianinas. La acelga arcoíris en sus tallos posee una gran cantidad de betaxantinas como son la tri-amina-betaxantina, alanina-betaxantina, histamina-betaxantina, así como 3-metoxitiramina-betaxantina y se ha estudiado su perfil bioactivo por su capacidad antioxidante, antiinflamatorio y desintoxicante (Hussain *et al.*, 2018).

3.2.3 MECANISMO DE ACCIÓN

Las betalaínas en las plantas atraen a los animales para que distribuyan las semillas de la planta por medio de sus frutos y a los insectos para dispersar el polen. La coloración de las betalaínas resulta desagradable para algunos herbívoros y sirven como protectores contra la radiación UV y como defensa ante patógenos y virus. Las betalaínas ejercen un poder antiestrés por las altas temperaturas y funcionan como osmorreguladores (Hussain *et al.*, 2018).

Como compuestos bioactivos que benefician a la salud humana, las betalaínas poseen efectos más allá de la aplicación como colorantes en la industria alimentaria, estos metabolitos secundarios también poseen propiedades biológicas beneficiosas para la salud, tales como efecto antiinflamatorio, antioxidante, inhibidor del cáncer de piel y pulmón en ratones y propiedades quimiopreventivas (Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021).

Cierto tipo de betacianinas como la gomfrenina y las betaxantinas amarillas han demostrado tener una mayor capacidad antioxidante en comparación con la vitamina C y ciertos polifenoles como la rutina y la catequina. Las betalaínas por la naturaleza de su estructura química de tener grupos hidroxilo e imino, poseen la capacidad de captar radicales libres como el ión peroxilo ($\text{ROO}\cdot$) o el óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$). Estos radicales libres en exceso desencadenan enfermedades degenerativas (Miguel, 2018).

3.2.4 CARACTERÍSTICAS DE ESTABILIDAD

La estabilidad de las betalaínas es afectada por distintas variables en los alimentos, como son el pH, la temperatura, la luz como una fuente de radiación, la actividad acuosa y enzimática (tabla 5), por ello la importancia de conjugarlo con antioxidantes como el ácido

ascórbico, BHT y BHA. Las betaxantinas tienen una velocidad de degradación más rápida que las betacianinas. El color permanece estable en un rango de pH de 3 a 7, a pH inferior de 3 el color cambia a violeta y la intensidad decrece y a pH mayor de 7 el color es más azulado (Flores-Mancha *et al.*, 2019).

Tabla 5. Factores que influyen en la estabilidad de las betalaínas (Flores-Mancha *et al.*, 2019).

Alto contenido de pigmento	Bajo contenido de pigmento
Alto grado de glucosilación	Bajo grado de glucosilación
Alto grado de acilación	Bajo grado de acilación
Baja a_w	Alta a_w
Agentes quelantes	Enzimas degradantes
pH 3 - 7	pH <3 o >7
+ Estabilidad betalaínas -	
Antioxidantes	Cationes de metal
Baja temperatura	Alta temperatura
Ausencia de luz	Presencia de luz
Ausencia de O ₂	Presencia de O ₂
Atmósfera de N ₂	Presencia H ₂ O ₂

Las betalaínas son sensibles a altas temperaturas y comienzan a degradarse por encima de los 50°C. El efecto de las radiaciones en las betalaínas son muy susceptibles a su degradación por fotooxidación, aunque depende mucho del pH; a pH muy ácido es más susceptible a degradarse en conjunto con la luz natural, esto afecta principalmente su coloración que va del rojo al amarillo-marrón debido a la formación de neobetacianinas y del ácido betalámico. Si se encuentran iones metálicos como el fierro, cobre y aluminio, se acelera la oxidación por la presencia de oxígeno y se evita con el ácido cítrico o EDTA (Badui, 2012; Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021).

3.2.5 TOXICIDAD

Para evaluar la seguridad de las betalaínas se han llevado diversos ensayos toxicológicos, entre los que podemos citar a Krantz *et al.* (1979) quienes administraron betanina (4-5 µmol) por vía torrente sanguíneo sin que se registraran muertes. En otro estudio, se alimentaron ratones con 2,000 ppm de betalaínas durante 7 días, no se detectaron

alteraciones del peso corporal, falta de apetito, ni alteraciones patológicas graves en comparación con grupos controles (Elbe & Schwartz, 1981). Se administró vía oral, durante seis semanas, jugo de remolacha a dieciocho hombres y doce mujeres, evaluando los efectos en glucosa sérica, cortisol, insulina y el péptido C, no se detectaron efectos adversos en la salud de los participantes, se normalizaron los niveles de insulina, cortisol y se redujo la glucosa en sangre, por lo que podría ayudar a los enfermos diabéticos (Olumese & Oboh, 2016).

Hasta hoy en día, la mayoría de los estudios de las betalaínas sobre actividad biológica, biodisponibilidad y efectos sobre la salud han demostrado ser seguros, por lo tanto, la Unión Europea y la FDA de Estados Unidos de América en la sección 73.40 del Título 21 del Código de Regulaciones Federales (CRF) han aprobado su seguridad como colorante rojo natural (Beetroot Red; EEC No. E 162) en productos alimenticios, farmacéuticos y cosméticos (Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021).

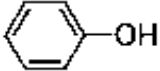
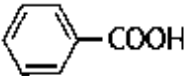
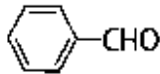
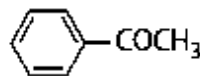
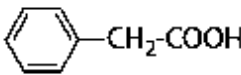
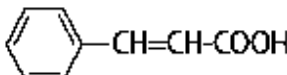
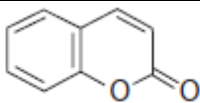
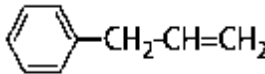
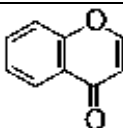
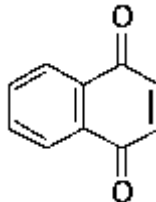
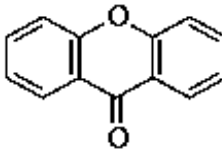
3.3 COMPUESTOS FENÓLICOS

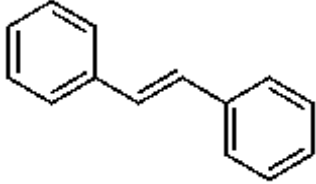
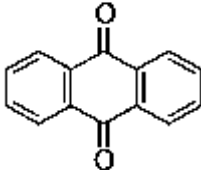
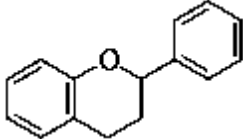
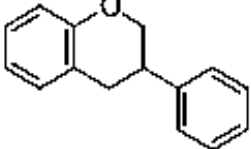
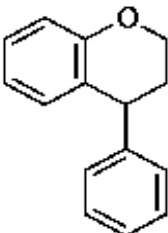
Los compuestos fenólicos y polifenólicos son moléculas que se derivan del metabolismo del ácido shikímico y/o de los policétidos y terpenos, contienen un anillo aromático con uno o varios grupos funcionales hidroxilo –OH. Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, pertenecen a los llamados metabolitos secundarios, siendo los más abundantes en la naturaleza. Las frutas y verduras son los principales portadores, se han identificado más de 8,000 de estos compuestos y son parte esencial de la alimentación humana. Los fenoles y polifenoles le dan ese sabor astringente y amargo a las frutas, verduras y hojas, son responsables de la coloración de las flores y participan en funciones de defensa contra los rayos ultravioleta, el ataque de bacterias, hongos, virus, así como a daños físicos, químicos, y mecánicos. Estos poseen propiedades antibacterianas, anticancerígenas y antiinflamatorias, de esta manera dan protección contra enfermedades como el cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, hipertensión, asma y envejecimiento. Tienen la capacidad de funcionar como antibióticos, pesticidas naturales y atrayentes de insectos polinizadores (Gastélum & Ayora, 2016).

3.3.1 CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA

Los compuestos fenólicos se clasifican de 4 formas distintas. Primero, la clasificación simple de flavonoides y no flavonoides. Segundo, con respecto al número de anillos aromáticos que posee el compuesto fenólico. Tercero, de acuerdo a la estructura carbonada se describe cómo están organizados los átomos de carbono de la molécula, por ejemplo, C₆, C₆ – C₁, C₆ – C₃ – C₆ etc. Cuarto, la más específica y utilizada de acuerdo a su estructura química básica, se detallan de una forma más específica sus átomos (C, H, O), grupos funcionales (anillos aromáticos, grupos hidroxilo, grupos ceto), saturaciones (enlaces simples, dobles) y cómo se unen entre sí (tabla 6) (Jacobo-Velázquez & Santana-Gálvez, 2018).

Tabla 6. Clasificación de compuestos fenólicos por estructura del carbono, número de anillos aromáticos y estructura química básica (Jacobo-Velázquez & Santana-Gálvez, 2018).

Nombre del Grupo	Estructura Carbono	del	Número de Anillos Aromáticos	Estructura Básica	Química
Fenoles simples	C ₆		Uno		
Benzoquinonas	-----				
Ácidos fenólicos	C ₆ –C ₁				
Aldehídos fenólicos	-----				
Acetofenonas	C ₆ –C ₂				
Ácidos fenilacéticos	-----				
Ácidos hidroxicinámicos	C ₆ –C ₃				
Cumarinas	-----				
Fenilpropenos	-----				
Cromonas	-----				
Naftoquinonas	C ₆ –C ₄				
Xantonas	C ₆ –C ₁ –C ₆		Dos		

Estilbenos	$C_6-C_2-C_6$		
Antraquinonas	-----		
Flavonoides	$C_6-C_3-C_6$		
Isoflavonoides	-----		
Neoflavonoides	-----		
Lignan	$(C_6-C_3)_2$	Tres o más	Múltiple
Neolignan	-----		Múltiple
Catecol melaninas	$(C_6)_n$		Múltiple
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$		Múltiple
Biflavonoides	$(C_6-C_3-C_6)_2$		Múltiple
Taninos condensados (Proantocianidinas)	$(C_6-C_3-C_6)_n$		Múltiple

3.3.2 LOS ÁCIDOS FENÓLICOS

Este tipo de compuestos están de forma libre en las plantas o unidos a diferentes compuestos por medio de uniones éster, éter o acetal. Están clasificados en dos subgrupos, representados por los ácidos hidroxibenzoicos y derivados, y los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados. Los ácidos benzoicos incluyen a los ácidos protocatequico, vainillínico, siríngico, elágico y gálico, y los hidroxicinámicos están los ácidos p-cumárico, cafeico,

ferúlico y sinápico. Los ácidos fenólicos forman parte de casi un tercio de los fenoles de nuestra dieta y poseen propiedades antioxidantes, anti carcinogénicas, antiinflamatorias y antimicrobianas (Gastélum & Ayora, 2016).

Son muy abundantes en frutas y verduras, aunque también en tés y cereales. Los ácidos fenólicos mas comunes son el ácido elágico y se le encuentra en las fresas; ácido salicílico en el albaricoque, arándanos y el té negro; el ácido gentísico está presente en cítricos, uvas y en algunos frutos como la berenjena, pimiento y pepino; el ácido gálico se le encuentra en té verde, negro y en tés fermentados (Vuolo *et al.*, 2019).

3.4 FLAVONOIDES

Los flavonoides son un grupo de polifenoles de los más diversos, se originan de la ruta del shikimato y del acetato (Gastélum & Ayora, 2016). Estos son compuestos fenólicos y de los 8000 identificados en la naturaleza 5000 son flavonoides y se les encuentra en las plantas en forma de pigmentos. Poseen un esqueleto de carbono de $C_6-C_3-C_6$, donde un anillo aromático se une a un benzopirano restante. El anillo aromático en el grupo benzopirano se le llama anillo A, el anillo aromático unido al grupo benzopirano se le llama anillo B y al anillo O-heterocíclico se le denomina anillo C, como se observa en la figura 4 (Jacobo-Velázquez & Santana-Gálvez, 2018).

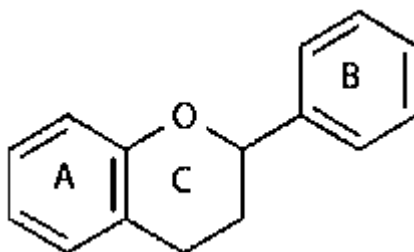


Figura 4. Estructura química básica de los flavonoides y sus anillos A, B y C (Jacobo-Velázquez & Santana-Gálvez, 2018).

A partir de aquí se clasifican en tres grupos principales según la posición del anillo B: flavonoides (2-fenilbenzopiranos), isoflavonoides (3-fenilbenzopiranos) y neoflavonoides

(4-fenilbenzopiranos). Dentro de los flavonoides (2-fenilbenzopiranos) existe otra clasificación en función al grado de oxidación y saturación del anillo C: flavanonas, flavonas, flavonoles, dihidroflavonoles, flavan-3-oles, flavan-4-oles, flavan-3, 4-dioles (leucoantocianidinas) y antocianidinas. Los isoflavonoides se dividen en 11 grupos: isoflavanos, isoflavonas, isoflavanonas, isoflav-3-enos, isoflavanoles, rotenoides, cumestanos, 3-arilcumarinas, cumaronocromos, cumaronocromonas y pterocarpanos (Gastélum & Ayora, 2016).

Existen otros compuestos naturales que se les conoce como flavonoides menores, los cuales tienen un esqueleto carbonado de C₆-C₃-C₆ y se dividen en cinco grupos: 2'-hidroxichalconas, 2'-OH-dihidrochalconas, 2'-OH-retrochalcona, auronas y auronoles (Figura 5) (Jacobo-Velázquez & Santana-Gálvez, 2018).

Flavonoles. Dentro de este grupo se encuentra la quercetina, isoquercetina, kaempferol y la miricetina, estos polifenoles son los más reconocidos por sus propiedades anticancerígenas, antioxidantes, antivirales y antimicrobianas, altamente consumidos en la dieta humana. Se les encuentra en la cebolla, frutillas, espinacas, coliflor, uva, brócoli, aceitunas, manzanas, tomate, cítricos y en especies como la pimienta roja, también en plantas medicinales como la moringa, *Acalypha indica*, *Azadirachta indica*, *Betula pendula*, *Cannabis sativa* (Gastélum & Ayora, 2016).

Flavanoles. Dentro de los flavanoles se encuentra la catequina y la epicatequina. Estos compuestos se les encuentra principalmente en el té verde, los granos de cacao, semillas de uva, manzanas, albaricoques y bayas (Murkovic, 2016).

Flavononas. El compuesto liquiritósido e isoliquiritósido comúnmente en las raíces del regaliz (*Glycyrrhiza glabra*). El citroflavonoide se produce en el pericarpio de los cítricos. En las flavononas se encuentran compuestos polifenólicos como la naringenina, naringina, hesperidina y eriodictiol, que tienen efectos neuro protectores, antiinflamatorios y antioxidantes, además de ayudar a combatir el estrés oxidativo y el cáncer (Gastélum & Ayora, 2016. Barreca *et al.*, 2017).

Antocianinas. Son pigmentos polares y de acuerdo a su pH son de color rojo, morado, o azules. Se les encuentra en las flores y frutas sobre todo en la piel de las fresas, moras

azules, zarzamoras, cerezas, arándanos, uvas, petunias, frambuesas, cerezas y baya del sauco. Sus agliconas o antocianidinas son la delfinidina, pelargonidina, cianidina, peonidina, petunidina y malvidina. Tienen actividad antioxidante, antirradical, y anticancerígena, tienen efectos para tratar la hipertensión y problemas cardiovasculares (Gastélum & Ayora, 2016; Murkovic, 2016).

Isoflavonoides. Se caracterizan por encontrarse principalmente en la soja y leguminosas, aunque también están presentes en microorganismos, cumplen funciones en plantas como precursores en la producción de fitalexinas. De los compuestos más comunes encontrados en los isoflavonoides están la genisteína y la daidzeína, se le denomina fitoestrógenos debido a la función estrogénica en ciertos modelos animales. La genisteína produce variaciones hormonales y metabólicas en humanos (Panche *et al.*, 2016).

Chalconas. Incluyen a la arbutina, floretina, chalconaringenina y floridzina. Se les encuentra en tomates, peras, guayabas y en el trigo. Tanto las chalconas e dihidrochalconas tienen una coloración amarillenta en flores, y están distribuidas por raíces, rizomas, hojas, y semillas. Tienen actividad antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatoria, antialérgica y ataca a la malaria (Gastélum & Ayora, 2016; Panche *et al.*, 2016).

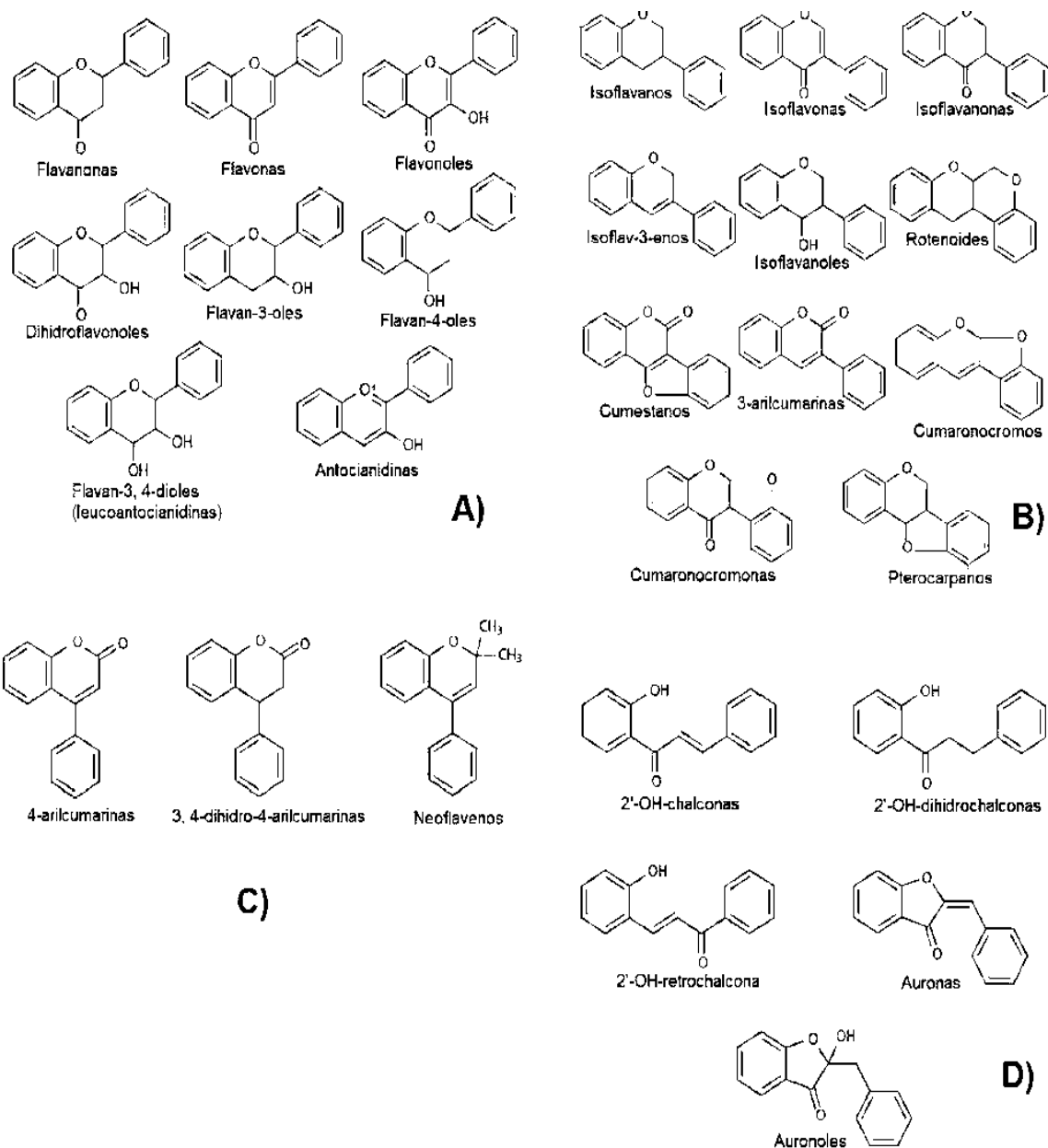


Figura 5. Estructuras químicas básicas de las principales clases de: A) Flavonoides, B) Isoflavonoides, C) Neoflavonoides, D) Flavonoides menores (Jacobo-Velázquez & Santana-Gálvez, 2018).

4. HELADO

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-036-SSA1-1993 se define al helado como un alimento hecho a base de ingredientes lácteos mezclados con grasas, vegetales, frutas, huevo y derivados, saborizantes, edulcorantes y otros aditivos, esta mezcla líquida lleva un proceso de agitación y congelación, aunque la parte de la agitación puede ser omitida (Figura 6).

El helado tiene sus orígenes en Europa y posteriormente se introdujo en los Estados Unidos por colonos ingleses, se cree que la formulación proviene a partir de las bebidas heladas. Fue en 1851 cuando se establecieron las primeras industrias del helado en Baltimore y Maryland en EE: UU, y esto gracias al desarrollo de las leches condensadas y deshidratadas además de la introducción del pasteurizador y homogeneizador, así como de congeladores mejorados y otros equipos de conservación (Deosarkar *et al.*, 2016).

4.1 CARACTERÍSTICAS Y DESARROLLO

El helado ha evolucionado gracias al desarrollo de la tecnología actual, hacia el año de 1920, fue cuando la industria del helado tuvo un crecimiento industrial sistematizado, estableciendo las bases desde la fabricación de sistemas de refrigeración y transporte del producto, ingredientes de mejor calidad y mayor conocimiento de su uso, la implementación de sistemas de calidad en la industria del helado, un desarrollo en la fabricación de embalaje y distribución eficiente, además la creciente publicidad para la promoción y consumo del helado (Deosarkar *et al.*, 2016).



Figura 6. Diagrama de flujo de la elaboración de un helado común (Pintor-Jardines & Totosaus-Sánchez, 2013).

Para obtener la consistencia adecuada de un helado común con sus características adecuadas al paladar deberá realizarse un eficiente mezclado de los ingredientes líquidos y sólidos a diferentes concentraciones y temperaturas, para dar paso a la pasteurización y su posterior enfriamiento o maduración y la incorporación del aire por medio de un batido conocido como el “overrun”, a partir de aquí deberá mantenerse en congelación (figura 6). El resultado será una pasta semisólida cremosa y húmeda (Fiol *et al.*, 2017).

4.2 VALOR NUTRICIONAL

Uno de los componentes más importantes del helado es la proteína, las proteínas provenientes de la leche son de excelente calidad nutricional ya que contienen aminoácidos esenciales como el triptófano y la lisina, las proteínas glicosiladas promueven que el helado sea más compacto y suave. Dentro de los carbohidratos el azúcar más empleado es la sacarosa, también contiene lactosa por su contenido de leche ya que esta representa un tercio de la materia sólida en la leche, la lactosa promueve la asimilación de mayores

cantidades de calcio. Los lípidos representan aproximadamente el 11 % del total de un helado común, la mejor fuente de grasa láctea se encuentra en la nata fresca, aportan ácidos grasos saturados los cuales se encuentran en mayor proporción en comparación con los monoinsaturados y poliinsaturados. En cuanto a los minerales el helado posee una importante cantidad de calcio y fósforo que son de vital importancia en la dieta, además posee vitamina A, D y E, y la B12 (tabla 7) (Deosarkar *et al.*, 2016).

Tabla 7. Contenido nutrimental de un helado común sabor vainilla (USDA, 2019).

Nutriente	Cantidad	Nutriente	Cantidad
Agua	61 g	Vitamina E	0.3 mg
Proteína	3.5 g	Vitamina D	8 UI
Lípidos	11 g	Ac. grasos saturados	6.79 g
Carbohidratos totales	23.6 g	Ac. grasos mono-insaturados	2.97 g
Cenizas totales	0.9 g	Ac. grasos poli-insaturados	0.452 g
Fibra dietética	0.7 g	Colesterol	44 mg
Calcio	128 mg	Aminoácidos	-
Hierro	0.09	Triptófano	0.045 g
Magnesio	14 mg	Treonina	0.146 g
Fósforo	105 mg	Isoleucina	0.195 g
Potasio	199 mg	Leucina	0.316 g
Sodio	80 mg	Lisina	0.258 g
Cobre	0.023 mg	Metionina	0.081 g
Selenio	1.8 µg	Cisteína	0.029 g
Vitamina C	0.6 mg	Fenilalanina	0.157 g
Tiamina	0.041 mg	Tirosina	0.155 g
Rivoflavina	0.24 mg	Valina	0.217 g
Folato	5 µg	Arginina	0.125 g
Vitamina B 12	0.39 µg	Prolina	0.326 g
Vitamina A	421 UI	Ac. glutámico	0.681 g

4.3 HELADOS FUNCIONALES

Hoy en día se ha innovado en la generación de nuevas formulaciones de helados funcionales mediante la adición de compuestos polifenólicos.

Gremski *et al.* (2019) realizó una formulación de un helado funcional añadiendo extractos liofilizados de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) toronjil (*Melissa officinalis*) y zacate limón (*Cymbopogon citratus*) en el que se identificaron quercetina-3-rutinósido, hesperidina, isoquercetina, ácido cafeico y 5,7-dihidroxi flavona responsables de brindarle capacidad antioxidante al helado. Samakradhamrongthai *et al.* (2020) crearon un helado a base de semillas de pimienta negra (*Piper nigrum*) y canela (*Cinnamomum verum*) realizando una prueba de DPPH y obtuvieron un valor de 129.4 mg eq de trolox /100 g, confirmando una alta actividad antioxidante.

Aprovechando los residuos de las cortezas de frutas, Böger *et al.* (2019) obtuvieron extractos de la piel de la jabuticaba (*Plinia cauliflora*), agregaron un 15 % de extractos al helado para aumentar su capacidad antioxidante y con una prueba de DPPH reportaron un valor de 10.5 μ M Trolox/ g.

II. HIPÓTESIS

Al incorporar los extractos ricos en compuestos bioactivos de la cáscara de la tuna de la especie *Opuntia streptacantha* a un helado común, se obtiene un alimento funcional con características antioxidantes.

III.OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un helado funcional tradicional, formulado con extractos de la cáscara de la tuna (*Opuntia streptacantha*).

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.1 Estandarizar el proceso de extracción de los compuestos bioactivos de la cáscara de la tuna (*Opuntia streptacantha*) utilizando como solventes agua y una mezcla agua-etanol (60:40 v/v).

2.2 Determinar la concentración de los compuestos fenólicos y betalaínas presentes en el extracto.

2.3 Determinar la capacidad antioxidante de los extractos.

2.4 Caracterizar químicamente el extracto de la cáscara de la tuna (*Opuntia streptacantha*) con mejores características antioxidantes.

2.5 Estandarizar el proceso de elaboración del helado funcional.

2.6 Determinar las características antioxidantes, nutrimentales y sensoriales del helado funcional.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 COLECTA DE LA TUNA Y ANÁLISIS BOTÁNICO

La colecta de la tuna se realizó en el municipio de Amacueca en el estado de Jalisco, a las afueras de un potrero con una geolocalización con coordenadas 19°56'00"N 103°04'00"O donde se encontraban nopales arbolados de 2 a 3 metros de altura. El análisis botánico se llevó a cabo en las instalaciones del herbario de la facultad de biología de la UMSNH (EBUM) con muestras de cladodio y fruto del nopal recolectado.



Figura 7. Amacueca-Jalisco, lugar de la obtención de tuna de la especie *O. streptacantha*.

1.2 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y LA CURVA DE SECADO

La determinación de humedad se llevó a cabo de acuerdo con el Método de la NOM-116-SSA1-1994, para esto, en cápsulas de porcelana se pesaron 3 g de muestra fresca y se colocaron en una estufa a 100 °C durante 3 h, se calculó la diferencia de peso inicial y final de las muestras.

Se evaluó el tiempo de secado de la cáscara de la tuna fresca mediante una curva de secado a una temperatura de 50 °C a peso constante, esto para preservar los biocompuestos de la cáscara de la tuna y evitar su degradación por temperatura (Flores-Mancha *et al.*, 2019).

1.3 OBTENCIÓN EN POLVO DE LA CÁSCARA DE LA TUNA *O. streptacantha*

1.3.1 SELECCIÓN DE LA TUNA

Las tunas se recolectaron procurando elegir los frutos maduros con una coloración entre rojiza y rosa fuerte, de entre 2 a 5 cm de largo y 3 cm de ancho. Se descartaron tunas con daños ocasionados por insectos, rupturas visibles, apariencia de deshidratación y fermentación (figura 8).



Figura 8. Penca de nopal *O. streptacantha* con tuna.

Las tunas se dejaron reposar en agua potable durante 1 h en una tina de plástico. Después se pasaron a una tina con agua con capacidad de 40 L, se le agregaron 50 mL de una solución de hipoclorito de sodio durante 30 min, por último, los frutos se enjuagaron con agua purificada para eliminar residuos de la solución de hipoclorito.

Una vez que las tunas fueron lavadas, se les removieron las espinas manualmente hasta eliminar los gloquidios y espinas. Con un cuchillo se le retiró la pulpa y después se separó la cáscara, esta a su vez se cortó en cuadros de 2x2 cm para su posterior secado.

Las cáscaras de la tuna se colocaron en bandejas de aluminio y se dejaron en un horno (ECOSHEL® 9053 A) a 50 °C por 24 h (figura 9). Las cáscaras deshidratadas se molieron en una licuadora convencional. El tamizado se llevó a cabo con una malla # 40 (400 μ).



Figura 9. Secado en horno de la cáscara de tuna.

El polvo obtenido de la cáscara de la tuna se almacenó en frascos de vidrio ambar, cerrados, a una temperatura de -10 °C, cuidando de no exponerlo a ninguna fuente de luz.

1.3.2 COLORIMETRÍA DE LA TUNA

Para medir la coloración de la tuna se utilizó un colorímetro (BYK-6801), colocando una muestra de 5x5 cm de cáscara de tuna en un portaobjetos. Se calibró el equipo con un patrón verde, para después realizar una lectura por triplicado. Para realizar la medición se consideró el sistema de medición de CIELab el cual hace uso de un sistema de coordenadas L^* (claridad) con valores que van del 0 al 100, los valores a^* y b^* definen la desviación del punto acromático a la claridad, hacia el rojo si $a^*>0$ y hacia el verde si $a^*<0$ (García-Cayuela *et al.*, 2019) (figura 10).

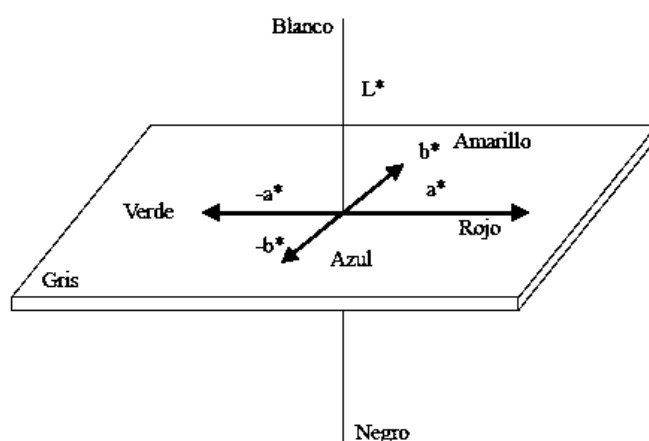


Figura 10. Diagrama espacial del modelo CIELab (Domínguez-Soto *et al.*, 2012).

1.4 EXTRACCIÓN POR MACERACIÓN

La extracción de los compuestos bioactivos de la cáscara de la tuna se realizó por maceración según la metodología de Zourgui *et al.* (2020) con algunas modificaciones. Se usaron dos solventes, agua y una mezcla de etanol-agua 60:40 (v/v).

Se tomaron 80 g de polvo de corteza de tuna y se colocaron en un matraz Erlenmeyer. A un lote se le agregaron 320 mL de agua destilada y a otro lote la mezcla etanol-agua 60:40 (v/v), se cubrieron con papel aluminio. Para lograr una eficiente extracción de los compuestos bioactivos, los matraces con las muestras se colocaron en una plancha de

agitación (Cscientific cvp-2000p) por 24 h a temperatura ambiente. Después del tiempo transcurrido las muestras fueron decantadas. Las extracciones se realizaron por triplicado.

Las muestras se filtraron con papel filtro Whatman® No. 42 (figura 11). Se realizó un lavado del material sobrante en el embudo agregando 320 mL de solvente para ambos lotes (agua destilada para el lote 1 y etanol-agua para el lote 2).



Figura 11. Muestras de agua y etanol-agua filtrándose.

Finalmente, una vez recuperado el líquido filtrado, se almacenó en frascos de vidrio ámbar a una temperatura de -10 °C.gm

1.5 CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO POR EVAPORACIÓN

Para concentrar el extracto diluido en los solventes de agua y etanol-agua 60:40 (v/v) se requirió de un rotaevaporador con bomba de vacío (Vante RE 100-Pro). Las muestras se colocaron en un matraz de bola de 1 L en una tina con agua a temperatura de 50 °C a 40 rpm. Cada muestra contenía 640 mL de muestra, se logró evaporar y recuperar el extracto concentrado de 5 a 6 h con el rotaevaporador (figura 12).



Figura 12. Concentración del extracto en rotaevaporador.

El extracto obtenido se colocó en frascos de vidrio sellados, aislados de la luz, a temperatura de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso para el análisis de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante (figura 13).



Figura 13. Extracto concentrado de tuna.

1.6 CONTENIDO DE FENOLES TOTALES

Se preparó una mezcla con 2 mL de Na_2CO_3 , 2.5 mL de reactivo de Folin y 500 μL de extracto, se disolvieron los extractos en una solución de 50:50 (v/v) de $\text{H}_2\text{O}/\text{Et}$. Se colocó a baño maría durante 10 min a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se midió la absorbancia a 750 nm. La

determinación del contenido total de fenoles se llevó a cabo mediante una comparación con una curva de calibración usando ácido gálico (Hernández-Carranza, *et al.*, 2019).

1.7 CONTENIDO DE FLAVONOIDES TOTALES

Para determinar el contenido de flavonoides totales, se agregaron en un tubo de ensayo 2 mL del extracto [1 mg/mL] y una solución al 2% de AlCl_3 , posteriormente se agitó por unos minutos, se incubó durante 1 h a 20 °C, con el espectrofotómetro se tomó lectura a una absorbancia a 415 nm. Se evaluó comparando con una curva de calibración de quercetina como elemento estándar (Zhishen *et al.*, 1999).

1.8 CONTENIDO DE BETALAÍNAS

Para evaluar el contenido de betalaínas se prepararon los extractos diluidos con tampón McIlvaine (pH 6.5), se tomó lectura a una absorbancia de 535 y 483 nm. Los resultados se expresaron en equivalentes de betanina e indicaxantina. Para los cálculos se tomaron en cuenta los siguientes datos: betanina con peso molecular de 550 g/mol, y un coeficiente de extinción molar de 60.000 L / mol /cm, mientras que para la indicaxantina un peso molecular de 308 g / mol, y un coeficiente de extinción molar de 48.000 L / mol /cm. Los datos se sustituyeron en la ecuación 1, donde BC es el contenido de betalaína (mg / g), A es el máximo de absorbancia, DF es el factor de dilución, MW es peso molecular (g / mol), L es la trayectoria de la celda (1 cm), E es la extinción coeficiente molar (Stintzing *et al.*, 2005).

Ecuación 1

$$BC = A * DF * MW * \frac{1000}{L * E}$$

1.9 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Para evaluar la capacidad antioxidante del extracto de la cáscara de la tuna *Opuntia streptacantha*, se realizó mediante espectrofotómetro visible, evaluando la característica de captar especies oxidantes con relevancia biológica, estas especies oxidantes son el

anión superóxido, peroxilo, hidroxilo, ácido hipocloroso, peróxido de hidrógeno y óxido nítrico.

1.9.1 CAPACIDAD DE CAPTAR RADICALES PEROXILO (ROO-)

Para determinar la capacidad de captación del radical peroxilo (ROO-) se prepararon 10 mL de los extractos a diferentes concentraciones [200 a 4,000 ppm] con una solución de Et/H₂O. Se mezcló una solución con 1.5 mL de piragol rojo (30 µM) con 150 µl de solución de los extractos a diferentes concentraciones, así como el patrón Oligopin a diferentes concentraciones en los tubos de ensayo, después se añadieron 25 µl de 2-azobis (2-metilpropionamidina) dihidrocloruro (AAPH) [600 mM], se colocaron en baño maría a 37 °C durante 2 h, se midió la absorbancia a 540 nm. El porcentaje de inhibición se calculó con la ecuación 2 (López-Alarcón & Lissi, 2005).

Ecuación 2

$$\% \text{ inhibición} = 1 - \left[\frac{A_{\text{extracto inicial}} - A_{\text{extracto final}}}{A_{\text{control inicial}} - A_{\text{control final}}} \right]$$

Donde:

A extracto inicial: absorbancia de la solución de extracto sin AAPH (se sustituyó con 50 µL de agua destilada) y sin incubación.

A control inicial: absorbancia testigo (es decir, sin extracto, por tanto, se sustituyó con 150 µl de Et/H₂O 1/1).

1.9.2 CAPACIDAD PARA CAPTAR EL ANIÓN SUPERÓXIDO (•O₂⁻)

La capacidad para captar el anión superóxido (•O₂⁻) se evaluó mediante un método no enzimático descrito por Nishikimi *et al.* (1972). Se prepararon 20 mL del extracto a diferentes concentraciones [1,500 ppm] y el patrón quercetina [200 ppm]. Se mezclaron 1 mL de nitroazul de tetrazolio (NTB) 1 mL de NADH y 1 ml de extracto. Para generar la reacción se inició con 150 µl de metosulfato de fenazina (PMS), y se colocó en baño maría durante 15 min. Se tomó lectura de la absorbancia de las soluciones mediante un

espectrofotómetro con una longitud de onda a 560 nm. Se usó la ecuación 3 para calcular el porcentaje de inhibición.

Ecuación 3.

$$\% \text{ inhibición} = A_0 \left[\frac{A_1 - A_2}{A_0} \right]$$

A₀: absorbancia testigo, se reemplazó la solución de extracto por 1 mL de disolvente utilizado en la preparación de los extractos.

A₁: absorbancia de las soluciones con extracto.

A₂: corresponde a la absorbancia de una mezcla compuesta de 1 mL de la solución de extracto, a la que se le agregarán 2.150 mL de solución de tampón fosfato salino.

1.9.3 CAPACIDAD PARA CAPTAR EL RADICAL ÓXIDO NÍTRICO (NO•)

La captación del radical se determinó por el método descrito por Sreejayan, (1997). Se prepararon los extractos con nitroprusiato de sodio [10 mM] en tampón fosfato ([0,5 M], pH 7,4) con 0.5 mL de muestras con los extractos [500 ppm] y el patrón cúrcuma [250 ppm] a diferentes concentraciones y luego incubados a 37 °C durante 2.5 h. Después se agregaron 0.5 mL de reactivo de Griess y se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 1 h. La absorbancia se midió a 548 nm y el porcentaje de inhibición se calculó con la ecuación 4.

Ecuación 4

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A_c - A_s}{A_c} * 100$$

Donde A_c y A_s son la absorbancia del control y de la muestra respectivamente.

1.9.4 CAPACIDAD PARA CAPTAR EL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO (H₂O₂)

Se prepararon 20 mL del extracto con diferentes concentraciones [1,500 ppm], y el patrón ácido gálico [500 ppm], a 1.7 mL de la solución del extracto y patrón (ac. gálico), se añadieron 600 µl de solución de H₂O₂ [40 mM], se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 3 min. Se midió la absorbancia de las soluciones con el espectrofotómetro a una longitud de onda de 230 nm. El porcentaje de inhibición se calculó con la Ecuación 5 (Ruch *et al.*, 1989).

Ecuación 5

$$\% \text{ inhibición} = A_0 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}$$

Donde:

A₀: absorbancia testigo, corresponde a 1.7 mL de la solución tampón fosfato salino.

A₁: absorbancia de las soluciones con los extractos.

A₂: corresponde a la absorbancia de una mezcla compuesta de 1.7 mL de la solución de extracto a la cual se le añadieron 600 µl de solución tampón fosfato salino.

1.9.5 CAPACIDAD PARA CAPTAR AL ÁCIDO HIPOCLOROSO (HClO)

Para calcular la capacidad para inhibir el ácido hipocloroso se utilizó la metodología de Aruoma & Halliwell (1987) con ligeras modificaciones. Se agregaron en un tubo de ensayo 1 mL del extracto a diferentes concentraciones [2,500 ppm] y un patrón vitamina C [150 ppm], en 1mL de HClO [18 mM] en tampón fosfato salino (PBS), se dejó reposar durante 15 min a baño maría a 37 °C, se agregó 1mL de catalasa [1 mg/mL] durante 15 min a 37 °C. Se tomó lectura a una longitud de onda de 245 nm. La capacidad de captación del ácido hipocloroso se midió de acuerdo a la Ecuación 6, mediante la comparación de este valor con la diferencia de la absorbancia de la catalasa menos la absorbancia de la catalasa más HClO en presencia del extracto y se incluyó un patrón (vitamina C) con alta capacidad de captar el HClO.

Ecuación 6

$$\% \text{ actividad} = (A_{\text{catalsa}} - A_{\text{catalsa} + \text{HOCl} + \text{extracto}})$$

1.9.6 CAPACIDAD PARA CAPTAR EL HIDROXILO (OH•)

Para calcular la capacidad de captación del radical (OH•) se determinó por el método formulado por Smirnoff & Cumbes (1989). Se prepararon las soluciones de extractos a diferentes concentraciones [1,500 ppm] y el patrón ácido gálico [500 ppm]. En tubos de ensayo se agregó 1 mL de la solución de extracto, 300 µl FeSO₄ [8 mM], 250 µL de H₂O₂ [20 mM]. Para comenzar la reacción se adicionó 1 mL de la solución de ácido salicílico [3 mM] y luego se incubó a 37 °C por 30 min, después, se agregó agua destilada hasta 450 µl, se centrifugó durante 15 min a 3,500 rpm, se recuperó el sobrenadante y se midió la absorbancia (A₁) a longitud de onda de 510 nm, utilizando el espectrofotómetro. El porcentaje de inhibición se calculó utilizando la Ecuación 7.

Ecuación 7

$$\% \text{ inhibición} = (A_0 - (A_1 - A_2)) / A_0$$

Donde:

A₀: absorbancia testigo, se reemplazó la solución de extracto con 1 mL de Et/agua.

A₁: absorbancia de las soluciones con los extractos/patrón.

A₂: corresponde a la absorbancia de una mezcla compuesta de 1 mL de la solución de extracto a la cual se le añadió 2 mL de agua destilada.

2. ELABORACIÓN DEL HELADO

Para la elaboración del helado se realizaron dos formulaciones, en la primera se utilizó sacarosa (HA) y en la segunda, se sustituyó el azúcar por estevia (HS), un edulcorante bajo en calorías (Svetia®) que contiene sacarosa, estevia (glucósidos de esteviol * (2.5g/100g)), isomalt (1g/100g) y sucralosa (0.6g/100g). En el primer proceso (mezclado

de los ingredientes) se ajustaron los porcentajes de la leche, se mantuvieron los mismos ingredientes y los procedimientos para ambas formulaciones (figura 14).

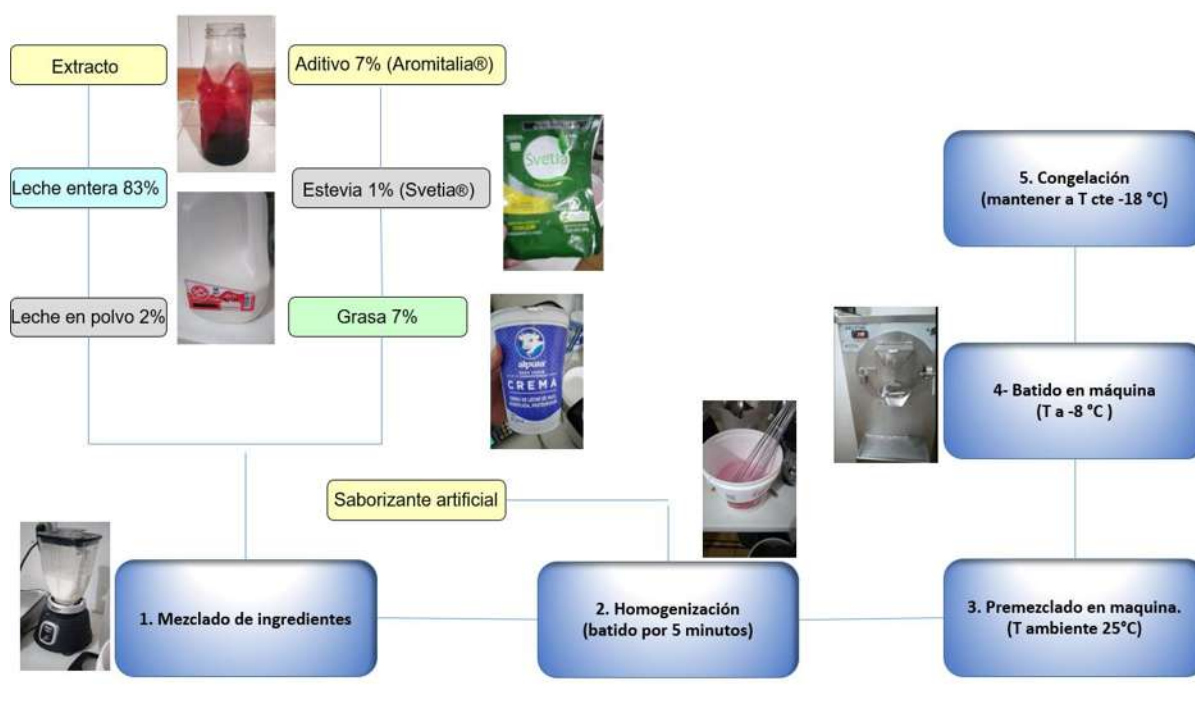


Figura 14. Elaboración del helado funcional.

Descripción de la elaboración del helado.

1. Mezclado de los ingredientes.

Helado funcional con sacarosa (HA). En un recipiente de plástico se vació la leche entera (70%), grasa (7%) y leche en polvo (2%) para realizar un batido profundo durante 10 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se vertió el aditivo Aromitalia® (7%) el cual tiene la función de proporcionarle una consistencia y textura adecuada al helado, se batió durante 5 min para finalmente mezclarlo con la sacarosa (14%) y el extracto de cáscara de tuna.

Helado funcional con estevia (HS). Para su formulación se ajustó el porcentaje de la leche entera añadida del 70% al 83% y se sustituyó la sacarosa por estevia (1%) los demás ingredientes se mantuvieron sin cambio alguno.

2. **Homogeneización.** Con la ayuda de una espátula se agitó profundamente durante 5 minutos hasta generar una mezcla pastosa y homogénea, en la que no se detectaran grumos muy voluminosos. Después de terminar el proceso se añadió saborizante artificial (5 mL) sabor fresa para realizar un mezclado con la espátula durante 1 min.
3. **Premezclado.** Una vez obtenida la mezcla completamente homogeneizada se pasó a la máquina de helados *BQ-40 T* con una capacidad de 2 L, se programó a un batido constante a temperatura ambiente durante 5 min.
4. **Batido en frío.** Posteriormente se programó un mezclado a -8 °C durante 30 min, verificando a los 25 min que el helado tuviera una consistencia cremosa.
5. **Congelación y almacenamiento.** Una vez transcurrido los 30 min del batido en frío se vertió en un recipiente, se selló y se mantuvo en congelación a -18°C.

2.1 CUANTIFICACIÓN DE COMPONENTES BIOACTIVOS Y DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL HELADO

Se preparó la muestra de acuerdo con la metodología propuesta por Hernández-Carranza *et al.* (2019), tomando 1 g de helado, después en un matraz se agregaron 19 mL de etanol (50%), se agitó en una plancha (Cscientific cvp-2000p) durante 20 min y se filtró la muestra (Whatman # 42). A continuación se realizaron las determinaciones de fenoles totales, flavonoides y betalaínas (Stintzing *et al.*, 2005; Marina *et al.*, 2008; Hernández-Carranza *et al.*, 2019). Se llevó a cabo la determinación de la capacidad antioxidante del helado utilizando las metodologías anteriormente mencionadas para el extracto.

2.2 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DEL HELADO

Se determinó la composición de humedad, proteínas, grasas, cenizas y carbohidratos totales incluido su aporte energético para las dos formulaciones (HA y HS). En la tabla 8 se muestran las referencias para las respectivas determinaciones.

Tabla 8. Métodos y referencias para el análisis químico proximal del helado.

Determinación	Método	Referencias
Humedad (a)	Estufa (100°C) 3 h.	NOM-116-SSA1-1994
Proteínas (b)	Micro-Kjeldahl	NOM-183-SCFI-2012
Grasa (c)	Soxleth	NMX-F-615-NORMEX-2004
Cenizas (d)	Incineración 500°C por 3 h	NMX-F-607-NORMEX-2002
Carbohidratos Totales (e)	Por diferencia	NOM-086-SSA1-1994
Aporte energético (f)	Sistema Atwater	NOM-051-SCFI/SSA1-2010

a) Humedad. Se tomaron muestras de 3 g de helado en crisoles de porcelana a 100 °C durante 3 h. Se registraron los pesos iniciales y finales para obtener un diferencial de pesos de las muestras, realizando el cálculo con la Ecuación 8.

Ecuación 8.

$$\% \text{ humedad} = (Ma - Mb)/(Ma - M) \times 100$$

Donde:

M = masa en gramos de la cápsula con tapa

Ma = masa en gramos de la cápsula con tapa y la muestra.

Mb = masa en gramos de la cápsula con tapa y la muestra seca

b) Proteína. Se basa en el cálculo del porcentaje de nitrógeno total en una muestra destilada (micro-Kjeldahl). Se colocaron 2 g de muestra de helado en tubos del digestor VELP scientific, agregando los catalizadores, 0.8 g de $CuSO_4$ y 7 g de K_2SO_4 y por último 10 mL de H_2SO_4 (98%). Se llevó a una temperatura de 420 °C por 1 h. Se dejó reposando durante 3 h para agregar 50 mL de agua destilada y llevarlo al destilador durante 3 min añadiendo 30 mL de H_3BO_3 (4%). Una vez obtenida la muestra destilada se realizó una titulación con HCl 0.2 N hasta obtener un color gris oscuro. Con la Ecuación 9 se calculó el % de nitrógeno y la ecuación 10 se utilizó para obtener el % de proteína.

Ecuación 9

$$\% N = \frac{(vol)(N)(0.01401)}{pm} * 100$$

Vol = volumen gastado para la titulación

N = normalidad del HCl

pm = peso de la muestra

Ecuación 10

$$\% Proteina = (\% nitrógeno)(6.38)$$

c) Grasas. Para determinar el porcentaje de grasas se llevó a cabo una deshidratación de la muestra, para posteriormente colocar 3 g de muestra en cartuchos y llevarlo a una extracción con éter etílico durante 4 h en un equipo Soxhlet. Con la ecuación 11 se llevaron a cabo los cálculos.

Ecuación 11

$$\% \text{ Grasas} = \left(P - \frac{p}{M} \right) * 100$$

P = peso en gramos del matraz con grasa

p = peso en gramos del matraz sin grasa

M= peso en gramos de la muestra

d) Cenizas. El método consiste en un diferencial de pesos obtenidos antes y después de una incineración de una muestra a temperatura de 500 °C. Para realizar los cálculos se utilizó la ecuación 12.

Ecuación 12

$$\% \text{ cenizas} = \frac{m - m1}{M - m1} \times 100$$

Donde:

M= masa de la muestra en gramos

m= masa del crisol con las cenizas en gramos

m1= masa del crisol vacío en gramos

e) Carbohidratos totales. Se calculó el porcentaje de carbohidratos totales mediante la diferencia de compuestos presentes en la muestra.

f) Aporte calórico. Para calcular el contenido calórico presente en el helado, la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 propone:

Carbohidratos disponibles = 4 kcal/g

Proteínas = 4 kcal/g

Grasas = 9 kcal/g

2.3 ANÁLISIS SENSORIAL

Se aplicó una prueba de aceptación sensorial para el helado con estevia. La primera prueba (control) sin extractos añadidos y la segunda con extractos, usando una escala de 0 a 100 puntos, donde: 0= me disgusta mucho; 25 = me disgusta; 50= ni me gusta ni me disgusta; 75= me gusta; 100= me gusta mucho (Anexo 1).

Participaron 40 jueces no entrenados, quienes fueron elegidos al azar. Según los datos socio-demográficos recabados, el rango de edad de los jueces fue de 13 a 60 años. Se les proporcionó 15 g de muestra del helado y se les pidió que evaluaran cuatro diferentes atributos sensoriales: olor, color, sabor y textura (Anzaldúa-Morales, 2005).

2.4 VIDA DE ANAQUEL

Se determinó la vida de anaquel o vida útil del helado mediante el uso del factor Q_{10} (ecuación 13). La metodología se basa en acelerar la velocidad de las reacciones de deterioro de un alimento como consecuencia del incremento de la temperatura en 10 °C, para ello se propusieron 2 diferentes temperaturas y se determinaron cambios en el grado de deterioro del alimento evaluando parámetros como la acidez, pH y el grado de aceptabilidad sensorial del alimento. Ambas formulaciones del helado se colocaron en una cámara a dos temperaturas (-6 °C y -18 °C) durante 49 días (Ung-Min *et al.*, 2018).

Se midió, el pH con un potenciómetro (HANNA-pH210) de acuerdo a la AOAC (2005); la acidez titulable se expresó como ácido láctico y se determinó mediante una titulación con NaOH (0.1 N) de acuerdo a la norma NOM-F-42O-S-1982.

Con el índice de peróxidos se midió el deterioro oxidativo de la grasa, y se calculó mediante una titulación con tiosulfato de sodio 0.1 N (Nielsen, 2010).

Se realizó una prueba de evaluación sensorial hedónica, según metodología propuesta por Anzaldúa-Morales (2005), donde los jueces sensoriales calificaron en una escala hedónica de 0 a 100 puntos, que va desde “me disgusta mucho” hasta “me gusta mucho”, pasando por “ni me agrada ni me desagrada”.

Una vez obtenidos los resultados del análisis sensorial y fisicoquímicos se ingresaron los datos en las ecuaciones 13 y 14 (orden cero de tipo lineal) para evaluar el tiempo de vida útil y determinar una correlación de datos entre el análisis sensorial y los fisicoquímicos (Rondón *et al.*, 2004; Jiménez-Herrera, 2018).

Ecuación 13:

$$\theta_{real} = 10^{(mT+b)}$$

Donde:

θ_{real} = Tiempo real de la vida de anaquel a una determinada temperatura

m = Pendiente de la recta

b = Intersección con el eje Y

T = Temperatura a la que se desea calcular la vida de anaquel

El tiempo crítico se calculó con la ecuación 14.

Ecuación 14:

$$\theta_C = \frac{\text{punto crítico} - \text{intersección}}{\text{pendiente}}$$

2.5 CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Se identificaron compuestos volátiles y semi volátiles con una muestra de 15 g del extracto etanólico de la cáscara de tuna, se llevó al Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán, A.C. (CIDAM) con dirección en antigua Carretera a Pátzcuaro, km 8. Morelia, Michoacán en el Laboratorio de Inocuidad Química, laboratorio 8 y 9 segunda planta, donde fue realizado por el personal profesional del CIDAM. Registrado con el No. de informe OSC22-0012-1.

Las condiciones para la identificación por GC-MS del extracto etanólico de tuna fue a una temperatura de 25-30 °C, presión atmosférica 814-810 hPa y humedad relativa de 30 y 55 %. El método interno se realizó con una extracción de acetonitrilo y tolueno asistida por sonicación.

La identificación GC-MS se fundamentó en la volatilización de la muestra a una fase gaseosa y la separación de sus componentes haciendo uso de una columna capilar y una fase estacionaria (sólida) que tiene como portador un gas inerte como el helio o nitrógeno, una vez separados los componentes se extrajeron de la columna a diferentes tiempos (tiempo de retención), finalizando con la salida de los compuestos de la columna de GC donde se ionizan por el espectrómetro de masas (MS), se realizó una aceleración de los compuestos ionizados y son detectados por un analizador de masas, los iones se fragmentaron con respecto a sus diferentes relaciones de masa/carga (m/z), aquí se forman picos de los compuestos y se muestran en los cromatogramas del software del equipo (Jones, 2019).

2.6 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Se tomaron muestras de helado deshidratado, de aproximadamente 5 g del helado estevia al 1.5 %, se deshidrato y posteriormente fueron analizadas en cuanto a su morfología por microscopía electrónica de barrido del Instituto de Investigación en Metalurgia y

Materiales de la Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo. Las muestras deshidratadas fueron metalizadas con cobre y colocadas en un porta objetos para su análisis, el cual se llevó a cabo con el equipo de microscopía electrónica de barrido convencional Modelo JSM-6400 con una resolución de 2.5 nm de electrones secundarios y con electrones retro dispersados con resolución de 7.5 nm. La técnica utilizada fue el barrido con electrones acelerados que viajan a través del cañón. Se realizaron observaciones a 100X, 250X y 500X y 1000X.

2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para realizar los cálculos estadísticos se utilizó el software GraphPad Prism 8. Cada una de las pruebas analizadas se realizaron por triplicado y los resultados fueron expresados como la media $\pm$ la desviación estándar (SD).

Se determinó el rendimiento del extracto y la cantidad de fitoquímicos como fenoles totales, flavonoides, betacianinas y betaxantinas con una prueba t de student ($p < 0.05$). Para la capacidad antioxidante, análisis proximal y análisis sensorial, los datos fueron examinados mediante un análisis de la varianza (ANOVA) seguido de pruebas Tukey ($p < 0.05$), Se aplicaron pruebas de correlación de Spearman ($p < 0.05$) para evaluar la correlación entre la concentración de los fitoquímicos y capacidad antioxidante del extracto.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA DE LA TUNA O. *streptacantha*

Se logró la identificación botánica (folio 30912) llevado a cabo por la Biól. Rosa Fuentes Chávez mediante un análisis botánico de los cladodios y frutos recolectados en el municipio de Amacueca (Figura 15), se cotejaron las muestras del cladodio y frutos con las existentes en el EBUM (folio 28947, 289448) y con imágenes de herbarios digitales (National Science Foundation Grants).



Figura 15. Nopal *O. streptacantha*.

2. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y LA CURVA DE SECADO

El porcentaje de humedad de la cáscara de la tuna fue de 5.5 %, dato cercano al obtenido por Villabona-Ortiz *et al.* (2013) para tunas *O. ficus-indica* con un 10 % de humedad.

Para evaluar el tiempo de secado de la tuna fresca a 50 °C se inició con una muestra de tuna fresca de 100 g hasta obtener un peso constante de 18.8 g, se obtuvo un porcentaje de humedad del 81.2 % a los 480 min (8 h). En la figura 16 se muestra la curva de secado. En el trabajo de Amalia *et al.* (2019) con cáscara de tuna San Cristóbal, registraron un dato cercano con 82.9 %, cuando la temperatura de secado fue de 60°C por 22.5 h.

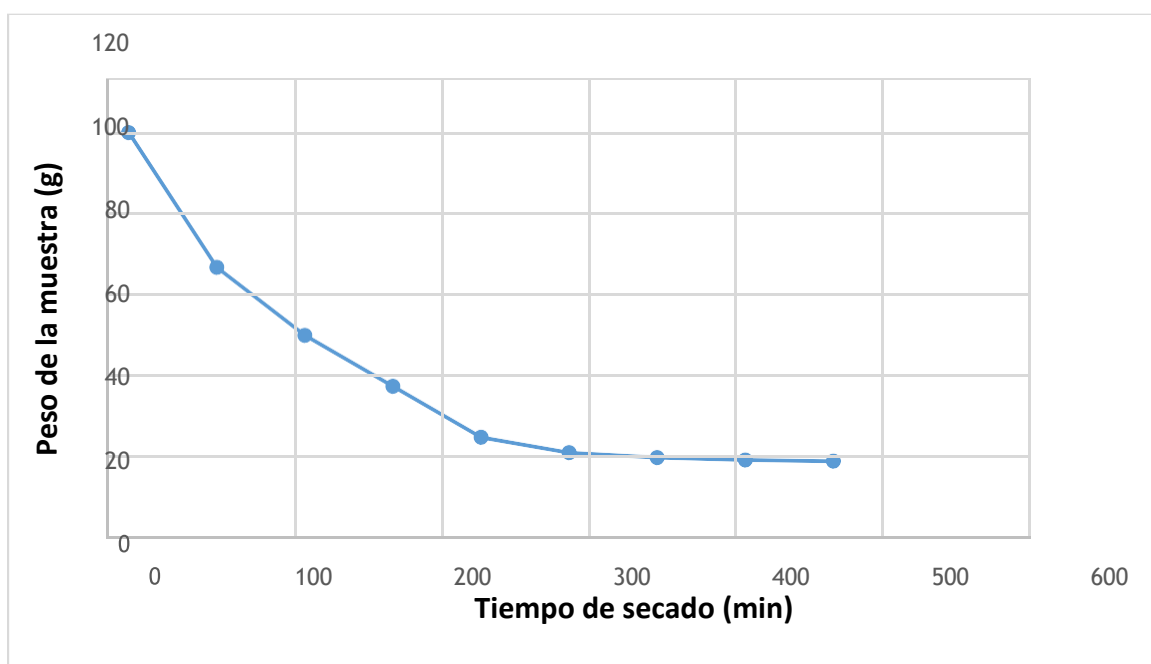


Figura 16. Curva de secado para la cáscara de tuna *O. streptacantha*.

3. COLORIMETRÍA DE LA TUNA

En el análisis colorimétrico de la cáscara de tuna *O. streptacantha* se obtuvieron valores de $L^* = 37.65 \pm 2.5$, $a^* = 12.19 \pm 1.4$ y $b^* = 2.5 \pm 1.1$. Estos valores apuntan a cierta luminosidad (L^*) con tendencia al gris positivo, el valor de a^* tiende al rojo +, tal como lo reporta Hernández-Carranza *et al.* (2019), con un valor de $L^* = 37.49 \pm 0.01$, para la tuna roja *O. ficus-indica*, aunque García-Cayuela *et al.* (2019) expone un valor de $a^* = 12.9 \pm 1.8$ para la tuna morada, este valor es más cercano a la tuna *O. streptacantha*. Cabe resaltar que la tuna, con el proceso de maduración adquiere una coloración más oscura orientándose al morado oscuro, debido al contenido de betacianinas. El valor de $b^* = 2.5 \pm 1.1$ de *O. streptacantha* es cercano al valor obtenido por García-Cayuela *et al.* (2019) con la tuna morada de $b^* = 4.20 \pm 0.6$ con valor positivo dentro del rango del amarillo, esto debido a la cantidad de betaxantinas contenidas en la cáscara de la tuna *O. ficus-indica*.

4. RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN

En la Figura 17, se puede observar el porcentaje de extracción con agua destilada fue del 4.0 % y la mezcla etanol-agua [60:40 v/v] mostró un rendimiento total del 5.3 %. Se observó un mayor rendimiento de extracción con etanol-agua [60:40 v/v]. Aunque en referencias de trabajos en tuna como el de Zourgui *et al.* (2020), se ha registrado un porcentaje de extracción mayor con agua, 10.3 %; en comparación con etanol, 7.8 %; en cáscara de tuna *O. streptacantha*, cabe hacer notar, que en el trabajo mencionado, no se extrajo con una solución etanol-agua, a diferencia del trabajo que se realizó en esta tesis, y que las polaridades son diferentes, lo cual concuerda con Metrouh-Amir *et al.* (2015), quienes han encontrado un mayor rendimiento de extracción con una especie de planta medicinal (*Matricaria pubescens*), cuando se emplea una mezcla de agua y solventes orgánicos, y se recomienda el uso de solventes de este tipo para generar una eficiente obtención de extractos, debido a una afinidad de compuestos de tipo polar hacia la mezcla acuosa con solventes orgánicos.

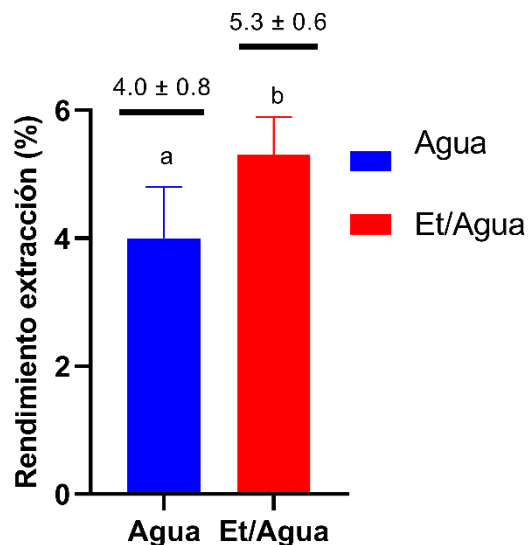


Figura 17. Rendimiento (%) de los extractos de la cáscara de la tuna *O. streptacantha*.

Letras diferentes marcan diferencias estadísticamente significativas de $p < 0.05$ (Prueba t).

5. COMPOSICIÓN DE FITOQUÍMICOS PRESENTES EN LA CÁSCARA DE TUNA DE LA ESPECIE *O. streptacantha*

En la tabla 9 se presenta el contenido de los diferentes grupos de fitoquímicos que se analizaron en este trabajo.

5.1 FENOLES TOTALES

En la tabla 9, figura 18 se presenta el contenido de fenoles totales expresados en mg equivalentes de ácido gálico por gramo en peso seco de muestra. Como se puede observar, el rendimiento de la extracción con agua fue de 14.88 mg/g y para el etanol-agua 19.98 mg/g, resultados cercanos con el trabajo de Zourgui *et al.* (2020) con rendimientos de fenoles totales en cáscara de tuna *O. streptacantha* con agua (12.78 mg/g) y etanol (24.65 mg/g). Según Jacobo-Velázquez & Santana-Gálvez (2018), los solventes como el agua, metanol y etanol son los ideales para extraer de una manera más eficiente los

compuestos fenólicos, a su vez empleando mezclas de disolventes como agua, metanol y etanol.

Tabla 9. Composición total de fitoquímicos extraídos de la cáscara de la tuna *O. streptacantha*.

Extracto	Fenoles totales (mg EAG/g)	Flavonoides totales (mg CAT/g)	Betacianinas (mg BET/g)	Betaxantinas (mg IN/g)
Agua	14.88± 0.26 ^b	12.07± 0.12 ^b	1.97 ±0.11 ^a	1.35 ±0.33 ^a
Etanol-Agua	19.98 ± 0.42 ^a	14.72± 0.48 ^a	0.77 ±0.03 ^b	0.58 ± 0.04 ^a

EAG, equivalentes de ácido gálico; CAT, catequina; BET, betacianinas; IN, indicaxantina. Los valores son expresados como la media ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente con una significancia de $p < 0.05$. (Prueba t).

Abou-Elella & Ali (2014), reportan resultados con respecto al contenido de fenoles totales en cáscara de tuna *ficus-indica* extraídos con agua (6.12 mg/g), etanol (8.49 mg/g) y etanol-agua 80:20 (15.02 mg/g), y como se puede observar, también hubo una tendencia de una mayor concentración de fenoles totales cuando la extracción se realizó con la mezcla etanol-agua en comparación con la extracción acuosa.

Hernández-Carranza *et al.* (2019) evaluó el contenido de fenoles totales con cáscara de tuna *O. ficus-indica* mediante una extracción con agua (8.7 mg/g). Los resultados obtenidos por Li *et al.* (2006) con una extracción etanol-agua en cáscaras cítricas fueron, limon meyer; 50:50 (0.5 mg/g), toronja; 72:28 (1.6 mg/g) y naranja; 72:28 (0.7 mg/g), como se puede observar presentan una menor concentración en comparación con las obtenidas por *O. streptacantha* y *ficus-indica*.

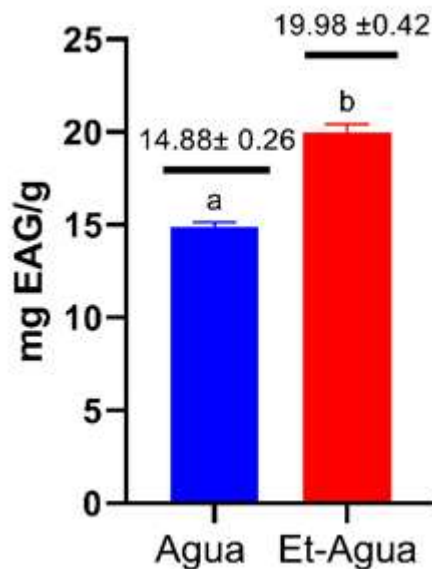


Figura 18. Compuestos fenólicos totales presentes en la cáscara de la tuna *O. streptacantha*.

(EAG: equivalentes de ácido gálico). Los datos son presentados como la media $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas. Prueba t ($p < 0.05$).

5.2 FLAVONOIDES TOTALES

En cuanto al contenido de flavonoides expresados como equivalentes de catequina/g se obtuvieron 12.07 mg/g en el extracto acuoso y 14.72 mg/g en el extracto etanólico (tabla 9, figura 19), concentraciones similares a lo publicado por el trabajo de Zourgui *et al.* (2020), donde se reportaron 8.95 mg/g (agua) y 14.08 mg/g (etanol-agua), esto debido a que se ha encontrado que los flavonoides tienden a tener afinidad hacia los solventes como el agua o mezclas con etanol (Sandoval & Villanueva-Rodriguez, 2018); y mostrando concordancia con el trabajo Abou-Elella & Ali (2014) donde se cuantificaron flavonoides totales en extractos de cáscara de tuna de la especie *O. ficus-indica*, donde se puede apreciar una menor concentración cuando se usó agua (1.93 mg/g) y solventes no

polares como el cloroformo (1.27 mg/g) y acetona (0.74 mg/g) a comparación del extracto donde se utilizó como solvente una solución de etanol-agua 80:20 (v/v) (4.73 mg/g).

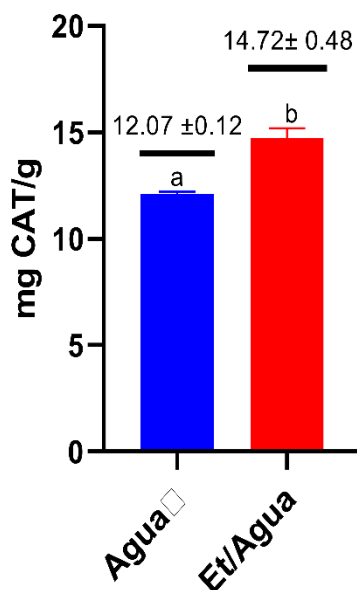


Figura 19. Contenido de flavonoides en la cáscara de tuna *O. streptaantha*.

(CAT): equivalentes de mg catequina/g). Los datos son presentados como la media $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas. Prueba *t* ($p < 0.05$.)

5.3 BETALAÍNAS

Como se observa en la tabla 9 y se detalla en la figura 20, la concentración de betalaínas fue mayor en el extracto acuoso con respecto al extracto donde se usó como solvente la mezcla etanol-agua 60:40 (v/v), la cantidad de betacianinas fue de 1.97 mg/g y 0.77 mg/g respectivamente; mientras que la concentración de betaxantinas fue de 1.35 mg/g en el extracto acuoso y 0.58 mg/g en el etanol-agua; estos resultados concuerdan con lo que concluyeron en su investigación Castellar *et al.* 2006 , ya que mediante una extracción acuosa obtuvieron un mayor rendimiento de extracción de betalaínas, mientras que al mezclar etanol-agua [60:40 (v/v)] y agua-metanol [40:60 (v/v)] la concentración de betalaínas disminuyó un 2.6% y con una mezcla etanol-agua [80:20 (v/v)] se generó una

pérdida del 13 %. Barrera *et al.* (1998), mencionan que la relación 60:40 etanol-agua es la ideal para obtener una alta extracción de betanina.

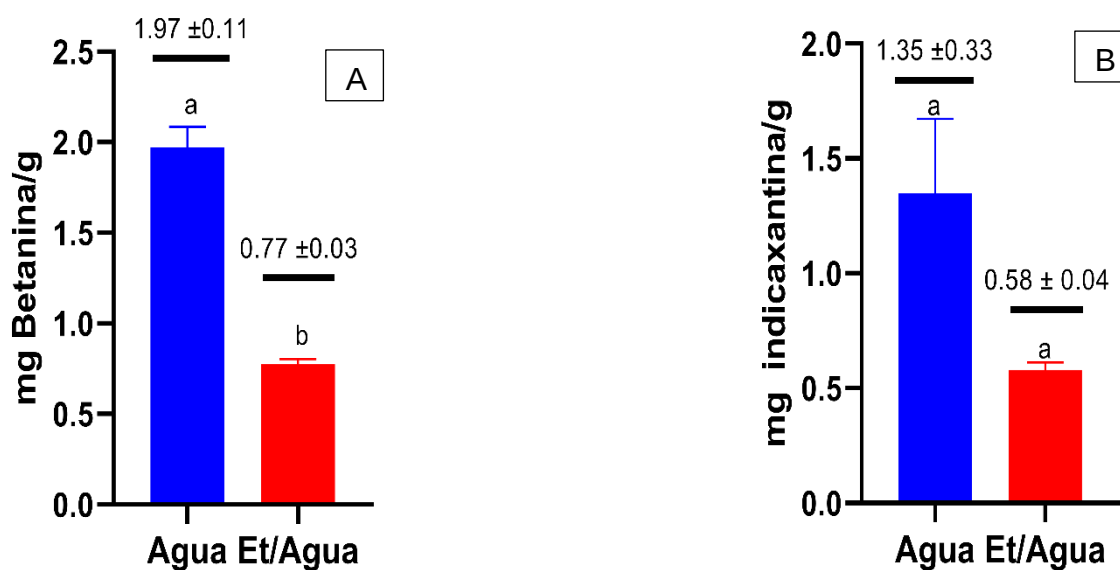


Figura 20. A) Contenido de betacianinas, B) Contenido de betaxantinas.

Los datos son presentados como la media $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas. Prueba *t* ($p < 0.05$).

Das *et al.* (2019) reportaron en su trabajo con amaranto, una mayor extracción de betacianinas 1.59 mg betanina/g con una mezcla de etanol-agua [50:50 (v/v)] en comparación con la extracción acuosa 1.15 mg/g, esto debido a que en una solución etanólica existe una descarboxilación simple y doble en la moléculas de las betacianinas, provocando la generación de dos pares de monodecarboxi-betacianina de diastereómeros tanto en soluciones etanólicas y acuosas (Wybraniec, 2005; Das *et al.*, 2019).

El ácido betalámico (amarillo) y ciclodopa-5-O-glucósido (sin color) son el resultado de la descarboxilación del compuesto betanina durante tratamientos térmicos (Khan, 2016). Los resultados de Abou-Elella & Ali (2014) en cáscara de tuna *O. ficus-indica* demuestran la variación de la cantidad de betacianinas y betaxantinas

usando diferentes solventes, para betacianinas se obtuvo en agua destilada 2.06 mg/L; en etanol-agua [80:20 (v/v)] 0.73 mg/L y etanol 0.40 mg/L; en cuanto a la concentración de betaxantinas se obtuvieron las siguientes concentraciones con los solventes: agua destilada, 2.06 mg/L; etanol-agua [80:20 (v/v)], 1.04 mg/L y etanol 0.43 mg/L; además los ácidos fenólicos, como el ácido gálico, el ácido clorogénico y los flavonoides como la catequina y la quercetina no tienen efecto para reducir la estabilidad de la betanina (Khan, 2016).

García-Cayuela *et al.* (2019) obtuvieron en piel de tuna *O. ficus-indica*, usando metanol-agua [50:50 (v/v)], una concentración de betacianinas de 1.3 mg/g en piel de tuna morada y en piel de tuna roja, 0.4 mg/g. En betaxantinas (mg indicaxantina/g), en tuna morada, 0.70 mg/g; en tuna roja, 0.39 mg/g. En pulpas de betabel es donde se ha reportado una mayor cantidad de betalainas obtenidas con etanol (24.18 mg betacianinas/g) y agua (18.78 mg betacianinas/g) (Čanadanović-brunet *et al.*, 2011).

6. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

En la tabla 10 se observan los resultados de las pruebas de capacidad antioxidante de los extractos acuoso y etanólico de la cáscara de tuna *O. streptacantha*, además se incluye la cúrcuma, vitamina C, quercetina, ácido gálico y oligopin, ya que son referentes a los que se ha comprobado científicamente su capacidad de captar ciertas especies reactivas debido a las características de donar electrones y neutralizar eficientemente especies reactivas. Cómo se puede ver, se analizó su capacidad de captar especies reactivas de oxígeno (H_2O_2 , $ROO\bullet$, $O_2\bullet^-$) del nitrógeno ($NO\bullet$) y del cloro ($HClO$), considerados por su relevancia biológica.

Tabla 10. Capacidad antioxidante de los extractos de la cáscara de tuna *O. streptacantha*.

Extracto	H ₂ O ₂	ROO•	NO•	OH•	O ₂ • ⁻	HClO
	EC ₅₀	EC ₅₀	EC ₅₀	EC ₅₀	EC ₅₀	EC ₅₀
	(μg/mL)	(μg/mL)	(μg/mL)	(μg/mL)	(μg/mL)	(μg/mL)
<i>O. streptacantha</i>	1,291.0	>4,000	148.7 ±	1,335.0	41.5 ±	>2000
(Agua)	± 86.9 ^a		14.5 ^a	± 142.0 ^a	9.7 ^a	
<i>O. streptacantha</i>	1,141.0	>4,000	87.0 ±	1,017.0	26.9 ±	1,731 ±
(Etanol-Agua)	± 28.2 ^b		9.5 ^b	± 135.1 ^b	2.5 ^b	51.2 ^a
Cúrcuma			119.5 ±			
			3.3 ^c			
Vitamina C	48.3					108.9 ±
	±7.4 ^c					2.9 ^b
Quercetina					20.3 ±	
					0.8 ^b	
Ácido gálico				90.8 ±		
				4.1 ^c		
Oligopin		701.3 ±				
		13.1				

Los valores son expresados como la media ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias estadísticas con una significancia de $p < 0.05$. (ANOVA, prueba Tukey).

En la tabla 11 se incluyen los coeficientes de correlación obtenidos entre la capacidad de los extractos de corteza de tuna de captar las especies reactivas y la concentración que presentan de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales, betacianinas y betaxantinas.

Tabla 11. Correlación (spearman) de la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales, flavonoides, betacianinas y betaxantinas de los extractos agua y etanol de *O. streptacantha*.

	H ₂ O ₂	NO•	OH•	O ₂ • ⁻	HClO
Fenoles	r= -1.0 *	r= -0.943 *	r= -0.812	r=- 0.900*	r=- 0.50
totales	p= 0.003	p= 0.017	p= 0.058	p= 0.016	p= 0.990
Flavonoides	r= -0.750	r= -0.886 *	r= -0.890*	r= -0.6571	r=- 0.50
totales	p= 0.115	p= 0.033	p= 0.033	p= 0.175	p= 0.990
Betacianinas	r= 0.811	r= -0.899 *	r= 0.986 *	r=-0.9856*	r=- 0.866
	p= .033	p= 0.028	p= 0.006	p= 0.006	p= 0.667
Betaxantinas	r= 0.886*	r= -0.886 *	r= 0.657	r= -0.880*	r=- 0.50
	p= 0.055	p= 0.033	p= 0.175	p= 0.033	p= 0.990

*La correlación es significativa ($p > 0.050$).

6.1 PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

La capacidad para eliminar el 50% del peróxido de hidrógeno (EC₅₀) con el extracto de la cáscara de tuna *O. streptacantha* fue de 1,291 µg/mL para el extracto acuoso y para el extracto etanólico fue de 1,141 µg/mL, a diferencia de la vitamina C, utilizada como compuesto estándar, con 48.31 µg/mL (figura 21). El extracto de cáscara de tuna *O. streptacantha* no desempeña una importante capacidad para captar el radical H₂O₂, a diferencia de los trabajos que se han reportado en los cladodios y pencas del nopal *O. ficus-indica*, en los que se observa una aceptable capacidad para eliminar el peróxido de hidrógeno, ya que solo se requieren 6.9 µg/mL de extracto de pencas de nopal; 374 µg/mL (extracción acuosa) y 379 µg/mL (extracción etanólica) de extracto de cladodios para captar el 50% de las especies reactivas de H₂O₂ (Avila-Nava & Calderón-Oliver, 2014; Izuegbuna *et al.*, 2019).

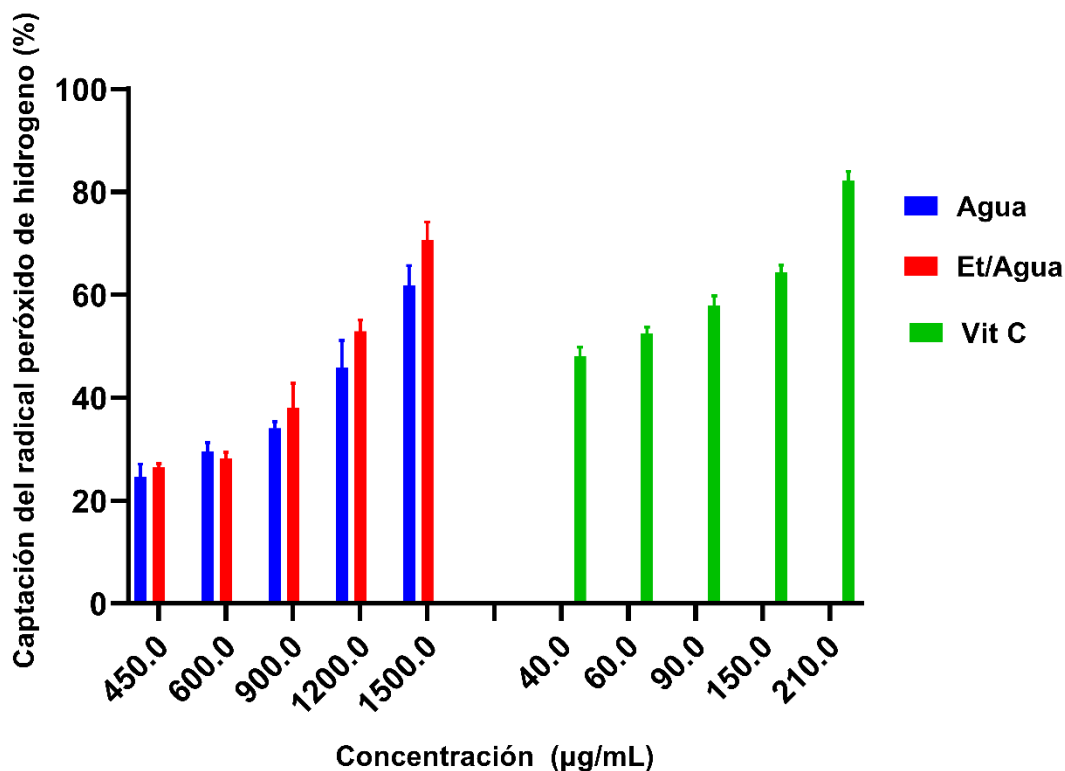


Figura 21. Gráfico EC₅₀ para el peróxido de hidrógeno

Saravanakumar *et al.* (2015) estudiaron la actividad de los compuestos fitoquímicos (extraídos con metanol y agua) presentes en el fruto entero de *O. ficus-indica* en la inhibición del peróxido de hidrógeno, obtuvieron una excelente captación con el extracto metanólico, de 55.37 µg/mL, mientras que no registraron actividad inhibitoria con el extracto acuoso, cabe destacar que a pesar de haber obtenido una cantidad de fenoles totales de 190 mg/g y 11.81 mg/g de flavonoides en agua, no registraron captación de peróxido de hidrógeno. Zeghad *et al.* (2019) afirma que la capacidad antioxidante se ve reducida por interferencia de compuestos no antioxidantes contenidos en el extracto.

El extracto de *O. streptacantha* registró una alta correlación negativa, es decir, si el contenido de fenoles totales aumenta, el EC₅₀ disminuye, requiriéndose una menor cantidad de extracto para captar el 50 % de especies reactivas de peróxido de hidrógeno ($r = -1.0$, $p > 0.05$). Estos resultados coinciden con los descritos por Kim

(2013) quienes también encontraron que la captación del peróxido de hidrógeno es influenciada por el contenido de fenoles totales, ya que en su estudio con cáscaras de frutas cítricas (*Citrus unshiu*), descubrió una fuerte correlación en el contenido total de fenoles ($r^2 = 0.8744$, $p > 0.05$), los cuales tienen la capacidad de donar electrones y neutralizar el peróxido de hidrógeno en agua, también detalla una moderada correlación con los flavonoides. Benkeblia (2005) muestra que existe correlación del contenido de fenoles totales con la capacidad de captar peróxido de hidrógeno ($r^2 = 0.950$, $p > 0.05$), esto en extractos de cebollas y ajos; además, en un estudio con frutos secos de chebula (*T. chebula*), correlacionaron la concentración de fenoles totales (134.47 mg/g) con la capacidad de captar el peróxido de hidrógeno ($r = 0.990$, $p > 0.05$) con un EC_{50} de 265.53 $\mu\text{g/mL}$ del extracto de frutos secos chebula (Saha & Verma, 2016).

Las betaxantinas tuvieron una correlación positiva significativa ($r = 0.886$ $p > 0.05$), lo que podría indicar que el contenido de betaxantinas ejercen una acción de bloqueo en la captación H_2O_2 , sin embargo, con las betacianinas, no hubo correlación significativa, concordando con Chougui *et al.* (2013), quienes reportan que las pulpas de tunas de *O. ficus-indica* registran una mayor correlación de la capacidad de captación del H_2O_2 con la concentración de fenoles totales ($r = 0.866$ $p > 0.01$) y nula correlación con la concentración de betacianinas ($r = 0.047$ $p > 0.05$), el autor explica que existe una tendencia de captación del H_2O_2 más eficiente por los compuestos fenólicos en comparación con las betalaínas.

6.2 PEROXILO

La capacidad del extracto de la cáscara de la tuna *O. streptacantha* para captar el radical peroxilo fue nula, el extracto etanol-agua logró captar un máximo del 20.5 % (4,000 $\mu\text{g/mL}$), el extracto con agua fue del 12.03 % (4,000 $\mu\text{g/mL}$). El control positivo Oligopin obtuvo un EC_{50} de 701.3 $\mu\text{g/mL}$ con un máximo del 60.05 % (1,050 $\mu\text{g/mL}$) (figura 22). Esta ausencia de captación del radical $\text{ROO}^\bullet$ probablemente se deba a un factor de interferencia de otros compuestos como proteínas, carbohidratos o lípidos (Zeghad *et al.*, 2019) y/o a una menor cantidad de fenoles totales.

presentes en el extracto de tuna *O. streptacantha* en comparación con los extractos reportados en otros trabajos como el de Royer *et al.* (2011), quienes analizaron extractos de cortezas de maple, demostrando que el contenido de fenoles totales está estrechamente correlacionado con la actividad captadora de ROO• ($r^2 = 0.86$. $p = 0.0001$); Han *et al.* (2015) también comprobaron una eficiente captación del radical ROO• con un EC₅₀ de 61.9 µg/mL empleando extractos acuosos de frijoles adzuki y relacionaron su contenido total de fenoles totales de 281 mg eq. de catequina/g y de otros compuestos no presentes como los ácidos hidroxycinámicos, además el factor de interferencia de otros compuestos como proteínas, carbohidratos o lípidos (Zeghad *et al.*, 2019).

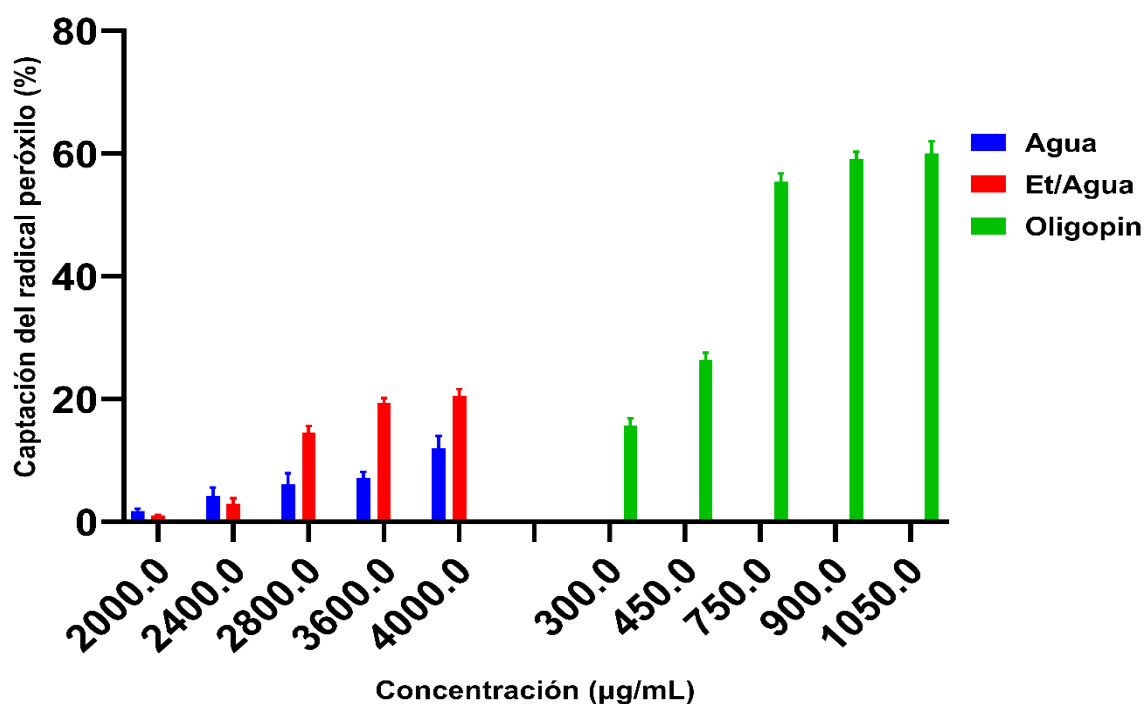


Figura 22. Gráfico EC₅₀ para el peroxilo.

6.3 ÓXIDO NÍTRICO

En cuanto a la capacidad de la cáscara de tuna *O. streptacantha*, para captar el óxido nítrico, se obtuvo una EC₅₀ de 148.7 µg/mL para el extracto en agua y de 87 µg/mL para el extracto con etanol-agua. Zourgui *et al.* (2020) obtuvieron para la extracción con agua de 120 µg/mL y para etanol-agua 20 µg/mL (figura 23). El extracto de la cáscara de tuna *O. streptacantha* es un excelente captador del radical NO•, incluso presenta una mayor capacidad que el control positivo utilizado en este ensayo: la cúrcuma, con una EC₅₀ de 119.5 µg/mL, la cual se conoce por ser un excelente captador del radical óxido nítrico.

Según Taira *et al.* (2015) en su trabajo de investigación, determinó la capacidad inhibitoria de la betanina con el óxido nítrico y obtuvo un valor de EC₅₀ de 13.4 µg/mL (24.48 µM), esto podría explicar la excelente capacidad del extracto de cáscara de tuna *O. streptacantha* en captar el radical óxido nítrico. Swarna *et al.* (2013) en su investigación con extractos purificados de betalaínas a partir de flores y hojas de la espinaca de Florida, obtuvo un EC₅₀ de 60.8 µg/mL, y argumenta que las betalaínas poseen una actividad antirradical debido al anillo aromático del ácido betalámico que poseen las betalaínas, incluso con una actividad antioxidante de 3 a 4 veces mayor que el ácido ascórbico, rutina y catequina; la conformación molecular de la betanina de un mono fenol y los intermedios reductores durante el proceso de oxidación confieren a la molécula de la betanina un potencial de donación de átomos de H y así neutralizar a los radicales libres, en especial el grupo de las betacianinas con la capacidad de inhibir el radical NO•, por mencionar la betanidina que posee un grupo catecol en su molécula como donador de H (Santos-Díaz *et al.*, 2017).

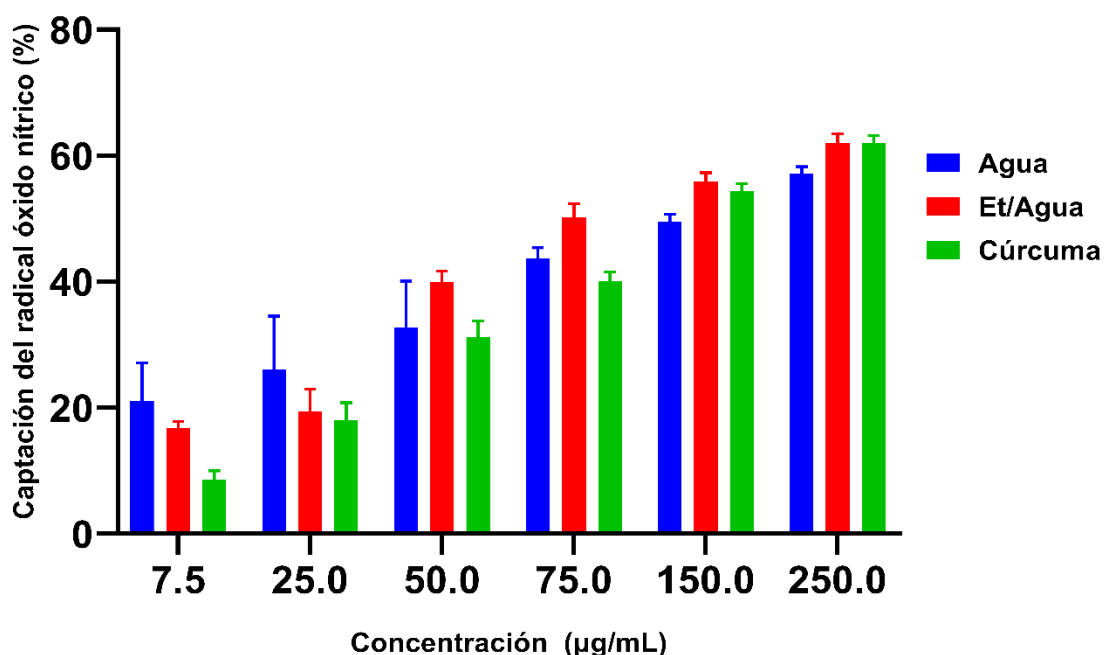


Figura 23. Gráfico EC₅₀ para el óxido nítrico.

Como se observa en la tabla 11, la concentración de fenoles totales, flavonoides, betacianinas y betaxantinas resultaron con una correlación significativa con respecto a la capacidad de captación del radical NO• ($r = -0.943$, $p < 0.05$; $r = -0.886$, $p < 0.05$; $r = -0.899$, $p < 0.05$; $r = -0.886$, $p < 0.05$, respectivamente). En el trabajo de Saravanakumar *et al.* (2015) los extractos de los frutos de *O. ficus-indica* presentaron una correlación similar a los resultados de este trabajo, con respecto a la cantidad de fenoles totales y el porcentaje de inhibición del radical NO•, el extracto de los frutos cosechados en temporada lluviosa y extraídos con agua, registraron una correlación de $r = 0.922$, $p > 0.01$; el extracto de los frutos cosechados en verano y extraídos con metanol fue de $r = 0.908$, $p > 0.01$; el contenido de flavonoides, también se correlacionó con la capacidad de captar el radical NO•, los extractos de frutos cosechados en temporada lluviosa, extraídos con agua fue de $r = 0.919$, $p > 0.01$ y los extractos de frutos cosechados en verano y extraídos con metanol fue de $r = 0.892$, $p > 0.05$).

6.4 HIDROXILO

En cuanto a la capacidad de la cáscara de la tuna de inhibir al radical hidroxilo, el EC_{50} fue de 1,017 $\mu\text{g/mL}$ con la extracción etanol-agua y de 1,335 $\mu\text{g/mL}$ con la extracción acuosa (figura 24). Saravanakumar *et al.* (2015) en su investigación con frutos de *O. ficus-indica* recolectadas en las regiones tropicales de la India, obtuvieron un mejor desempeño para captar al $\text{OH}\cdot$, con una EC_{50} de 65.6 $\mu\text{g/mL}$ (extracción con metanol) y 78.9 $\mu\text{g/mL}$ (extracción con agua), mencionando que fueron recolectadas en temporada con más exposición solar, en comparación con las recolectadas en temporada lluviosa, 78.2 $\mu\text{g/mL}$ (extracción con metanol) y 85.9 $\mu\text{g/mL}$ (extracción con agua), no así los extractos de cladodios del nopal *O. ficus-indica*, que resultaron ser menos eficientes con la captación del radical hidroxilo con 5,600 $\mu\text{g/mL}$ a pesar de haber obtenido una alta cantidad de fenoles totales (929.8 EAG mg/g) (Avila-Nava & Calderón-Oliver, 2014).

Hubo una correlación negativa significativa, entre el contenido de flavonoides y la EC_{50} para captar el radical $\text{OH}\cdot$ del extracto de cáscara de tuna de *O. streptacantha* ($r = -0.890$, $p > 0.05$), comparándolo con el trabajo de Saravanakumar *et al.* (2015) en el que obtuvieron una excelente correlación de la concentración de fenoles totales y flavonoides con la capacidad de captar al radical $\text{OH}\cdot$, esto cuando se analizaron los extractos de los frutos cosechados en temporada lluviosa extraído con agua ($r = 0.933$, $p > 0.01$) ($r = 0.927$, $p > 0.01$) y extractos de frutos cosechados en verano extraído con metanol ($r = 0.933$, $p > 0.01$) ($r = 0.915$, $p > 0.05$).

En lo que refiere a la cantidad de las betacianinas en el extracto de cáscara de tuna, se correlacionaron positivamente ($r = 0.986$, $p > 0.05$) con la capacidad de captar el radical $\text{OH}\cdot$, por lo que se deduce que pudieran interferir en el desempeño óptimo para captar el radical $\text{OH}\cdot$.

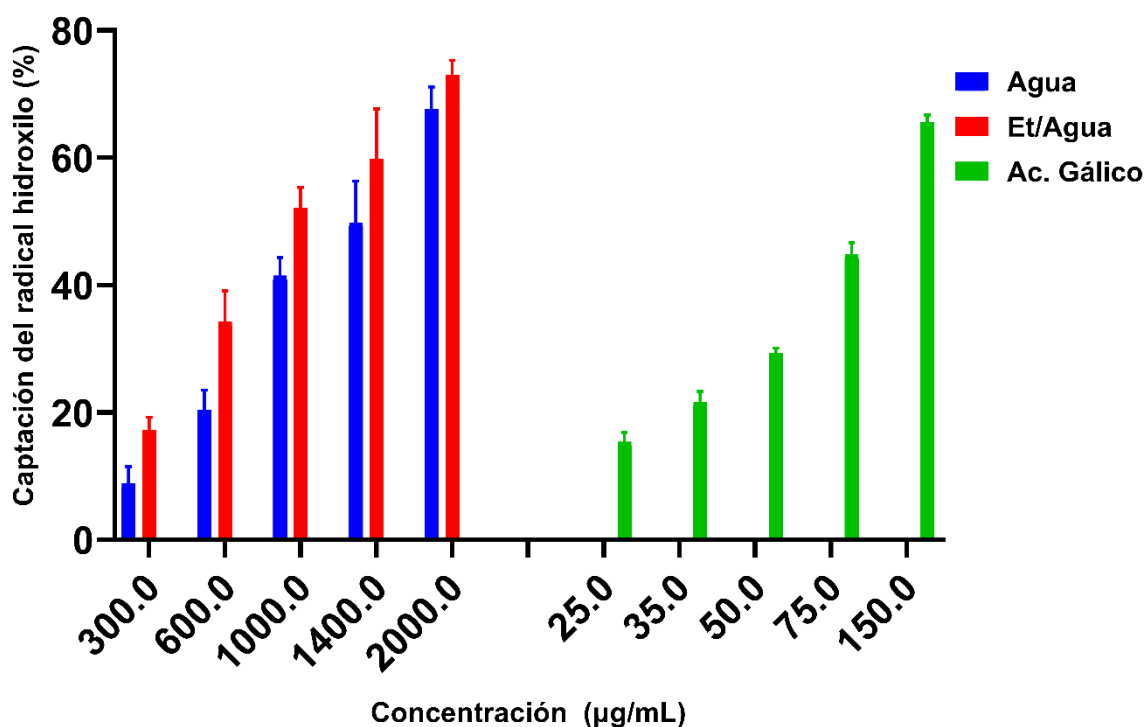


Figura 24. Gráfico EC₅₀ para el radical hidroxilo.

6.5 ANIÓN SUPERÓXIDO

Los resultados obtenidos de captación del radical anión superóxido $O_2^{\bullet-}$ de la cáscara de la tuna *O. streptacantha* fueron de EC₅₀ de 26.88 µg/mL mediante la extracción con etanol-agua y EC₅₀ de 41.48 µg/mL con etanol-agua, se podría considerar al extracto como un eficiente captador del radical $O_2^{\bullet-}$ en comparación con el control positivo quercetina (20.25 µg/mL) (figura 25). El EC₅₀ del extracto acuoso de la cáscara de la tuna *O. streptacantha* fue cercano al que registraron Saravanakumar *et al.* (2015) con los frutos de *O. ficus-indica* cuando la cosecha fue en temporada soleada y la extracción se llevó a cabo con metanol (44.17 µg/mL) y la cosechada en temporada lluviosa (85.44 µg/mL) con extracción agua.

Existe una correlación negativa del contenido de fenoles totales con respecto a la EC_{50} de la capacidad de captar el radical $O_2^{\bullet}$ ($r = -0.90$, $p > 0.05$), de igual manera así lo registraron Saravanakumar *et al.* (2015) en su datos la correlación en el contenido de fenoles totales y la captación del radical (EC_{50}) $O_2^{\bullet}$ ($r = 0.885$, $p > 0.05$) y ($r = 0.901$, $p > 0.05$) y flavonoides ($r = 0.870$, $p > 0.05$) y ($r = 0.899$, $p > 0.05$). Mandal & Ghosal (2012) en su investigación con frutos del árbol de tomate (*Cyphomandra betacea*), evaluaron una destacable correlación entre los polifenoles totales y la captación del radical $O_2^{\bullet}$ ($r = 0.953$, $p > 0.05$). De igual manera García-Pérez *et al.* (2010) obtuvo una correlación significativa entre los polifenoles totales en la especies de maderas de Canadá y la captación del radical $O_2^{\bullet}$ ($r = -0.94$; $p < 0.001$).

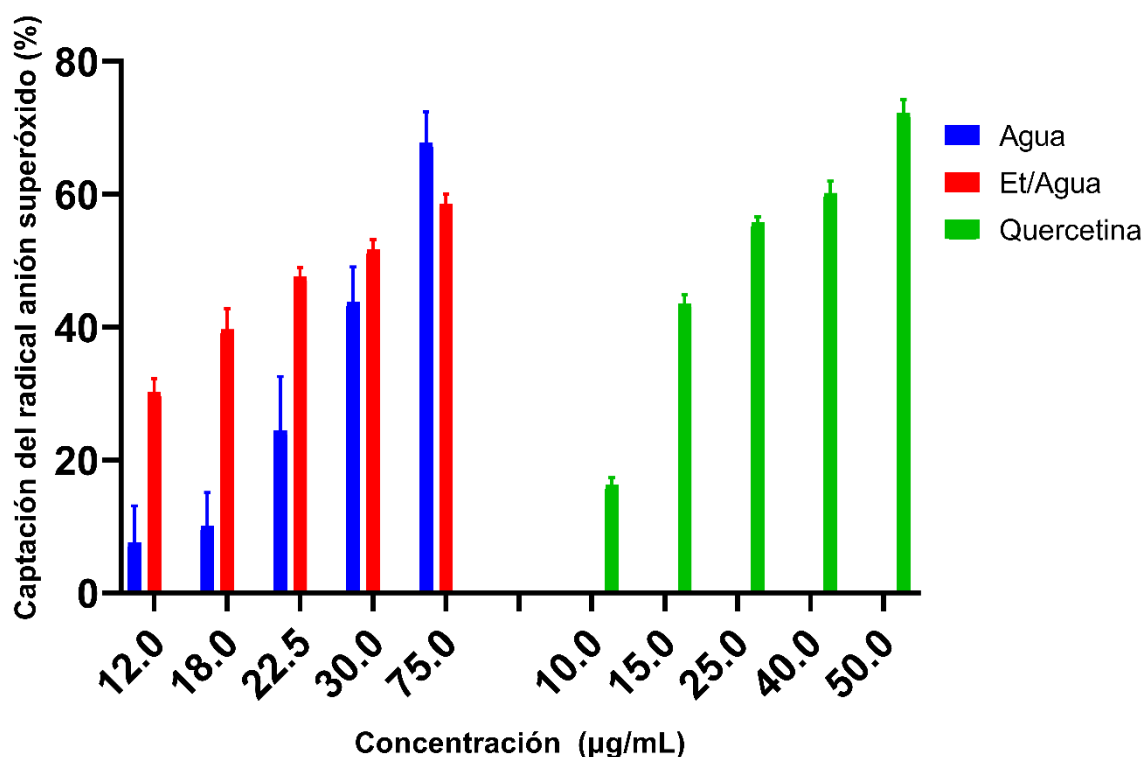


Figura 25. Gráfico EC_{50} para el radical anión superóxido.

En la tabla 11, se muestra la correlación estadísticamente significativa que existe entre la capacidad de inhibir al radical superóxido (EC_{50}) y la concentración de compuestos fenólicos ($r=-0.900$, $p=0.016$), de betacianinas ($r=-0.9856$, $p=0.006$) y de betaxantinas ($r=-0.880$, $p=0.033$) presentes en el extracto de cáscara de tuna.

En relación al contenido de fenoles totales, está directamente relacionado con la capacidad de captación de las especies reactivas del oxígeno, debido a la estructura y presencia de un grupo dihidrico en el anillo B (formando un grupo catecol) que es capaz de donar fácilmente su hidrógeno (electrones) para estabilizar una especie reactiva (Avila-Nava & Calderón-Oliver, 2014).

Respecto a la correlación que se presenta entre las betalaínas y la capacidad de captar al anión superóxido, en los estudios realizados por Čanadanović-brunet *et al.* (2011) y Swarna *et al.* (2013), ambos encontraron esta tendencia cuando analizaron extractos de pulpa de betabel (etanol al 80%) el primero y extractos de hojas y flores de espinacas de Florida, el segundo.

6.6 ÁCIDO HIPOCLOROSO

La capacidad de captación del radical ácido hipocloroso del extracto acuoso de cáscara de la tuna *O. streptacantha* fue de $1,263 \mu\text{g/mL}$ y de $1.168 \mu\text{g/mL}$ con el extracto etanol-agua, por lo que no lo hace un buen captador de este radical si los comparamos con la vitamina C ($108.9 \mu\text{g/mL}$) (figura 26), esto a pesar de que extractos etanol-agua [50%] de otras estructuras de la planta, como las pencas del nopal *O. ficus-indica* han mostrado ser más eficientes para captar este radical, con un EC_{50} $180 \mu\text{g/mL}$ (Avila-Nava & Calderón-Oliver, 2014).

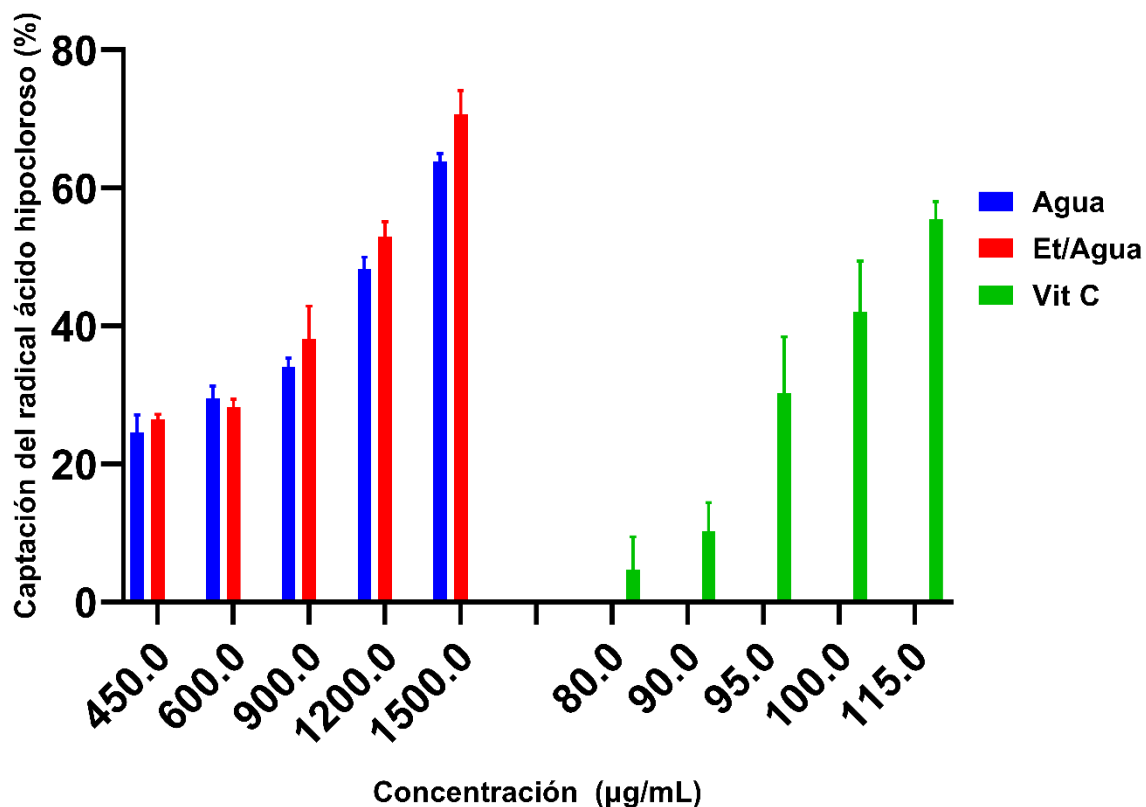


Figura 26. Gráfico EC₅₀ para el radical ácido hipocloroso.

No se encontró evidencia de correlaciones significativas ($p > 0.05$) entre el contenido de fenoles totales, flavonoides, betacianinas y betaxantinas, por lo que la capacidad de captar al ácido hipocloroso, debe estar correlacionada con otro tipo de fitoquímicos diferentes a los cuantificados para este trabajo.

Como se ha podido observar, el extracto que obtuvo las mejores características antioxidantes fue el extracto etanólico de cáscara de tuna, por lo que, para los sucesivos análisis, así como para la formulación del helado funcional, se utilizará este extracto.

7. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE COMPUESTOS VOLÁTILES Y SEMIVOLÁTILES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CÁSCARA DE TUNA.

En la figura 27 se muestran los compuestos identificados (extraídos con tolueno) mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), se aprecian en mayor área con respecto al tiempo de retención el probucol, ácido hexadecanoico y ácido octadecanoico compuestos comunes encontrados en la parte estructural, energética, defensa de cortezas y pieles de las frutas y vegetales (Boudieb *et al.*, 2019)

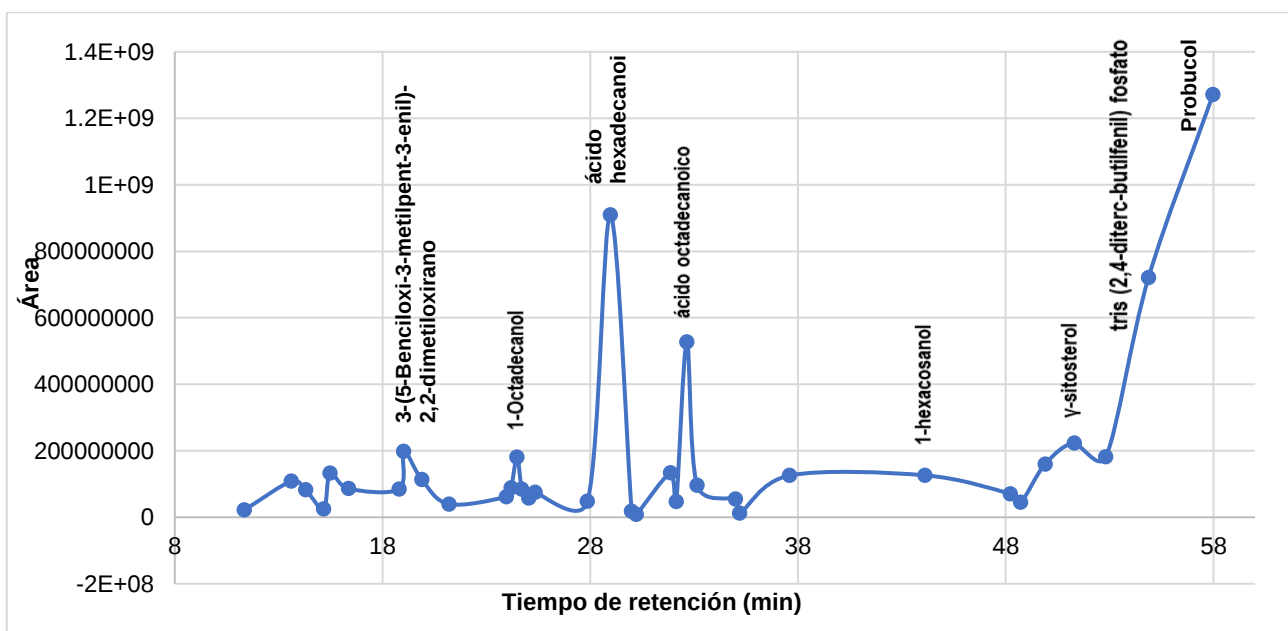


Figura 27. Compuestos identificados por GC-MS.

En la tabla 12 se muestran algunos de los compuestos identificados (extraídos con tolueno). encontrados en el extracto etanólico de la cáscara de tuna de *O. streptacantha*, sus tiempos de retención, área, la fórmula molecular condensada y referencias de trabajos en los que se han explorado su actividad. Se identificaron 35 compuestos entre los que podemos encontrar ácidos carboxílicos, compuestos fenólicos, alcoholes, ácidos grasos insaturados y saturados, esterres, fosfatos, esterres y vitaminas.

Tabla 12. Compuestos identificados (extraídos con tolueno) en el extracto etanólico *O. streptacantha* por GC-MS.

	Tiempo de retención	Compuesto	Área	Formula molecular	Función
1	11.354	Hexadecano, 1-cloro- (hidrocarburo halogenado)	22256203	C ₁₆ H ₃₃ Cl	
2	13.619	Diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol (glicol)	108659785	C ₁₆ H ₃₀ O ₄	
3	14.301	Ácido propa-noico, 2-metil-, 3-hidroxi-2,4,4-trimetilpentil éster (alcohol secundario)	82900519	C ₁₂ H ₂₄ O ₃	
4	15.166	Ácido ben-cenoacético, éster 6-etil-3-octilo	25063933	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	
5	15.479	Cariofileno (sesquiterpeno)	25063933	C ₁₅ H ₂₄	-Antinflamatorio, anticonvulsivo, sedante y anti-depresivo (Francomano et al., 2019)
6	16.364	Humuleno (sesquiterpenos)	86061644	C ₁₅ H ₂₄	-Antinflamatorio tópico y sistémico, analgésico,

					antineoplásico e inductor de apoptosis (Hartsel <i>et al.</i> , 2016)
7	18.804	3,7,11-trimetil-1-dodecanol (alcohol alifático)	85046648	C ₁₅ H ₃₂ O	
8	19.025	3-(5-Benciloxi-3-metilpent-3-enil)-2,2-dimetiloxirano	197724269	C ₁₇ H ₂₄ O ₂	
9	19.891	Éster 2-tetradecílico del ácido bencenoacético	113218808	C ₂₂ H ₃₆ O ₂	
10	21.198	Ácido acético, 1,7,7-trimetil-biciclo[2.2.1]hept-2-il éster (monoterpeno)	39534835	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	
11	23.97	1-cloro-octadecano (Hidrocarburos halogenados)	61967272	C ₁₈ H ₃₇ Cl	
12	24.29	n-Nonadecanol-1 (alcohol graso)	88829330	C ₁₉ H ₄₀ O	
13	24.477	1-Octadecanol (alcohol graso)	180418930	C ₁₈ H ₃₈ O	
14	24.707	Terc-hexadecanotiol (organosulfurado)	84598958	C ₄₈ H ₉₉ Au S ₃	
15	25.048	Isocalamenediol (sesquiterpenoide)	57532742	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	-Propiedades antibacteriales (Wright <i>et al.</i> , 2017)
16	25.343	2-hexil-1-decanol (alcohol lipídico)	74874203	C ₁₆ H ₃₄ O	
17	27.866	7,9-di-terc-butil-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-dieno-2,8-diona (lactona)	47781971	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	

18	28.971	Ácido hexadecanoico/ ácido palmítico (ácido graso saturado)	909434510	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	-Antioxidante, hipocolesterolémico, antiinflamatoria, actividad inhibidora de la 5-alfa reductasa.(Kavitha, 2021) -Nematicida, antiandrogénico (Awonyemi et al., 2020)
19	29.993	1-hexadecanol acetato (éster carboxílico)	18520554	C ₈ H ₃₆ O ₂	
20	30.215	Isovalerato de geranilo (éster carboxílico)	8349437	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	-Anticancerígeno (Rasool et al., 2021)
21	31.872	Ácido heptadecanoico, 9-metil-, éster metílico	133733199	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	
22	32.139	Ácido propa-noico, 2-(3-acetoxi-4,4,14-trimetilandro-8-en-17-il)-	47498265	C ₂₇ H ₄₂ O ₄	-Ejerce acción hipoglucemiante en ratas Wistar (Venkatachalam et al., 2013)
23	32.646	Ácido octadecanoico (ácido graso esteárico)	527252281	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	-Antifúngico, antibacterial y anti-tumoral (Awonyemi et al., 2020)
24	33.143	5-metil-z-5-docoseno	95970797	C ₂₃ H ₄₆	
25	34.994	Tributil acetil citrato (ácido tricarbónico)	54408146	C ₂₀ H ₃₄ O ₈	
26	35.197	Ácido cis 13-octadecenoico (ácido graso insaturado)	12774255	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	Usos terapéuticos en medicina (Awonyemi et al., 2020)
27	37.592	1-hexacosanol (alcohol graso)	125586135	C ₂₆ H ₅₄ O	-Reductor del colesterol plasmático y hepático, propiedades

					antiinflamatorias (Lee <i>et al.</i> , 2017).
28	44.113	2,2,4-trimetil-3-(3,8,12,16-tetrametil-heptadeca-3,7,11,15-tetraenil)-ciclohexanol (triterpenoide)	126197446	C ₃₀ H ₅₂ O	
29	48.221	7,8-epoxilanos-tano-11-ol, 3-acetoxi- (poliol)	70033130	C ₃₂ H ₅₄ O ₄	-Propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas (Boudieb <i>et al.</i> , 2019)
30	48.718	17-pentatriacontene	44709657	C ₃₅ H ₇₀	
31	49.897	Acetato alfa tocoferil (vitamina E sintética)	160132034	C ₃₁ H ₅₂ O ₃	-Protección uv (estudio in vivo en ratas) (Beijersbergen <i>et al.</i> , 1995)
32	51.298	γ-sitosterol (sitosterole)	223294960	C ₂₉ H ₅₀ O	-Anticancerígeno (células adenocarcinoma de mama y pulmón) (Tripathi <i>et al.</i> , 2013) - Tratamiento en la diabetes mellitus (Tripathi <i>et al.</i> , 2013).
33	52.817	Cannabinol, pentafluoropropionato	181535317	C ₂₄ H ₂₅ F ₅ O ₃	
34	54.872	Tris (2,4-diterc-butilfenil) fosfato	720436585	C ₄₂ H ₆₃ O ₄ P	
35	57.976	Probucol (Fenol)	1271075059	C ₃₁ H ₄₈ O ₂ S ₂	-Antioxidante (Singla <i>et al.</i> , 2007). -Tratamiento contra la

Entre los compuestos detectados por cromatografía de gases, presentes en el extracto etanólico de cáscara de tuna, podemos mencionar algunos trabajos de investigación científica en los que se han explorado algunos beneficios en la salud, entre los que destacan:

Probucol. Es un compuesto fenólico con propiedades antioxidantes que actúa contra la peroxidación lipídica en reperfusión isquémica en ratas, además protegió contra el aumento del estrés oxidativo en lesiones por reperfusión isquémica (Singla *et al.*, 2007). El tratamiento con probucol a largo plazo demostró retrasar ataques secundarios en personas con padecimientos de hipercolesterolemia familiar heterocigota (Yamashita *et al.*, 2008).

y-sitosterol. Es un esteroide del subgrupo de los estigmasteroles. Tiene efectos en la reducción de hiperglucemia en ratas diabéticas, se ha utilizado como tratamiento en la Diabetes *mellitus*. Se ha reportado una disminución de la actividad de los componentes de la vía apóptica extrínseca en las células humanas de adenocarcinoma de mama y pulmón (Tripathi *et al.*, 2013).

Tris(2,4-di-terc-butilfenil) fosfito. Es un organofosfito al cual se le atribuye un efecto antioxidante secundario, evitando la reducción de antioxidantes primarios en polímeros (Yang *et al.*, 2016).

3-acetoxi- 7,8-epoxilano-11-ol. Es un compuesto alcohólico, comúnmente se le encuentra en la fruta madura, tiene propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas (Boudieb *et al.*, 2019).

1-Hexacosanol. Es un alcohol graso del grupo de los policosanoles es común encontrarlo en las frutas en general, en el aceite de oliva o en brotes de cebada. En ratones obesos se observó la reducción de colesterol plasmático y hepático, además de proporcionar efectos antiinflamatorios (Lee *et al.*, 2017).

Isovalerato de geranilo. Es un éster carboxílico usado como un aditivo alimentario aprobado por la OMS. Se demostró una actividad anticancerígena en pruebas in vitro con líneas celulares HCT116 afectando su viabilidad con respecto al paso del tiempo (Rasool *et al.*, 2021).

Humuleno. Es un compuesto terpénico (sesquiterpeno) también conocido como α -cariofileno, es característico del lúpulo. Tienen propiedades antiinflamatorias similares a la de la dexametasona en pruebas in vivo. También tiene características de inducir apoptosis celular debido a la producción de especies reactivas del oxígeno a un nivel moderado. Además de ser un analgésico aplicado de manera tópica, oral o en aerosol (Hartsel *et al.*, 2016).

Cariofileno. Es un terpénico (sesquiterpeno) también conocido como β -cariofileno. Presenta características benéficas a la salud como la actividad antiinflamatoria el cual inhibe mediadores inflamatorios como el óxido nítrico sintasa inducible. En estudios in vitro e in vivo se ha demostrado una mejora en el fenotipo de animales usados para moderar enfermedades como el Alzheimer, aterosclerosis, y ciertos tipos de tumores como de colon, mama, páncreas, melanoma, cáncer de glioma y linfoma. Efectos anticonvulsivos, sedantes, y antidepresivos (Francomano *et al.*, 2019).

En la figura 28 se muestran los compuestos por GC-MS (extraídos con acetonitrilo), se aprecian en mayor área con respecto al tiempo de retención el 2-metoxi-4-vinil-fenol, ácido benzoico, 2,5-dihidroxi-, metil éster, ácido propiónico β -(4-hidroxi-3-metoxifenil, ácido hexadecanoico y ácido oleico.

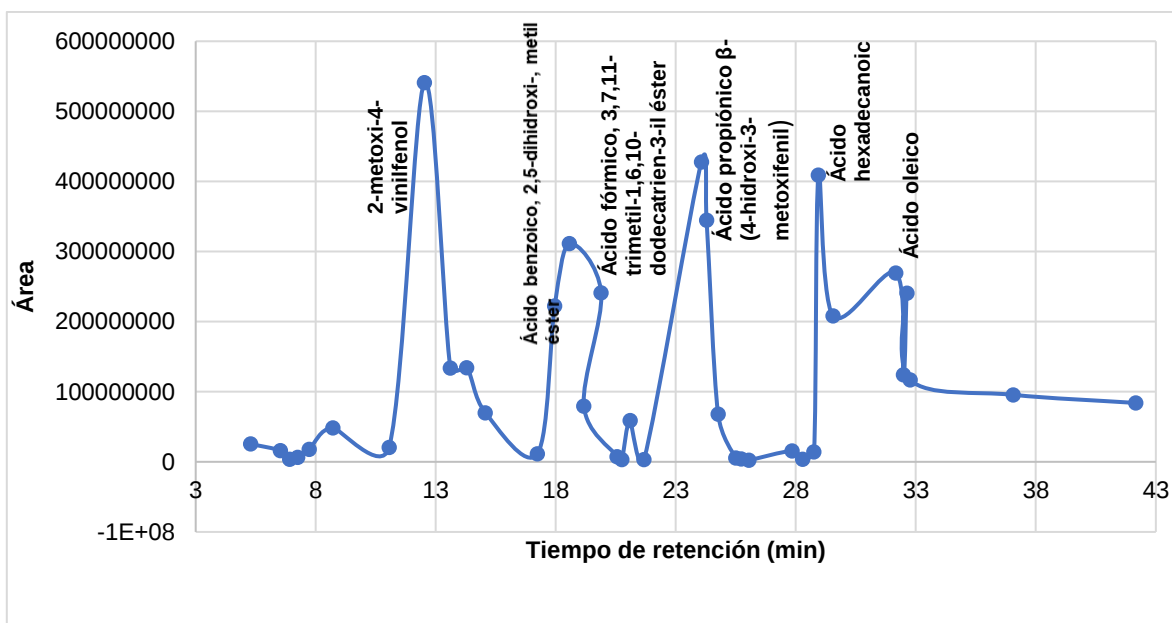


Figura 28. Compuestos identificados por GC-MS.

En la tabla 13 se muestran algunos de los compuestos identificados encontrados en el extracto etanólico de la cáscara de tuna *O. streptacantha* extraídos con acetonitrilo, sus tiempos de retención, área, la fórmula molecular condensada y referencias de trabajos en los que se han explorado su actividad. Se identificaron 37 compuestos entre los que podemos encontrar ácidos carboxílicos, compuestos fenólicos, cetónicos, aldehídos, alcoholes, ácidos grasos insaturados, ésteres e hidrocarburos.

Tabla 13. Compuestos identificados (extraídos con acetonitrilo) en el extracto etanólico *O. streptacantha* por GC-MS.

	Tiempo de retención	Compuesto	Área	Formula molecular	Función
1	5.294	Ácido 6-noninoico (Ácido graso)	25524266	C ₉ H ₁₄ O ₂	
2	6.538	Acetato de 8-tetradecen-1-ol (éster carboxílico)	15933815	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	
3	6.915	Epóxido de cis-(Z)- alfa -bisabolenoleno (sesquiterpeno)	3754674	C ₁₅ H ₂₄ O	
4	7.247	3-hidroxitetradecanoato de metilo (éster graso)	6707175	C ₁₅ H ₃₀ O ₃	
5	7.726	D-manosa (monosacárido)	18072501	C ₆ H ₁₂ O ₆	-Tratamiento para contrarrestar enfermedades como la diabetes, infecciones del tracto urinario, trastorno congénito de la glicosilación (Hu <i>et al.</i> , 2016)
6	8.72	Ácido benzoico, 2-(2-metilbutil) oxi-, éster metílico (ácido carboxílico)	48472703	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	
7	11.059	D-glicero-D-taloheptosa (monosacárido)	20789377	C ₇ H ₁₄ O ₇	
8	12.533	2-metoxi-4-vinilfenol (fenol)	541091274	C ₉ H ₁₀ O ₂	Antimicrobiano, antioxidante, antiinflamatorio y analgésico (Rubab <i>et al.</i> , 2020). -Anticancerígeno (Kim <i>et al.</i> , 2019)
9	13.61	Diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol (Glicol)	133817659	C ₁₆ H ₃₀ O ₄	

10	14.292	Ácido propanoico, 2-metil-, 3-hidroxi-2,4,4-trimetilpentil éster (éster)	134597185	C ₁₂ H ₂₄ O ₃	
11	15.065	1-(3,6,6-trimetil-1,6,7,7 a-tetrahidrociclopenta[c]piran-1-il) etanona	70219448	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	-Antihistamínico (Diep <i>et al.</i> , 2021)
12	17.239	Epóxido de isoromadendreno (sesquiterpenoide)	11714499	C ₁₅ H ₂₄ O	-Actividad antioxidante y antibacteriana (Hameed <i>et al.</i> , 2015)
13	17.957	2,4-di-terc-butilfenol (fenol)	222310643	C ₁₄ H ₂₂ O	-Propiedades antifúngicas y antioxidantes (Varshaa <i>et al.</i> , 2015)
14	18.574	Ácido benzoico, 2,5-dihidroxi-, metil éster (ácido carboxílico)	311622386	C ₈ H ₈ O ₄	
15	19.891	Ácido fórmico, 3,7,11-trimetil-1,6,10-dodecatrien-3-il éster	241267026	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	
16	19.173	Fenol, 3-(1,1-dimetiletil)-4-metoxi- (fenol)	79560820	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	
17	20.563	Epóxido de ascaridol	7670028	C ₁₀ H ₁₆ O ₃	-Anticancerígeno (Hussein <i>et al.</i> , 2016)
18	20.757	12-oxatriciclo [4.4.3.0(1,6)]tridecano-3,11-diona (cetona)	3158360	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	
19	21.097	4-(2,6,6-trimetilciclohex-1-enil)-butano-2-ol (sesquiterpenoide)	58952368	C ₁₃ H ₂₄ O	
20	21.678	5-hidroximetil-1,1, 4a-trimetil-6-metilendecahidronaftalen-2-ol	3467242	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	

		(sesquiterpe- noide)			
21	24.072	Etil-beta-(4-hi- droxi-3-metoxi-fe- nil)-propionato	428148694	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	
22	24.284	Ácido propiónico β-(4-hidroxi-3- metoxifenil) (ácido carboxí- lico)	344702732	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	-Regulador del metabolismo de los lípidos hepáti- cos y sensibilidad a la insulina en ra- tones (Ohue- Kitano <i>et al.</i> , 2019)
23	24.763	4-(2,2,6-trimetil-7- oxabicyclo [4.1.0]hept-4-en- 1-il) pent- 3-en-2-ona (ce- tona)	68142014	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	
24	25.5	9-etoxi-10-oxatri- ciclo [7.2.1.0(1,6)]do- decan-11-ona (cetona)	5843465	C ₁₃ H ₂₀ O ₃	-Efecto antican- cerígeno (Hussein <i>et al.</i> , 2016)
25	25.73	1-(5,5-dimetil-2- metileno-5,6,7, 7a-tetrahidro-2H- ciclopenta[b]pi- ran-4a-il)-etanona (cetona)	4209055	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	
26	26.043	Ácido 2-metoxi- 6,10-dimetil-do- deca-2E,6Z,10Z- trienoico, 12-ace- toxi-, éster metí- lico	2494780	C ₁₈ H ₂₈ O ₅	
27	27.848	Ácido 11,13-dihi- droxi-tetradec-5- inoico, éster metí- lico	15599953	C ₁₅ H ₂₆ O ₄	
28	28.29	12-hidroxi-14-me- til-oxa-ciclotetra- dec-6-en-2-ona	3820211	C ₁₄ H ₂₄ O ₃	
29	28.76	Picrotoxina (hi- drocarburo)	14141848	C ₃₀ H ₃₄ O ₁₃	

30	28.944	Ácido hexadecanoico/ ácido palmítico (ácido graso saturado)	409272222	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Antioxidante, hipocolesterolemico, antiinflamatorio (Kavitha, 2021) -Nematicida, antiandrogénico (Awonyemi <i>et al.</i> , 2020)
31	29.552	Alcohol trans-sinapílico (ácido carboxílico)	208216030	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	
32	32.167	Ácido oleico (ácido graso insaturado)	269662522	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	-Propiedades antifúngicas, antiinflamatorio, antioxidante y antibacterial (Awonyemi <i>et al.</i> , 2020).
33	32.49	Éster etil ácido linoleico (ácido graso insaturado)	124119654	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	-Hipocolesterolemico, Nematicida, Antiartrítico, hepatoprotector Antiandrogénico, hipocolesterolemico, Antihistamínico y Antiacné (Sudha <i>et al.</i> , 2013).
34	32.628	Ácido octadecanoico (ácido graso)	240907380	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	-Antifúngico, anti tumor y antibacterial (Awonyemi <i>et al.</i> , 2020)
35	32.766	Oleato de etil (ácido graso insaturado)	116910610	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	
36	37.058	Ácido 10,13-octadecadienoico, metil	95616286	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	

		éster			
37	42.16	Fitol (diterpeno)	84003355	C ₂₀ H ₄₀ O	-Antimicrobiano, Anticanceroso, Diurético, Antiinflamatorio (Sudha <i>et al.</i> , 2013)

2 metoxi 4-vinilfenol. Es un compuesto fenólico, presenta propiedades antimicrobiano, antioxidante, antiinflamatorio y analgésico (Rubab *et al.*, 2020). Se demostró tener actividad anticancerígena en líneas celulares de cáncer de páncreas (Kim *et al.*, 2019)

D- manosa. Es un monosacárido que participa en la en la biosíntesis de la mayoría de las proteínas y glicoproteínas secretoras en el cuerpo humano. Reduce el riesgo de infecciones del tracto urinario debido a la acción de la d-manosa de fomentar la inhibición de la adherencia bacteriana a las células uro epiteliales. Combate enfermedades como la diabetes, enfermedades intestinales, y fortalece el sistema inmune. En los 90's se usó como un tratamiento terapéutico nutracéutico para tratar el trastorno congénito de la glicosilación (Hu *et al.*, 2016).

Ácido propiónico β-(4-hidroxi-3-metoxifenil). Es un ácido carboxílico, se produce en la flora intestinal de ratones a partir del ácido 4-hidroxi-3-metoxycinámico, mejoró y reguló el metabolismo de los lípidos hepáticos y la sensibilidad a la insulina (Ohue-Kitano *et al.*, 2019).

El ácido oleico. Es un ácido graso insaturado, tiene la característica de incidir en la membrana celular y modificar sus propiedades biofísicas, útil en el tratamiento del cáncer de próstata y mama, además de reducir el colesterol de baja densidad y el índice glucémico (Awonyemi *et al.*, 2020).

8. ESTANDARIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN DEL HELADO FUNCIONAL CON EXTRACTO DE CÁSCARA DE TUNA

Se evaluaron dos formulaciones de helado; HA y HS y a continuación se realizaron pruebas de análisis proximal donde se determinó la cantidad de proteínas, carbohidratos totales, grasas y el valor calórico, registrando una mayor cantidad de proteínas en el helado con estevia y un bajo nivel calórico en comparación con el helado con sacarosa, aunque resultó con una mayor cantidad de grasas en el helado estevia.

Para la cuantificación de compuestos bioactivos a partir de las dos formulaciones de helado HA y HS se formularon tres diferentes proporciones del extracto etanólico añadido de cáscara tuna al 0.5 %, 1 % y 1.5 %, se obtuvo una cantidad elevada de compuestos bioactivos al 1.5 %, siguiendo la lógica que al aumentar el porcentaje añadido de extracto aumentaría la cantidad de compuestos bioactivos.

Se aplicaron pruebas de capacidad antioxidante en el helado HA y HS al 1.5 % de extracto añadido, obteniéndose una aceptable captación de los radicales $O_2^\bullet$ y $NO^\bullet$ en ambas formulaciones, y registrándose nula captación de $ROO^\bullet$ y $HClO$.

9. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DEL HELADO

En la tabla 14 se muestra el análisis químico proximal de las dos formulaciones de helado funcional, incluyendo el helado endulzado con sacarosa y la formulación con estevia. Como se observa, el contenido energético es mayor en la formulación HA, ya que al sustituir la sacarosa por estevia se reduce la cantidad de carbohidratos presentes en el helado. Marcas comerciales que añaden azúcares en sus

formulaciones como el helado napolitano Holanda® contiene 174 kcal y el helado nata con fresas de Nestle® con 163 kcal. Los valores obtenidos del porcentaje de humedad, fue ligeramente más elevado en la formulación con estevia (78.6 g), esto debido al aumento de leche entera del 70% con sacarosa y al 83% con estevia, siendo la formulación HA más cercano a lo reportado por la USDA (2020): con 55 g para un helado común de chocolate, y 60 g para un helado sabor vainilla.

En cuanto al contenido proteico, se observó un contenido superior en ambas formulaciones, HS (4.5 g/100 g) y HA (3.3 g/100 g) con respecto a los ofertados en el mercado, por ejemplo, el helado napolitano Holanda reporta un contenido de 0.7 g de proteínas y el helado de fresas con nata de la marca Nestlé® indica en su tabla nutrimental un aporte de 1.3 g de proteínas. Esto puede atribuirse al contenido elevado de proteínas en la leche en polvo utilizada como materia prima y al aumento del porcentaje (83%) de leche entera añadida en el helado estevia en comparación con la formulación del HA (70%). Por otra parte, se observa una diferencia entre el contenido de grasa del HA (9.3 g/100 g) y HS (14.1 g/100 g) y el reportado por marcas comerciales como el helado napolitano Holanda con 7.5 g/ 100 g y el helado de fresas con nata Nestlé 4.6 g/ 100 g; sin embargo, la concentración de grasa en un helado es crucial para obtener las mejores características sensoriales del helado, aportando una mejor textura, evitar el derretimiento temprano y promover la incorporación del aire (USDA, 2019).

Tabla 14. Análisis químico proximal del helado funcional.

	Energía (kcal)	Humedad (g)	Proteínas (g)	Grasas (g)	Cenizas (g)	Carbohidra- tos (g)
Helado saca- rosa	170.4 ± 13.2 ^a	68.4 ± 0.3 ^b	3.3 ± 0.1 ^b	9.3 ± 2.1 ^b	0.6 ± 0.1 a	18.4 ± 4.3 ^a
Helado estevia	152.7 ± 5.1 ^b	78.6 ± 0.4 ^a	4.5 ± 0.2 ^a	14.1 ± 3.5 ^a	0.8 ± 0.1 ^a	2.0 ± 0.35 ^b

El valor energético es por cada 100 g de producto. Los valores son expresados como la media ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias estadísticas con una significancia de $p < 0.05$. (ANOVA, prueba Tukey).

El porcentaje de cenizas por su parte, tiene un valor similar al reportado en USDA (2020), con 0.7 y 1 g. Se aprecia una diferencia significativa en el HS y HA, ya que los minerales de la leche como el calcio aportan compuestos no orgánicos al helado.

Tomando en cuenta el contenido de azúcares se observa una diferencia muy marcada entre el helado formulado con estevia y el reportado por marcas comerciales como el helado napolitano Holanda con 26 g de carbohidratos totales y el helado de fresas con nata Nestlé con 29 g. Cabe mencionar que el estevia tiene un grado de dulzor de hasta 300 veces más con respecto a la sacarosa (Salvador-Reyes *et al.*, 2014).

Tabla 15. Porcentajes de reducción del helado HA con respecto al helado HS .

	Helado HA	Helado HS	% Reducción	¿Se reduce?	
				SI	NO
Reducido en azúcares	18.4	2.0	89.1	X	
Reducido en grasas	9.3	14.1	No hay reducción		X
Reducido en calorías	170.4	152.7	10.4	X	

De acuerdo al criterio que menciona la norma NOM-086-SSA1-1994 (apartado 7.9.2) el comparar un producto de la misma marca con respecto a otro, pero con distinta reformulación, debe existir un mínimo del 25% de reducción de azúcares y se consideraría un producto reducido en azúcares. Con el helado HS se reportó una reducción en carbohidratos totales (azúcares) con respecto al helado HA. En la tabla 15 se muestra el análisis realizado, en donde se puede notar claramente, que hubo un 89.1 % de reducción en azúcares y un 10.4 % de reducción en calorías del HS en comparación con él HA.

10. COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL HELADO FUNCIONAL

En la tabla 16, se muestran los resultados de la cuantificación de compuestos bioactivos que se detectaron en las dos formulaciones de helados, pero adicionándole tres diferentes proporciones de extracto de cáscara de tuna: al 0.5 %, al 1 % y al 1.5 %.

Tabla 16. Compuestos bioactivos del helado HA y HS.

Parámetro	Extracto 0.5 % (HA)	Extracto 1 % (HA)	Extracto 1.5 % (HA)	Extracto 0.5 % (HS)	Extracto 1 % (HS)	Extracto 1.5 % (HS)
Fenoles totales (mg EAG/g)	7.04 ±0.04 ^c	12.1 ± 0.09 ^b	13.4 ± 0.07 ^a	7.09 ± 0.04 ^c	12.0 ± 0.09 ^b	13.6 ± 0.07 ^a
Flavonoides totales (mg CAT/g)	4.3 ± 0.14 ^c	9.5 ± 0.03 ^b	12.0 ± 0.05 ^a	4.2 ± 0.14 ^c	9.37 ± 0.03 ^b	12.44 ± 0.05 ^a
Betacianinas (mg BET/g)	0.08 ± 0.005 ^c	0.15 ± 0.02 ^b	0.25 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.005 ^c	0.14± 0.02 ^b	0.28 ± 0.01 ^a
Betaxantinas (mg IN/g)	-----	0.04 ± 0.01 ^b	0.12 ± 0.02 ^a		0.04± 0.01 ^b	0.12± 0.02 ^a

EAG, equivalentes de ácido gálico; CAT, catequina; BET, betanina; IN, indicaxantina. HA, helado con azúcar; HS, helado con estevia. Los valores son expresados como la media ± desviación estándar. Filas con diferentes letras indican diferencias estadísticamente con una significancia de $p < 0.05$. (Prueba t).

Como se puede notar, la concentración de los compuestos analizados de fenoles totales, flavonoides totales, betacianinas y betaxantinas fue aumentando de acuerdo a la cantidad de extracto añadido de 0.5 a 1.5 %. Existen diferencias significativas $p < 0.05$. (Prueba Tukey) con respecto a las tres formulaciones tanto para el helado HA y HS (tabla 16); sin embargo, no se muestran diferencias estadísticamente significativas cuando la cantidad de extracto adicionado era la misma. La concentración de extractos al 1.5 % resulto ser las más idónea para posteriores formulaciones del helado.

10.1 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL HELADO FUNCIONAL

En la tabla 17 se muestran los resultados de la capacidad antioxidante del helado funcional.

Tabla 17. Capacidad antioxidante del helado funcional.

	H₂O₂	ROO•	NO•	OH•	O₂•⁻	HClO
	EC₅₀	EC₅₀	EC₅₀	EC₅₀	EC₅₀	EC₅₀
	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)
Extracto (etanol 60%)	1.14 ± 0.03	> 4.0	0.087 ± 0.001	1.02 ± 0.14	0.027 ± 0.002	1.73 ± 0.05
Helado HA (15 mg/g)	46.25 ^a ± 1.04	>sin reacción	0.437 ^a ± 0.03	4.65 ^b ± 0.16	0.592 ^a ± 0.01	Sin reacción
Helado HS (15 mg/g)	45.34 ^a ± 1.6	>sin reacción	0.432 ^a ± 0.04	4.52 ^b ± 0.14	0.580 ^b ± 0.03	Sin reacción

Los valores son expresados como la media ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias estadísticamente con una significancia de $p < 0.05$. (ANOVA, prueba Tukey).

La capacidad antioxidante que presentó el extracto con el H_2O_2 , $\text{ROO}\cdot$, $\text{OH}\cdot$ y HClO no fue eficiente, por consecuencias al añadirlos al helado se esperaba que EC_{50} fuera bajo o nulo ($\text{ROO}\cdot$, HClO). En las formulaciones del helado HS y HA no se registró capacidad para captar el radical $\text{ROO}\cdot$ y HClO .

Un factor a considerar es la unión molecular de las proteínas de la leche con los polifenoles, esto provoca una disminución de la captación de las especies reactivas (Kabir *et al.*, 2021), no obstante, era un efecto esperado, el aumento de la EC_{50} , puesto que la concentración de fenoles totales, flavonoides totales, betacianinas y betaxantinas del extracto de cáscara de tuna disminuye al ser adicionado en ambas formulaciones de helado funcional, así, para captar al menos el 50% de las especies reactivas de H_2O_2 se requieren 1.14 mg/mL de extracto, el HS presenta una EC_{50} de 45.3 mg/mL y HA una EC_{50} de 46.25 mg/mL, sin embargo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con respecto al HA y HS. El valor de EC_{50} del extracto de cáscara de tuna para captar al radical $\text{OH}\cdot$ fue de 1.02 mg/mL, en el HS fue de 4.52 mg/mL, ligeramente más en el HA (4.65 mg/mL), pero sin diferencia significativa estadísticamente entre las formulaciones de helado. El extracto de cáscara de tuna de *O. streptacantha* resultó eficiente en captar los radicales $\text{NO}\cdot$ y $\text{O}_2\cdot$, a diferencia de lo observado en la tabla 17, donde se presentan valores de 0.432 mg/mL ($\text{NO}\cdot$) y 0.580 mg/mL ($\text{O}_2\cdot$) con diferencia significativa estadísticamente ($p < 0.05$) para el HS y el HA respectivamente, por lo que se piensa que influyó en la formulación el aumento de leche y sustitución de la sacarosa por estevia, aunque no hubo efectos en la disminución en la captación del radical $\text{O}_2\cdot$, como lo argumenta Kabir *et al.* (2021), indicando que la capacidad antioxidante es baja debido a uniones de proteína-polifenoles.

Debido a que no hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la concentración de compuestos bioactivos analizados en las dos formulaciones de helado, se optó por elegir una formulación de helado para posteriores análisis, tomando en cuenta las características nutrimentales y como la cantidad de proteína y el que sea reducido en carbohidratos, se continuará trabajando con la formulación

HS con un 1.5 % de extracto de cáscara de tuna adicionado, debido a una destacable captación de los radicales $O_2\bullet$ y $NO\bullet$.

11. EVALUACIÓN SENSORIAL DEL HELADO

Los resultados de las pruebas de evaluación sensorial hedónica del HS con extracto y sin extracto de cáscara de tuna, se muestran en la tabla 18. Se observan las puntuaciones de los atributos sensoriales de olor, color, sabor y textura por encima del valor 75 (me gusta) en el helado con y sin extracto. El valor mejor puntuado es la textura en ambas formulaciones. El total global lo sitúa por encima del valor 75 (me gusta). No se detectaron diferencias significativas entre el helado con extractos y sin extractos mediante una prueba t student ($p < 0.05$) (Anexo 2), lo que implica que los extractos añadidos al helado endulzado con estevia no influyeron en el olor, color, sabor y/o textura del helado.

Tabla 18. Grado de aceptabilidad de las dos formulaciones del helado.

Atributo	Helado estevia (con extractos)	Helado estevia (sin extractos)
Olor	76.0 ± 23.3	76.6 ± 17.5
Color	82.0 ± 17.4	82.3 ± 14.3
Sabor	83.5 ± 16.5	82.4 ± 18.3
Textura	92.0 ± 13.1	93.8 ± 12.5
Total global	81.2 ± 5.7	83.8 ± 7.2

Los valores son expresados como la media ± desviación estándar.

12. VIDA DE ANAQUEL

Análisis sensorial

Los resultados de los análisis sensoriales a -6 °C y -18 °C durante 49 días se muestran en las figuras 29 y 30.

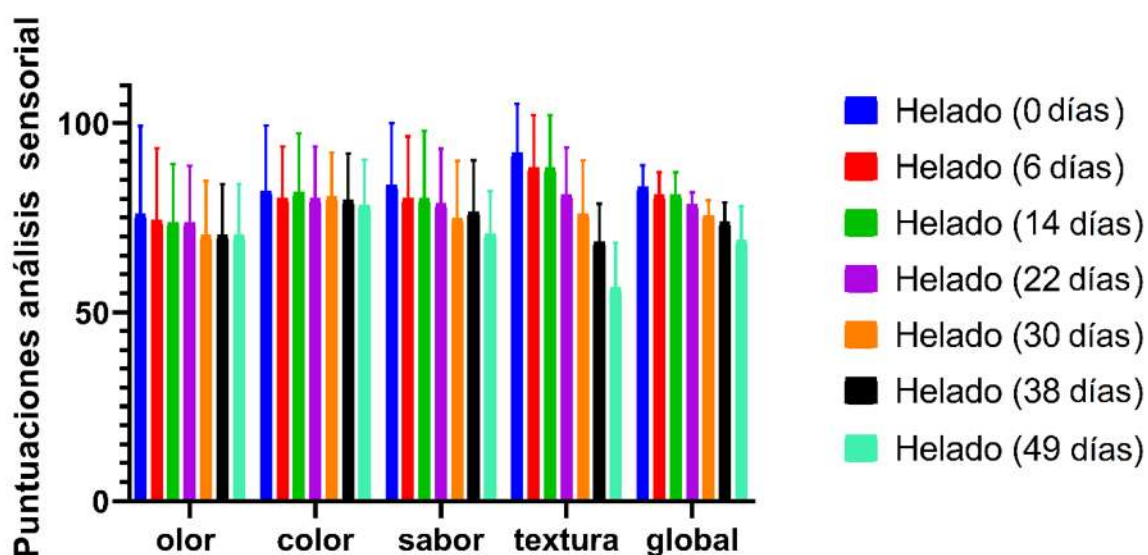


Figura 29. Evaluación sensorial hedónica del helado a -6°C

Para el análisis sensorial del helado almacenado a -6°C fue el que obtuvo una puntuación menos favorable del total global (69.0 ± 9.0) al final de los 49 días. El atributo del color fue el que resultó con una mejor puntuación (78.3 ± 12.1) y la textura obtuvo la menor puntuación (56.6 ± 11.8) al final de los 49 días, es entendible debido a la liberación del aire atrapado entre las moléculas de grasa y los aditivos del helado, se observó una disminución de su volumen en el contenedor.

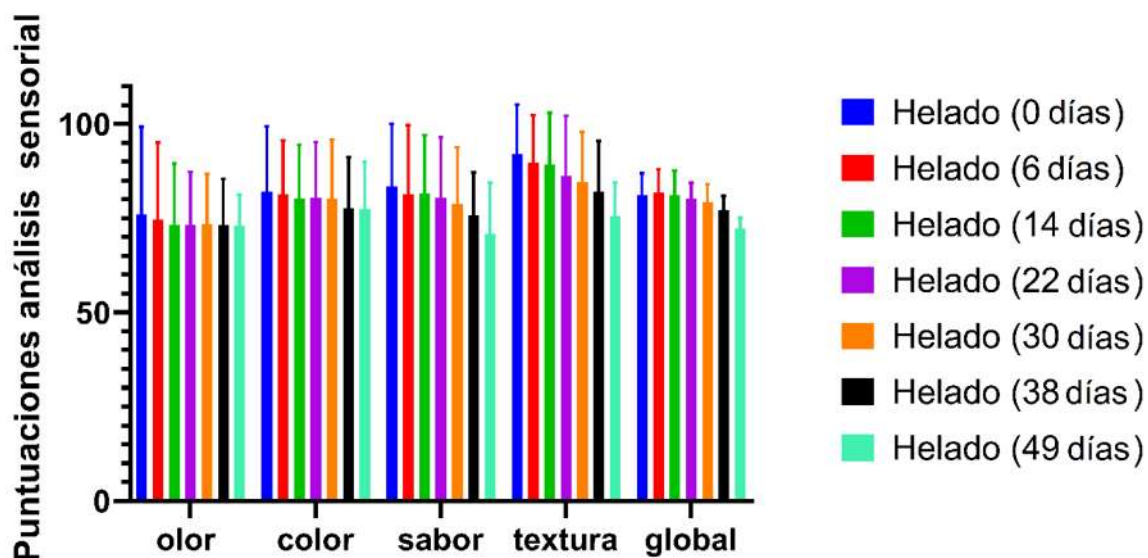


Figura 30. Evaluación hedónica del helado a -18 °C

Para el análisis sensorial del helado almacenado a -18 °C se registró una puntuación más favorable del total global (72.2 ± 2.9) en comparación con el helado almacenado a -6 °C, esto al final de los 49 días. El atributo del color fue el que resultó con una mejor puntuación (77.5 ± 12.5) y el de menor fue el sabor (70.8 ± 13.6), aunque se mantiene cercana a la puntuación de 75 = me gusta. El atributo de la textura obtuvo una puntuación de 75.5 ± 9.0 , superior a la registrada en el helado a -6 °C, se debió a una mejor preservación y captación del aire entre las moléculas de grasa, le da una textura más cremosa y agradable al paladar.

a) Cálculo del tiempo crítico

En la figura 31 inciso A y B se muestran las gráficas de dispersión de los datos obtenidos de los análisis sensoriales -6 y -18 °C. Datos tabulados obtenidos (véase Anexo 3).

Se hizo un ajuste al primer muestreo del 100 % asumiendo que existe subjetividad en la prueba hedónica, el día cero representa una máxima aceptación sensorial. Con un promedio de puntaje de 50 puntos equivalente a “ni me gusta ni me disgusta”

en el estudio del análisis sensorial se toma como un punto de corte y se calculó el tiempo crítico (Rondón *et al.*, 2004; Jiménez-Herrera, 2018). La correlación de Pearson fue de 18 °C y -6 °C fue de $r^2 = 0.904$ (-18°C) y $r^2 = 0.965$ (-6 °C).

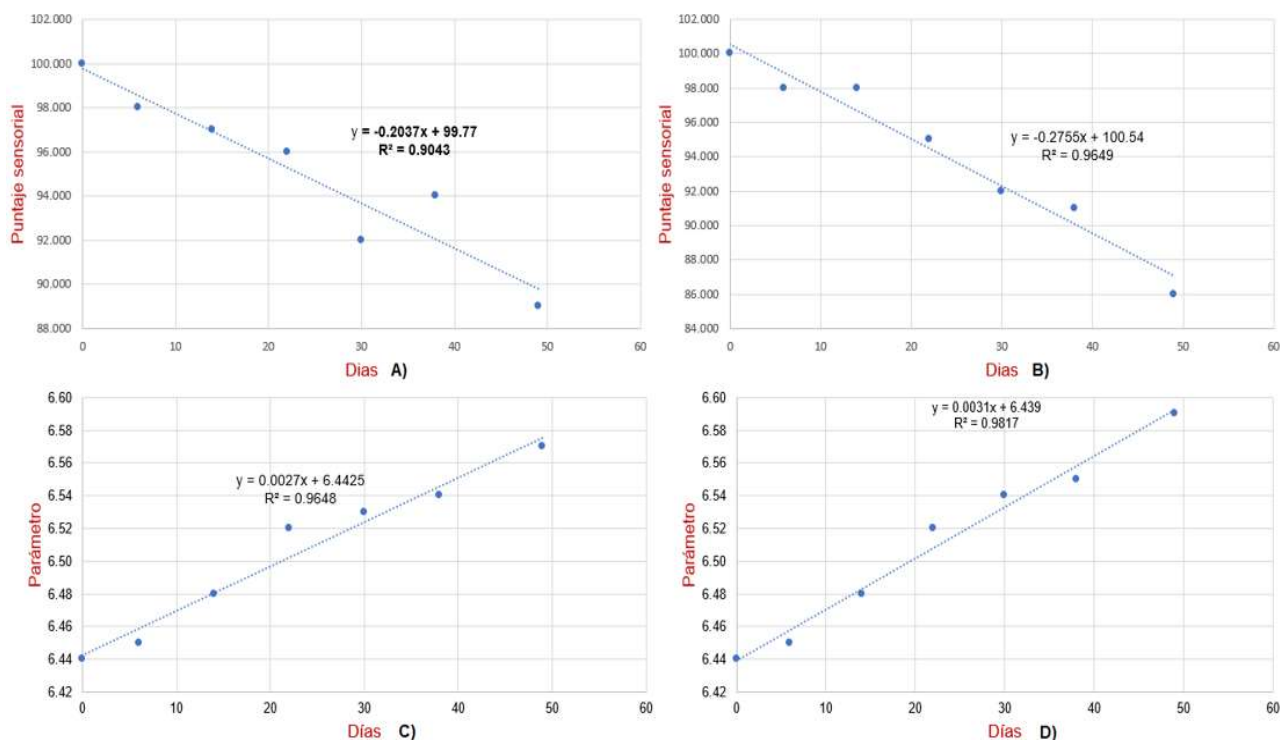


Figura 31. A) Gráfica de dispersión para los valores obtenidos del análisis sensorial a -18 °C, B) Gráfica de dispersión para los valores obtenidos del análisis sensorial a -6 °C, C) Gráfica de dispersión para los valores obtenidos del pH a -18 °C, D) Gráfica de dispersión para los valores obtenidos del pH a -6 °C.

Figura 31 inciso C y D se muestran los datos graficados obtenidos para el pH, se muestra una excelente correlación entre los días y el valor del pH. La correlación de Pearson fue de $r^2 = 0.965$ (-18 °C) y $r^2 = 0.982$ (-6 °C).

En la figura 32 inciso A y B se muestran los datos graficados obtenidos para la acidez, se muestra una excelente correlación para las pruebas de almacenamiento a -6°C. A -18 °C se obtuvo una $r^2 = 0.921$ y para -6 °C fue de $r^2 = 0.986$

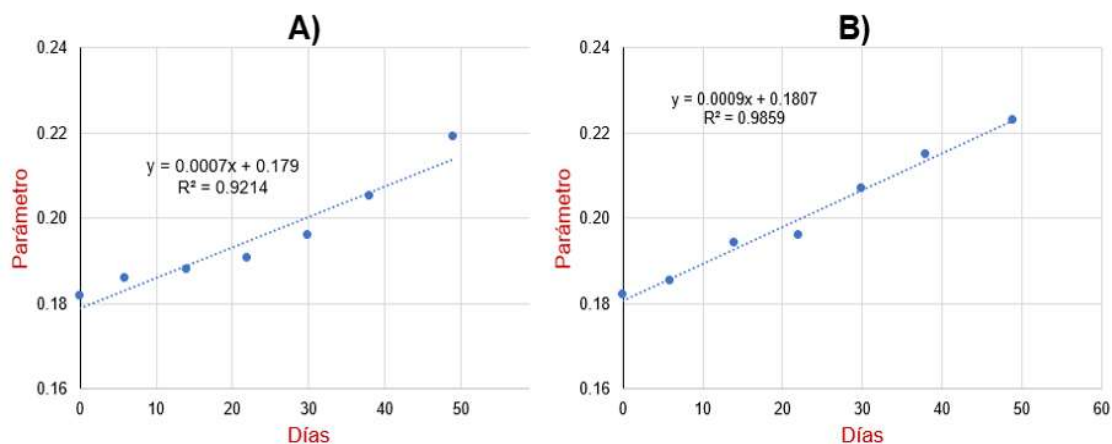


Figura 32. A) Gráfica de dispersión para los valores obtenidos de la acidez a - 18 °C. B) Gráfica de dispersión para los valores obtenidos de la acidez a -6 °C.

En la figura 33 se muestran los datos graficados obtenidos para el índice de peróxidos, se muestra una excelente correlación para el día de almacenamiento a -6 °C. El valor de Pearson fue de $r^2 = 0.985$. No se registró actividad de variación a temperatura de almacenamiento a -18 °C durante los 49 días de prueba.

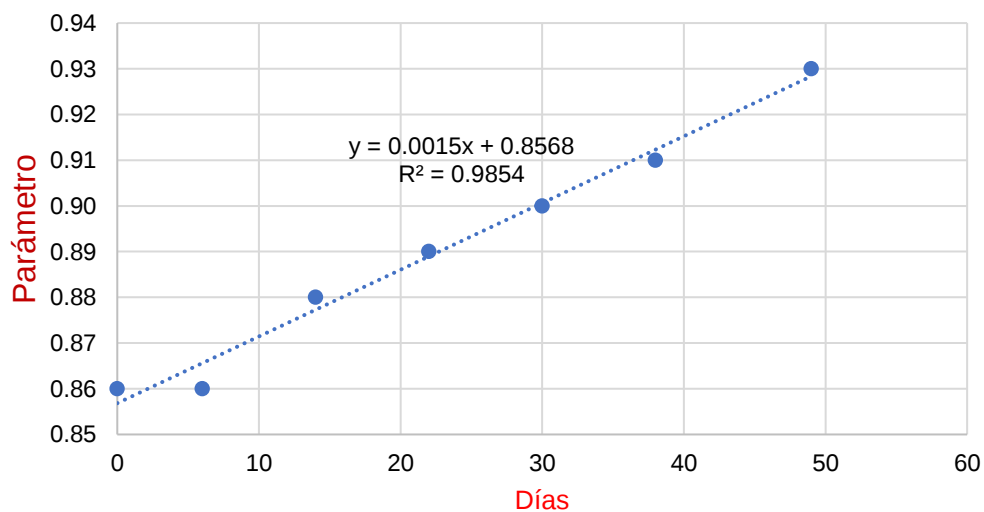


Figura 33. Gráfica de dispersión para los valores obtenidos del índice de peróxidos a -6°C.

b) Cálculo del tiempo por Q_{10}

Para determinar el tiempo real (Q_{10}) se traduce como los días de vida útil a determinadas temperaturas establecidas, se realizaron los cálculos correspondientes de acuerdo a la Ecuación 13, se obtiene el logaritmo de los días críticos del análisis sensorial, pH y acidez de acuerdo a su punto de corte (tabla 19). Se omitió el índice de peróxidos a -18°C debido a que no presentó variación durante el periodo de prueba.

Tabla 19. Cálculo de los logaritmos del tiempo crítico.

Temp. °C (sensorial)	θ Crítico Días	Log Tiempo Días
-18	244.34	2.3880
-6	183.5	2.2636
Temp. °C (pH)	θ Crítico Días	Log Tiempo Días
-18	205.03	2.3118
-6	179.5	2.2541
Temp. °C (acidez)	θ Crítico Días	Log Tiempo Días
-18	2849.09	3.4547
-6	2339.6	3.3691

Tabla 20. Resultados del Q₁₀ de los análisis sensorial y fisicoquímicos.

Temp. °C (Sensorial)	Log θ Días	Temp. °C (pH)	Log θ Días	Temp. °C (acidez)	Log θ Días
-18	2.3880	-18	2.3118	-18	3.4547
-6	2.2637	-6	2.2541	-6	3.3691
Pendiente	-0.0104	Pendiente	-0.0048	Pendiente	-0.0071
Intersección	2.2015	Intersección	2.2253	Intersección	3.3263
Temp. °C (Sensorial)	θ Real Días	Temp. °C (pH)	θ Real Días	Temp. °C (acidez)	θ Real Días
-18	244.3	-18	205	-18	2849
-15	227.5	-15	198.3	-15	2712.1
-13	216.9	-13	194	-13	2624.4
-10	201.9	-10	187.6	-10	2498.2
-8	192.5	-8	183.5	-8	2417.5
-6	183.5	-6	179.5	-6	2339.4
0	159	0	168	0	2119.8

Como se muestra en la tabla 20, los datos obtenidos para el análisis sensorial del Q₁₀ muestran una disminución de la vida de anaquel conforme aumenta su temperatura, el punto de corte fijado es de 50 puntos de escala hedónica, por lo que a una temperatura de almacenamiento de -18 °C aproximadamente tendría una vida útil de 244 días. El punto de corte del pH puede establecerse en 7, según Ramírez-Navas *et al.* (2015), se fija un pH de 7 como máximo para mantener un índice de calidad de un helado, esto debido a la actividad metabólica que pudieran generar bacterias psicrotrofas, por lo que llegan a alcalinizar el helado, es decir, que transcurridos 205 días se podría alcanzar un nivel de pH de 7 a -18 °C de almacenamiento. De acuerdo a los datos obtenidos para la acidez titulable (eq. de ácido láctico), el punto de corte es de 2.2 g/L ácido láctico, según Arbuckle (1986) fija este parámetro como un valor máximo para helados, conforme aumentaban los días aumentaba el nivel de acidez, por lo que al llegar a un máximo de 2.2 g/L ácido láctico se obtiene una vida de anaquel a -18 °C de 2,849 días, como lo menciona Arbuckle (1986) los rangos de acidez titulable de cada formulación de helado varían y no son exactos, debido a la adición de frutas, aditivos y condiciones de almacenamiento.

c) Correlación entre dos variables

La vida de anaquel se calcula con análisis sensoriales y microbiológicos, pero tienen una enorme desventaja debido al alto tiempo invertido y gasto económico, por lo que se propone realizar una correlación entre el análisis sensorial y los parámetros fisicoquímicos.

Tabla 21. Cálculo de la correlación del análisis sensorial y fisicoquímicos para la obtención de vida de anaquel a -6 °C.

Días	Sensorial (-6 °C) X	Acidez (-6 °C) Y	Peróxidos (-6 °C) Y
0	83	0.182	0.860
6	81	0.185	0.860
14	81	0.194	0.880
22	78	0.196	0.890
30	75	0.207	0.900
38	74	0.215	0.910
49	69	0.223	0.930
Correlación		-0.97	-0.97
Pendiente		-0.003	-0.005
Intersección		0.043	1.283
Sensorial		50	50
Fisicoquímicos			
Acidez		0.283	
Peróxidos			1.029
Vida anaquel		130.02	117.8

En la tabla 21 se muestran los cálculos de vida de anaquel mediante una regresión lineal a una temperatura de almacenamiento de -6 °C. Existe una marcada correlación entre el puntaje sensorial y los datos obtenidos de la acidez y el índice de peróxidos ($r = -0.97$) y ($r = -0.97$), al fijar un punto de corte de 50 puntos de escala sensorial obtenemos un punto de corte de la acidez de 0.283 y 1.029 para el índice de peróxidos, de esta manera se obtiene la vida de anaquel de un total de 130 días

para la acidez y 118 días para el índice de peróxidos. De esta manera se puede obtener la vida de anaquel empleando otras temperaturas como por ejemplo a -18 °C. En un futuro podrían requerirse más estudios se descartaría el análisis sensorial y directamente se podría calcular el índice de peróxidos o la acidez del helado.

12.1 RESULTADOS OBTENIDOS DE VIDA DE ANAQUEL

Los cálculos obtenidos de la vida de anaquel del helado con extractos de cáscara de *O. streptacantha* se muestran resumidos en la tabla 22, Ung-Min *et al.* (2018) propone elegir el parámetro de evaluación que generó el menor número de días calculados, en este caso sería el atributo del pH, a -18 °C con 6.8 meses y a -6 °C con 6 meses de duración. Ung-Min *et al.* (2018) calculó la vida de anaquel con el parámetro del pH con helados comerciales y registro una vida de anaquel de 2 años almacenados a -18°C y a -6°C de 2 meses.

Tabla 22. Resultados de la vida de anaquel del helado stevia con los extractos de *O. streptacantha*.

Temperatura °C	Predicción vida útil en días (sensorial)
-18	244.3 (8.1 meses)
-6	183.5 (6.1 meses)
Temperatura	Predicción vida útil en días (pH)
-18	205 (6.8 meses)
-6	179.5 (6 meses)
Temperatura	Predicción vida útil en días (acidez titulable)
-18	2849 (7.8 años)
-6	2339.4 (6.4 años)
Temperatura	Predicción vida útil en días (peróxidos)
-18	----
-6	666 (1.8 años)

MICROCOMPOSICIÓN ESTRUCTURAL DEL HELADO

En la figura 34, se aprecian las micrografías del HS con los extractos etanólicos añadidos al 1.5 %, obtenidas por microscopía electrónica de barrido. La figura 34 A) con un acercamiento de 100x, muestra las partículas globulares, podrían suponerse sean las mezclas entre proteínas y grasas, ya en el B) se aprecien de manera más definida formas globulares principalmente de grasas, en el C) pueden apreciarse estructuras más complejas de grasas y carbohidratos, aunque a un acercamiento a 1000x (D)), comienzan a visualizarse estructuras amorfas debido a la naturaleza de las uniones de proteínas y grasas.

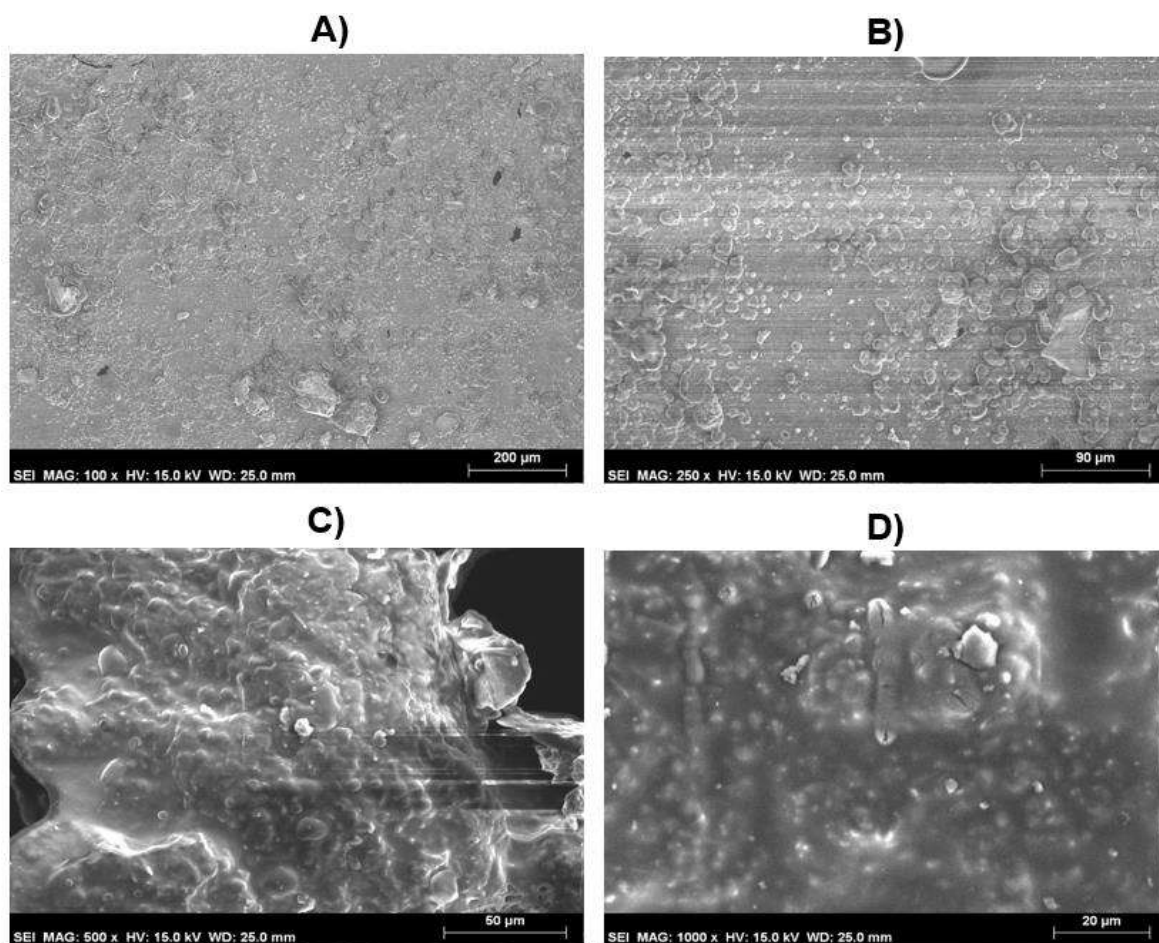


Figura 34. A) Micrografía a 100x, B) Micrografía a 250x, C) Micrografía a 500x, D) Micrografía a 1000x

VI. CONCLUSIONES

Los rendimientos de extracción de compuestos bioactivos como fenoles totales, flavonoides y betalaínas fueron mayores en el extracto etanólico de cáscara de tuna. Además, se registró una eficiente captación de los radicales $\text{NO}\cdot$ y $\text{O}_2\cdot$ en el extracto etanólico, pudiendo ser un buen candidato para ser adicionado a un alimento funcional tal como se propone en el presente trabajo, y así proveerle características antioxidantes. Por lo que se eligió el extracto etanólico para adicionarlo al helado funcional. Se logró formular un helado funcional reducido en carbohidratos totales, mediante el uso de estevia con el objetivo de mantener un producto con características saludables.

Se analizó la capacidad antioxidante del helado estevia logrando obtener una destacada captación de los radicales $\text{NO}\cdot$ y $\text{O}_2\cdot$ con un EC_{50} de 0.437 mg/mL y 0.592 mg/mL resaltando su alta capacidad de captar el $\text{NO}\cdot$ y $\text{O}_2\cdot$. Se consiguió una calificación hedónica global aceptable (me gusta), en el helado estevia con extractos, almacenado a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante los 49 días, no se observaron efectos negativos con la adición de los extractos. Se obtuvo una vida de anaquel de aproximadamente 6 meses en el helado almacenado a -18°C . En el análisis del extracto etanólico de *O. streptacantha* por Cromatografía de Gases, fue posible detectar compuestos fenólicos, polioles, fitoesteroles, ácidos grasos saturados e insaturados, destacan algunos por su acción benéfica a la salud como el probucol, un compuesto con actividad antioxidante, ácido hexadecanoico, un ácido graso con capacidad antioxidante y antiinflamatoria, 2-metoxi-4-vinilfenol, un fenol con propiedades anticancerígenas, antimicrobiano, antioxidante y antiinflamatorio.

Perspectivas:

Generar en una mejora y sustitutos en el helado para disminuir el porcentaje de grasas en el helado estevia, además de aplicar estudios *in vivo* en modelos biológicos y determinar el efecto benéfico del helado con extractos de la cáscara de la tuna *O. streptacantha*.

VII. REFERENCIAS

- Abou-Elella, F., & Ali, R. (2014). Antioxidant and Anticancer Activities of Different Constituents Extracted from Egyptian Prickly Pear Cactus (*Opuntia ficus-indica*) Peel. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 03(02), 1–9.
- Amalia, D., Huiza, M., Mamani, D. C., Stefany, K., & Nole, O. (2019). Comparación del proceso de secado de los residuos de cáscara de tuna y corona de piña. *Revista Ciencia y Tecnología UJCM*, 5(9), 4–9.
- Anzaldúa-Morales, A. (2005). *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica* (Reimpresión). Editorial Acribia, 214 pp.
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Association of Official Analytical Chemists (18th ed.). AOAC INTERNATIONAL.
- Aparicio-Fernández, X., Vega-Ahuatzin, A., Ochoa-Velasco, C., Cid-Pérez, S., Hernández-Carranza, P., & Ávila-Sosa, R. (2017). Physical and Antioxidant Characterization of Edible Films Added with Red Prickly Pear (*Opuntia ficus-indica* L.) cv. San Martín Peel and/or Its Aqueous Extracts. *Food and Bioprocess Technology*, 11(2), 368–379.
- Arbuckle, W. S. (1986). *Ice Cream* (3era ed.). AVI Publishing Company, 483 pp.
- Aruoma, O., & Halliwell, B. (1987). Action of hypochlorous acid on the antioxidant protective enzymes superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase. *The Biochemical Journal*, 248(3), 973–976.
- Avila-Nava, A., & Calderón-Oliver, M. (2014). Extract of cactus (*Opuntia ficus indica*) cladodes scavenges reactive oxygen species in vitro and enhances plasma antioxidant capacity. *Journal of Functional Foods*, 10, 13–24.
- Awonyemi, I., Abegunde, M. S., & Olabiran, T. E. (2020). Analysis of bioactive compounds from *Raphia taedigera* using gas chromatography–mass spectrometry. *Eurasian Chemical Communications*, 2(8), 938–944.
- Badui, S. (2012). *Química de los alimentos* (5ta ed.). Pearson Educación de México,

S.A. de C. V., 744 pp.

- Barreca, D., Gattuso, G., Bellocco, E., Calderaro, A., Trombetta, D., Smeriglio, A., Laganà, G., Daglia, M., Meneghini, S., & Nabavi, S. M. (2017). Flavanones: Citrus phytochemical with health-promoting properties. *BioFactors*, 43(4), 495–506.
- Barrera, F., Reynoso, C., & González de Mejía, E. (1998). Stability of betalains extracted from garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). *Food Science and Technology International*, 4, 115–120.
- Beijersbergen, G., Junginger, H. E., & de Vries, H. (1995). Hydrolysis of RRR- α -tocopheryl acetate (vitamin E acetate) in the skin and its UV protecting activity (an in vivo study with the rat). *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology*, 29(1), 45–51.
- Belhadj Slimen, I., Najar, T., & Abderrabba, M. (2017). Chemical and Antioxidant Properties of Betalains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(4), 675–689.
- Benkeblia, N. (2005). Free-radical scavenging capacity and antioxidant properties of some selected Onions (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(5), 753–759.
- Böger, B., Leal B, A., Lucchetta, L., & Porto P, E. (2019). Use of jabuticaba (*Plinia cauliflora*) skin in the processing of ice creams. *Revista Chilena de Nutrición*, 46(2), 154–159.
- Boudieb, K., Ait Slimane-Ait Kaki, S., & Amellal-Chibane, H. (2019). Effect of maturation degree on the fixed oil chemical composition, phenolic compounds, mineral nutrients and antioxidant properties of *Pistacia lentiscus* L. fruits. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(3), 836–847.
- Bravo-Hollis, H. (1978). *Las Cactáceas de México Volumen I* (2da ed.). Universidad Autónoma de México, 719 pp.
- Čanadanović-brunet, J. M., Savatović, S. S., Četković, G. S., Vulić, J. J., Djilas, S.

- M., Markov, S. L., & Cvetković, D. D. (2011). Antioxidant and Antimicrobial Activities of Beet Root Pomace Extracts. *Journal Food Science*, 29(6), 575–585.
- Castellar, M., Obon, J., & Fernández-López, J. (2006). The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin food colourant from *Opuntia stricta* fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 128(February), 122–128.
- Choo, W. S. (2018). Betalains: Application in Functional Foods. In J. Mérillon & K. Ramawat (Eds.), *Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry* (pp. 1–28). Springer, Cham.
- Chougui, N., Louaileche, H., Mohedeb, S., Mouloudj, Y., Hammoui, Y., & Tamendjari, A. (2013). Physico-chemical characterisation and antioxidant activity of some *Opuntia ficus-indica* varieties grown in North Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 12(3), 299–307.
- CONABIO. (2018). *Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB)*. <https://bioteca.biodiversidad.gob.mx/janium-bin/detalle.pl?Id=20210122063803>
- Consensus, D. S. C. of F. F. in E. (1999). Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document. *British Journal of Nutrition*, 81(4), S1–S27.
- Das, M., Saeid, A., & Hossain, M. (2019). Influence of extraction parameters and stability of betacyanins extracted from red amaranth during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 643–653.
- Deosarkar, S., Kalyankar, S., Pawshe, R., & Khedkar, C. (2016). Ice Cream: Composition and Health Effects. *Encyclopedia of Food and Health*, 385–390.
- Diep, T. T., Yoo, M. J. Y., Pook, C., Sadooghy-Saraby, S., Gite, A., & Rush, E. (2021). Volatile components and preliminary antibacterial activity of tamarillo (*Solanum betaceum cav.*). *Foods*, 10(9), 1–19.
- Domínguez-Soto, M. J., Román-Gutiérrez, A. D., Prieto-Garcia, F., & Acevedo-Sandoval, O. (2012). Sistema de Notación Munsell y CIELab como herramienta para evaluación de color en suelos * Munsell Notation System and CIELab as

- a tool for evaluation colors in soils Resumen Introducción Antecedentes. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(1), 141–155.
- Elbe, J. H. Von, & Schwartz, S. J. (1981). Absence of Mutagenic Activity and a Short-Term Toxicity Study of Beet Pigments as Food Colorants. *Archives of Toxicology*, 93–98.
- Fiol, C., Prado, D., Romero, C., Laburu, N., Mora, M., & Iñaki Alava, J. (2017). Introduction of a new family of ice creams. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 7, 5–10.
- Flores-Mancha, M., Rentería-Monterrubio, A., Sánchez-Vega, R., & Chávez-Martínez, A. (2019). Estructura y estabilidad de las Betalaínas. *Interciencia*, Vol.44(6), 318-325 pp.
- Francomano, F., Caruso, A., Barbarossa, A., Fazio, A., La Torre, C., Ceramella, J., Mallamaci, R., Saturnino, C., Iacopetta, D., & Sinicropi, M. (2019). β -Caryophyllene: A Sesquiterpene with Countless Biological Properties. *Applied Sciences*, 9(24), 5420.
- García-Cayuela, T., Gómez-Maqueo, A., Guajardo-Flores, D., Welti-Chanes, J., & Cano, P. (2019). Characterization and quantification of individual betalain and phenolic compounds in Mexican and Spanish prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L. Mill) tissues: A comparative study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 76, 1–13.
- García-Pérez, M.-E., Royer, M., Duque-fernandez, A., Diouf, P. N., Stevanovic, T., & Pouliot, R. (2010). Antioxidant, toxicological and antiproliferative properties of Canadian polyphenolic extracts on normal and psoriatic keratinocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 251–258.
- Gastélum, E., & Ayora, T. (2016). Fenoles y Polifenoles. In H. Espinosa, E. García, & E. Gastélum (Eds.), *Los Compuestos Bioactivos y Tecnologías de Extracción* (1era ed., p. 137). Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.

- Gremski, L. A., Coelho, A. L. K., Santos, J. S., Daguer, H., Molognoni, L., do Prado-Silva, L., Sant'Ana, A. S., da Silva Rocha, R., da Silva, M. C., Cruz, A. G., Azevedo, L., do Carmo, M. A. V., Wen, M., Zhang, L., & Granato, D. (2019). Antioxidants-rich ice cream containing herbal extracts and fructooligosaccharides: manufacture, functional and sensory properties. *Food Chemistry*, 298(April), 125098.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651–715.
- Haida, Z., & Hakiman, M. (2019). A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food Science & Nutrition*, 7(5), 1555–1563.
- Hameed, I. H., Ibraheam, I. A., & Kadhim, H. J. (2015). Gas chromatography mass spectrum and fouriertransform infrared spectroscopy analysis of methanolic extract of *Rosmarinus officinalis* leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 7(6), 90–106.
- Han, K., Kitano-okada, T., Seo, J., & Kim, S. (2015). Characterisation of anthocyanins and proanthocyanidins of adzuki bean extracts and their antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 14, 692–701.
- Hartsel, J. A., Eades, J., Hickory, B., & Makriyannis, A. (2016). Cannabis sativa and Hemp. In *Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity*. Elsevier Inc.
- Hernández-Carranza, P., Jattar-Santiago, K., Avila-Sosa, R., Pérez-Xochipa, I., Guerrero-Beltrán, J., Ochoa-Velasco, C., & Ruiz-López, I. (2019). Antioxidant fortification of yogurt with red cactus pear peel and its mucilage. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 824–833.
- Hernández-Carranza, P., Rivadeneyra, M., Ramos, M. E., Aparicio, X., Navarro, A. R., Ávila, R., & Ochoa, C. E. (2019). Characterization of red prickly pear peel (*Opuntia ficus-indica* L.) and its mucilage obtained by traditional and novel methodologies. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(2), 1111–1119.

- Hu, X., Shi, Y., Zhang, P., Miao, M., Zhang, T., & Jiang, B. (2016). d-Mannose: Properties, Production, and Applications: An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 773–785.
- Hussain, E. A., Sadiq, Z., & Zia-Ul-Haq, M. (2018). Betalains: Biomolecular Aspects. In *Betalains: Biomolecular Aspects*. Springer Cham, 187 pp.
- Hussein, H. J., Hadi, M. Y., & Hameed, I. H. (2016). Study of chemical composition of *Foeniculum vulgare* using Fourier transform infrared spectrophotometer and gas chromatography - mass spectrometry. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 8(3), 60–89.
- Izuegbuna, O., Otunola, G., & Bradley, G. (2019). Chemical composition, antioxidant, antiinflammatory, and cytotoxic activities of *Opuntia stricta* cladodes. *PLoS ONE*, 14(1), 1–27.
- Jacobo-Velázquez, J., & Santana-Gálvez, D. (2018). Classification of Phenolic Compounds. In L. Nollet & J. Gutierrez-Urbe (Eds.), *Phenolic Compounds in Food. Characterization and Analysis* (p. 415). Taylor & Francis Group.
- Jiménez-Herrera, A. (2018). *Determinación del factor Q para establecer la vida útil de un concentrado de fruto*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Jones, M. (2019). *Gas ChromatographyMass Spectrometry*. Jones American Chemical Society, USA, 4 pp.
- Kabir, M. R., Hasan, M. M., Islam, M. R., Haque, A. R., & Hasan, S. M. K. (2021). Formulation of yogurt with banana peel extracts to enhance storability and bioactive properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3).
- Kavitha, R. (2021). Phytochemical screening and gc-ms analysis of bioactive compounds present in ethanolic extracts of leaf and fruit of phytochemical screening and gc-ms analysis of bioactive compounds present in ethanolic extracts of leaf and fruit of trichosanthesis intro. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 12(5), 2755–2764.
- Khan, M. I. (2016). Stabilization of betalains: A review. *Food Chemistry*, 197, 1280–

1285.

- Kiesling, R., & Metzling, D. (2018). Origen y taxonomía de *Opuntia ficus-indica*. In P. Inglese, C. Jacobo, A. Nefzaoui, & C. Sáenz (Eds.), *Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal* (pp. 1–207). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y el Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas Roma.
- Kim, D. H., Han, S. I., Go, B., Oh, U. H., Kim, C. S., Jung, Y. H., Lee, J., & Kim, J. H. (2019). 2-Methoxy-4-vinylphenol attenuates migration of human pancreatic cancer cells via blockade of FAK and AKT signaling. *Anticancer Research*, 39(12), 6685–6691.
- Kim, J.-S. (2013). Preliminary Evaluation for Comparative Antioxidant Activity in the Water and Ethanol Extracts of Dried Citrus Fruit (Citrus unshiu) Peel Using Chemical and Biochemical in Vitro Assays. *Food and Nutrition Sciences*, 04(02), 177–188.
- Krantz, C., Monier, M., & Wahlström, B. (1979). Absorption, excretion, metabolism and cardiovascular effects of beetroot extract in the rat. *Food and Cosmetics Toxicology*, 18(4), 363–366.
- Kuti, J. O. (2004). Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chemistry*, 85(4), 527–533.
- Lafaurie, G. I., Calderón, J. L., Zaror, C., Millán, L. V., & Castillo, D. M. (2015). Ácido Hipocloroso: una Nueva Alternativa como Agente Antimicrobiano y para la Proliferación Celular para Uso en Odontología. *International Journal of Odontostomatology*, 9(3), 475–481.
- Lee, J. H., Jia, Y., Thach, T. T., Han, Y., Kim, B., Wu, C., Kim, Y., Seo, W. D., & Lee, S. J. (2017). Hexacosanol reduces plasma and hepatic cholesterol by activation of AMP-activated protein kinase and suppression of sterol regulatory element-binding protein-2 in HepG2 and C57BL/6J mice. *Nutrition Research*, 43, 89–99.
- Li, B., Smith, B., & Hossain, M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels I .

- Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48(2), 182–188.
- López-Alarcón, C., & Lissi, E. (2005). Interaction of pyrogallol red with peroxy radicals. A basis for a simple methodology for the evaluation of antioxidant capabilities. *Free Radical Research*, 39(7), 729–736.
- Mandal, P., & Ghosal, M. (2012). Research Article Antioxidant activities of different parts of tree tomato fruit. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 13(2), 39–47.
- Marina, D., Avella, G., Alberto, C., García, O., & Cisneros, A. M. (2008). *Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal*. 1–5.
- Martirosyan, D. M., & Singh, J. (2015). A new definition of functional food by FFC: What makes a new definition unique? *Functional Foods in Health and Disease*, 5(6), 209–223.
- Metrouh-Amir, H., Duarte, C., & Maiza, F. (2015). Solvent effect on total phenolic contents , antioxidant , and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. *Industrial Crops & Products*, 67, 249–256.
- Miguel, M. (2018). Betalains in Some Species of the Amaranthaceae Family: A Review. *Antioxidants*, 7(4), 53.
- Murkovic, M. (2016). Phenolic Compounds: Occurrence, Classes, and Analysis. In B. Caballero, P. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 346–351). Elsevier.
- Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., & Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 178, 687–704.
- Nielsen, S. (2010). *Food Analysis Laboratory Manual* (second edi). Springer, 177 pp.

- Nishikimi, M., Appaji Rao, N., & Yagi, K. (1972). The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 46(2), 849–854.
- Ochoa, M. J., & Barbera, G. (2018). Historia e importancia agroecológica y económica. In P. Inglese, C. Mondragon-Jacobo, A. Nefzaou, & C. Sáenz (Eds.), *Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal* (pp. 2–11). La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Ohue-Kitano, R., Taira, S., Watanabe, K., Masujima, Y., Kuboshima, T., Miyamoto, J., Nishitani, Y., Kawakami, H., Kuwahara, H., & Kimura, I. (2019). 3-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)propionic acid produced from 4-Hydroxy-3-methoxycinnamic acid by gut microbiota improves host metabolic condition in diet-induced obese mice. *Nutrients*, 11(5).
- Olumese, F., & Oboh, H. A. (2016). Effects of daily intake of beetroot juice on blood glucose and hormones in young healthy subjects. *Nigerian Quart. J. Hosp. Med.*, 26, 455–462.
- Panche, A., Diwan, A., & Chandra, S. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
- Patil, K., & Dagadkhair, A. (2019). Physicochemical characteristics and antioxidant potential of Opuntia fruit : A review. *The Pharma Innovation Journal 2019*, 8(6), 376–380.
- Pintor-Jardines, M., & Totosaus-Sánchez, A. (2013). Propiedades funcionales de sistemas lácteos congelados y su relación con la textura del helado: una revisión. *CienciaUAT*, 7(2), 56.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74.
- Prat, L., Franck, N., & Sudzuki, F. (2018). Morfología y anatomía de las *Platyopuntias*. In P. Inglese, C. Jacobo, A. Nefzaoui, & C. Sáenz (Eds.),

Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal (pp. 1–207). La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

- Ramírez-Navas, J., Rengifo-Velásquez, C., & Rubiano-Vargas, A. (2015). Parámetros de calidad en helados. *Revista Reciteia*, 15(1), 79–94.
- Rasool, F., Sharma, D., Anand, P., Magani, S., & Tantravahi, S. (2021). Evaluation of the Anticancer Properties of Geranyl Isovalerate, an Active Ingredient of *Argyrea nervosa* Extract in Colorectal Cancer Cells. *Frontiers in Pharmacology*, 12(September), 1–9.
- Roberfroid, M. (2011). Functional foods Concept to product. In M. Saarela (Ed.), *General issues with functional foods* (2da ed., p. 623). Woodhead Publishing Limited.
- Rondón, E., Pacheco, E., & Ortega, F. (2004). Estimación de la vida útil de un análogo comercial de mayonesa utilizando el factor de aceleración Q10. *Revista de La Facultad de Agronomía*, 21(1), 68–83.
- Royer, M., Diouf, P. N., & Stevanovic, T. (2011). Polyphenol contents and radical scavenging capacities of red maple (*Acer rubrum* L.) extracts. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 2180–2188.
- Rubab, M., Chelliah, R., Saravanakumar, K., Barathikannan, K., Wei, S., Kim, J. R., Yoo, D., Wang, M. H., & Oh, D. H. (2020). Bioactive potential of 2-methoxy-4-vinylphenol and benzofuran from *Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra (Red Cabbage) on oxidative and microbiological stability of beef meat. *Foods*, 9(5).
- Ruch, R. J., Cheng, S., & Klaunig, J. E. (1989). Prevention of Cytotoxicity and Inhibition of Intercellular Communication by Antioxidant Catechins Isolated from Chinese Green Tea. *Carcinogenesis*, 10(6), 1003–1008.
- Sadowska-Bartosz, I., & Bartosz, G. (2021). Biological properties and applications of betalains. *Molecules*, 26(9), 1–36.
- Sáenz, C., Horst, J., Corrales, L., García, G., Mondragón, C., Higuera, I., Rodríguez, A., Sepúlveda, E., & Varnero, T. (2006). *Utilización agroindustrial del nopal* (C.

- Rosell (ed.); 1era ed.). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 165 pp.
- Saha, S., & Verma, R. J. (2016). Antioxidant activity of polyphenolic extract of *Terminalia chebula* Retzius fruits. *Integrative Medicine Research*, 10(6), 805–812.
- Salvador-Reyes, R., Sotelo-Herrera, M., & Paucar-Menacho, L. (2014). Estudio de la Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud Study of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) as a natural sweetener and its use in benefit of the health. *Scientia Agropecuaria*, 5(3), 157–163.
- Samakradhamrongthai, R., Khawsud, A., Aumpa, P., Jungsi, M., Jannu, T., & Nortuy, N. (2020). Effect of black pepper (*Piper nigrum*) and cinnamon (*Cinnamomum verum*) on properties of reduced-fat milk-based ice cream. *Food and Applied Bioscience Journal*, 8(2), 53–67.
- Sánchez, M., Marcela, G., Gómez, S., Nova, E., & Ramos, E. (2010). Alimentos Funcionales. In Á. Gil & M. Ruiz (Eds.), *Tratado de Nutrición Tomo 2. Composición y calidad nutritiva de los alimentos* (2da ed., p. 787). Médica Panamericana.
- Sandoval, G., & Villanueva-Rodriguez, J. (2018). Analisis methods. In L. Nollet & J. Gutierrez-Urbe (Eds.), *Phenolic Compounds in Food. Characterization and Analysis* (pp. 61–74). Taylor & Francis Group.
- Santos-Díaz, M., Barba De La Rosa, A., Héliès-Toussaint, C., Guéraud, F., & Nègre-Salvayre, A. (2017). Opuntia spp.: Characterization and Benefits in Chronic Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Saravanakumar, A., Ganesh, M., Peng, M. M., Aziz, A. S., & Jang, H. T. (2015). Comparative antioxidant and antimycobacterial activities of *Opuntia ficus-indica* fruit extracts from summer and rainy seasons. *Frontiers in Life Science*, 8(2), 182–191.

- Scheinvar, L., Olalde, G., Gaytan, A., Martínez, C., Olvera, D., Mena, M., Gutierrez, A., Martinez, C., Matias, E., Gómez, A., Ortiz, R., Ordoñez, D., Morales, V., Aguilar, M., & Gallegos, C. (2009). *Diversidad de los nopales silvestres Mexicanos géneros Opuntia y Nopalea (Cactaceae)* [GE-005 (CONABIO X IB-UNAM).].
- Singla, K., Kaur, K., Sharma, A., Dhingra, S., & Singal, P. (2007). Probucol promotes endogenous antioxidant reserve and confers protection against reperfusion injury. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 85(3–4), 439–443.
- Smirnoff, N., & Cumbes, J. Q. (1989). Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Compatible Solutes. *Phytochemistry*, 28(4), 1057–1060.
- Sreejayan, R. M. N. (1997). Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 49(1), 105–107.
- Stintzing, F., Herbach, K., Mosshammer, M., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh, C., Bunch, R., & Felker, P. (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 442–451.
- Sudha, T., Chidambarampillai, S., & Mohan, V. R. (2013). GC-MS analysis of bioactive components of aerial parts of *Fluggea leucopyrus* willd. (Euphorbiaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(5), 126–130.
- Suleria, H. A. R., Barrow, C. J., & Dunshea, F. R. (2020). Screening and characterization of phenolic compounds and their antioxidant capacity in different fruit peels. *Foods*, 9(9).
- Swarna, J., Lokeswari, T., Smita, M., & Ravindhran, R. (2013). Characterisation and determination of in vitro antioxidant potential of betalains from *Talinum triangulare* (Jacq .) Willd . *Food Chemistry*, 141(4), 4382–4390.
- Taira, J., Tsuchida, E., Katoh, M. C., Uehara, M., & Ogi, T. (2015). Antioxidant capacity of betacyanins as radical scavengers for peroxy radical and nitric oxide. *Food Chemistry*, 166, 531–536.

- Tripathi, N., Kumar, S., Singh, R., Singh, C. J., Singh, P., & Varshney, V. K. (2013). Isolation and Identification of γ -Sitosterol by GC-MS from the Leaves of *Girardinia heterophylla* (Decne). *Open Bioactive Compounds Journal*, 4(199), 25–27.
- Ung-Min, P., Koh, J.-H., & Jin-Man, K. (2018). Predicting Shelf-life of Ice Cream by Accelerated Conditions Running title : Predicting Shelf-life of Ice Cream. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(6), 1216–1225.
- USDA. (2019). *U.S. Department of Agriculture*. <https://fdc.nal.usda.gov/index.html>
- Varshaa, K. K., Devendra, L., Shilpa, G., Priya, S., Pandey, A., & Nampoothiri, K. (2015). 2,4-Di-tert-butyl phenol as the antifungal, antioxidant bioactive purified from a newly isolated *Lactococcus* sp. *International Journal of Food Microbiology*, 211, 44–50.
- Venkatachalam, M., Singaravelu, G., Govindaraju, K., & Ahn, J. S. (2013). PTP 1B inhibitory action of a phytochemical propanoic acid, 2-(3-acetoxy-4,4,14-trimethylandro-8-en-17-yl). *Current Science*, 105(6), 827–831.
- Villabona-Ortiz, Á., Cristina-Paz, I., & Martínez-García, J. (2013). Caracterización de *Opuntia ficus-indica* para coagulante natural. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XV(1), 137–144.
- Vuolo, M., Lima, V., & Maróstica, M. (2019). Phenolic Compounds. In M. Segura (Ed.), *Bioactive Compounds* (pp. 33–50). Elsevier.
- Wright, M., Lee, C., Sarah, M., Arnold, J., Shalom, J., White, A., Greene, A. C., Cock, I. E., Wright, M. H., Lee, C. J., Sarah, M., Arnold, J., Shalom, J., White, A., & Greene, C. (2017). GC-MS analysis of *Tasmannia lanceolata* Extracts which Inhibit the Growth of the Pathogenic Bacterium *Clostridium perfringens* GC-MS analysis of *Tasmannia lanceolata* extracts which inhibit the growth of the pathogenic bacterium *Clostridium perfringens*. *Pharmacognosy Journal*, 9(5), 626–637.
- Wybraniec, S. (2005). Formation of decarboxylated betacyanins in heated purified

- betacyanin fractions from red beet root (*Beta vulgaris* L.) monitored by LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3483–3487.
- Yamashita, S., Bujo, H., Arai, H., Harada-Shiba, M., Matsui, S., Fukushima, M., Saito, Y., Kita, T., & Matsuzawa, Y. (2008). Long-term probucol treatment prevents secondary cardiovascular events: A cohort study of patients with heterozygous familial hypercholesterolemia in Japan. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 15(6), 292–303.
- Yang, Y., Hu, C., Zhong, H., Xi Chen, R. C., & Kit L, Y. (2016). Effects of Ultraviolet (UV) on Degradation of Irgafos 168 and Migration of Its Degradation Products from Polypropylene Film. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(41), 7866–7873.
- Yeddes, N., Cherif, J., Guyot, S., Sotin, H., & Ayadi, M. (2013). *Comparative Study of Antioxidant Power, Polyphenols, Flavonoids and Betacyanins of the Peel and Pulp of Three Tunisian Opuntia Forms*. 37–51.
- Zeghad, N., Ahmed, E., Belkhiri, A., Heyden, Y. Vander, & Demeyer, K. (2019). Antioxidant activity of *Vitis vinifera*, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* and *Opuntia ficus indica* fruits cultivated in Algeria. *Heliyon*, 5(4), e01575.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559.
- Zourgui, N., Hfaiedh, M., Brahmi, D., Affi, W., Gharsallah, N., Zourgui, L., & Amri, M. (2020). Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of *Opuntia streptacantha* fruit skin. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(5), 2721–2733.

1. ANEXOS



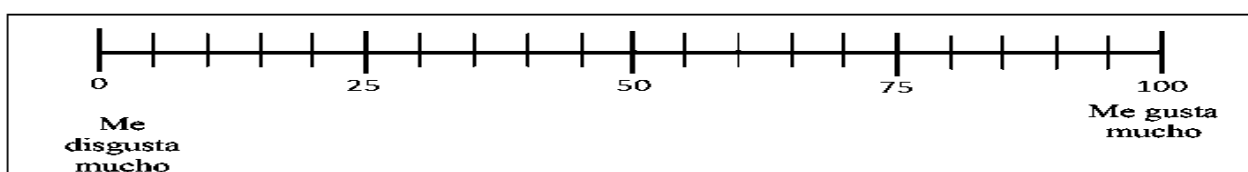
Producto: **HELADO DE FRESA.**



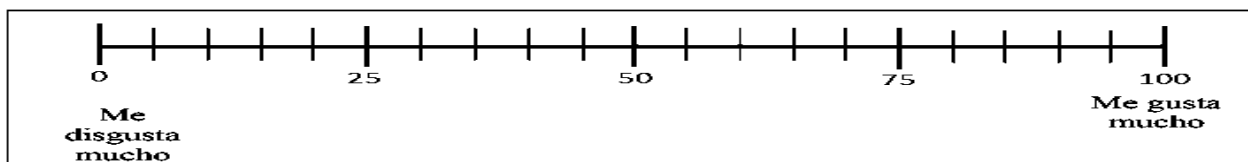
Pruebe la muestra de helado que se te presenta, e indique, según la escala del 0 al 100 su opinión sobre ella con respecto al **COLOR, SABOR, OLOR y TEXTURA**.

Marque con una **X** que corresponda a la calificación de la muestra de helado de acuerdo a su criterio. Escala de puntaje: 0= me disgusta mucho; 25 = me disgusta; 50= ni me gusta ni me disgusta; 75= me gusta; 100= me gusta mucho.

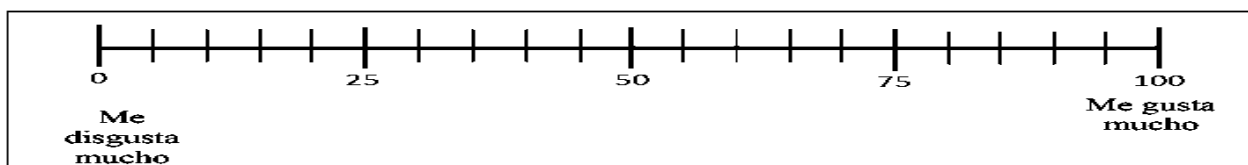
Color



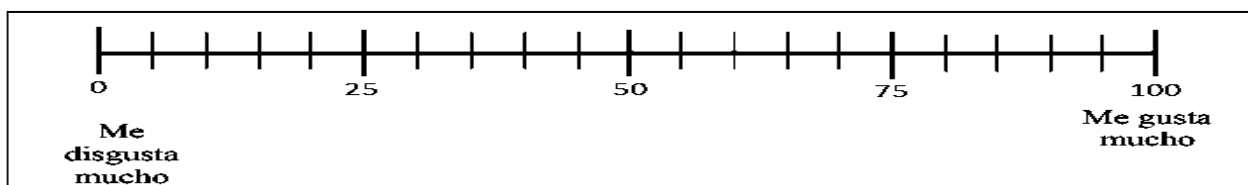
Sabor



Olor



Textura



ANEXO 2

Table Analyzed	Data 1
Column B	Helado -18°C (0 dias) Sin extractos
vs.	vs.
Column A	Helado -18°C (0 dias) Con extractos

Paired t test

P value	.258
P value summary	ns
Significantly different ($P < 0.05$)?	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=1.317, df=4
Number of pairs	5

How big is the difference?

Mean of differences	0.8400
SD of differences	1.426
SEM of differences	0.6377
95% confidence interval	-0.9304 to 2.610
R squared (partial eta squared)	0.3026

ANEXO 3

Cálculo del tiempo crítico con el análisis sensorial del helado a -6 y -18°C.

Días X (-18 °C)	Parámetro Y	Días X (-6°C)	Parámetro Y
0	100.000	0	100.000
6	98.000	6	98.000
14	97.000	14	98.000
22	96.000	22	95.000
30	92.000	30	92.000
38	94.000	38	91.000
49	89.000	49	86.000
Pendiente	-0.2037	Pendiente	-0.2755
Intersección	99.7696	Intersección	100.5424
Correlación	-0.9509	Correlación	-0.9823
Parámetro	Tiempo	Parámetro	Tiempo
50	244.34	50	183.49

Cálculo del tiempo crítico del pH a -6 y -18°C.

Días X (-18 °C)	Parámetro Y	Días X (-6°C)	Parámetro Y
0	6.440	0	
6	6.450	6	
14	6.480	14	
22	6.520	22	
30	6.530	30	
38	6.540	38	
49	6.570	49	
Pendiente	0.0027	Pendiente	0.0031
Intersección	6.4425	Intersección	6.4390
Correlación	0.9822	Correlación	0.9908
Parámetro	Tiempo	Parámetro	Tiempo
7	205.03	7	179.50

Cálculo del tiempo crítico de acidez a -6 y -18°C

Días X (-18 °C)	Parámetro Y	Días X (-6°C)	Parámetro Y
0	0.182	0	0.182
6	0.186	6	0.185
14	0.188	14	0.194
22	0.191	22	0.196
30	0.196	30	0.207
38	0.205	38	0.215
49	0.219	49	0.223
Pendiente	0.0007	Pendiente	0.0009
Intersección	0.1790	Intersección	0.1807
Correlación	0.9599	Correlación	0.9929
Parámetro	Tiempo	Parámetro	Tiempo
2.2	2849.09	2.2	2339.60

Cálculo del tiempo crítico de peróxidos a -6°C

Días X (-6 °C)	Parámetro Y
0	0.860
6	0.860
14	0.880
22	0.890
30	0.900
38	0.910
49	0.930
Pendiente	0.0015
Intersección	0.8568
Correlación	0.9927
Parámetro	Tiempo
1.83	666.59

