

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA**

**“ENCAPSULACIÓN DE JUGO DE PITAYA (*Stenocereus stellatus*)
EMPLEANDO MEZCLAS DE POLISACÁRIDOS Y PROTEÍNA COMO
MATERIALES DE PARED: OPTIMIZACIÓN DE FACTORES Y
PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS”**

POR:

I.I.A. MARÍA AURORA SOTO DAGNINO

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAestrÍA EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

DICIEMBRE DE 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Chihuahua, Chih., a 4 de diciembre 2020.
Oficio: 70/CA/SIP/20

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Chihuahua
Presente:

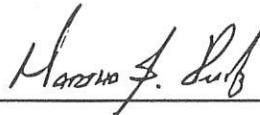
Los integrantes del comité, informamos a Usted que efectuamos la revisión de la tesis intitulada: **"Encapsulación de jugo de pitaya (*Stenocereus stellatus*) empleando mezclas de polisacáridos y proteína como materiales de pared: Optimización de factores y propiedades fisicoquímicas"**, presentada por la **Ing. María Aurora Soto Dagnino**, alumna del programa de Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Después de la revisión, indicamos a la tesista las correcciones que eran necesarias efectuar y habiéndolas realizado, manifestamos que la tesis, de la cual adjuntamos un ejemplar, ha cumplido con los objetivos señalados por el Comité de Tesis, por lo que puede ser considerada como adecuada para que se proceda con los trámites para la presentación de su Examen de Grado.

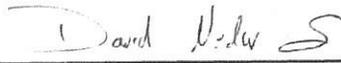
Atentamente
"Por la ciencia para bien del hombre"



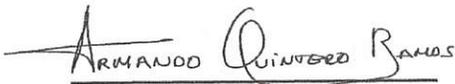
Dr. Erick Heredia Olea
Co-Director de tesis



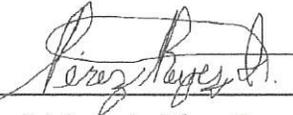
Dra. Martha Graciela Ruiz Gutiérrez
Asesora de tesis



Dr. David Neder Suárez
Asesor de tesis



Dr. Armando Quintero Ramos
Director de tesis



Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado

***El que suscribe certifica que las firmas que aparecen en esta acta, son auténticas, y las mismas que utilizan los C. Profesores mencionados.



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Circuito Universitario
Campus Universitario #2 C.P. 31125
Tel. +52 (614) 236 6000
Chihuahua, Chihuahua, México
<http://www.fcq.uach.mx>



AGRADECIMIENTOS

Dios gracias, por su bondad y su gracia para conmigo, por brindarme salud y por ser mi fortaleza en momentos difíciles.

A mi familia, padres y hermanas, por apoyarme en mis metas profesionales y siempre tener una palabra de aliento, aún en la distancia.

A mi director de tesis, Dr. Armando Quintero Ramos, por su confianza depositada en mí para el desarrollo de este trabajo. Por sus consejos, enseñanzas, apoyo incondicional y, sobre todo, por jamás limitarse en enriquecer mis conocimientos.

Al Dr. Erick Heredia Olea, por su apoyo en las actividades realizadas y por su disposición a ayudarme cualquiera que fuera la situación.

Al Dr. Miguel Sánchez, al Dr. David Neder, a la Dra. Martha Ruiz y al Mtro. Ricardo Talamás, gracias por su apoyo y los consejos brindados.

A mis compañeros de laboratorio: Mike, Neder, Danger, Aztrid gracias por su ayuda y todos los buenos momentos. Siempre podrán encontrar una amiga en mí.

Agradezco profundamente a mis amigas, Cielo y Maddy, no pude haber tenido mejores compañeras. Gracias por todas las aventuras, sin duda alguna, hoy puedo llamarlas “hermanas”.

A todas las personas que, de una u otra forma, hicieron de Chihuahua un hogar, muchísimas gracias.

A la Facultad de Ciencias Químicas por permitir el desarrollo de esta investigación, a mis maestros y a todo el personal que siempre estuvo dispuesto a ayudar.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por su apoyo a través de la beca otorgada durante el programa de posgrado.



DEDICATORIAS

En primer lugar, a Dios, porque siempre ha sido Él quien me ha sostenido y quien ha guiado mis pasos, dándome la fortaleza para salir adelante y para alcanzar mis propósitos. “Gracias Padre” por tu buena y perfecta voluntad, que siempre seas Tú en mi vida.

A mis padres: Francisco y Nachita, ustedes siempre han sido quienes me han impulsado a ser mejor persona en todos los sentidos. Gracias por su amor, sus consejos, su apoyo, por ustedes soy quien soy hoy en día. Dios me conceda tenerlos en mi vida por mucho tiempo más.

A mis hermanas: Susi y Anakaren, gracias por ser mis amigas, por su apoyo y su amor incondicional a pesar de la distancia. Las amo, con todo mi corazón y estoy orgullosa de ustedes, realmente son un ejemplo para mí.

A mis sobrinos: Héctor, Ana Victoria y Frida siempre buscaré por su bien, espero ser la mejor tía del mundo, su confidente y alguien en quien siempre puedan confiar. Gracias por su amor y por recibirme con los brazos abiertos en sus hogares.

A mis abuelos: Ramón, Ignacia, Matías y María Luz, sé que están orgullosos de mí y su amor me acompaña siempre en mi corazón. Los extraño, gracias por todo.

A mi familia, tíos y tías, primos y primas, estoy orgullosa de tener una familia como la nuestra que sigue unida a pesar de las adversidades. Gracias por siempre demostrarme su apoyo en diferentes maneras, por confiar en mí y por todo su amor.

A mi compañero, Everardo, gracias infinitas por tu amor, tu paciencia, por ser mi mayor admirador y por siempre hacerme sentir capaz de superar cualquier obstáculo. Te amo.

A mi fiel amigo, Bruce. Gracias por ser mi compañía, por recibirme con alegría al llegar a casa y dispuesto a darme tu desmedido amor. Siempre te recordaré.



ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
ÍNDICE	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ABREVIATURAS	ix
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xiii
I. INTRODUCCIÓN	15
II. ANTECEDENTES	18
2.1 Situación actual del empleo de colorantes artificiales en alimentos y su sustitución por pigmentos naturales	18
2.2 El fruto de pitaya como fuente de pigmentos naturales	19
2.3 Betalaínas	21
2.3.1 Generalidades de las betalaínas	21
2.3.2 Aplicaciones de las betalaínas como colorantes en alimentos	22
2.3.3 Fuentes vegetales de betalaínas	23
2.3.4 Propiedades biológicas de las betalaínas	24
2.3.5 Factores que afectan la estabilidad de las betalaínas	25
2.3.6 Estabilización de betalaínas	28
2.4 Secado por aspersión para la encapsulación de compuestos bioactivos	29
2.4.1 Descripción operacional del secado por aspersión	30
2.4.2 Efecto de los parámetros del proceso en polvos encapsulados de jugos de frutas	31
2.4.3 Influencia del agente acarreador en el proceso de secado por aspersión	33
2.4.4 Empleo de mezclas de polisacáridos y proteína como agentes acarreadores en la encapsulación de betalaínas mediante secado por aspersión	35
III. JUSTIFICACIÓN	37
IV. HIPÓTESIS	39



V. OBJETIVOS	40
5.1 Objetivo general.....	40
5.2 Objetivos particulares	40
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	41
6.1 Materiales	41
6.1.1 Obtención y caracterización de materia prima.....	41
6.1.2 Químicos y reactivos	41
6.2 Métodos	42
6.2.1 Preparación de las mezclas de jugo de pitaya y materiales de pared	42
6.2.2 Secado por aspersión.....	42
6.2.3 Caracterización fisicoquímica de los encapsulados de pitaya	43
6.2.3.1 Análisis físicos	43
6.2.3.2 Microscopía electrónica de barrido.....	46
6.2.3.3 Análisis químicos.....	46
6.2.3.4 Diseño experimental.....	50
6.2.3.5 Verificación experimental.....	52
VII. RESULTADOS Y DISCUSION	53
7.1 Caracterización fisicoquímica del jugo de pitaya	53
7.2 Propiedades físicas de los encapsulados de jugo de pitaya.....	54
7.2.1 Contenido de humedad	57
7.2.2 Actividad de agua	59
7.2.3 Densidad aparente	60
7.2.4 Higroscopicidad	62
7.2.5 Índice de solubilidad en agua (ISA) e índice de absorción de agua (IAA)	63
7.2.6 Temperatura de transición vítrea.....	66
7.3 Parámetros de color de los encapsulados de pitaya	67
7.4 Propiedades morfológicas de los encapsulados de pitaya por microscopía electrónica de barrido	75
7.5 Propiedades químicas de los encapsulados de pitaya	78
7.5.2 Actividad antioxidante.....	84
7.5.3 Flavonoides individuales.....	86



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

7.5.4 Betalaínas totales	88
7.6 Análisis cromatográfico de betalaínas individuales.....	91
7.7 Optimización de las proporciones en las mezclas	96
7.8 Verificación experimental.....	97
VIII. CONCLUSIÓN	100
IX. BIBLIOGRAFÍA	102
X. APÉNDICES	124
Anexo 1: Barrido para determinar la absorbancia de betacianinas y betaxantinas por espectrofotómetro.....	124
Anexo 2: Curvas de calibración	124
Anexo 3: Determinación de los puntos máximos y mínimos de las propiedades fisicoquímicas de los encapsulados de pitaya	127



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Pág.
1	Componentes de las mezclas ^a de agentes acarreadores preparadas acorde al diseño de mezclas D-optimal	51
2	Propiedades fisicoquímicas del jugo de pitaya (<i>Stenocereus stellatus</i>).....	53
3	Propiedades físicas de los encapsulados de pitaya (<i>Stenocereus stellatus</i>) con diferentes proporciones de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.....	55
4	Análisis de varianza de las propiedades físicas de los encapsulados de pitaya (<i>Stenocereus stellatus</i>) con diferentes proporciones de fructanos, proteína de suero de leche y almidón OSA como materiales de pared.....	56
5	Coefficientes de regresión del modelo polinomial ajustado para las propiedades físicas de los encapsulados de pitaya.....	56
6	Parámetros de color de los encapsulados de pitaya producidos con diferentes proporciones de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.....	69
7	Análisis de varianza de los parámetros de color de los encapsulados de pitaya con diferentes proporciones de fructanos, proteína y almidón OSA como materiales de pared.....	70
8	Coefficientes de regresión del modelo polinomial ajustado para las propiedades de color de los encapsulados de pitaya.....	70
9	Propiedades químicas de los polvos de pitaya encapsulados con diferentes proporciones de fructanos, proteína y almidón OSA como materiales de pared.....	79
10	Análisis de varianza de las propiedades químicas de los polvos de pitaya encapsulados con diferentes proporciones de fructanos, proteína y almidón OSA como materiales de pared	80
11	Coefficientes de regresión del modelo polinomial ajustado para las propiedades químicas de los encapsulados de pitaya.....	80
12	Coefficientes de correlación para el contenido de betalaínas y de polifenoles con la actividad antioxidante de los encapsulados de pitaya.....	90
13	Retención de betalaínas en polvos de pitaya encapsulados mediante mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.....	93
14	Análisis de varianza de los porcentajes de retención de betalaínas en los polvos de pitaya encapsulados con diferentes proporciones de fructanos, proteína y almidón OSA como materiales de pared.....	93
15	Estimación del error relativo entre los valores de predicción y los valores experimentales de las propiedades fisicoquímicas de los encapsulados de pitaya obtenidos con la mezcla óptima de	98



	fructanos, proteína y almidón OSA.....	
16	Análisis de cordilleras para la estimación de los puntos críticos del modelo.	127

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.		Pág.
1	Pitaya (<i>Stenocereus stellatus</i>).....	20
2	Estructura química de las betacianinas y betaxantinas (Rodríguez-Amaya, 2019).....	22
3	Factores que afectan la estabilidad de las betalaínas (Khan 2016).....	26
4	Diagrama del proceso de secado por aspersion (Shishir y Chen, 2017).....	31
5	Superficie de respuesta mostrando el efecto de los distintos materiales de pared en el contenido de humedad (a) y la actividad de agua (b) de los encapsulados de pitaya.....	58
6	Superficie de respuesta mostrando el efecto de los distintos materiales de pared en la densidad aparente (a) e higroscopicidad (b) de los encapsulados de pitaya.....	61
7	Superficie de respuesta mostrando el efecto de los distintos materiales de pared en el ISA (a), el IAA (b) y la Tg (c) de los encapsulados de pitaya.....	65
8	Polvos encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína y almidón OSA en diferentes proporciones. A) 50F-39.7P-10.3A, B) 0F-10P-90A, C) 0F-50P-50A, D) 43.6F-10P-46.4A, E) 0F-90P-10A, F) 24.7F-65.3P-10A, G) 15.7F-22.4P-61.9A, H) 3.3F-68.4P-28.3A, I) 27.5F-37.8P-34.7A, J) 49.3F-23.2P-27.5, K) 0F-24.9P-75.1A.....	68
9	Superficies de respuesta de los parámetros de color de los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared L^* (a), a^* (b), b^* (c).	72
10	Superficies de respuesta de los parámetros de color de los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared Cromat (a), ° Hue (b), Diferencia total de color (c).....	73
11	Microscopía electrónica de barrido de los polvos de pitaya encapsulados con diferentes proporciones de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared. (A), 100 F; (B), 100 P; (C), 100 A; (D), 50F-39.7P-10.3A; (E), 0F-10P-90A; (F), 0F-50P-50A; (G), 43.6F-10P-46.4A; (H), 0F-90P-10A; (I), 24.7F-65.3P-10A; (J), 15.7F-22.4P-61.9A; (K), 3.3F-68.4P-28.3A; (L), 27.5F-37.8P-34.7A; (M), 49.3F-23.2P-27.5A; (N), 0F-24.9P-75.1A.....	77



12	Superficie de respuesta del contenido de polifenoles de los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared	81
13	Superficie de respuesta de la actividad antioxidante de los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared	85
14	Superficies de respuesta del contenido de isorhamnetina (a), kaempferol (b) y quercetina (c) en los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.....	87
15	Superficie de respuesta del contenido de betalaínas en los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared	89
16	Perfil de HPLC de betalaínas de la pulpa de <i>Stenocereus Prinosus</i> (SpO) a 530 nm (A) y 480 nm (B).....	91
17	Cromatogramas para la detección de betalaínas por HPLC en encapsulados de jugo de pitaya a 481 nm (A) y 536 nm (B).....	92
18	Superficie de respuesta de la retención de betacianinas (A) y betaxantinas (B) en los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.	94
19	Gráfico de contorno de sobreposición que muestra las proporciones óptimas de los materiales de pared para la encapsulación de jugo de pitaya.....	97
20	Barrido para determinar la absorbancia de betalaínas.....	124
21	Curva de calibración para polifenoles totales.....	124
22	Curva de calibración para la actividad antioxidante.....	124
23	Curva de calibración para el contenido de isorhamnetina.....	125
24	Curva de calibración para el contenido de quercetina.....	126
25	Curva de calibración para el contenido de kaempferol.....	126

**ABREVIATURAS**

%	Por ciento
±	Mas menos
<	Menor que
>	Mayor que
ΔE	Diferencia total de color
°Bx	Grados Brix
°C	Grado Celsius
μL	Microlitro
μmol	Micromol
ANOVA	Analysis of Variance (Análisis de Varianza)
cm ²	Centímetro cuadrado
DPPH	2,2 difenil-1-picrilhidrazilo
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EUA	Estados Unidos de América
Eq.	Equivalente
ET	Equivalente Trolox
<i>et al.</i>	Y colaboradores
FDA	Food and Drug Administration (Administración de Alimentos y Fármacos)
g	Gramo
h	Hora
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía Líquida de alta eficiencia)
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
kV	kilovoltio
L	Litro
mEq	Miliequivalente
mg	Miligramo



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
N	Normal
NOM	Norma Oficial Mexicana
OMS	Organización Mundial de la Salud
pH	Potencial de hidrógeno
ppm	Partes por millón
rpm	Revoluciones por minuto
s	Segundo
<i>sp.</i>	Especie
<i>spp.</i>	Sin especie
Trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
Var.	Variedad
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama



RESUMEN

Las betalaínas constituyen una alternativa para minimizar el uso de colorantes artificiales en la producción de alimentos, no obstante, su susceptibilidad a factores ambientales limita su aplicación industrial. Por este motivo la encapsulación se ha utilizado como una técnica de conservación para favorecer su estabilidad, donde el tipo de material de pared, influye en la retención de estos compuestos bioactivos que se reflejan en las propiedades que definen la calidad de los polvos encapsulados. En este trabajo, se optimizó una mezcla de fructanos, proteína de suero de leche y almidón modificado como materiales de pared en la encapsulación de jugo de pitaya (*Stenocereus stellatus*) evaluando las propiedades físicas, químicas y morfológicas de los encapsulados bajo un diseño de mezclas con restricciones. Los polvos encapsulados obtenidos fueron aceptables en términos de estabilidad de betalaínas y de sus propiedades físicas, esto permitió su almacenamiento y el manejo adecuado durante su análisis. Los acarreadores en sus términos lineales tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en los contenidos de betalaínas, polifenoles y actividad antioxidante. Los polvos con altas proporciones de proteína alcanzaron los valores más altos para la retención de betalaínas y de actividad antioxidante que van del 70 al 90% y de 7 al 10.8%, respectivamente. Por su parte, el contenido de polifenoles aumentó cuatro veces en los polvos con mayor contenido de proteína, respecto al jugo de pitaya. Además, la adición de proteína incrementó los valores de L^* (luminosidad) atenuando la tendencia al color rojo de los polvos lo que afectó el potencial de pigmentación. El almidón OSA y los fructanos en sus términos lineales tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en el parámetro a^* y un incremento en sus proporciones mejoró las tonalidades de los encapsulados mientras que contribuyeron a la obtención de valores aceptables para los contenidos de betalaínas, polifenoles y capacidad antioxidante. Respecto a las propiedades físicas, los materiales de pared en sus términos lineales afectaron significativamente ($p < 0.05$) la densidad aparente, el ISA, el contenido de humedad y la higroscopicidad de los polvos. La adición de proteína disminuyó la higroscopicidad y aumentó la temperatura de transición vítrea, lo cual es deseable en términos de conservación de los polvos durante el almacenamiento. No obstante, el análisis microscópico mostró que el daño superficial de las microcápsulas



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

era más evidente al incrementar el contenido de dicho acarreador. Los más altos contenidos de betalaínas (1.30 a 1.36 mg/g) y valores del parámetro a^* (22.22 a 25) se obtuvieron en el rango óptimo de 0.6 a 13.4% para fructanos, de 6.3 a 15.8% para proteína y de 75.2 a 88.2% de almidón OSA. Los modelos ajustados fueron verificados, estimando satisfactoriamente (<10%) la variabilidad de los datos. Los resultados sugieren, que la conservación de betalaínas y otros compuestos bioactivos contenidos en el jugo de pitaya, puede lograrse a través de su encapsulación con mezclas de acarreadores como proteína, almidón y fructanos, potenciando su estabilidad y posterior aplicación para el desarrollo de productos pigmentados.



ABSTRACT

Betalains constitute an alternative to synthetic dyes in food production due to its potential pigmenting capacity and biological properties, however, they are susceptible to degradation by environmental factors such as: temperature, water activity, light, and pH, thus limiting their industrial application. In order to increase stability, many different encapsulation techniques are available, where spray drying, for its low cost and ability to process a wide range of products, is one of the most applied. Regarding to increase compounds retention and stability of microparticles, wall materials and process conditions must be evaluated. In this work, a mixture of fructans, whey protein concentrate and modified starch was optimized in the encapsulation of pitaya juice (*Stenocereus stellatus*) assessing the physical, chemical and morphological properties of the encapsulated powders under a restricted mixture design. In general, the powders obtained were acceptable in terms of betalain stability and handling. Carrier agents in their linear terms had a significant effect ($p < 0.05$) on betalain and polyphenol content as well the antioxidant activity. Powders with high protein proportions reached the highest values in betalain content and antioxidant activity retention from 70-90% and 7-10.8%, respectively. The polyphenol content showed a four-fold increase in powders with the highest protein content, compared to pitaya juice. Furthermore, the addition of protein increased the L^* parameter (luminosity), attenuating the red color of the powders, which affected the pigmentation potential. OSA starch and fructans in their linear terms had a significant effect ($p < 0.05$) on the a^* parameter and an increase in their proportions improved the shades of the encapsulates while they contributed to obtaining acceptable values for betalain and polyphenol contents and antioxidant capacity. Regarding the physical properties, the wall materials in their linear terms significantly affected ($p < 0.05$) the bulk density, WSI, moisture content and hygroscopicity of the powders. By increasing the protein addition, the hygroscopicity decreased while the glass transition temperature increased, which is desirable in terms of storage stability. However, microscopic analysis showed that the surface damage of the microcapsules was more evident when the content of said carrier increased. Wall material proportions ranging from 0.6 to 13.4% for fructans, from 6.3 to 15.8% for protein and from 75.2 to 88.2% for OSA starch delimited the optimal zone to obtain



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

powders with betalain contents of 1.30 to 1.36 mg/g and values from 22.22 to 25 for a^* parameter. This was verified with proportions of 7% fructans, 10.3% protein and 82.7% OSA starch producing powders with 1.24 mg of betalains/g and 23.72 of parameter a^* . Mixture optimization was successfully verified which means that the proposed model satisfactorily predicts the behavior of the variables studied under the effect of different wall materials on betalain encapsulation



I. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales atributos que el consumidor considera al momento de elegir un alimento es el color, ya que es frecuentemente asociado con el sabor, la calidad, frescura e incluso, con el contenido en nutrientes (Belmonte-Vázquez *et al.*, 2016). Por esta razón, los colorantes son añadidos a los alimentos ya sea para recuperar el color durante su procesamiento, mejorar su apariencia o bien minimizar diferencias entre los lotes de producción (Vargas-Campos *et al.*, 2018). La industria de alimentos comúnmente adiciona colorantes sintéticos para la pigmentación de productos, no obstante, las tendencias de consumo actual han conllevado a que el consumidor busque opciones de alimentos más saludables, libres de aditivos químicos. En respuesta a esto, se ha planteado la pigmentación de alimentos procesados haciendo uso de colorantes naturales.

Dentro de la gama de pigmentos extraídos de fuentes naturales se encuentran las antocianinas, carotenoides, clorofilas, flavonoides y betalaínas; estas últimas han sido estudiadas debido a su potencial para la pigmentación de diversos productos. Las fuentes principales de betalaínas han sido relacionadas a betabel, amaranto, frutillas y algunas cactáceas como la pitaya (*Stenocereus stellatus*), la cual exhibe colores atractivos en piel y pulpa debido a la presencia de betalaínas (García-Cruz *et al.*, 2013). La pitaya se produce en las zonas áridas y semiáridas de México y es subutilizada por su corta vida de anaquel presentando pérdidas importantes, principalmente por la falta de alternativas tecnológicas para su uso adecuado. Una de las posibles aplicaciones para el aprovechamiento de este fruto es la extracción de las betalaínas; a pesar de que estos pigmentos son poco estables y pueden ser afectados por diversos factores (pH, temperatura, luz, oxígeno y actividad de agua) el procesamiento podría ser una alternativa para la conservación de estos a través de su estabilización o encapsulación para fines específicos de pigmentación de productos alimenticios con propiedades antioxidantes (Celli y Brooks, 2017).

La encapsulación de estos pigmentos y compuestos bioactivos contenidos en el jugo de pitaya, se han realizado empleando materiales de pared a base de carbohidratos complejos y proteínas empleando el proceso de secado por aspersion. Aunque las



condiciones de secado influyen en la retención de estos componentes, por la degradación térmica, debido a altas temperaturas de proceso, su fácil operación y bajo costo, representan ventajas tecnológicas para su implementación. El material de pared, es otro factor, que influye significativamente en la estabilidad de estos componentes, por lo que su selección debe ser considerada, tomando en cuenta las posibles interacciones con el compuesto de interés de manera que su retención sea incrementada y por sus propiedades fisicoquímicas enfocadas a la formación de superficies suaves y con el menor daño posible o, para evitar la adhesión en las paredes de la cámara de secado cuando se trata de productos con alto contenido de azúcar (Shishir y Chen, 2017). Materiales de pared como almidón modificado y proteínas, se han evaluado, en forma individual o en mezclas para la encapsulación de jugos con alto contenido de pigmentos, como antocianinas, donde se reporta que mezclas de almidón modificado mediante succinilación (OSA), inulina (IN) y maltodextrina (MD) en diferentes proporciones, se lograron las propiedades deseadas en términos de color, contenido de antocianinas y actividad antioxidante (Quirino-Lacerda *et al.*, 2016). Se ha observado que mezclas de carbohidratos complejos (Inulina y maltodextrina) con proteínas de suero de leche (PS), han resultado adecuados, en la retención de propiedades antioxidantes y parámetros físicos como higroscopicidad en la encapsulación de betabel. Mientras que los polvos encapsulados a base de inulina-proteína de suero de leche, mostraron una estabilidad aceptable de compuestos bioactivos, representando un área de oportunidad para el desarrollo de productos (do Carmo *et al.*, 2017).

Estos resultados sugieren que la combinación de carbohidratos complejos, como fructanos tipo inulina y almidón modificado, con proteína puede favorecer la retención de los compuestos basado en interacciones físicas o químicas como interacciones electroestáticas o puentes de hidrógeno el cual ocurre en la interacción de betalaína-polímero promovida por las propiedades catiónicas de las betalaínas (Kanner *et al.*, 2001; Cai y Corke, 2000). En adición, se ha comprobado la existencia de interacciones tanto de proteínas como de carbohidratos con los polifenoles mediante puentes de hidrógeno hidrofóbicos y no covalentes, aunque su número e intensidad depende en



gran medida de la composición de las macromoléculas (Jakobek, 2015). De igual manera, el uso de proteínas es considerado una buena opción en la encapsulación mediante secado por aspersión por su habilidad de formar geles térmicamente estables por encima de los 70 °C protegiendo los compuestos bioactivos (Bartkowiak *et al.*, 2017). No obstante, esto dependerá del compuesto a encapsular, el agente acarreador seleccionado y las condiciones del proceso.

A pesar del esfuerzo realizado para la preservación de betalaínas mediante la encapsulación, aún no se han elucidado los posibles mecanismos de interacción entre los pigmentos y los agentes acarreadores empleados para incrementar la estabilidad de las betalaínas y la información reportada sobre el tema es escasa. Además, estudios recientes reportan que las perspectivas futuras en este tópico deben ser enfocadas en el efecto de la matriz sobre la estabilidad de las betalaínas y proponen la combinación de polisacáridos-proteína como la más prometedora (Castro-Enríquez *et al.*, 2020). Robert *et al.* (2015) reportaron que la mezcla de proteína de soya con polisacáridos (maltodextrina e inulina) mejoró la encapsulación de polifenoles en un grado significativo, y se dijo que formaban un nuevo sistema con propiedades diferentes con respecto a cada polímero individual, como también se ha informado para moléculas hidrofóbicas.

En base a todas estas consideraciones, esta investigación tuvo como objetivo encontrar las proporciones óptimas de fructanos de agave, concentrado de proteína de suero de leche y almidón octenil succínico (OSA) como agentes acarreadores y evaluar su influencia en las propiedades fisicoquímicas de polvos encapsulados de pitaya.



II. ANTECEDENTES

2.1 Situación actual del empleo de colorantes artificiales en alimentos y su sustitución por pigmentos naturales.

Al igual que en otros tipos de ingredientes en la industria alimentaria, el área de colorantes ha implementado la búsqueda de ingredientes naturales para satisfacer la creciente demanda de los consumidores. Según Innova Market Insights, el 19% de los consumidores de EUA en 2018 dijo que la frase "sin colorantes/saborizantes artificiales" influye en su decisión al comprar alimentos y bebidas (Nachay, 2019). El rechazo de sustancias químicas por parte del consumidor, se debe a los efectos nocivos para la salud y, a pesar de ser más estables durante el procesamiento y a su amplia gama de colores, su viabilidad para la coloración de alimentos ha disminuido. Ante ese escenario, se han estudiado diversos pigmentos como alternativa a los colorantes sintéticos y sus posibles aplicaciones se han diversificado.

De acuerdo con su origen, los aditivos de color se clasifican en tres grupos: naturales, idénticos a naturales o sintéticos. Estos últimos son los que no están presentes en los alimentos de manera natural, de modo que muchos han sido producidos por síntesis química proporcionando ciertas ventajas como bajo costo y estabilidad (Badui-Dergal, 2013). Sin embargo, estudios han reportado posibles efectos adversos a la salud como el desarrollo del trastorno por déficit de atención con hiperactividad en niños (Vojdani y Vojdani, 2015), alergias y afecciones en el sistema respiratorio (Amchova *et al.*, 2015). En consecuencia, se han establecido restricciones por parte de organizaciones internacionales como el índice de ingesta diaria, que define la cantidad que puede ser consumida por tiempo indefinido sin causar daño a la salud (Martins *et al.*, 2016). Por ejemplo, la tartrazina presenta un IDA de 7 mg/kg, la eritrosina 0.6 mg/kg y el rojo cochinita de 4 mg/kg. Además, de acuerdo al artículo de Brockman en la revista Mintel (2019), aunque los consumidores están interesados en colores brillantes y atractivos, también esperan que las formulaciones sean naturales, debido a la tendencia de una "alimentación limpia" adoptada por muchos de los consumidores en los últimos años. Por tanto, la industria alimentaria ha optado por sustituir estos aditivos por pigmentos



provenientes de fuentes naturales, no obstante, una realidad que debe asumirse es la poca estabilidad de los pigmentos ante diversas condiciones de procesamiento lo que implica una posible alteración de otras propiedades organolépticas del alimento (Restrepo-Gallego, 2007).

Los pigmentos naturales son generados por vegetales o animales, son purificados para su uso y, generalmente, pueden clasificarse en liposolubles (clorofilas y carotenoides) e hidrosolubles (antocianinas, betalaínas y flavonoides) (Martínez-Girón y Ordoñez-Santos, 2016). Algunos de estos han adquirido cierto interés debido a la reducción en la incidencia de enfermedades por sus propiedades antivirales y antiinflamatorias (Leong *et al.*, 2018; Stahl y Sies, 2005). Colorantes naturales, como las betalaínas de betabel (*Beta vulgaris*), son ya utilizados en la industria alimentaria y han sido aprobados para su uso en Estados Unidos y la Unión Europea (Serries y Biliaderis, 2001; Moreno *et al.*, 2008) principalmente para alimentos procesados como bebidas alcohólicas y no alcohólicas, confituras, productos lácteos, cárnicos y de panificación (Sánchez-Juan, 2013). Si bien los colorantes naturales gozan de mayor aceptación, el principal reto para su desarrollo como agentes de pigmentación a nivel industrial es obtener la estabilidad con el poder de pigmentación adecuado y la variedad de tonalidades que se obtienen con los pigmentos sintéticos (Badui-Dergal, 2013).

2.2 El fruto de pitaya como fuente de pigmentos naturales

La pitaya (*Stenocereus spp.*) pertenece a la familia de las cactáceas, crece como cactus en zonas áridas y semi-áridas, tales como aquellas localizadas en la región norte y central de México (García-Cruz *et al.*, 2015). El fruto de pitaya se compone de tres partes principales: pulpa, semillas presentes en la pulpa; y cáscara alta en fibra (Figura 1). La pulpa posee diversos aromas, es jugosa y dulce; puede ser blanca, amarilla, rosa, roja o morada. El peso del fruto varía ampliamente; en una pitaya madura puede ser entre 69.3-148.3 g, del cual 89.6-75.4% es pulpa, 22.1-24.6% cáscara y 2.4-2.3% semillas.

En comparación con la tuna, la pitaya posee una fracción comestible mayor. La cáscara de la pitaya representa de 18 a 24% del peso de la fruta, mientras que en la

tuna asciende el 45%. Además, en el caso de la tuna, las semillas (4%) no son usualmente consumidas, mientras que las del fruto de pitaya (1.6-3.4%) pueden masticarse y ser digeridas (Chuck-Hernández *et al.*, 2016).



Figura 1. Pitaya (*Stenocereus stellatus*).

El color de la pulpa de la pitaya, así como en otras especies de cactáceas del género *Opuntia* e *Hylocereus* se debe a la presencia de betalaínas las cuales proveen coloraciones rojas y naranjas (Pimienta-Barrios y Nobel, 1994). Otro grupo de fitoquímicos de la pulpa de la pitaya son los compuestos fenólicos los cuales, al igual que las betalaínas, se han asociado con actividades biológicas benéficas para el organismo como efectos anti-alérgicos, antimicrobianos, antioxidantes, antitrombóticas y cardio protectores (García-Cruz *et al.*, 2017).

En adición a sus propiedades nutricionales, el cultivo de pitaya representa una oportunidad para la agricultura sustentable debido a su requerimiento mínimo de agua (Chuck-Hernández *et al.*, 2016). Por otro lado, este fruto ha ganado popularidad en Europa y Estados Unidos por su apariencia exótica y sus atractivos colores (Esquivel y Araya-Quesada, 2012). Considerando lo anterior expuesto, es posible añadir valor agregado al fruto de pitaya una vez que sus compuestos sean extraídos, aislados y caracterizados obteniendo información valiosa para el desarrollo de estudios relacionados a su aplicación en alimentos (García-Cruz *et al.*, 2017).



En los mercados de frutos exóticos la pitaya es de gran valor y al igual que otros frutos de este tipo se consume principalmente en fresco o en productos mínimamente procesados como mermeladas, gelatinas y bebidas donde el pigmento se conserva más fácilmente (Badui-Dergal, 2013). Actualmente, no se han encontrado suficientes estudios sobre la aplicación del fruto en productos industrializados que permitan su explotación comercial, esto ha sido atribuido al manejo postcosecha que se considera complicado por su corta vida de anaquel (Sánchez-López *et al.*, 2012). Por otro lado, la obtención de extractos de pitaya con concentraciones altas de compuestos bioactivos, podría ayudar a superar este inconveniente al permitir su aprovechamiento como fuente de pigmentos y antioxidantes incorporados a alimentos. Sin embargo, esto podría tener ciertas dificultades ya que el fruto posee altos niveles de mucílago y azúcares, lo cual puede afectar significativamente el rendimiento de la extracción (Pérez-Loredo *et al.*, 2017; Celli y Brooks, 2017).

2.3 Betalaínas

2.3.1 Generalidades de las betalaínas

Las betalaínas son pigmentos nitrogenados solubles en agua que se clasifican en dos grupos: betacianinas (rojo-violeta) y betaxantinas (amarillo-naranja) (Figura 2). En ambos grupos, existe una estructura común, el ácido betalámico, al cual se pueden unir diversos aminoácidos y otras aminas (betaxantinas) o unirse a la ciclodopa (betanidina) o sus derivados de glucosil (betacianinas) (Herbach *et al.*, 2006; Khan y Giridhar, 2015). La betanidina es el aglicón de la mayoría de las betacianinas; diferentes patrones de sustitución (glucosilación y acilación) de uno o varios grupos hidroxilo localizados en la posición 5 o 6 de la betanidina resulta en la formación de varias betacianinas. La mayoría de estos son 5-O-glucósidos, pero los 6-O-glucósidos también han sido detectados (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). La glucosilación del 5-O-glucósido es muy común, así como la esterificación con ácidos hidroxicinámicos (Strack *et al.*, 2003). La betacianina más común es la betanidina-5-O β -glucósido (betanina), el pigmento principal en el betabel (Stintzing y Carle, 2004). Las betacianinas muestran dos longitudes de onda máximas de absorción: una en el rango de UV (270–280 nm) debido a la ciclodopa y otra en el rango visible 535–540 nm,

dependiendo del solvente. Las betaxantinas, por otro lado, contienen diferentes cadenas laterales de aminoácidos o aminas (Strack *et al.*, 2003). Las modificaciones estructurales en las betaxantinas producen cambios hipsóro batocromáticos. Los conjugados de amina muestran un máximo de absorción más bajo que sus equivalentes de aminoácidos respectivos (Stintzing *et al.*, 2002b).

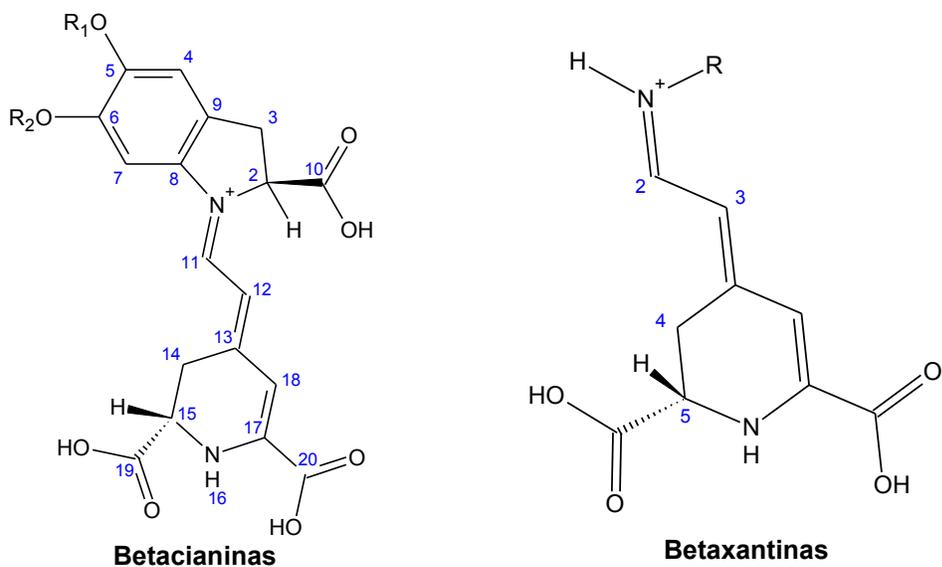


Figura 2. Estructura química de las betacianinas y betaxantinas (Rodríguez-Amaya, 2019).

2.3.2 Aplicaciones de las betalaínas como colorantes en alimentos

Las betalaínas pueden ser utilizadas en la producción de alimentos como postres, confiterías, mezclas secas, productos lácteos y cárnicos. La concentración de pigmento requerida para obtener el tono deseado es relativamente pequeña, raramente superior a 50 mg/kg, calculada como betanina (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Según el Codex Alimentarius (2004), el uso de betalaínas está limitado solo por las buenas prácticas de fabricación. El pigmento extraído del betabel, se comercializa en la Unión Europea y EUA como colorante alimentario (Castellar *et al.*, 2006). Los colorantes comerciales de betabel están disponibles como concentrados de jugo (producidos por concentración al vacío de jugo de betabel a 60-65% de sólidos totales) o en polvo (producidos por liofilización o secado por aspersion), que contienen de 0.3% a 1% de pigmento (Cerezal *et al.*, 1994; Cerezal y Núñez, 1996).



2.3.3 Fuentes vegetales de betalainas

Las betalainas se pueden encontrar en raíces, frutas y flores (Strack *et al.*, 2003). Las pocas fuentes comestibles conocidas de betalainas son el betabel rojo y amarillo (*Beta vulgaris* L. *ssp. vulgaris*), la acelga de color (*Beta vulgaris* L. *ssp. cicla*), el grano o follaje del amaranto (*Amaranthus* *sp.*) y frutos de cactus, como los de los géneros *Opuntia* e *Hylocereus* (Cai *et al.*, 1998; Stintzing *et al.*, 2002b; Kugler *et al.*, 2004; Vaillant *et al.*, 2005). El principal cultivo comercialmente explotado para la obtención de betalainas es el betabel (*Beta vulgaris*), que contiene dos pigmentos solubles principales, la betanina (roja) y la vulgaxantina I (amarilla). La familia más prometedora entre las plantas portadoras de betalainas es la *Cactaceae*. Entre ellas, la tuna (género *Opuntia*) y pitayas (géneros *Cereus*, *Hylocereus* y *Selenicereus*) las cuales son comúnmente cultivadas como plantas frutales y son las más adecuadas para ser estudiadas como fuentes de betalainas para la pigmentación de alimentos (Mizrahi *et al.*, 1997; Stintzing *et al.*, 2003; Stintzing y Carle, 2006). Los frutos de tuna, en contraste con el betabel, pueden usarse en alimentos sin los efectos negativos en el sabor conferidos por la geosmina en los extractos de betabel. En las pitayas, su tenue sabor tiende a incrementar el potencial de mercado haciendo más prometedor su aprovechamiento en aplicaciones de coloración. Las betalainas en las frutas de cactus cubren un espectro de color más amplio desde amarillo-naranja (*Opuntia* *sp.*) hasta rojo-violeta (*Hylocereus* *sp.*) en comparación con el betabel y, por lo tanto, pueden abrir nuevas ventanas de diversificación de color. Los frutos de cactus amarillo/anaranjado son de particular interés, debido a la escasez de pigmentos amarillos solubles en agua (Mobhammer *et al.*, 2005). Además, los bajos niveles de compuestos fenólicos incoloros los hacen muy prometedores, ya que se evitan las posibles interacciones de las betalainas con estos fenólicos (Stintzing *et al.*, 2001). Una ventaja adicional de estos frutos son sus requisitos mínimos de suelo y agua, ya que se consideran cultivos alternativos para la economía agrícola de las regiones áridas y semiáridas (Castellar *et al.*, 2006). Las pulpas de fruta de los cactus *Hylocereus* contienen altas concentraciones de betacianinas (0.23-0.39%), tanto no aciladas como aciladas, y (en contraste con el betabel) no contienen betaxantinas



detectables (Wybraniec *et al.*, 2001; Stintzing *et al.*, 2002a; Vaillant *et al.*, 2005). Por otro lado, las frutas *Opuntia* cubren un amplio rango de coloración, desde amarillo brillante hasta rojo-violeta, dependiendo tanto de la relación betacianina/betaxatina como de sus concentraciones absolutas (Mobhammer *et al.*, 2005; Stintzing *et al.*, 2005).

2.3.4 Propiedades biológicas de las betalaínas

En la actualidad, cada vez hay más pruebas de que el estrés oxidativo conduce a cambios bioquímicos, que contribuyen al desarrollo de varias enfermedades degenerativas, como el cáncer y las cardiopatías. Las moléculas antioxidantes protegen contra los efectos potencialmente perjudiciales del estrés oxidativo (Kanner *et al.*, 2001). Las actividades antioxidantes y antirradicales *in vitro* de las betalaínas y de las especies que las producen es de lo más estudiado, como se puede ver en los diversos artículos publicados solo en 2018 (Amjadi *et al.*, 2018; Aparicio-Fernández *et al.*, 2018; Calvo *et al.*, 2018; Hidalgo *et al.*, 2018 y Lozano-Navarro *et al.*, 2018). La actividad antioxidante de las betalaínas se ha reportado a través de la inducción de mecanismos endógenos de defensa como las enzimas endógenas del sistema redox y la síntesis de glutatión (Esatbeyoglu *et al.*, 2014; Kanner *et al.*, 2001; Krajka-Kuzniak *et al.*, 2013). De acuerdo con González-Ponce *et al.* (2018), las betalaínas, así como otros metabolitos secundarios, tienen un papel preventivo importante contra los medicamentos antiinflamatorios y analgésicos no esteroideos de venta libre, ya que la acumulación o la sobredosis de estos medicamentos pueden inducir insuficiencia hepática aguda, debido al estrés oxidativo que se produce en los hepatocitos. En el estudio desarrollado por Yong *et al.* (2018) informaron la actividad antibacteriana de pitaya roja (*Hylocereus polyrhizus*), contra 10 bacterias patógenas Gram-positivas y 6 Gram-negativas.

La bioactividad de las betalaínas ya se ha documentado como se mencionó anteriormente, aunque no se aborda exhaustivamente; sin embargo, los estudios sobre la absorción, el metabolismo no solo hepático sino también por microbiota, distribución y excreción, es decir, la información sobre su biodisponibilidad es escasa (Miguel, 2019). El perfil y la concentración de betalaínas, así como sus metabolitos



descarboxilados y deshidrogenados fueron estudiados por Sawicki *et al.* (2018) en plasma y orina de voluntarios después de una exposición a largo plazo al jugo de remolacha roja fermentada. Observaron que la cantidad de metabolitos era mayor que las betalaínas nativas en el plasma sanguíneo y la orina, aunque se ha registrado una variabilidad interindividual. Los autores también detectaron una estabilización del perfil y el contenido de ambas betalaínas y sus metabolitos (Sawicki *et al.*, 2018). Se encontraron pequeñas cantidades de aglicones en el plasma sanguíneo de los voluntarios, lo que también fue reportado por Sawicki *et al.* (2017). Los autores destacan varias explicaciones: una pequeña absorción de aglicones o no se absorben en absoluto, o bien una degradación rápida después de la absorción o incluso en el lumen del tracto digestivo antes de la absorción, debido a su baja estabilidad (Sawicki *et al.*, 2018). El estudio de Clifford *et al.* (2016) reportó la débil biodisponibilidad en el plasma humano de betalaínas nativas (betanina o betanidina 5-O- β -glucósido) después de la ingestión del fruto de betabel o del jugo, así como Frank *et al.* (2005), quienes también encontraron que el aclaramiento renal de betalaína era una ruta menor de eliminación sistémica cuando las mujeres sanas, que participaron como voluntarias en el estudio, consumían jugo de betabel. Esto confirma la importancia de la biotransformación de los compuestos nativos en sus metabolitos, por lo que las propiedades biológicas que muestran las betalaínas *in vitro* no pueden extrapolarse a las condiciones *in vivo*. Las propiedades biológicas atribuidas a las betalaínas en estudios *in vivo* (Han *et al.*, 2015; Tan *et al.*, 2015) deben reevaluarse, ya que lo más probable es que se deban a los metabolitos de betalaínas (Clifford *et al.*, 2016).

2.3.5 Factores que afectan la estabilidad de las betalaínas

Las betalaínas como pigmentos naturales poseen múltiples ventajas en comparación a los colorantes sintéticos, sin embargo, su estabilidad se ve afectada por ciertas condiciones. Esto debe ser considerado para asegurar la coloración y retención óptima en los productos alimenticios pigmentados con betalaínas. La degradación de las betalaínas puede ocurrir mediante distintos mecanismos y está en función de factores, tanto intrínsecos como extrínsecos, los cuales se muestran en la Figura 3 y se describen a continuación.



Figura 3. Factores que afectan la estabilidad de las betalainas (Khan 2016).

Con respecto a los aspectos estructurales, se ha informado que las betacianinas son más estables que las betaxantinas, tanto a temperatura ambiente (Sapers y Hornstein, 1979) como al calentamiento (Singer y Von Elbe, 1980; Herbach *et al.*, 2004a). Comparando la estabilidad de diferentes betacianinas, las estructuras glicosiladas son más estables que los aglicones, probablemente debido a los mayores potenciales de oxidación-reducción de las primeras (Von Elbe y Attoe, 1985). Las betalainas pueden utilizarse para proveer color a productos alimenticios tanto ácidos como neutros ya que son estables a un amplio rango de pH (3-7) donde los valores de estabilidad máxima van de 5 a 6 (Neelwarne, 2012; Jackman y Smith, 1996; Huang y Von Elbe, 1985). Las condiciones alcalinas causan la hidrólisis del enlace aldimina, mientras que la acidificación induce la recondensación del ácido betalámico con el grupo amina del residuo de adición (Schwartz y Von Elbe, 1983). Otros factores, como el pH, afectan la estabilidad de la betalainas. Havlíková *et al.* (1983) informaron que altas temperaturas cambiaron el pH óptimo para la estabilidad de la betacianina hacia 6.

La actividad de agua es un factor clave en la estabilidad de las betalainas debido a que determina la susceptibilidad del pigmento a la ruptura del enlace de aldimina



(Saguy *et al.*, 1984; Herbach *et al.*, 2006b). El efecto de la a_w puede atribuirse a una movilidad reducida de los reactivos o a una solubilidad de oxígeno limitada (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Kearsley y Katsaboxakis (1980) reportaron que una reducción de a_w mejoró la estabilidad de la betanina, especialmente por debajo de 0.63. Mientras que Cohen y Saguy (1983) observaron que al incrementar la a_w de 0.32 a 0.75 la tasa de degradación aumentó aproximadamente en un orden de magnitud.

La temperatura se considera como el factor más importante en la estabilidad de las betalaínas, por lo que ha sido el objeto de estudios donde se muestra un aumento en las tasas de degradación como resultado de las altas temperaturas (Saguy *et al.*, 1978; Havlíková *et al.*, 1983; García-Barrera *et al.*, 1998). Estudios han reportado que la degradación térmica de las betacianinas en soluciones de betanina, así como en jugos de betabel y pitaya, sigue una cinética de primer orden (Von Elbe *et al.*, 1974; Saguy *et al.*, 1978; Saguy, 1979; Herbach *et al.*, 2004b). Durante el procesamiento térmico, la betanina puede degradarse por isomerización, descarboxilación o escisión, lo que resulta en una reducción gradual del color rojo y, finalmente, la aparición de un color marrón claro (Huang y Von Elbe, 1986; Drdák y Vallová, 1990). La deshidrogenación de betanina conduce a la formación de neobetanina, provocando una coloración amarilla. La escisión de la betanina y la isobetanina, que también puede ser inducida por bases (Schwartz y Von Elbe, 1983; Schliemann y Strack, 1999), produciendo el ácido betalámico amarillo brillante y el ciclo-Dopa-5-O-glucósido incoloro.

Otros factores que influyen en la estabilidad de las betalaínas son el oxígeno y la exposición a la luz. Según el nivel de oxígeno es la degradación de las betalaínas por lo que se recomiendan ambientes controlados con nitrógeno o antioxidantes para una mejor conservación (Walkowiak-Tomczak, 2002; Delgado-Vargas *et al.*, 2000). De igual manera, los efectos por la luz se minimizan en atmósferas libres de oxígeno (Pourrat *et al.*, 1983). La degradación de las betalaínas se debe a que la absorción de la luz en la región UV o visible eleva los electrones π del cromóforo del pigmento a un mayor nivel de energía (π^*) causando un aumento en su reactividad al disminuir la energía de activación de la molécula (Hussain *et al.*, 2018).



2.3.6 Estabilización de betalaínas

La estabilidad de las betalaínas está influenciada por factores intrínsecos y extrínsecos planteados en la sección anterior, los cuales provocan cambios que resultan en la degradación de betalaínas como la ruptura del enlace de aldimina, la deshidrogenación, la deglucosilación, la descarboxilación y la isomerización (Khan, 2016).

Con el objetivo de aumentar las aplicaciones comerciales, los pigmentos de betalaínas deben soportar o retardar estos cambios mediante técnicas de estabilización. Se ha demostrado que componentes alimenticios, como los antioxidantes, poseen efectos favorables para la preservación de betalaínas. El ácido cítrico, el EDTA y especies catiónicas figuran dentro de estos componentes (Von Elbe y Attoe, 1985; Pasch y Von Elbe, 1979). Se ha reportado que especies quelantes neutralizan el nitrógeno electrofílico de la betanina a través de la unión alrededor del nitrógeno amino cargado (Hussain *et al.*, 2018).

Otra técnica de estabilización es la formación de complejos de las betalaínas con iones metálicos como cobre, magnesio, hierro, níquel y cobalto que han dado lugar a cambios batocrómicos en la absorción del color (Butera *et al.*, 2002; Kuusi *et al.*, 1977; Spórna-Kucab *et al.*, 2011). Por otro lado, se ha informado que el complejo β -ciclodextrina (β -CD)-betanina estabiliza el color (Hamburg y Hamburg, 1991). Esto se atribuyó a la adsorción de agua libre por la β -CD. En ausencia de luz y O_2 , se ha reportado que las ciclodextrinas mejoran la estabilidad de la betalaína (Drunkler *et al.*, 2006).

Si bien, los estudios de estabilización de betalaínas han llevado a diversificar las técnicas empleadas, la encapsulación se considera como uno de los mejores procesos para la preservación de compuestos bioactivos. En esta tecnología, se retiene un agente activo dentro de un material protector produciendo cápsulas en un rango de nanómetros a milímetros (Nedovic *et al.*, 2011). Se utiliza para crear una barrera que retarda las reacciones químicas con el ambiente externo, promoviendo un aumento en



la vida útil y la liberación gradual de los compuestos encapsulados, estabilizándolos en una matriz sólida (Labuschange, 2018).

Generalmente, el proceso de encapsulación se lleva a cabo en tres etapas principales: el primer paso consiste en formar una cobertura alrededor del material a encapsular o núcleo; el segundo implica mantener intactos los materiales del núcleo para evitar cualquier liberación de contenido; y en el último paso, se espera que el núcleo se libere en el momento adecuado y a la velocidad precisa (Mishra, 2016). La elección de la técnica de encapsulación estará relacionada con los requerimientos finales de las partículas y de algunos factores importantes como su tamaño, propiedades físicas de los materiales de la pared, material del núcleo, liberación controlada y costos (Martín-Villena *et al.*, 2009).

2.4 Secado por aspersión para la encapsulación de compuestos bioactivos

Existe una amplia variedad de técnicas de encapsulación en la industria alimentaria las cuales son aplicadas según los requerimientos de encapsulación. Sin embargo, el secado por aspersión goza de gran preferencia para procesos de encapsulación por su bajo costo y flexibilidad además de la buena calidad de las cápsulas producidas (Khan, 2016).

El secado por aspersión es un proceso de un solo paso, donde la alimentación líquida se convierte directamente en polvo (Chiou y Langrish, 2007). Es ampliamente utilizado en la industria de alimentos para la producción de polvos y aglomerados alimentarios y está catalogado como la técnica de encapsulación más económica debido a sus bajos requerimientos operacionales. Según el reporte de Hammami y Rene (1997), una comparación a escala industrial mostró que el proceso de secado por aspersión es alrededor de 4-5 veces más económico que el de la liofilización debido a que el consumo energético es menor. Además, el tiempo de contacto de secado es relativamente corto (5-100 s), por lo tanto, puede preservar atributos de calidad como nutrientes, pigmentos y sabores los cuales son sensibles a altas temperaturas (Rodríguez-Hernández *et al.*, 2005; Yousefi *et al.*, 2011). Dentro de sus ventajas, se encuentra la estabilidad que adquiere el producto final debido al bajo contenido de



humedad y actividad de agua haciendo que los polvos sean resistentes a degradación microbiológica y oxidación, como oscurecimiento, reacciones hidrolíticas u otras actividades enzimáticas (Shishir *et al.*, 2016; Patil *et al.*, 2014; Tze *et al.*, 2012; Kha *et al.*, 2010; Marques *et al.*, 2007; Tan *et al.*, 2011).

Al igual que otros procesos, el secado por aspersion posee ciertas limitaciones. Si bien los tiempos de exposición son cortos, las temperaturas de secado pueden ser muy altas (150-220 °C como la temperatura de entrada y 50-80 °C para la temperatura de salida) por lo que afectan compuestos termosensibles (Bao *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2016; Kong y Ismail, 2011; Patil *et al.*, 2014). Por otra parte, el secado de materiales con alto contenido de azúcar como los jugos de frutas y verduras, puede ser difícil sin el uso de un agente acarreador debido a su baja temperatura de transición vítrea que conduce a problemas como depósitos en la cámara de secado disminuyendo el rendimiento del proceso (Bhandari *et al.*, 1997). Finalmente, el control de tamaño de las gotas es limitado, generando partículas de amplia distribución de tamaño y, a veces, microestructuras irregulares (Dalmoro *et al.*, 2012).

2.4.1 Descripción operacional del secado por aspersion

El secado por aspersion consta de tres pasos: atomización de la muestra de alimentación, secado de las gotas y recuperación de polvo, como se muestra en la Figura 4. Durante la atomización, la alimentación es asperjada a la cámara de secado y distribuida en pequeñas partículas de líquido en un gran volumen. La atomización maximiza el área de superficie de alimentación líquida para un secado efectivo y eficiente. Las propiedades del producto final dependen del diseño del atomizador y su rendimiento (Phisut, 2012). Se ha demostrado que las condiciones de proceso influyen de manera significativa en las características de los polvos, en la siguiente sección se describe a mayor profundidad el efecto de cada parámetro del proceso de secado.

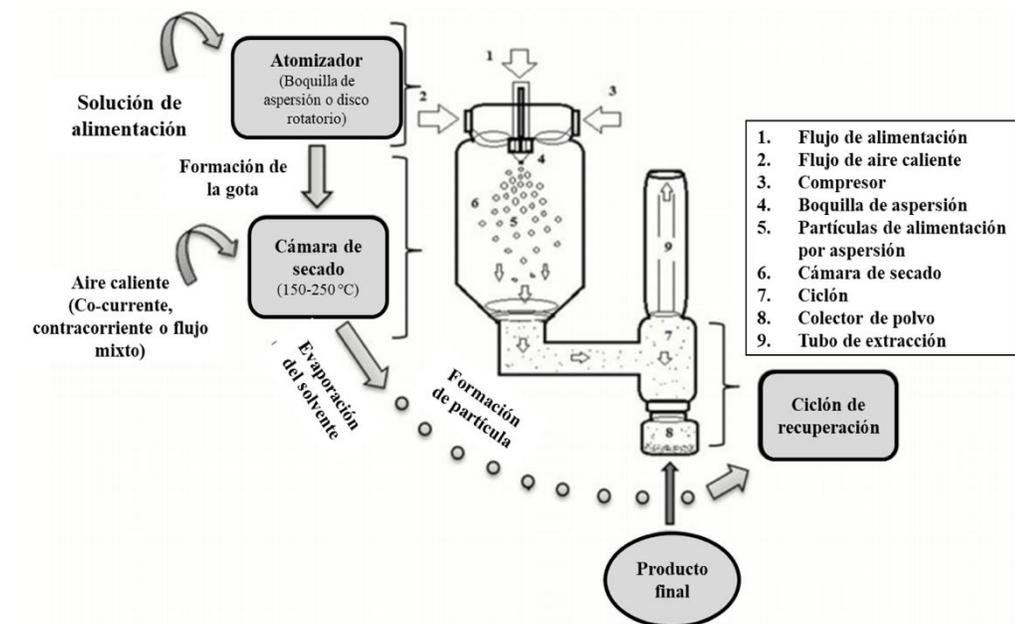


Figura 4. Diagrama del proceso de secado por aspersión (Shishir y Chen, 2017).

2.4.2 Efecto de los parámetros del proceso en polvos encapsulados de jugos de frutas

La calidad de los polvos encapsulados obtenidos está en función de los parámetros establecidos en el secado por aspersión. Los factores más importantes del proceso son la temperatura de secado, el flujo de aire de secado, el flujo de alimentación, la velocidad del atomizador, el tipo y la concentración de agente acarreador en la mezcla (Fazaeli *et al.*, 2012; Murali *et al.*, 2015; Phisut, 2012; Tonon *et al.*, 2008). Además, las características de la alimentación juegan un papel muy importante; por ejemplo, el secado de jugos de frutas sin la ayuda de un material de pared suele ser complicado debido a su alto contenido de compuestos de bajo peso molecular como azúcares y ácidos orgánicos causando que se adhieran en la cámara de secado (Quek *et al.*, 2007). Otro parámetro a considerar es la viscosidad del material la cual puede ser controlada incrementando la adición del agente acarreador (Tonon *et al.*, 2008).



Las condiciones del proceso de secado influyen de diversas formas en las propiedades del producto final, la temperatura por su parte, se considera como el factor más determinante en las propiedades fisicoquímicas del polvo encapsulado. Al incrementar la temperatura de secado se suministra más calor a la cámara, por tanto, la velocidad de secado aumenta y por el contrario el contenido de humedad del producto final disminuye (Shishir y Chen, 2017). El tamaño de partícula también se ve afectado ya que un aumento en la temperatura acelera la evaporación del agua, lo cual desarrolla las microesferas más rápido sin permitir una contracción adecuada y, por tanto, se obtienen partículas más grandes (Shishir y Chen, 2017). Los pigmentos y otros compuestos sensibles al calor también están influenciados por la temperatura de secado. En general, el contenido de compuestos sensibles al calor disminuye al aumentar la temperatura debido a la degradación térmica y oxidativa. Esto se ha demostrado en diferentes compuestos como betacianinas en polvo de pitaya (Tze *et al.*, 2012), licopeno y β -caroteno en polvo de sandía (Quek *et al.*, 2007), antocianinas en polvo de açai (Tonon *et al.*, 2008), vitamina C en polvo de guayaba (Patil *et al.*, 2014), licopeno en polvo de subproducto de puré de guayaba rosa (Kong *et al.*, 2010), polifenoles totales y actividad de eliminación de radicales libres en polvo de jugo de amla (Mishra *et al.*, 2014), contenido total de carotenoides y actividad antioxidante en polvo de jugo de arilo de fruta Gac (Kha *et al.*, 2010) y antocianinas y actividad antioxidante en polvo de zanahoria negra (Murali *et al.*, 2015).

Otros factores como la velocidad de alimentación y del aire de secado, así como las características de la atomización son consideradas menos relevantes en la encapsulación de pigmentos. Sin embargo, influyen en términos de requerimientos de energía, en el proceso de transferencia de calor y masa, tamaños de partícula, rendimientos y eficiencias de secado (Hong y Choi, 2007; Jumah *et al.*, 2000; Chegini y Ghobadian, 2007).



2.4.3 Influencia del agente acarreador en el proceso de secado por aspersion

El agente acarreador es uno de los factores más importantes en el proceso de encapsulación debido a que aumentan la temperatura de transición vítrea y el porcentaje de rendimiento además de reducir la pegajosidad e higroscopicidad del producto en polvo (Quek *et al.*, 2007).

La selección del agente acarreador depende de los objetivos del proceso y del comportamiento fisicoquímico del material a procesar. Los requerimientos que se consideran comúnmente consisten en que el material debe ser reconocido como seguro o “GRAS” (Generally Recognized as Safe), debe ser altamente soluble en agua, debe tener la capacidad de formar una película y producir una baja viscosidad en el sistema incluso a altas concentraciones (Labuschagne, 2018). Además, deben ofrecer cierta protección a compuestos sensibles del calor, el oxígeno, la luz y la humedad (Desai y Park, 2005).

Los agentes acarreadores más utilizados son básicamente polímeros de carbohidratos como almidones, hidrocoloides, celulosa; proteínas de suero, soya o caseína y lípidos como ceras, parafinas o grasas (ĐorCevic *et al.*, 2016; Labuschagne, 2018). Los carbohidratos son ampliamente utilizados para la encapsulación de ingredientes alimentarios debido a su capacidad para formar sólidos vítreos amorfos que proporcionan soporte al material de pared. Por su diversidad, bajo costo y uso diversificado en los alimentos, los convierte en la opción más elegida para la encapsulación (Augustin y Hemar, 2009; Madene *et al.*, 2006).

Los almidones hidrolizados mejoran la solubilidad, mantienen baja la viscosidad del sistema en altas proporciones además que facilitan el secado. Un ejemplo es la maltodextrina, oligosacárido formado por hidrólisis parcial del almidón de maíz con ácidos o enzimas y se suministra según el grado de polimerización (DP) que varía de 0 a 20 (I Ré, 1998; McCrae *et al.*, 2009). Otra alternativa interesante con menor aplicación es la inulina, fructooligosacárido obtenido comercialmente de la achicoria (Bakowska-Barczak y Kolodziejczyk, 2011). Además de su gran capacidad para la formación de pared, posee numerosos beneficios para la salud como efectos



prebióticos y promueve la absorción de minerales (Kaur y Gupta, 2002; Robert *et al.*, 2015). Se ha reportado que, debido a sus propiedades viscoelásticas, permite la formación de partículas más suaves y proporciona mayor estabilidad de almacenamiento a los activos encapsulados por su baja absorción de agua (Botrel *et al.*, 2014). Pese a sus múltiples ventajas, la mayoría de los carbohidratos no son tensioactivos por lo que su capacidad emulsificante es muy baja. Para compensar esta deficiencia, los carbohidratos pueden combinarse con otros materiales como la goma arábica y la proteína de suero, o bien, se pueden modificar químicamente con grupos hidrófobos como el anhídrido n-octenil succínico (OSA) (Augustin y Hemar, 2009; McCrae *et al.*, 2009; Sheu y Rosenberg, 1998).

Por otro lado, las proteínas y los aislados de proteínas se conforman por una amplia gama de grupos funcionales que les confieren propiedades hidrofílicas y, en consecuencia, excelentes capacidades de emulsificación. Siendo ideales para la disolución de ingredientes hidrofóbicos. Además, pueden formar películas estables arriba de los 70 °C haciéndolas útiles como matriz de encapsulación (Augustin y Hemar, 2009; Madene *et al.*, 2006, Bartkowiak *et al.*, 2017). La selección del tipo de proteína a utilizar depende de ciertos factores como: las características fisicoquímicas de la proteína (desnaturalización térmica, temperatura de transición vítrea, puntos isoeléctricos, sensibilidad a iones monovalentes o multivalentes), la susceptibilidad a enzimas específicas, enlaces químicos y/o reacciones de degradación (Estevinho y Rocha, 2018).

Las proteínas poseen algunas desventajas como altos costos y poca solubilidad en agua fría lo que se traduce en una mayor cantidad de agua a remover debido al bajo contenido de sólidos. Se ha reportado que el uso de proteína como único agente acarreador produce bajas eficiencias de encapsulación. Por tal motivo, es común mezclarlas con carbohidratos, donde la fracción proteica funciona como emulsificante y formador de película mientras que el carbohidrato como formador de la matriz (I Ré, 1998; Madene *et al.*, 2006).



2.4.4 Empleo de mezclas de polisacáridos y proteína como agentes acarreadores en la encapsulación de betalaínas mediante secado por aspersión

En lo que respecta a la encapsulación de betalaínas, muchas matrices como polisacáridos, proteínas o la combinación de estos, han sido utilizadas ya que se ha reportado que las protegen de la oxidación y de la alta solubilidad de la mayoría de los polisacáridos (Gandía-Herrero *et al.*, 2013; Robert *et al.*, 2015; Chranioti *et al.*, 2015; Otálora *et al.*, 2016).

La maltodextrina es un polisacárido proveniente de la hidrólisis del almidón y es de los materiales más utilizados para la encapsulación de betalaínas por su efecto positivo en la estabilidad de estos compuestos según lo reportado por Gandía-Herrero *et al.* (2013). Por lo tanto, su aplicación individual y en combinación con otros polisacáridos es recomendable. El trabajo de Ravichandran *et al.* (2014) sobre la encapsulación de betalaínas de betabel con maltodextrina y en mezclas con goma guar, goma arábica, goma xantana y pectina mostró un incremento significativo en la estabilidad. La maltodextrina también puede ser combinada con proteínas, tal es el caso del estudio de Robert *et al.* (2015) donde las betalaínas fueron encapsuladas con proteína de soya combinada con maltodextrina o inulina. Se observó una baja degradación de betalaínas en la matriz de proteína-maltodextrina que en la matriz de proteína-inulina y respecto a la estabilidad, los autores atribuyeron este comportamiento a las diferencias estructurales entre ambos polisacáridos.

A pesar de los avances alcanzados en la encapsulación de betalaínas con este tipo de técnicas, el efecto de la matriz en la estabilidad de las betalaínas sigue siendo el objetivo de estudio principal, por tanto, se ha reportado que las investigaciones futuras deberán ser dirigidas bajo el enfoque de las combinaciones de proteínas con polisacáridos considerando también el uso de productos novedosos (Castro-Enríquez *et al.*, 2020; Macías-Cortés *et al.*, 2019).

En respuesta a lo anterior expuesto, se propone el uso de almidones modificados como el almidón derivado de n-octenilsuccinato, el cual se obtiene tras la adición de un componente lipofílico que mejora su carácter anfifílico y, por tanto, su capacidad



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

emulsificante (Arburto *et al.*, 1998). El almidón OSA es considerado seguro y ha sido aprobado por la FDA para su empleo en la industria alimentaria y farmacéutica como material de pared (Bastos *et al.*, 2009).

El almidón ha sido aplicado en la encapsulación de sabores volátiles y su demanda ha incrementado por sus ventajas como: amplia disponibilidad, bajo costo y facilidad para ser modificado adquiriendo diversas propiedades (Wang *et al.*, 2015). Por su actividad emulsificante y su peso molecular, el almidón OSA permite la formación de películas más gruesas que otros materiales lo que resulta en una gran eficiencia de encapsulación. Además, no posee sabor propio por lo que no afecta el producto final (Borrmann *et al.*, 2013).

Respecto a la encapsulación de pigmentos y compuestos bioactivos, pocas investigaciones han sido desarrolladas. García-Tejeda *et al.* (2018), encapsularon antocianinas de maíz azul utilizando dos tipos de almidones de maíz, regular y ceroso, los cuales fueron modificados con octenil succínico anhídrido. Los resultados mostraron que el almidón de maíz regular modificado logró una mejor eficiencia de encapsulación. El estudio de Vargas-Campos *et al.* (2018) consistió en la encapsulación de betalaínas de pitaya mediante almidón de papa nativo modificado por succinilación y un almidón comercial. El desempeño del almidón modificado fue superior al almidón comercial ya que mostró un mejor potencial de pigmentación y mayor estabilidad. Investigaciones recientes proponen que mediante mezclas de acarreadores se pueden obtener mejores resultados, tal es el caso del estudio de Quirino-Lacerda *et al.* (2016) donde las micropartículas de pulpa de jussara producidas con mezclas de 2/3 de almidón OSA, 1/6 maltodextrina y 1/6 inulina mostraron una mayor retención del color, mayor contenido de antocianinas y actividad antioxidante.



III. JUSTIFICACIÓN

El uso de colorantes artificiales en la industria alimentaria ha permanecido como una práctica común, ya sea para mejorar la calidad visual del producto final, minimizar diferencias entre lotes de producción o recuperar pérdidas durante el procesamiento. No obstante, cada vez son más las tendencias inclinadas al consumo de productos naturales y libres de aditivos. Por tanto, en los últimos años, la industria alimentaria ha enfrentado el reto de desarrollar productos más saludables y al mismo tiempo, el proceso de productos ya existentes fue modificado de manera que su calidad nutricional sea incrementada y optando por ingredientes con propiedades funcionales como los pigmentos obtenidos de manera natural. La razón por la cual los consumidores rechazan el uso de los colorantes sintéticos, radica en que investigaciones han demostrado que el consumo de estos conlleva a afecciones como reacciones alérgicas, cáncer y desorden mental en niños, por lo que han sido regulados por organizaciones a nivel mundial. Ante este problema, se ha planteado el uso de colorantes metabolizados naturalmente como: clorofilas, antocianinas, carotenos y betalaínas provenientes de plantas y frutos. Particularmente, las betalaínas disponen de un amplio espectro de coloración y diversas propiedades biológicas como actividad antioxidante y antiinflamatoria que pueden beneficiar a la salud, además no afectan la calidad del producto final ya que no imparten sabor u olor. La principal desventaja de los pigmentos es su baja estabilidad ya que son propensos a factores ambientales como temperatura, luz, pH y oxígeno por lo que su aplicación en procesos industriales se ve limitada. Existen diferentes técnicas de encapsulación para proteger estos compuestos, sin embargo, el secado por aspersión es la más popular por su capacidad de procesar diferentes materiales a bajo costo y, respecto a las betalaínas, es la técnica más recomendada por sus altas eficiencias de encapsulación. Estudios sobre el impacto de las variables del proceso de secado en la estabilidad de betalaínas han sido desarrollados, concluyendo que la temperatura y el material de pared se encuentran entre las variables más determinantes, sugiriendo que las investigaciones futuras deben ser dirigidas a conocer las interacciones de las betalaínas con los componentes de la matriz de encapsulación con el objetivo de



incrementar su estabilidad. Estudios recientes sugieren que el empleo de mezclas de materiales de pared como carbohidratos y proteínas, representan ventajas en la retención de los compuestos bioactivos y rendimientos, por lo que su estudio es prometedor dependiendo del compuesto bioactivo que se desea conservar. Este enfoque se ha aplicado en algunos estudios utilizando maltodextrina, inulina y aislado de proteína para la encapsulación de betalaínas de betabel y de tuna, reportando altas eficiencias de encapsulación y una buena estabilidad de las betalaínas. Estudios más recientes se han enfocado en el empleo de materiales novedosos como el almidón derivado de n-octenilsuccinato (OSA), el cual se modifica mediante la adición de un grupo lipofílico mejorando su carácter anfifílico y su capacidad emulsificante. El almidón OSA, ya ha sido utilizado en la encapsulación de antocianinas de pulpa de jussara, en pulpa y el extracto de tuna, y, en el extracto de pitaya. Sin embargo, no existen reportes, acerca de su efecto en la encapsulación de betalaínas proveniente de jugo de pitaya combinada con otros materiales, como proteínas u otros carbohidratos. Dada la poca estabilidad de las betalaínas y su encapsulación a través de métodos de secado por aspersion, sujeto a temperaturas altas y expuesto a ambientes oxidantes, es conveniente evaluar el empleo de mezclas de agentes de pared como el almidón OSA con proteínas de suero de leche e inulina y determinar la efectividad individual y combinada de estos componentes, sobre la estabilidad, rendimientos y propiedades fisicoquímicas de los polvos encapsulados de jugo de pitaya.



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

IV. HIPÓTESIS

La encapsulación de jugo de pitaya (*Stenocereus stellatus*) mediante secado por aspersión utilizando mezclas de fructanos de agave, almidón modificado y concentrado de proteína de suero de leche como materiales de pared en proporciones óptimas presentará una mayor retención de pigmentos y otros compuestos bioactivos que los polvos encapsulados con materiales de pared en forma individual.



V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Preservar pigmentos provenientes de la fruta de pitaya (*Stenocereus stellatus*) mediante secado por aspersión a través de la optimización de mezclas de fructanos de agave, almidón modificado y concentrado de proteína de suero de leche como materiales de pared evaluando su impacto en las propiedades fisicoquímicas de los polvos.

5.2 Objetivos particulares

1. Caracterizar el jugo obtenido del fruto de pitaya.
2. Evaluar el efecto combinado de fructanos, almidón modificado y proteína como agentes acarreadores durante la encapsulación de jugo de pitaya mediante secado por aspersión en las propiedades físicas y químicas de los encapsulados.
3. Determinar la mezcla óptima de acarreadores que permita la mayor retención de betalaínas y otros compuestos bioactivos, así como, propiedades físicas que promuevan su estabilidad.
4. Verificar la mezcla óptima mediante una evaluación experimental determinando las propiedades físicas y químicas de los encapsulados.



VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Materiales

6.1.1 Obtención y caracterización de materia prima

Frutos de pitaya (*Stenocereus stellatus*) de la región de El Fuerte, Sinaloa fueron recolectados durante el periodo de temporada en el año 2019. Los frutos fueron lavados, desinfectados y procesados mediante un extractor para la obtención del jugo. El jugo fue centrifugado a 3,400 rpm por 6 min para remover el mucílago y los sólidos en suspensión, se almacenó en recipientes de un litro a una temperatura de -20 °C hasta su posterior análisis. A fin de caracterizar los frutos, una muestra de pulpa fue liofilizada para determinar el contenido de humedad, proteína, grasa, fibra cruda y cenizas de acuerdo con los métodos de la AOAC (1998). Adicionalmente, el jugo fue caracterizado en contenido de humedad, pH, sólidos solubles (°Bx) y acidez titulable, actividad antioxidante, contenido de polifenoles y betalaínas totales, quercetina, kaempferol, isorhamnetina, betacianinas y betaxantinas, dichos métodos se describen en la sección posterior.

6.1.2 Químicos y reactivos

DPPH, Trolox, Folin-Ciocalteu, carbonato de sodio, ácido gálico y estándares de quercetina, kaempferol e isorhamnetina fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Para las diferentes determinaciones analíticas se utilizaron solventes de grado analítico y HPLC de Sigma-Aldrich y J.T. Baker (Ciudad de México, México). Se obtuvo agua desionizada mediante un sistema de purificación (Barnstead; Thermo Scientific, Dubuque, IA, EUA). Metanol, ácido clorhídrico y fosfato monopotásico (KH_2PO_4) de grado analítico fueron obtenidos de J.T. Baker (Ciudad de México, México). Se utilizaron como materiales de pared: fructanos de agave (Agaven®, Guadalajara, Jalisco, México), almidón octenil succínico (OSA) (Ingredion®, Querétaro, Qro., México) y concentrado de proteína de suero de leche (PSL 80%) obtenido comercialmente en Servicios y Tecnología de Alimentos y Nutrición (Chihuahua, Chih., México).



6.2 Métodos

6.2.1 Preparación de las mezclas de jugo de pitaya y materiales de pared

Previo al proceso de secado, las mezclas de jugo y los materiales de pared fueron preparadas a un contenido de sólidos totales de 22.5% (peso/volumen) según las diferentes proporciones para cada tratamiento. Se vertieron 200 mL de jugo en un vaso de precipitado, se agregó el primer acarreador mezclando con un agitador magnético. Una vez incorporado, se agregaron 200 mL más de jugo y el siguiente acarreador y así sucesivamente hasta alcanzar 600 mL de volumen con los tres materiales de pared (fructanos, proteína, almidón OSA) siguiendo el mismo procedimiento en cada tratamiento. Finalmente, la mezcla se homogeneizó mediante un Ultra-Turrax IKA T-18 con una herramienta de dispersión S18N-19G (IKA Works, Inc., Wilmington, NC, EUA) por 15 min.

6.2.2 Secado por aspersión

Las mezclas homogenizadas fueron deshidratadas utilizando un secador por aspersión Niro A/S DK-2860 2001 (GEA Company, Soeberg, DK) acondicionado a una temperatura de entrada de 160 °C y 85 °C de temperatura de salida a 0.7 bar de presión de aire. Los polvos encapsulados obtenidos fueron almacenados en frascos de vidrio con sellado hermético y en la oscuridad hasta su posterior análisis. Dichos encapsulados fueron analizados en sus propiedades físicas: densidad aparente, color (L^* , a^* , b^* , $Croma^*$, Hue° y ΔE), contenido de humedad, actividad de agua, índice de absorción y solubilidad en agua, higroscopicidad y temperatura de transición vítrea; químicas: contenido total de betalaínas e individuales por HPLC, polifenoles totales, actividad antioxidante, flavonoides individuales y propiedades morfológicas por microscopía electrónica de barrido.



6.2.3 Caracterización fisicoquímica de los encapsulados de pitaya

6.2.3.1 Análisis físicos

pH

La determinación del pH se siguió el método 981.12 de la AACC (2000). Se utilizó un potenciómetro (Hanna Instruments, modelo EDGE HI2020, RI, EUA) previamente calibrado a pH 4 y 7 con soluciones buffer estándar. Se introdujo el electrodo en la muestra y se tomó la lectura del pH. Esta determinación se hizo por triplicado.

Determinación de sólidos solubles

El contenido de sólidos solubles (°Brix) de la pulpa y el jugo de pitaya se determinó mediante el método 932.12 de la AACC (2000). Se realizó por índice de refracción, usando un refractómetro Atago Abbe (Tokio, Japón), a una temperatura de 25 °C. Este se ajustó previamente a 0 °Brix con agua desionizada a 25 °C. Se colocó una gota de la muestra en la cámara del refractómetro a temperatura ambiente (25 °C) y se realizó la lectura por triplicado.

Determinación de humedad

El contenido de humedad de polvos encapsulados se determinó gravimétricamente por secado en estufa de vacío a 70 °C durante 24 h hasta peso constante, de acuerdo con el método 925.098 de la AOAC (1998).

Actividad de agua

La actividad de agua (a_w) de los encapsulados de pitaya se determinó usando un medidor de actividad de agua AquaLab Serie 3 (Decagon Devices Inc., Pullman, EUA), previamente calibrado.

Densidad aparente

Para la determinación de la densidad aparente (DA), de los polvos se utilizó el método reportado por Mahdavi *et al.* (2016) con ligeras modificaciones. Se pesaron 2 g de muestra en una probeta graduada de 10 mL. La probeta fue golpeada ligeramente y la



densidad aparente fue calculada como la relación entre la masa (g) del polvo contenido en la probeta y el volumen ocupado (cm^3).

Índice de absorción en agua

El índice de absorción de agua (IAA), se determinó conforme al método descrito por Anderson *et al.* (1969). Se pesaron 1.250 g de polvo y se suspendieron en 15 mL de agua destilada a 30 °C en un tubo para centrífuga con rosca previamente tarado. La suspensión se agitó en vórtex por un minuto y se centrifugó a $3200 \times g$ en una centrífuga (Thermo IEC modelo CL3-R, EUA) durante 10 min a 25 °C. El sobrenadante se vertió cuidadosamente en una cápsula de porcelana previamente tarada y se pesó el sedimento formado en el tubo de la centrífuga. Lo anterior se realizó por triplicado. El IAA se calculó como el peso del sedimento después de la eliminación del sobrenadante entre el peso de la muestra.

Índice de solubilidad en agua

El índice de solubilidad en agua (ISA), representa el porcentaje de materia seca recuperada después de evaporar el sobrenadante correspondiente a la determinación del índice de absorción de agua. El ISA fue determinado utilizando como referencia el método reportado por Anderson *et al.* (1969); el sobrenadante se vertió en una cápsula de porcelana a peso constante, posteriormente se secó en una estufa (Fisher Scientific, EUA) a 70 °C por 36 h y se pesó. Lo anterior se realizó por triplicado y el ISA se calculó como el porcentaje del peso de los sólidos secos del sobrenadante entre los sólidos secos de los encapsulados (muestra).

Higroscopicidad

La higroscopicidad de los encapsulados fue determinada de acuerdo al método propuesto por Quirino-Lacerda *et al.* (2016) con algunas modificaciones. Se pesaron aproximadamente 500 mg de polvo en cápsulas de aluminio a peso constante, las cuales se colocaron en un recipiente de plástico hermético con una solución saturada de NaCl (75% de humedad relativa) a 25 °C. Después de 1 semana, las muestras



fueron pesadas y la higroscopicidad fue expresada como g de humedad adsorbida por 100 g de sólidos secos (g/100 g ss).

Parámetros de color

El color de los polvos encapsulados de pitaya fue medido usando un colorímetro de reflectancia triestímulo portátil Konica Minolta CR-400/410 (Minolta Co., Osaka, Japón), éste se calibró previamente con una placa blanca estándar de cerámica ($X=94.9$, $y=0.3185$, $x=0.3124$). Se determinaron los parámetros de color L^* , a^* y b^* donde L^* es referente a la luminosidad o brillantez (0 = negro y 100 = blanco), a^* va del verde al rojo ($+a^*$ = rojo; $-a^*$ = verde) y b^* va del azul al amarillo ($+b^*$ = amarillo; $-b^*$ = azul). Se realizaron 15 disparos de medición para cada tratamiento. Con estos valores se calculó el ángulo Hue°, cromat* y la diferencia total de color (ΔE).

El ángulo hue°, indica la percepción del color de la muestra y se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\text{Hue}^\circ = \arctan (b^*/a^*) \quad (1)$$

En el círculo cromático, los valores de hue° pueden variar de 0° a 360° (rojo) a través de un círculo de matiz de desvanecimiento continuo, cuyos otros valores de referencia son 90° (amarillo), 180° (verde) y 270° (azul).

El valor de cromat* indica la pureza o saturación del color, el cual se determinó usando la siguiente ecuación:

$$\text{Croma}^* = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad (2)$$

La diferencia total de color (ΔE) se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\Delta E = [(L^*_0 - L^*)^2 + (a^*_0 - a^*)^2 + (b^*_0 - b^*)^2]^{1/2} \quad (3)$$

donde ΔE es la diferencia total de color entre el color del jugo y de los encapsulados; L^*_0 , a^*_0 y b^*_0 son los valores de L^* , a^* y b^* del jugo con la adición de los materiales de pared previo al secado por aspersión. A cada encapsulado se le restó su correspondiente mezcla inicial con las diferentes proporciones de acarreador utilizadas. Los valores colectados, fueron promediados y expresados con la media \pm desviación estándar.



Temperatura de transición vítrea

El análisis térmico se realizó a través de la determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g), siguiendo el método descrito por Ahmed *et al.* (2010). Para esto se utilizó un calorímetro diferencial de barrido TA Instruments (TA Q-2000, Crawley, Reino Unido). Se pesaron de 5 mg de polvo encapsulado en una celda de aluminio de 40 μ L, la cual se selló herméticamente. Una celda vacía se usó como referencia para todas las mediciones. El programa de barrido de temperatura fue desde 0 °C a 120 °C, seguido de un enfriamiento hasta 30 °C, con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min y presión de una atmósfera de gas argón. Los termogramas fueron analizados usando el programa Universal Analysis (TA Instruments). La temperatura de transición vítrea se interpretó como el punto medio de las curvas obtenidas. Cada determinación se realizó por duplicado y se obtuvo un valor promedio para cada muestra.

6.2.3.2 Microscopía electrónica de barrido

La morfología de los polvos encapsulados de jugo de pitaya fue analizada por microscopía electrónica de barrido mediante un microscopio electrónico de barrido (JSM-5800 LV; JEOL, Tokio, Japón). Los encapsulados fueron fijados en talones SEM con cinta adhesiva de doble cara para cada uno de los tratamientos. Luego, se obtuvieron las imágenes de cada tratamiento con una magnificación de 1000x a 15 kV en bajo vacío. Además de los tratamientos del diseño experimental, se analizaron los controles, es decir, los polvos obtenidos con cada uno de los acarreadores de manera individual con el objetivo de hacer comparaciones y analizar el comportamiento de cada material.

6.2.3.3 Análisis químicos

Preparación de extracto para la cuantificación de polifenoles totales y actividad antioxidante

Los extractos utilizados para la determinación del contenido total de polifenoles y la actividad antioxidante se prepararon según el procedimiento descrito por Vergara *et*



al. (2014) con algunas modificaciones. Los polvos de pitaya (500 mg) se dispersaron en 10 mL de metanol: ácido acético: agua (50:8:42 v/v/v), y luego se agitaron en vórtex durante 1 min, se colocaron en un baño de ultrasonido (Branson 1800, EUA) durante 20 min y luego se centrifugaron a $3000 \times g$ durante 5 min en una centrífuga Centra (CL3R IEC; Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, EUA). Los sobrenadantes se recolectaron y luego se almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su posterior análisis.

Cuantificación de polifenoles totales

El contenido total de polifenoles (PT) se determinó siguiendo el método de Folin-Ciocalteu de Singleton y Rossi (1965) con algunas modificaciones. Se preparó una mezcla de 3 mL de agua desionizada, 30 μL de extracto, 200 μL de reactivo Folin-Ciocalteu y 600 μL de una solución de carbonato de sodio al 20%. Las mezclas se agitaron durante 10 s y luego se incubaron en un baño de agua a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 min. La reacción se detuvo usando un baño frío y la absorbancia se midió a 760 nm usando un espectrofotómetro Lambda 25 UV-Vis (Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA). Las mediciones se realizaron por triplicado utilizando una curva de calibración estándar de ácido gálico. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de polvo \pm desviación estándar.

Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante (AA) se determinó siguiendo el método descrito por Kuskoski *et al.* (2005) basado en la medición de la absorbancia del radical DPPH*. Primero, se colocaron 3.9 mL de una solución 100 μM del radical DPPH en tubos de ensaye, se agregaron 100 μL de muestra y se agitó por 10 s. Posteriormente, se almacenó en oscuridad durante 3 h, tiempo en el que se logra la inhibición completa del radical según otros estudios. Una vez transcurrido el tiempo, se midió la absorbancia a 517 nm usando un espectrofotómetro Lambda 25 UV-Vis (Perkin Elmer). Se utilizó una curva de calibración a partir de Trolox. Las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como μmol equivalente de Trolox (ET)/100 g de polvo \pm desviación estándar.



Preparación del extracto para la cuantificación de flavonoides

Para la determinación de agliconas de flavonoides se realizó una hidrólisis ácida siguiendo el método descrito por Kuti *et al.* (2004) con algunas modificaciones. Los extractos se obtuvieron incorporando 2.5 g de polvo encapsulado con 25 mL de metanol mediante vórtex durante 1 min, se aplicó un tratamiento ultrasónico (Branson 1800, EUA) durante 20 min y se centrifugaron a $3000 \times g$ durante 5 min en una Centrífuga Centra (CL3R IEC; Thermo Electron Corporation). El sobrenadante se filtró a través de un filtro de polietileno con poros de $0.22 \mu\text{m}$ (Millipore Corp., Bedford, MA, EUA) y se lavó con metanol al 50%. Los extractos se concentraron en rotavapor a 40°C y 250 rpm por 15 min hasta obtener un líquido viscoso. Posteriormente, los extractos se transfirieron a tubos que contenían una solución de ácido clorhídrico 1 N en metanol al 50% en un baño de agua a 90°C durante 30 min. Las muestras de jugo recibieron el mismo procedimiento con una solución de ácido clorhídrico 12 N.

Cuantificación de flavonoides individuales por HPLC

La cuantificación de flavonoides se realizó utilizando un UHPLC Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 equipado con un detector de diodos y UV visible (Thermo Scientific Dionex, Sunnyvale, California, EUA). La separación se realizó con una columna nucleósil de fase reversa Thermo Scientific Diosnex C18 ($5 \mu\text{m}$, $150 \times 4.6 \text{ mm}$). La identificación de los flavonoides se basó en el tiempo de retención de los estándares quercetina, kaempferol e isorhamnetina siguiendo el método descrito por Kuti *et al.* (2004). La cuantificación se realizó a 370 nm utilizando agua acidificada con ácido fosfórico a pH 2.4 (Disolvente A) y acetonitrilo al 100% (Disolvente B) como disolventes de elución a una velocidad de flujo de 1 mL/min con un volumen de inyección de $20 \mu\text{L}$. Los resultados se expresaron en mg de quercetina, kaempferol o isorhamnetina/100 g de polvo \pm desviación estándar.

Preparación del extracto para la determinación de betalaínas totales

La determinación de betalaínas se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Castellanos y Yahia (2008) con algunas modificaciones. Se pesaron 500 mg de



encapsulado y se dispersaron en 10 mL de agua destilada. La mezcla se agitó en vórtex por 1 min, seguido de un baño ultrasónico (Branson 1800, EUA) con potencia variable por 20 min y se centrifugó a 4,200 rpm a 10 °C por 5 min en una centrífuga IEC Centra CL3R (Thermo Electron Corporation, EUA); los sobrenadantes se filtraron, en un filtro de nylon de 0.45 µm (Millipore Corp., Bedford, MA, EUA). Los extractos fueron analizados por espectrofotómetro y por HPLC.

Quantificación de betalaínas

Antes de la cuantificación se realizó un barrido para obtener el espectro de absorbancia (Anexo 1), en un rango de 300-600 nm en un espectrofotómetro Perkin-Elmer (modelo Lambda 25 UV/VIS, EUA). Con los resultados obtenidos se procedió a realizar la cuantificación de acuerdo a Castellanos y Yahia (2008) aplicando la siguiente ecuación:

$$B \left(\frac{mg}{g} \right) = \frac{A(DF)(MW)Vd}{\epsilon LWd} \quad (4)$$

donde A es la absorción a 535 nm para betacianinas (BTC) y 483 nm para betaxantinas (BTX); DF es el factor de dilución; Vd es el volumen de la solución (mL); Wd es el peso del producto deshidratado (g); L es longitud de la celda (1 cm); MW y ϵ son el peso molecular y el coeficiente de absorción molar [Betacianina = 550 g/mol; ϵ = 60 000 L/(mol cm) en agua y Betaxantina ϵ = 48 000 L/(mol cm)]. La determinación se realizó por triplicado y los resultados se expresaron en mg de BTC o BTX/g.

Retención de betalaínas individuales por HPLC

La determinación de betalaínas por HPLC se realizó de acuerdo al método de Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2014). Se utilizó un UHPLC Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 equipado con un detector de matriz de diodos, un UV visible (Thermo Scientific Dionex, Sunnyvale, California, EUA) y una columna nucleosil de fase inversa Thermo Scientific Diosnex C18 (5 µm, 150 × 4.6 mm). La muestra (20 µL) se inyectó con un sistema de solventes de MeOH/KH₂PO₄ 0.05 M a pH 2.75 ajustado con ácido fosfórico como fase móvil A y la fase móvil B fue metanol grado HPLC. El gradiente comenzó usando 100% A y terminó con 80% A y 20% B después de 20 min a una velocidad de flujo de 1



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

mL/min. La detección se realizó a 481 y 536 nm para betaxantinas y betacianinas, respectivamente. Las determinaciones se realizaron por duplicado y se reportaron como retención (%) calculada usando la siguiente ecuación:

$$\text{Retención (\%)} = \frac{A}{A_0} \times 100 \quad (5)$$

donde A es el área de la muestra y A_0 es el área obtenida de la muestra de jugo de pitaya.

6.2.3.4 Diseño experimental

Se utilizó un diseño de mezclas D-optimal para evaluar el efecto de fructanos (X_1), proteína de suero de leche (X_2) y almidón OSA (X_3) utilizando el software Design-Expert 12 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, EUA). Se realizaron pruebas preliminares para definir las proporciones de los componentes resultando en las siguientes restricciones: $0 \geq X_1 \leq 50$, $10 \geq X_2 \leq 90$ y $10 \geq X_3 \leq 90$. La Tabla 1 muestra los factores, niveles y el diseño experimental en términos codificados y no codificados. El modelo estadístico consta de 16 tratamientos (6 puntos del modelo, 5 puntos para la falta de ajuste y 5 réplicas elegidas al azar). Además, se realizaron tres tratamientos adicionales como controles para cada uno de los acarreadores. Las respuestas fueron analizadas utilizando el modelo polinomial de Scheffé:

$$Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon \quad (6)$$

Tabla 1. Componentes de las mezclas ^a de agentes acarreadores preparadas acorde al diseño de mezclas D-optimal.

Mezclas	Valores codificados			Valores no codificados (proporciones de agentes acarreadores)		
	X ₁	X ₂	X ₃	Fructanos (%)	Proteína de suero (%)	Almidón OSA (%)
1	0.500	0.397	0.103	50.0	39.7	10.3
2	0.000	0.100	0.900	0.0	10.0	90.0
3	0.000	0.500	0.500	0.0	50.0	50.0
4	0.436	0.100	0.464	43.6	10.0	46.4
5	0.000	0.900	0.100	0.0	90.0	10.0
6	0.247	0.653	0.100	24.7	65.3	10.0
7	0.157	0.224	0.619	15.7	22.4	61.9
8	0.330	0.684	0.283	3.3	68.4	28.3
9	0.275	0.378	0.347	27.5	37.8	34.7
10	0.493	0.232	0.275	49.3	23.2	27.5
11	0.000	0.249	0.751	0.0	24.9	75.1
12	0.247	0.653	0.100	24.7	65.3	10.0
13	0.000	0.900	0.100	0.0	90.0	10.0
14	0.000	0.100	0.900	0.0	10.0	90.0
15	0.500	0.397	0.103	50.0	39.7	10.3
16	0.436	0.100	0.464	43.6	10.0	46.4

^aCada mezcla se preparó a un contenido de sólidos secos de 22.5 % (p/v) para un volumen de 600 mL.

Donde Y es la respuesta estimada, $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$ y β_{123} , son los coeficientes para cada término lineal y de interacción obtenidos de los modelos de predicción y ε es el error. El análisis se realizó utilizando las unidades no codificadas. La designación de los puntos experimentales, aleatorización, ajuste del modelo a través de regresión no lineal, optimización del proceso y las representaciones gráficas se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico de Design-Expert 12 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, EUA). Así como el análisis de varianza (ANOVA), para determinar si los factores tuvieron un efecto en los parámetros estudiados utilizando un nivel de significancia menor a 0.05. Las variables de respuesta se expresaron como medias \pm desviación estándar (DE). Adicionalmente, se realizó un análisis de correlación entre las respuestas que presentaron comportamientos similares y un análisis de cordilleras



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
para determinar los puntos críticos del modelo mediante el software JMP (SAS Institute Inc., Carolina del Norte, EUA).

6.2.3.5 Verificación experimental

Una vez realizado el análisis estadístico, la condición óptima de la mezcla de acarreadores fue verificada. Para ello, se preparó la mezcla con las cantidades necesarias de fructanos, proteína de suero y de almidón OSA con el jugo de pitaya siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Posteriormente, se llevó a cabo el proceso de secado bajo las mismas condiciones experimentales.

Esto se realizó por triplicado. Una vez obtenidos los polvos, se evaluaron las propiedades fisicoquímicas y se compararon con los valores estimados por el modelo matemático ajustado, determinando el error relativo, como un indicador de ajuste del modelo propuesto.

**VII. RESULTADOS Y DISCUSION****7.1 Caracterización fisicoquímica del jugo de pitaya**

El jugo de pitaya utilizado como materia prima en el proceso de encapsulación fue caracterizado en sus propiedades fisicoquímicas las cuales se muestran en la Tabla 2. El jugo de pitaya, resultó con un contenido de sólidos solubles de 12.20 ± 0.0001 y sólidos secos de 13.24 ± 0.09 , con un pH fue de 4.7 ± 0.0001 , el cual es ligeramente ácido, pero se encuentra en el rango para mantener la estabilidad de las betalaínas.

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas del jugo de pitaya (*Stenocereus stellatus*).

Determinación	Contenido ^a
Sólidos solubles totales (°Bx)	12.20 ± 0.001
pH	4.70 ± 0.001
Contenido de humedad (%)	86.76 ± 0.09
Betacianinas (mg BTC/g b.s.)	0.35 ± 0.03
Betaxantinas (mg BTX/g b.s.)	1.31 ± 0.06
Polifenoles totales (mg EAG/100 g b.s.)	679.25 ± 13.47
Actividad antioxidante ($\mu\text{mol ET/g b.s.}$)	139.98 ± 5.20
Isorhamnetina (mg/100 g b.s.)	1.12 ± 0.03
Quercetina (mg /100 g b.s.)	1.07 ± 0.03
Kaempferol (mg /100 g b.s.)	2.36 ± 0.03

^aMedias \pm DE. EAG: equivalentes de ácido gálico; ET: equivalente de trolox; b.s.: base seca.

Respecto al contenido de betalaínas, el jugo presentó 0.35 mg/g base seca (b.s.) de BTC y 1.308 mg/g b.s. de BTX. En el estudio de Pérez-Loredo *et al.* (2016) para la misma variedad de pitaya, se reportan 1.46 y 1.51 mg/g b.s. para betacianinas y betaxantinas, respectivamente. Estos valores fueron mayores que los obtenidos en este estudio, siendo más notorio en el contenido de betacianinas. Esto puede deberse a que el jugo utilizado como materia prima fue obtenido, en su mayoría, de pitayas amarillas las cuales poseen un mayor contenido de betaxantinas. De manera similar, García-Cruz *et al.* (2013) reportaron mayor contenido en ambos pigmentos ($3.21 \text{ mg BTX/g b.s.}$ y $2.86 \text{ mg BTC /g b.s.}$). Las diferencias entre estos resultados pueden ser debido al grado de madurez de las frutas o bien por el proceso de extracción de los pigmentos, ya que en los estudios citados la pulpa y las semillas fueron incluidas en la extracción, mientras que en este estudio únicamente se utilizó el jugo. Así, los valores reportados son similares a los obtenidos por Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2014) para tuna



(*Opuntia ficus indica*) donde la pulpa y la semilla fueron removidas para la obtención del extracto (1.71 y 0.68 mg/g de betacianinas y betaxantinas, respectivamente).

El jugo de pitaya presentó un contenido de polifenoles de 679.25 mg EAG/100 g b.s el cual es mayor a los reportado por Kim *et al.* (2011) con un contenido de 491 mg EAG/100 g y por Pérez-Loredo *et al.* (2016), quienes evaluaron muestras de pitaya (*Stenocereus stellatus*) de diferentes colores y reportaron contenidos de 372 a 579 mg EAG/100 g. La actividad antioxidante determinada en el jugo de pitaya fue de 791.54 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g b.s.}$ Este valor es ligeramente menor a los de pulpa de pitaya reportados por Beltrán-Orozco *et al.* (2009) con un contenido de 1100 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ y por García-Cruz *et al.* (2017) con 921 $\mu\text{mol ET}/100$. En contraste, es mayor que el del jugo de tuna (6.36 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g b.s.}$) y de un extracto de maíz azul (93.57 $\mu\text{mol ET}/\text{g b.s.}$) reportado por Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2014) y Sánchez-Madriral *et al.* (2019), respectivamente.

En este estudio se identificaron y cuantificaron los flavonoides isorhamnetina, quercetina y kaempferol; resultando en contenidos de 1.12 mg/100 g b.s., 1.06 mg/100 g b.s. y 2.36 mg/100 g b.s., respectivamente. Los contenidos de quercetina y kaempferol fueron mayores a los reportados por García-Cruz *et al.* (2017) en pitaya roja de la misma variedad con contenidos de 0.709 y 0.350 mg/100 g b.s mientras que la isorhamnetina se reportó como no detectable.

7.2 Propiedades físicas de los encapsulados de jugo de pitaya

Los resultados de las propiedades físicas evaluadas: contenido de humedad, actividad de agua, densidad aparente, higroscopicidad, ISA, IAA, y temperatura de transición vítrea se muestran en la Tabla 3.

El análisis de varianza mostró que el modelo tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) para las respuestas de densidad aparente e ISA, mientras que los agentes acarreadores en sus términos lineales afectaron de manera significativa ($p < 0.05$) los valores de densidad aparente, ISA, contenido de humedad e higroscopicidad de los polvos (Tabla 4).

Tabla 3. Propiedades físicas de los encapsulados de pitaya (*Stenocereus stellatus*) con diferentes proporciones de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.

Mezcla	DA (g/mL)	IAA	ISA	H (%)	aw	HIG (%)	Tg (°C)
1	0.5600 ± 0.010	0.2653 ± 0.012	1.4449 ± 0.030	2.70 ± 0.108	0.054 ± 0.004	31.6398 ± 0.217	38.53 ± 0.07
2	0.6772 ± 0.019	0.2335 ± 0.043	0.9960 ± 0.008	1.00 ± 0.122	0.055 ± 0.007	31.6121 ± 0.751	36.21 ± 0.02
3	0.6273 ± 0.003	0.3866 ± 0.028	0.9694 ± 0.013	1.20 ± 0.223	0.047 ± 0.014	30.8901 ± 0.192	38.79 ± 0.05
4	0.6475 ± 0.002	0.3892 ± 0.024	0.9817 ± 0.003	1.80 ± 0.106	0.048 ± 0.006	32.9829 ± 1.079	40.73 ± 0.95
5	0.5173 ± 0.013	0.3897 ± 0.001	0.9508 ± 0.010	1.30 ± 0.368	0.047 ± 0.001	30.2892 ± 0.019	40.35 ± 0.14
6	0.5379 ± 0.017	0.3816 ± 0.021	0.9448 ± 0.007	1.40 ± 0.156	0.048 ± 0.001	32.0069 ± 0.312	40.34 ± 0.23
7	0.6684 ± 0.001	0.3421 ± 0.008	0.6823 ± 0.459	0.70 ± 0.127	0.050 ± 0.001	31.7216 ± 1.491	41.27 ± 0.26
8	0.5285 ± 0.001	0.3207 ± 0.009	0.9482 ± 0.010	2.60 ± 0.049	0.051 ± 0.001	30.5012 ± 0.676	41.70 ± 0.53
9	0.6267 ± 0.001	0.5316 ± 0.024	0.9509 ± 0.027	2.40 ± 0.474	0.054 ± 0.002	31.2762 ± 0.709	34.58 ± 0.67
10	0.5904 ± 0.001	0.5749 ± 0.044	0.9399 ± 0.005	2.50 ± 0.396	0.058 ± 0.002	31.5726 ± 0.289	34.74 ± 0.36
11	0.6681 ± 0.001	0.4220 ± 0.027	0.9228 ± 0.083	1.80 ± 0.275	0.051 ± 0.003	30.3463 ± 0.401	42.69 ± 0.79
12	0.5684 ± 0.019	0.3435 ± 0.012	0.9712 ± 0.344	1.51 ± 0.354	0.094 ± 0.002	30.9342 ± 0.304	41.53 ± 0.55
13	0.5010 ± 0.012	0.5165 ± 0.017	0.9540 ± 0.364	1.51 ± 0.134	0.078 ± 0.005	28.5403 ± 0.553	40.41 ± 0.10
14	0.6680 ± 0.027	0.4388 ± 0.026	0.9903 ± 0.252	1.60 ± 0.120	0.087 ± 0.004	30.0802 ± 0.388	37.14 ± 0.69
15	0.6261 ± 0.001	0.3740 ± 0.019	1.5333 ± 0.247	2.80 ± 0.240	0.065 ± 0.001	31.2667 ± 0.705	37.04 ± 0.64
16	0.6269 ± 0.001	0.3674 ± 0.011	0.9805 ± 0.367	2.40 ± 0.156	0.060 ± 0.007	30.6984 ± 1.659	40.26 ± 0.85

Medias ± DE. DA: densidad aparente; ISA: índice de solubilidad en agua; ISA: índice de absorción de agua; H: contenido de humedad; aw: actividad de agua; HIG: higriscopacidad; Tg: temperatura de transición vítrea.



En adición el término de interacción de fructanos con almidón OSA (AC) también mostró un efecto negativo y significativo ($p < 0.05$) en el índice de solubilidad (Tabla 4). El modelo se ajustó de manera aceptable para las respuestas de densidad aparente e ISA describiendo la variabilidad de los datos en un 88.9% y 83.2%, respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis de varianza de las propiedades físicas de los encapsulados de pitaya (*Stenocereus stellatus*) con diferentes proporciones de fructanos, proteína de suero de leche y almidón OSA como materiales de pared.

Fuente	Suma de Cuadrados							
	GL	DA	ISA	IAA	H	aw	HIG	Tg
Modelo	5	0.0473*	0.505*	0.052	3.98	0.001	8.47	64.38
Mezcla lineal	2	0.0456*	0.179*	0.003	2.76*	0.000	6.50*	13.94
AB	1	0.0005	0.017	0.024	0.682	0.000	1.51	26.26*
AC	1	0.0001	0.079*	0.013	0.811	3.9×10^{-6}	1.11	39.41*
BC	1	0.0007	0.0001	0.002	0.161	0.001	0.338	7.56
ABC	1	0.000	0.0105	0.036	0.158	2.91×10^{-6}	0.229	41.08*
Residual	10	0.0059	0.102	0.008	2.50	0.002	6.43	30.91
Falta de ajuste	5	0.0029	0.098*	0.036	2.10*	0.000	0.476	28.54*
Error	5	0.003	0.004	0.036	0.393	0.002	5.96	2.37
R²		0.889	0.832	0.418	0.615	0.267	0.568	0.676

*Significancia ($p < 0.05$). A: fructanos; B: proteína; C: almidón OSA; GL: grados de libertad; DA: densidad aparente; ISA: índice de solubilidad en agua; IAA: índice de absorción de agua; H: contenido de humedad; aw: actividad de agua; HIG: higroscopicidad; Tg: temperatura de transición vítrea.

Tabla 5. Coeficientes de regresión del modelo polinomial ajustado para las propiedades físicas de los encapsulados de pitaya.

Coefficientes	DA	ISA	IAA	H	aw	HIG	Tg
β_1	0.511*	3.34*	0.949	9.32*	-0.196	25.66*	9.84
β_2	0.463*	0.934*	0.481	1.37*	13.74	28.99*	39.01
β_3	0.687*	0.973*	0.356	0.972*	7.92	30.58*	35.9
β_{12}	0.316	-1.95	-2.30	-12.1	26.83	18.10	75.6*
β_{13}	0.156	-4.25*	-1.74	-13.6	22.53	15.87	94.8*
β_{23}	0.158	0.068	-0.249	2.43	2.15	3.51	16.6
β_{123}	-0.182	-5.77	10.67	22.36	-75.95	-26.92	360.9*

*Significancia ($p < 0.05$). DA: densidad aparente; ISA: índice de solubilidad en agua; IAA: índice de absorción de agua; H: contenido de humedad; aW: actividad de agua; HIG: higroscopicidad; Tg: temperatura de transición vítrea.



7.2.1 Contenido de humedad

Generalmente, el contenido de humedad de los polvos producidos mediante secado por aspersión se encuentra por debajo del 5%, de forma que pueden clasificarse como microbiológicamente seguros, además, de ser estables durante el almacenamiento (Tontul y Topuz, 2017). El contenido de humedad de los polvos obtenidos en este estudio varió de 0.7 a 2.8% (Tabla 3). El análisis de varianza en la Tabla 4, muestra que los agentes acarreadores tuvieron un efecto significativo en sus términos lineales ($p < 0.05$) donde las mezclas con mayor proporción de fructanos dieron lugar a los polvos con mayor humedad (Figura 5a), este comportamiento se observa en las zonas coloreadas en naranja mostrando como los valores se incrementan a medida que la proporción de fructanos es mayor. Esta tendencia pudo deberse a la propiedad higroscópica de los fructanos; por tanto, a medida que estos aumentan en la composición de los encapsulados, la afinidad entre los grupos hidrofílicos de los fructanos y el agua es mayor, incrementando el contenido de humedad (de Barros-Fernandes *et al.*, 2014). Estos resultados coinciden con lo reportado en diferentes estudios de encapsulación con fructanos. Tal es el caso de Barros-Fernandes *et al.*, (2014) quienes encapsularon aceite esencial de romero utilizando diferentes acarreadores, los polvos obtenidos presentaron mayor contenido de humedad al incrementar la inulina. Una tendencia similar se reportó tras la encapsulación de tuna (*Opuntia ficus-indica*) cuando se empleó inulina como agente acarreador (Saénz *et al.*, 2009). En contraste, los polvos que presentaron menor humedad fueron producidos con altas proporciones de almidón OSA. Esto puede observarse en la Figura 5a, donde las áreas coloreadas en azul corresponden a los contenidos de humedad más bajos. Según el estudio de Puerta-Gómez y Castell-Pérez (2015), la absorción del agua se reduce según el nivel de modificación del almidón con ácido octenilsuccínico incrementando la estabilidad del producto. Por este motivo, materiales de este tipo pueden ser adecuados para la encapsulación de compuestos bioactivos. Esto coincide con los resultados de Merhan *et al.* (2020) y Souza *et al.* (2018) en la encapsulación de antocianinas y de licopeno, respectivamente, donde se reportó que al incrementar

las proporciones de almidón modifico los contenidos de humedad de los polvos fueron mayores.

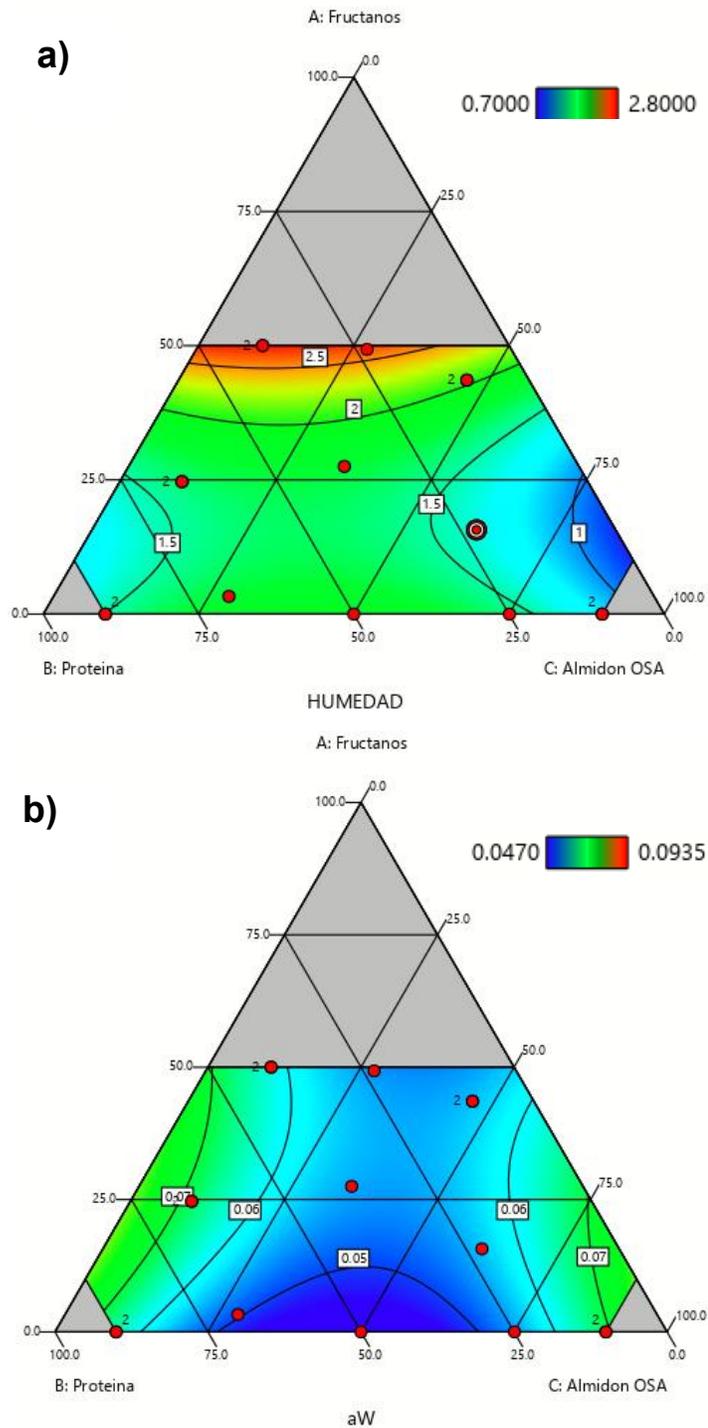


Figura 5. Superficie de respuesta mostrando el efecto de los distintos materiales de pared en el contenido de humedad (a) y la actividad de agua (b) de los encapsulados de pitaya.



En lo que respecta a las mezclas con altas proporciones de proteína, los polvos producidos presentaron contenidos de humedad ligeramente altos (1.3 - 2.6) lo cual puede ser por el carácter higroscópico de la proteína, que, si bien es menor que el de los fructanos, influyó en la retención del contenido de humedad en los polvos. En estudios de encapsulación de jugo de betabel empleando concentrado de proteína como agente acarreador se han reportado (Bazaria y Kumar, 2016) contenidos de humedad ligeramente más elevados (2.81 y 4.37%), que los encontrados en este estudio, atribuido a la alta higroscopicidad de la proteína que tuvo un mayor efecto al ser utilizada como único material de pared.

De manera general, la humedad de los encapsulados fue menor al 5%, lo que significa que son seguros y estables al almacenamiento. Además, estudios reportan que las condiciones del proceso de secado son más determinantes que los materiales de pared en los contenidos de humedad (Soottitantawat *et al.*, 2005).

7.2.2 Actividad de agua

Si bien se sabe que el agua actúa como medio para las reacciones químicas y biológicas, el contenido de agua en el material de pared no es el único indicador de la posible actividad biológica del sistema. A valores bajos de a_w el agua es fuertemente atraída por los sitios polares de los componentes de la pared y no está disponible para ningún tipo de reacción (Pitalua *et al.*, 2010). Sin embargo, la estabilidad máxima corresponde a la entropía integral mínima, que representa un equilibrio, donde todos los sitios activos están ocupados con moléculas de agua que forman una monocapa (Pérez-Alonso *et al.*, 2006). Los productos obtenidos mediante secado por aspersión son altamente estables debido a su bajo contenido y actividad de agua, los valores comunes de estos parámetros para polvos de frutas y vegetales son del 2-5% y 0.2-0.6, respectivamente (Shishir y Chen, 2017).

La actividad de agua de los polvos de pitaya varió entre 0.047 y 0.094 (Tabla 3). Los agentes acarreadores no afectaron de manera significativa ($p>0.05$) en sus términos lineales o de interacción (Tabla 4). El comportamiento de esta respuesta fue similar al que se observó en el contenido de humedad, ya que las mayores actividades de agua



corresponden a las mezclas con mayor proporción de fructanos (Figura 5b). De esta manera se comprueba que a mayor cantidad de fructanos se les atribuyen mayores propiedades higroscópicas por su mayor afinidad por el agua. En comparación con otros estudios (Vergara *et al.*, 2014; Fang y Bhandari, 2012; Quirino-Lacerda *et al.*, 2016; Vargas-Campos *et al.*, 2018) los valores obtenidos de a_w , son bajos, sin embargo, se encuentran dentro de los valores comúnmente reportados para productos secados por aspersion. Los bajos valores de a_w , mejoran la estabilidad de las betalaínas, ya que se ha reportado que la a_w debe ser menor al 0.6 para prevenir la ruptura del enlace de aldimina (Hussain *et al.*, 2018).

7.2.3 Densidad aparente

La densidad aparente está en función del tamaño, de la forma y las propiedades superficiales de las partículas. Los polvos con superficies suaves y uniformes poseen gran densidad aparente, mientras que los de menor densidad aparente requieren un mayor volumen de empaque para la misma cantidad (Tontul y Topuz, 2017).

La densidad aparente en los polvos de pitaya osciló de 0.5010 a 0.6772 g/mL (Tabla 3). El análisis de varianza (Tabla 4), muestra que los materiales de pared tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en esta respuesta y el modelo ajustado mostró una tendencia al mínimo explicando la variabilidad de los datos en un 88.91%. La Figura 6a muestra una tendencia de incremento en los valores de DA, con altas proporciones del almidón OSA en las mezclas. Esto puede atribuirse a que el peso molecular del almidón incrementa una vez modificado (Wang *et al.*, 2015) llenando fácilmente los huecos entre partículas, ocupando menos espacio y, por lo tanto, incrementando la densidad aparente (Tonon *et al.*, 2008).

En términos de reducir los costos de empaque y transporte del producto, una densidad aparente alta es deseable. Además, esta influye otras propiedades del polvo como fluidez, grado de apelmazamiento y solubilidad (Bicudo *et al.*, 2015; Kingwatee *et al.*, 2015) y ayuda a prevenir la oxidación lipídica durante el almacenamiento debido a que la cantidad de aire disminuye (Chew *et al.*, 2018).

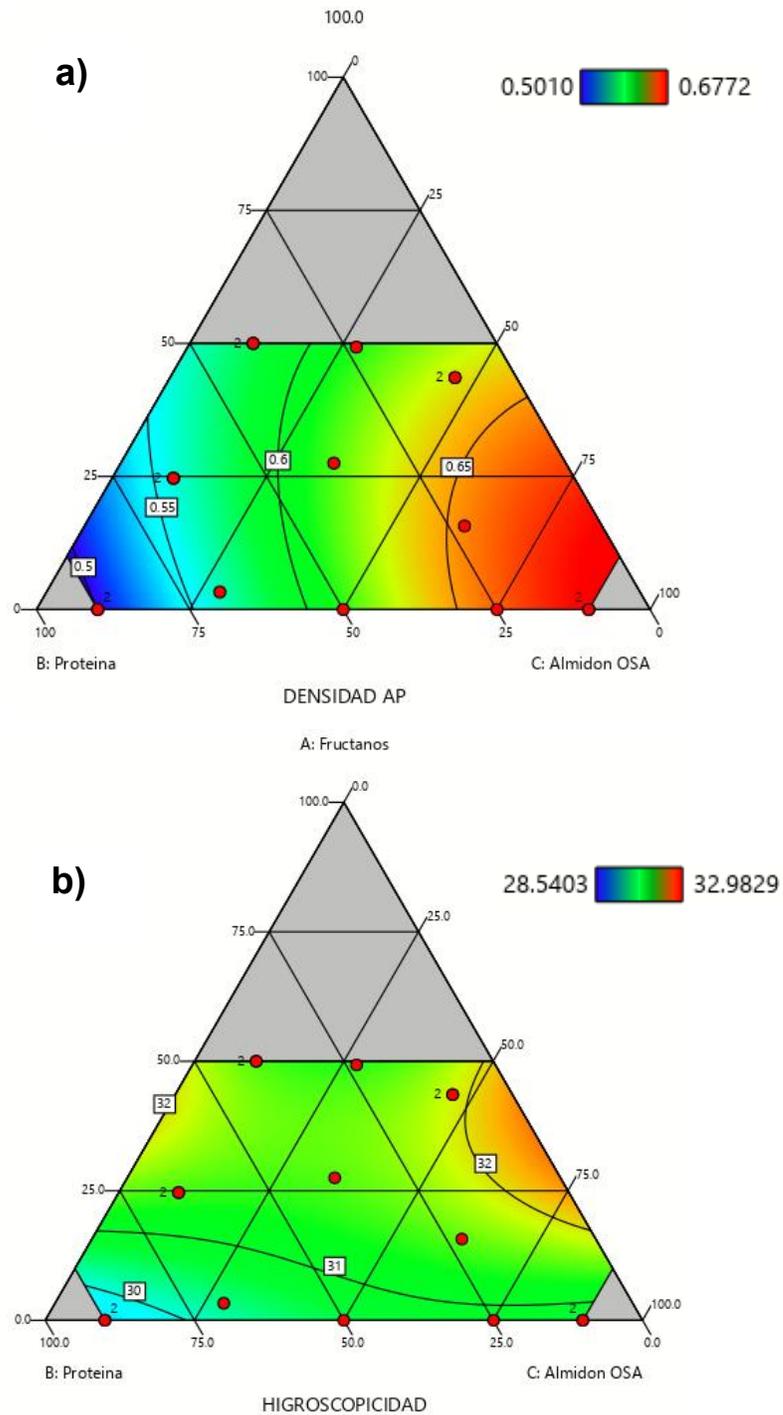


Figura 6. Superficie de respuesta mostrando el efecto de los distintos materiales de pared en la densidad aparente (a) e higroscopicidad (b) de los encapsulados de pitaya.



Por otro lado, los polvos que presentaron menor densidad aparente corresponden a las mezclas con mayor contenido de proteína. Este comportamiento también fue reportado por Bazaria y Kumar (2016) durante la encapsulación de betabel con concentrado de proteína. Los valores de densidad aparente fueron de 0.50 a 0.65 g/cm³ y disminuyeron al incrementar el agente acarreador. Esto fue atribuido a que el concentrado de proteína redujo la pegajosidad de las partículas e incrementa el volumen de aire dentro de las mismas debido a la habilidad de la proteína para la formación de películas.

Los valores de densidad aparente en las mezclas con mayor contenido de fructanos se situaron en la zona de color verde en la Figura 6a, se puede observar que si bien no dio lugar a los valores más altos o más bajos, este material tuvo un efecto significativo en su término lineal según el análisis de varianza (Tabla 4). Sánchez-Madrigal *et al.* (2019) reportaron valores similares durante la encapsulación de extracto de maíz azul (0.6254 a 0.6477 g/cm³) con un aumento de esta respuesta al incrementar las proporciones de fructanos. En otros estudios se ha reportado el efecto contrario, tal es el caso de Femat-Castañeda *et al.* (2019) que utilizaron fructanos y maltodextrina en el secado por aspersión de extractos de clorofila con valores de 0.19 a 0.57 g/cm³, encontrando que el incremento de los fructanos disminuyó la densidad aparente de los polvos.

7.2.4 Higroscopicidad

La higroscopicidad es la habilidad que posee un material para absorber humedad de un ambiente con alta humedad relativa. Generalmente, un polvo de calidad presenta bajos valores de higroscopicidad, contenido de humedad y grado de compactación, así como una alta solubilidad (Bhusari *et al.*, 2014). Los materiales de pared afectaron de manera significativa ($p < 0.05$) la higroscopicidad en los polvos de pitaya en su efecto lineal (Tabla 4) y los valores variaron de 28.54 a 32.98% (Tabla 3). La tendencia de esta respuesta puede observarse en la Figura 6b. Las zonas de color azul muestran que los polvos con menor higroscopicidad fueron producidos con altas proporciones de proteína, mientras que la higroscopicidad es mayor a medida que el contenido de



fructanos y almidón OSA en las mezclas incrementó. Resultados similares fueron reportados por Bhusari *et al.* (2014) en la encapsulación de jugo de betabel con goma arábica, maltodextrina y concentrado de proteína y la higroscopicidad de los polvos varió de 16.61 a 28.96% atribuido al alto peso molecular de la proteína. Resultados similares se obtuvieron en el estudio de Bicudo *et al.* (2015) donde se compararon tres materiales de pared (goma arábica, gelatina y maltodextrina) en la higroscopicidad de polvo de jussara (*Euterpe edulis M.*) donde el polvo producido con gelatina (proteína) fue el menos higroscópico, lo cual puede estar relacionado a las cadenas hidrofóbicas laterales de la molécula de gelatina.

Respecto al uso de almidón modificado, Chen *et al.* (2016) compararon el efecto de cinco acarreadores en la higroscopicidad de polvo de caqui (*Diospyros kaki*) y reportaron que los polvos producidos con goma arábica, almidón modificado con ácido octenil succínico y albúmina de huevo fueron más higroscópicos. Según Tonon *et al.* (2008), los polvos con menor contenido de humedad tienden a absorber agua del aire que los rodea y, por lo tanto, son más higroscópicos. Esto puede explicar el hecho de que los polvos producidos con mayor proporción de almidón presentaron menor contenido de humedad al mismo tiempo fueron más higroscópicos (Figura 5a y 6b), en comparación con los polvos producidos con mayor proporción de proteína.

7.2.5 Índice de solubilidad en agua (ISA) e índice de absorción de agua (IAA)

El ISA es un parámetro crucial del comportamiento del producto en fase acuosa, ya que determina la calidad de reconstitución del polvo. El ISA de los encapsulados de pitaya fue afectado significativamente ($p < 0.05$) por los acarreadores en sus términos lineales y por la interacción de los fructanos con el almidón OSA (Tabla 4 y 5). El modelo ajustado mostró un comportamiento de punto silla (Anexo 3, Tabla 16) explicando la variabilidad de los datos en un 81.5%. Los valores del ISA variaron de 0.68 a 1.53 (Tabla 3) donde los índices más altos se presentaron en los polvos con más contenido de fructanos (Figura 7a). Este comportamiento también fue reportado por Sánchez-Madrigal *et al.* (2019) en la encapsulación de antocianinas de maíz azul con fructanos de agave explicando que, a altas concentraciones de fructanos, se



favorece la interacción entre las partículas conduciendo a aglomeraciones que aumentan los valores del ISA. Por otro lado, el índice de solubilidad disminuyó cuando la proteína y el almidón OSA eran mayoritarios en la composición de las mezclas (Figura 7a), esto puede atribuirse a que la solubilidad de las proteínas es menor que la de los carbohidratos (Cortés-Rojas y Oliveira, 2012). Considerando que la solubilidad en agua y la viscosidad del agente acarreador se relacionan con el tamaño de partícula y, por lo tanto, con la dispersión por tamaño, los carbohidratos con baja solubilidad y alta viscosidad, como el almidón OSA, deberían ser favorecidos sobre los de alta solubilidad y baja viscosidad, tales como maltodextrina, para producir micropartículas con propiedades funcionales deseables (Quirino-Lacerda *et al.*, 2016). Los valores de ISA encontrados en este estudio, son mayores que los reportados por Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2014) en encapsulados de betalaínas (0.640–0.766) y menores a los reportados por Ahmed *et al.* (2010) en encapsulados de compuestos bioactivos de camote morado con maltodextrinas y ácido cítrico como acarreadores (1.92-2.56). Los ISA de todos los encapsulados pueden considerarse aceptables ya que ninguno presentó dificultad para solubilizarse, esto debido a que los componentes de los polvos obtenidos como pigmentos, azúcares y acarreador presentan una alta solubilidad en agua.

El índice de absorción de agua se refiere a la capacidad que posee un material para absorber agua y, según Chew *et al.* (2018), los atributos físicos son considerados de mejor calidad cuando la disolución de un material en agua toma menos tiempo. En este estudio, los valores de esta respuesta oscilaron de 0.2335 a 0.5749 (Tabla 3) y no fue afectada significativamente ($p > 0.05$) por los agentes acarreadores en ninguno de sus términos (lineales o de interacción) como se muestra en el ANOVA de la Tabla 4. Las mezclas con mayor proporción de fructanos y almidón OSA dieron lugar a los polvos con menor IAA (Figura 7b), esto coincide con lo reportado por Sánchez-Madrugal *et al.* (2019) y de acuerdo a Labuschagne (2018); se ha propuesto que debido las propiedades viscoelásticas de los fructanos se forman partículas más suaves mientras que su baja capacidad para absorber agua puede proporcionar una mayor estabilidad de almacenamiento a los compuestos bioactivos encapsulados.

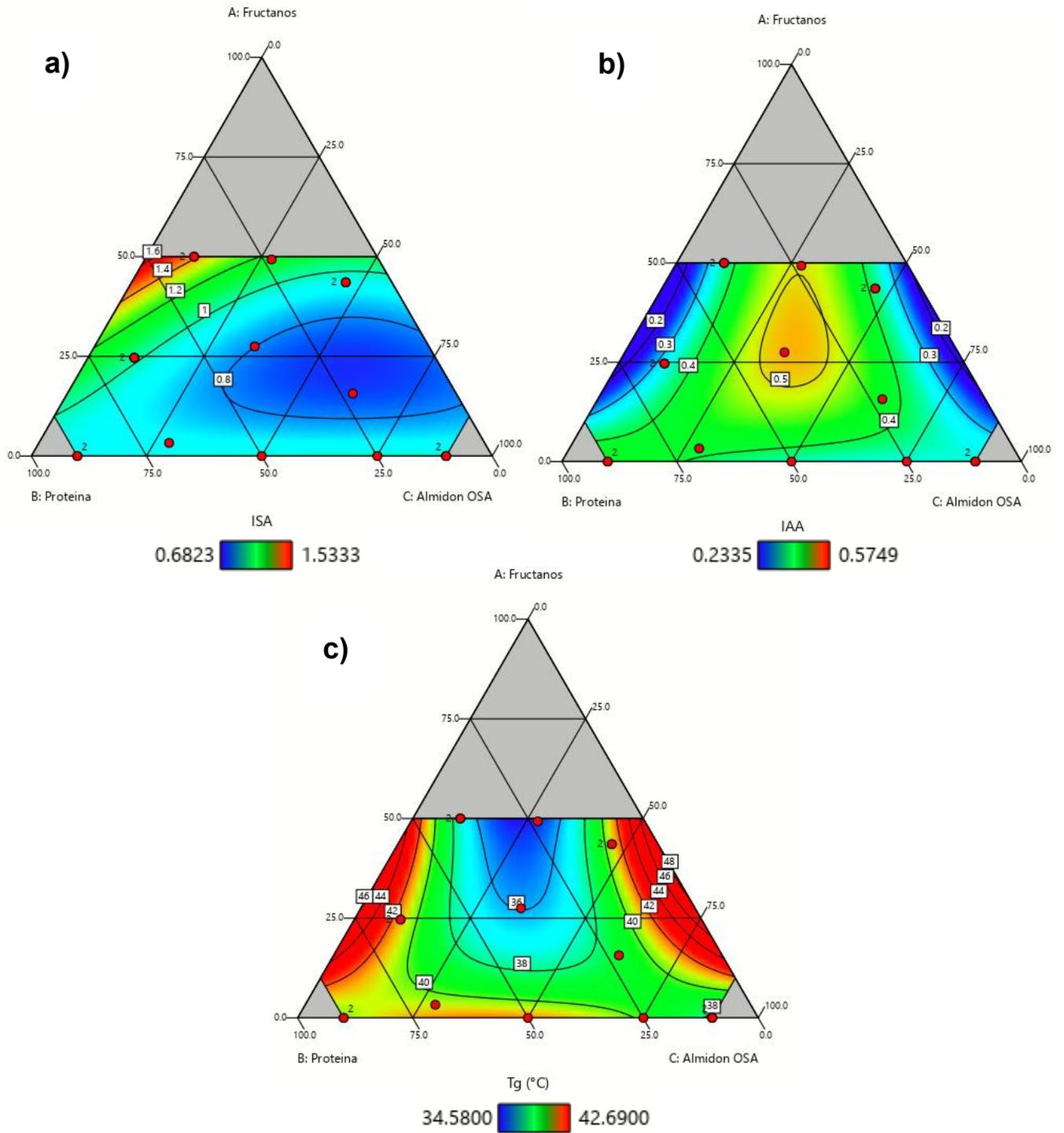


Figura 7. Superficie de respuesta mostrando el efecto de los distintos materiales de pared en el ISA (a), el IAA (b) y la Tg (c) de los encapsulados de pitaya.



7.2.6 Temperatura de transición vítrea

La temperatura de transición vítrea (T_g) es un indicador útil de estabilidad durante el almacenamiento debido a la teoría de que la difusión y la movilidad de reactivos, como agua y O_2 , se restringen por la poca movilidad de las cadenas de polímeros en su estado vítreo conduciendo a una mayor estabilidad para los activos encapsulados (Slade y Levine, 1991; Ferrari *et al.*, 2013).

Los valores de T_g de los encapsulados oscilaron de 34.58 a 42.69 °C, estos se consideran aceptables ya que según Gradinaru *et al.* (2003), cuanto más la temperatura de almacenamiento está por debajo de la T_g del material de pared, más lenta es la velocidad de cambios físicos, químicos y enzimáticos en las microcápsulas. Los agentes acarreadores no tuvieron efecto significativo ($p > 0.05$) en sus términos lineales, sin embargo, las interacciones de fructanos con proteína y almidón (β_{12} y β_{13}) y la interacción de los tres acarreadores (β_{123}) si mostraron un efecto significativo ($p < 0.05$). Los valores de T_g se obtuvieron en los polvos encapsulados con mayores proporciones de proteína y de almidón OSA. Esto se observa en la Figura 7c donde los valores de T_g más altos se ubican en las zonas de color rojo en el triángulo. Esto puede ser atribuido a que la T_g de los materiales proteicos como aislados o concentrados (150-153 °C) es mayor a la de los fructanos (25 °C) (Fang y Bhandari, 2012; Grinberg y Tolstoguzov, 1997; Zimeri y Kokini, 2002).

Fang y Bhandari (2012) reportan valores de T_g entre 14.12 y 15.34 °C para encapsulados de myrica (*Myrica rubra*) con concentrado de proteína, reportando que no hubo efecto significativo por parte de las variables en esta respuesta. Además, reportan que en estudios previos se ha encontrado que los sistemas proteína-azúcar no son compatibles y que la T_g determinada refleja, principalmente, la T_g de los azúcares del sistema. Por lo tanto, la variación en el contenido de proteína no tuvo impacto ya que los azúcares del jugo pudieron haber interferido en la medición. Este comportamiento pudo haber ocurrido en este estudio ya que, al igual del jugo de myrica, el jugo de pitaya posee un gran contenido de sólidos, entre ellos azúcares de bajo peso molecular, mucílago y ácidos orgánicos (Chuck-Hernández *et al.*, 2016).



Por el contrario, las mezclas con mayor contenido de fructanos presentaron los valores de Tg más bajos. Esto puede deberse al peso molecular de los fructanos, ya que según Cai y Corke (2000) la Tg disminuye a medida que el peso molecular es más pequeño. En comparación con el estudio de Sánchez-Madrugal *et al.* (2019), los valores de Tg reportados son mayores (50.01-53.55 °C), esto puede deberse a que el material a encapsular fue un extracto de maíz azul y, por tanto, el contenido de sólidos era muy bajo comparado al jugo de pitaya.

En lo que respecta las mezclas con mayores proporciones de almidón OSA, los valores de Tg fueron similares a los obtenidos con altas proporciones de proteína y mayores a los obtenidos con mayor contenido de fructanos. Esto puede deberse a que el peso molecular del almidón es más alto que el de los fructanos y a la similitud del almidón con las proteínas una vez que es modificado, ya que su carácter anfifílico es mejorado y adquiere propiedades como alta solubilidad, baja viscosidad y capacidad emulsificante (Sweedman *et al.*, 2013).

7.3 Parámetros de color de los encapsulados de pitaya

El color es uno de los aspectos más importantes cuando se trata de calidad de los encapsulados ya que su principal función es proveer pigmentación a los alimentos como alternativa ante el uso de colorantes artificiales. La Figura 8 muestra los polvos encapsulados de pitaya producidos con las diferentes mezclas de acarreadores y la Tabla 6 muestra los parámetros de color determinados en los polvos.

Según el ANOVA de la Tabla 7, el modelo afectó de manera significativa ($p < 0.05$) los parámetros de a^* , b^* y ΔE . Los efectos lineales de los acarreadores tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en todos los parámetros, destacando la interacción de fructanos con proteína (β_{12}) y con almidón OSA (β_{13}) que fue significativa para ΔE (Tabla 8).

Los valores de R^2 variaron de 0.599 a 0.83 lo que significa que el modelo se ajustó de manera adecuada para explicar el comportamiento de los parámetros de color de los encapsulados.

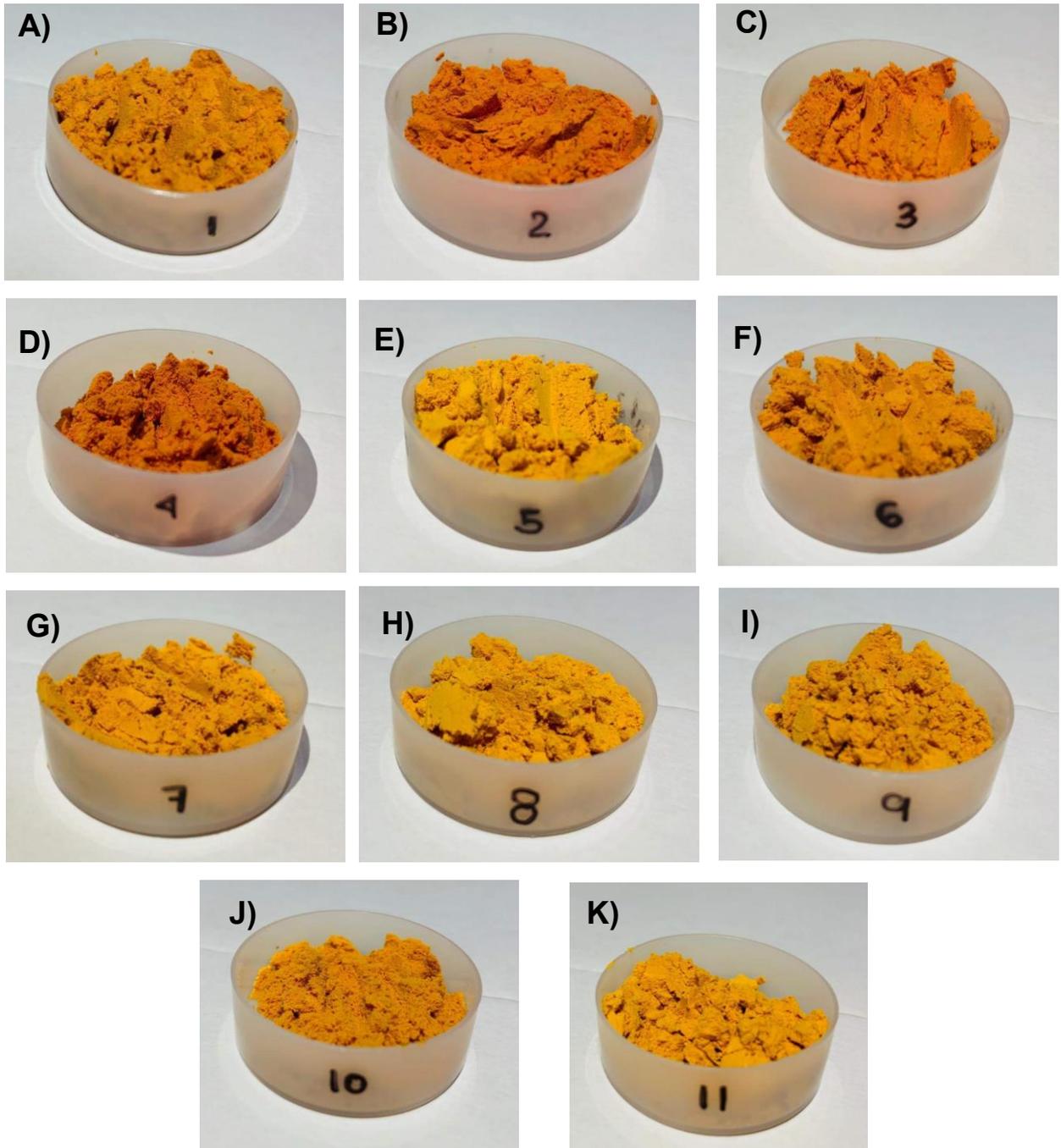


Figura 8. Polvos encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína y almidón OSA en diferentes proporciones. A) 50F-39.7P-10.3A, B) 0F-10P-90A, C) 0F-50P-50A, D) 43.6F-10P-46.4A, E) 0F-90P-10A, F) 24.7F-65.3P-10A, G) 15.7F-22.4P-61.9A, H) 3.3F-68.4P-28.3A, I) 27.5F-37.8P-34.7A, J) 49.3F-23.2P-27.5, K) 0F-24.9P-75.1A.

Tabla 6. Parámetros de color de los encapsulados de pitaya producidos con diferentes proporciones de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.

Mezcla	L^*	a^*	b^*	$^{\circ}\text{Hue}$	Chroma*	AE
1	54.68 ± 0.66	20.05 ± 0.88	39.00 ± 0.99	1.09 ± 0.09	43.86 ± 1.27	5.37 ± 0.33
2	50.75 ± 0.11	27.97 ± 0.20	36.84 ± 0.16	0.92 ± 0.02	46.25 ± 0.24	2.33 ± 0.33
3	50.83 ± 0.16	20.09 ± 1.14	40.07 ± 0.68	0.93 ± 0.01	45.50 ± 1.22	4.23 ± 0.79
4	49.18 ± 0.09	25.48 ± 0.21	34.15 ± 0.28	0.93 ± 0.05	42.61 ± 0.29	6.07 ± 0.55
5	58.39 ± 0.28	14.90 ± 0.90	42.90 ± 1.29	1.24 ± 0.09	45.41 ± 1.51	5.10 ± 0.98
6	59.45 ± 0.33	12.89 ± 0.33	45.74 ± 0.14	1.31 ± 0.02	47.15 ± 0.15	7.84 ± 0.87
7	55.96 ± 0.20	16.47 ± 0.66	44.37 ± 1.08	1.22 ± 0.05	47.33 ± 1.24	7.04 ± 1.52
8	58.59 ± 0.20	15.56 ± 0.48	45.05 ± 0.50	1.24 ± 0.06	47.66 ± 0.62	6.65 ± 1.18
9	56.19 ± 0.12	14.93 ± 0.41	42.40 ± 0.62	1.23 ± 0.04	44.95 ± 0.72	7.12 ± 0.16
10	54.33 ± 0.19	16.79 ± 0.60	42.46 ± 0.81	1.19 ± 0.07	45.66 ± 0.95	7.29 ± 0.63
11	58.75 ± 0.20	14.28 ± 0.57	47.27 ± 1.05	1.28 ± 0.05	49.38 ± 1.16	5.65 ± 0.17
12	59.19 ± 0.24	12.20 ± 0.43	45.97 ± 1.14	1.31 ± 0.08	47.56 ± 1.15	8.60 ± 0.23
13	57.13 ± 0.24	17.31 ± 0.79	43.23 ± 0.90	1.19 ± 0.08	46.56 ± 1.12	5.60 ± 0.28
14	50.82 ± 0.07	26.61 ± 0.21	36.29 ± 0.28	0.94 ± 0.05	44.50 ± 0.35	2.21 ± 0.61
15	54.08 ± 0.14	19.67 ± 1.02	38.94 ± 0.98	1.10 ± 0.01	43.62 ± 1.33	5.71 ± 0.26
16	50.17 ± 0.20	25.92 ± 0.43	34.85 ± 0.31	0.96 ± 0.04	42.97 ± 0.51	6.46 ± 0.48

Medias ± DE; ΔE: diferencia total de color entre las mezclas del jugo y los acarreadores previo al secado por aspersión y los polvos encapsulados.

Tabla 7. Análisis de varianza de los parámetros de color de los encapsulados de pitaya con diferentes proporciones de fructanos, proteína y almidón OSA como materiales de pared.

Fuente	GL	Suma de cuadrados					
		<i>L</i> [*]	<i>a</i> [*]	<i>b</i> [*]	°Hue	Croma [*]	ΔE
Modelo	5	133.2	301.36 [*]	169.57	0.216	31.49	38.56 [*]
Mezcla lineal	2	97.81 [*]	185.98 [*]	96.89 [*]	0.127 [*]	21.4 [*]	21.69 [*]
AB	1	4.97	9.97	7.29	0.0053	2.55	4.69 [*]
AC	1	0.327	1.70	0.5902	0.0002	0.411	6.63 [*]
BC	1	0.000	18.51	10.64	0.0000	1.22	1.23
ABC	1	4.73	13.36	7.15	0.0239	0.117	0.025
Residual	10	60.93	94.18	89.85	0.119	21.06	7.84
Falta de ajuste	5	59.43 [*]	89.97 [*]	89.36 [*]	0.118 [*]	19.43 [*]	7.33 [*]
Error	5	1.50	4.22	0.486	0.001	1.63	0.501
R²		0.686	0.762	0.654	0.645	0.599	0.831

*Significancia ($p < 0.05$). A: fructanos; B: proteína; C: almidón OSA; GL: grados de libertad; ΔE: diferencia total de color entre las mezclas del jugo y los acarreadores previo al secado por aspersión y los polvos encapsulados.

Tabla 8. Coeficientes de regresión del modelo polinomial ajustado para las propiedades de color de los encapsulados de pitaya.

Coeficientes	<i>L</i> [*]	<i>a</i> [*]	<i>b</i> [*]	°Hue	Croma [*]	ΔE
β_1	33.42 [*]	48.8 [*]	14.6 [*]	0.262 [*]	31.49 [*]	-10.63 [*]
β_2	57.41 [*]	17.7 [*]	41.7 [*]	1.24 [*]	45.45 [*]	5.61 [*]
β_3	51.54 [*]	28.8 [*]	35.9 [*]	0.971 [*]	45.72 [*]	1.72 [*]
β_{12}	32.86	-46.6	39.8	1.07	23.52	31.95 [*]
β_{13}	8.64	-19.7	11.6	0.199	9.68	38.87 [*]
β_{23}	0.034	-26.0	19.7	-0.023	6.67	6.71
β_{123}	122.45	-205.8	150.5	8.70	19.23	8.88

*Significancia ($p < 0.05$). ΔE: diferencia total de color.



El parámetro L^* , el cual representa la luminosidad, fue afectado de manera significativa ($p < 0.05$) por los agentes acarreadores en sus términos lineales (Tabla 7) y los valores obtenidos variaron de 49.18 a 59.45 (Tabla 6). Los valores de L^* , incrementaron con altas proporciones de proteína y fructanos en las mezclas. Esto puede observarse en la Figura 9a donde los valores más altos corresponden a las zonas rojas del triángulo. Sánchez-Madrigal *et al.* (2019), reportó el mismo comportamiento en encapsulados de maíz azul, atribuyendo esta tendencia de blanqueamiento a los fructanos al encontrarse en mayores proporciones. Similarmente, Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2014) reportaron un incremento de la luminosidad de encapsulados de tuna con el incremento en el contenido de fibra soluble como acarreador. Contrariamente, en este estudio, la luminosidad en los encapsulados de pitaya disminuyó al incrementar las proporciones del almidón OSA en las mezclas (Figura 9a).

Ramakrishnan *et al.* (2018) reportaron esta tendencia en los polvos de tamarillo (*Solanum betaceum*) encapsulados con almidón OSA. Además, evaluaron otros materiales como acarreadores y coinciden con los resultados reportados debido a que los valores de luminosidad incrementaron con la adición de los acarreadores opacando el color de los polvos.

Respecto al parámetro a^* , el cual mide las tonalidades del verde al rojo ($-a^*$ = verde; $+a^*$ = rojo), fue afectado de manera significativa ($p < 0.05$) por el modelo y por los materiales de pared en sus términos lineales como se muestra en la Tabla 7. El análisis de cordilleras mostró que el valor óptimo de esta variable tiende al mínimo (Anexo 3, Tabla 16) y la variabilidad de los datos se explica en un 76.2% según el ANOVA. Los valores de a^* variaron de 20.05 a 34.77 y al ser positivos existe una tendencia al color rojo, como lo muestran los polvos en la Figura 8. Los valores de a^* incrementaron conforme las proporciones de almidón OSA eran mayores en las mezclas (Figura 9b). Estos resultados coinciden el estudio de Quirino-Lacerda *et al.* (2016) quienes reportan que las microcápsulas de jussara producidas con altas proporciones de almidón OSA presentaron los valores más altos de a^* .

Por su parte, los valores de b^* oscilaron de 34.15 a 47.27 y, al ser positivos, las tonalidades tienden al color amarillo-naranja (Figura 8). Los valores de b^* , fueron

afectados significativamente ($p < 0.05$) por los términos lineales de los acarreadores como muestra el ANOVA en la Tabla 7. El parámetro b^* incrementó a medida que la proporción de proteína de suero de leche se incrementa en la mezcla (Figura 9c). Esto se atribuye a una disminución en la intensidad del color rojo del jugo por la adición de este componente. A diferencia de otros estudios, los valores de b^* reportados por Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2014) y Robert *et al.* (2015) en la encapsulación de tuna son negativos, resultando en coloraciones azules mientras que los obtenidos en este estudio son valores positivos con una tendencia a coloraciones amarillas.

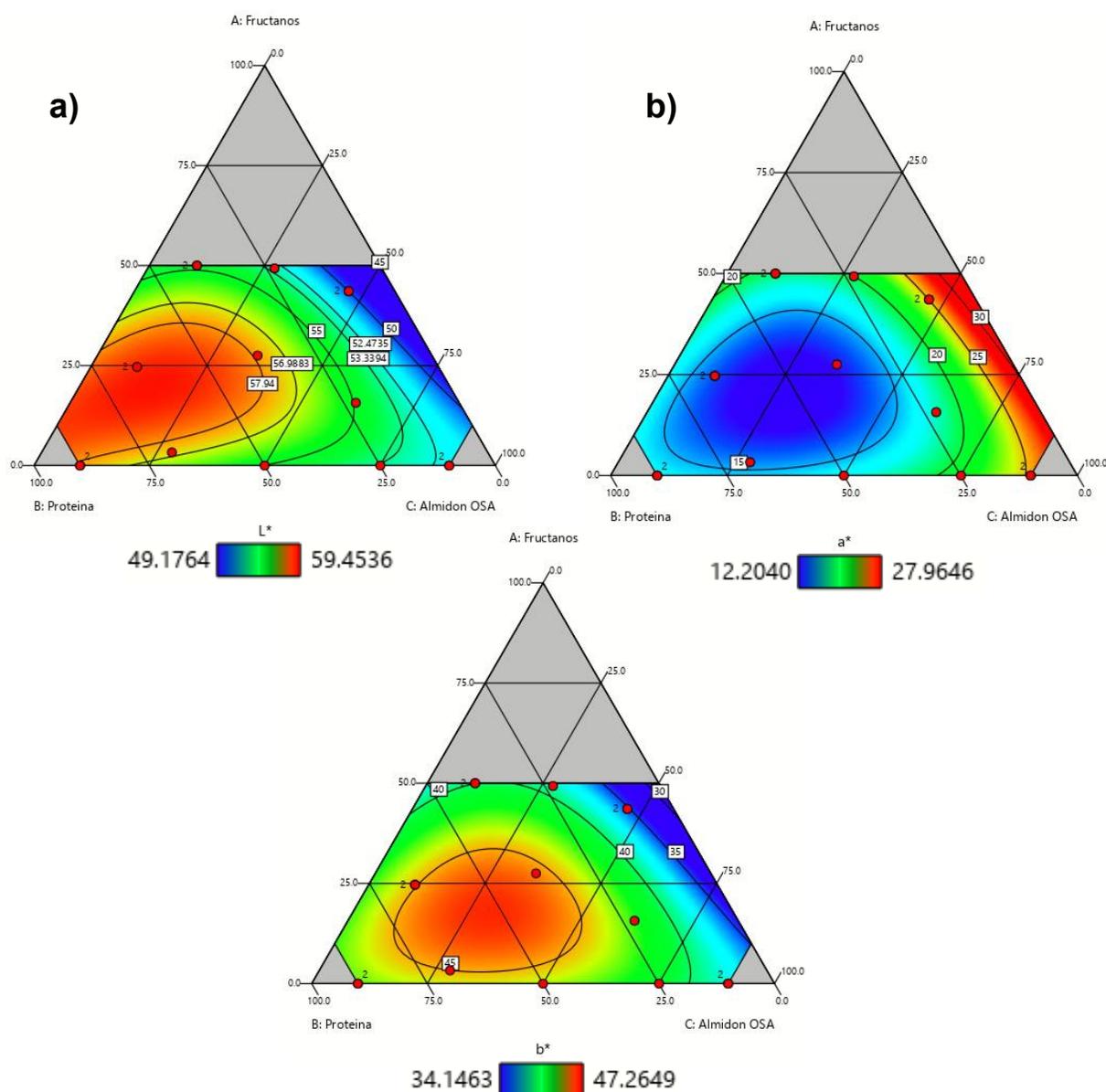


Figura 9. Superficies de respuesta de los parámetros de color de los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared L^* (a), a^* (b), b^* (c).

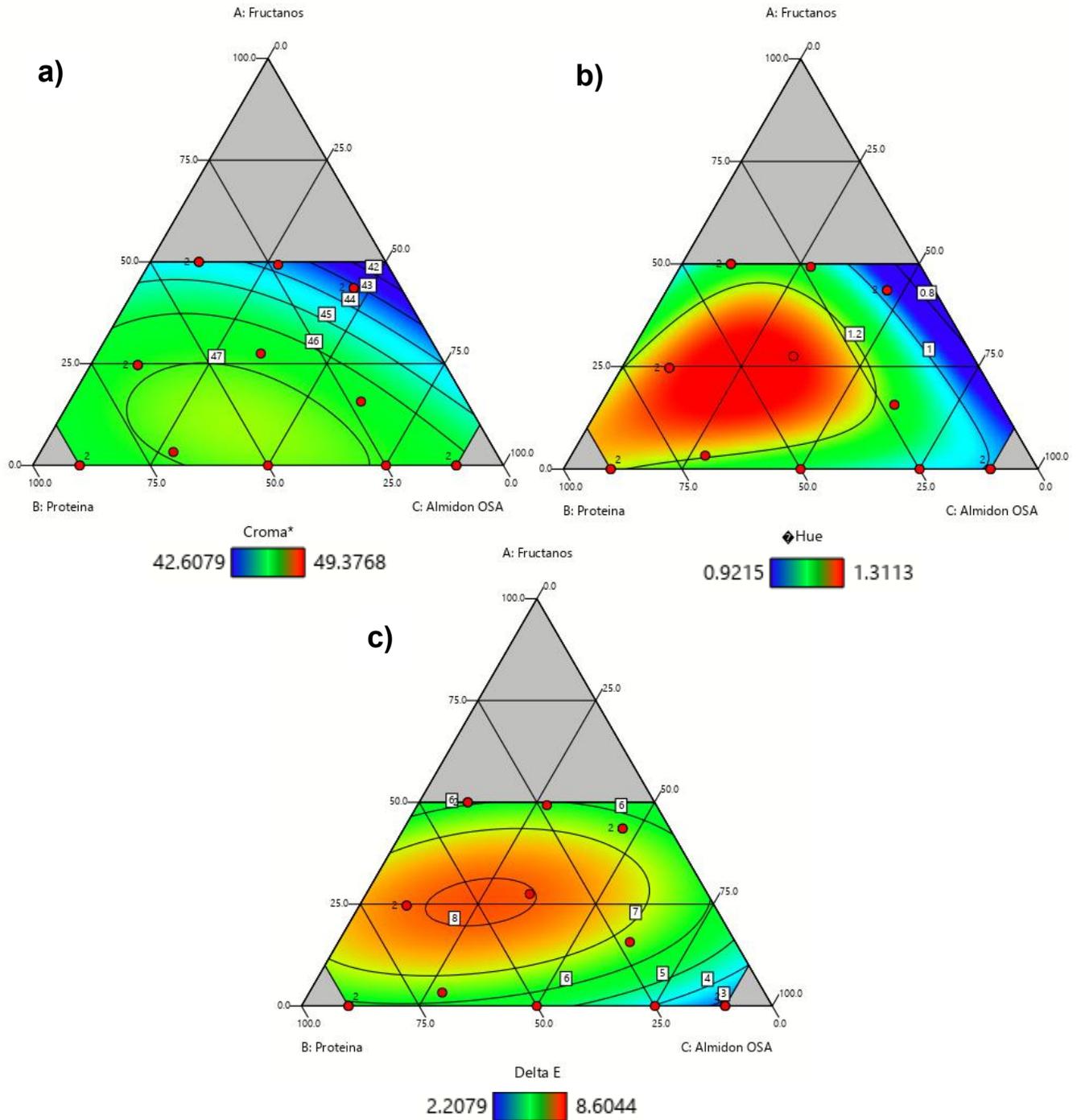


Figura 10. Superficies de respuesta de los parámetros de color de los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared Croma* (a), ° Hue (b), Diferencia total de color (c).



Respecto al croma* que mide la intensidad del color y al ángulo hue que determina la pureza, ambos fueron afectados significativamente ($p < 0.05$) por los acarreadores en sus términos lineales (Tabla 7). El croma* mostró valores de 42.61 a 49.38 y los valores más altos se obtuvieron con altas proporciones de proteína, mientras que el ángulo hue varió de 0.9 a 1.31 y se incrementó cuando la proteína y los fructanos se encontraban a grandes proporciones en las mezclas (Figura 10 a y b). Los valores de hue disminuyeron cuando las mezclas contenían altas proporciones de almidón OSA, lo cual es deseable ya que los valores cercanos a cero representan la pureza del color rojo (Figura 10b). Por tanto, los polvos de pitaya con altos valores de a^* y bajos valores de ángulo hue son considerados aceptables en cuanto a pigmentación. Los altos valores de b^* y de ángulo hue pueden atribuirse a las características de la pitaya, empleada para la obtención del jugo, las cuales presentaron una pulpa amarilla y naranja con altos contenidos de betaxantinas que confieren estas coloraciones.

La diferencia total de color (ΔE) fue determinada comparando los parámetros de color de las mezclas del jugo con los acarreadores previo al proceso de secado, considerado como el estándar, con los de los polvos que corresponden a las muestras. Los agentes acarreadores en sus términos lineales y las interacciones de fructanos con proteína (β_{12}) y con almidón OSA (β_{13}) tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en esta respuesta (Tabla 7 y 8). Los valores de ΔE variaron de 2.21 a 8.60 donde los valores más bajos corresponden a las mezclas con mayor proporción de almidón OSA (Figura 10c). Los polvos con mayor proporción de OSA son aceptables debido a que los valores de ΔE son menores y según Nkhata (2020) a menor valor de ΔE , menor es la diferencia entre la muestra y el estándar. Por tanto, un valor de 0.0 significa que el color de la muestra es idéntico al color del estándar.

De acuerdo con los resultados, los valores de diferencia total de color en los encapsulados obtenidos fue baja, por lo que se puede inferir que el proceso de secado no tuvo un impacto en los compuestos que confieren color. Sin embargo, esto no puede afirmarse con certeza ya que las condiciones de proceso no fueron seleccionadas como factores de estudio.



7.4 Propiedades morfológicas de los encapsulados de pitaya por microscopía electrónica de barrido

La morfología de los polvos de pitaya encapsulados con diferentes proporciones de acarreadores fue analizada mediante microscopía electrónica de barrido y los resultados obtenidos se muestran en la Figura 11.

En general, los polvos mostraron una morfología similar en todas las mezclas, con formas esféricas y algunas estructuras colapsadas o comprimidas, además de aglomeraciones entre partículas. El tamaño de las microcápsulas varió entre 55 y 67 micrómetros. Por otro lado, la mayoría de las microcápsulas mostraron superficies porosas lo cual, de acuerdo Labuschagne (2018), puede contribuir a una degradación acelerada durante el almacenamiento.

Con el objetivo de describir el comportamiento de cada material de pared en las mezclas, se analizaron los tratamientos controles los cuales se muestran en la Figura 11 donde A, B y C corresponden a la encapsulación con fructanos, proteína y almidón OSA, respectivamente.

Los polvos de pitaya encapsulados con mayor proporción de fructanos dieron lugar a cápsulas más completas y menos dañadas ya que las superficies no mostraron fisuras o poros (Figura 11D, M). Esto puede confirmarse al observar los polvos encapsulados con fructanos (Figura 11A), donde las cápsulas poseen una forma esférica y completa con superficies más suaves en comparación con la encapsulación mediante proteína (Figura 11B) y almidón OSA (Figura 11C). Este comportamiento también fue reportado por do Carmo *et al.* (2017), donde los polvos de betabel encapsulados con inulina mostraron superficies más regulares lo cual puede ser debido a las propiedades higroscópicas del material.

De manera contraria, los polvos encapsulados con mayor proporción de proteína de suero (Figura 11F, H, I, K, L) produjeron microcápsulas comprimidas e irregulares, con cavidades en las superficies. Esto puede observarse en el control de proteína donde las cápsulas poseen forma esférica pero la superficie es porosa y corrugada.

En el estudio de Mahdi *et al.* (2020) donde reportan un extracto de cidra o “Mano de Buda” (*Citrus medica var. Sarcodactylis*) encapsulado utilizando goma arábica (GA),



almidón modificado (AM), concentrado de proteína de suero (CPS) y maltodextrina (MD) en diferentes proporciones. Muestran que las micropartículas que presentaron mayor daño corresponden a las formulaciones GMSW (25% de cada acarreador) y MSW (33.3 % MD, AM, PS y 0% de GA). Esto fue atribuido a la baja temperatura del aire de secado, a las propiedades viscoelásticas y a la capacidad para formar películas de los materiales. Resultados similares fueron reportados por Premi y Sharma (2017) durante la encapsulación de aceite de moringa (*Moringa oleifera*) utilizando combinaciones de MD con GA y CPS, encontrando que las partículas estaban más comprimidas y arrugadas debido a la desnaturalización parcial de las moléculas de proteína durante las etapas iniciales de secado, lo que resultó en una lenta formación de la capa alrededor del material del núcleo durante el secado.

En las mezclas con mayor proporción de almidón OSA (Figura 11C) se obtuvieron esferas con superficies ligeramente rugosas y a medida que el contenido de proteína incrementaba, las fracturas fueron más evidentes (Figura 11F, J, L).

Estos resultados fueron consistentes con los reportados por Wang *et al.* (2017) tras la encapsulación de aceite de chile con almidón OSA y otros materiales, entre ellos, proteína. Observaron que los polvos producidos con almidón mostraron menos grietas y menor daño superficial, lo cual es importante en el sentido de la protección y retención del material del núcleo.

El hecho de que la encapsulación con proteína produce estructuras más dañadas puede deberse a un fenómeno denominado “hinchamiento”, que ocurre durante el secado de materiales con capacidad de formar películas a altas temperaturas como la leche en polvo (Walton y Mumford, 1999).

Si bien los acarreadores mostraron diferentes comportamientos durante la encapsulación de pitaya, las microcápsulas obtenidas mostraron estabilidad y un tamaño uniforme resultando en un polvo naranja homogéneo.

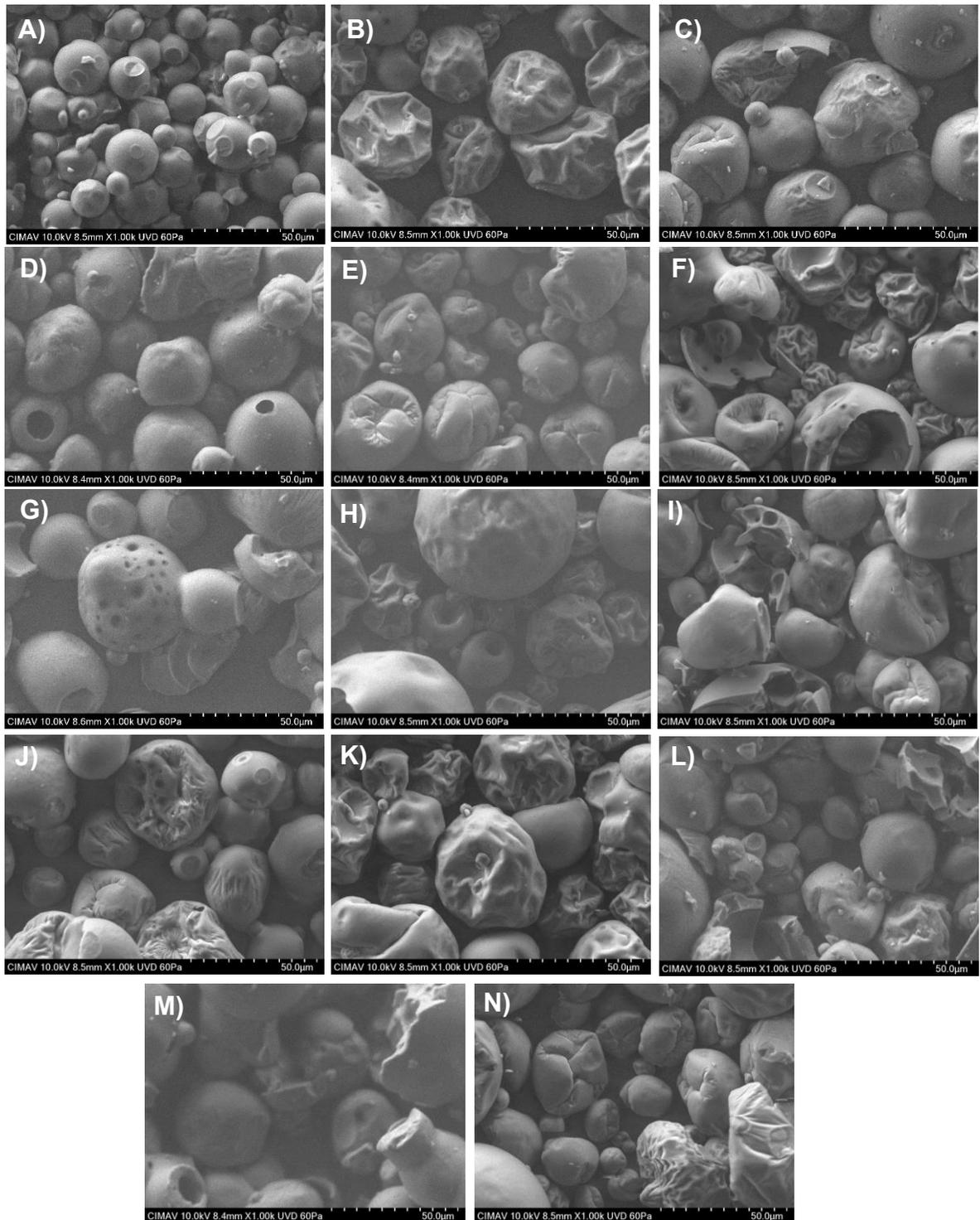


Figura 11. Microscopía electrónica de barrido de los polvos de pitaya encapsulados con diferentes proporciones de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared. (A), 100 F; (B), 100 P; (C), 100 A; (D), 50F-39.7P-10.3A; (E), 0F-10P-90A; (F), 0F-50P-50A; (G), 43.6F-10P-46.4A; (H), 0F-90P-10A; (I), 24.7F-65.3P-10A; (J), 15.7F-22.4P-61.9A; (K), 3.3F-68.4P-28.3A; (L), 27.5F-37.8P-34.7A; (M), 49.3F-23.2P-27.5A; (N), 0F-24.9P-75.1A.



7.5 Propiedades químicas de los encapsulados de pitaya

Los resultados obtenidos tras la determinación de las propiedades químicas de los encapsulados de pitaya se muestran en la Tabla 9.

El análisis de varianza (Tabla 10), muestra que tanto el modelo como los acarreadores en sus términos lineales tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en el contenido de betalaínas y polifenoles. La actividad antioxidante fue afectada de manera significativa ($p < 0.05$) por los términos lineales de los acarreadores, mientras que el contenido de flavonoides individuales no fue afectado por ninguno de los términos. El modelo propuesto predice adecuadamente el comportamiento del contenido de las betalaínas y de polifenoles alcanzando valores de R^2 de 96.8 % y 96.6%, respectivamente. No obstante, el valor de R^2 para la actividad antioxidante fue inferior. La falta de ajuste del modelo para la predicción del contenido de flavonoides individuales fue significativa, por lo tanto, el modelo no es adecuado para esta respuesta (Tabla 10). Los coeficientes de regresión ajustados para cada una de las propiedades químicas se muestran en la Tabla 12.

7.5.1 Contenido total de polifenoles

El contenido total de polifenoles varió de 934.33 a 2677.74 mg EAG/100 g b.s. (Tabla 9). Los materiales de pared afectaron significativamente ($p < 0.05$) el contenido de polifenoles de los encapsulados, en sus términos lineales, donde el modelo propuesto describe en forma significativa el comportamiento de esta respuesta, explicando en un 96.6% la variabilidad de los datos con una tendencia al máximo (Anexo 3, Tabla 16) en el rango experimental (Tabla 10).

Los contenidos más altos de polifenoles se presentaron en los encapsulados con mayor proporción de proteína. Esta tendencia se observa en la Figura 12 y puede ser atribuida a la capacidad de las proteínas para formar geles térmicamente estables por encima de los 70 °C, minimizando la degradación de los compuestos fenólicos (Bartkowiak *et al.*, 2017).

Tabla 9. Propiedades químicas de los polvos de pitaya encapsulados con diferentes proporciones de fructanos, proteína y almidón OSA como materiales de pared.

MEZCLA	BT (mg/g)	PT (mg EAG/100 g)	AA (μ mol ET/g)	I (mg/100 g)	Q (mg/100 g)	K (mg/100 g)
1	1.6685 \pm 0.131	1862.00 \pm 66.29	12.28 \pm 1.39	0.3766 \pm 0.041	0.2511 \pm 0.052	0.3661 \pm 0.017
2	1.3715 \pm 0.002	934.33 \pm 200.7	9.75 \pm 0.97	0.3568 \pm 0.009	0.2751 \pm 0.007	0.3143 \pm 0.001
3	1.8166 \pm 0.032	2003.52 \pm 191.93	12.62 \pm 1.30	0.4096 \pm 0.010	0.2826 \pm 0.014	0.3302 \pm 0.001
4	1.1830 \pm 0.055	1117.13 \pm 115.30	9.93 \pm 0.97	0.3294 \pm 0.004	0.3035 \pm 0.017	0.3165 \pm 0.001
5	2.2779 \pm 0.084	2351.74 \pm 482.31	11.23 \pm 1.98	0.3750 \pm 0.012	0.2650 \pm 0.032	0.3307 \pm 0.001
6	1.9800 \pm 0.075	2379.04 \pm 227.42	12.71 \pm 1.44	0.3797 \pm 0.009	0.2868 \pm 0.001	0.3232 \pm 0.002
7	1.3605 \pm 0.021	1384.78 \pm 85.02	10.39 \pm 3.52	0.3885 \pm 0.003	0.2534 \pm 0.006	0.3405 \pm 0.004
8	1.8727 \pm 0.060	2399.93 \pm 200.35	12.70 \pm 1.17	0.3907 \pm 0.013	0.2428 \pm 0.002	0.3359 \pm 0.008
9	1.5366 \pm 0.066	1714.52 \pm 104.77	9.83 \pm 0.83	0.3745 \pm 0.060	0.2421 \pm 0.019	0.3402 \pm 0.022
10	1.2758 \pm 0.010	1342.89 \pm 108.87	9.35 \pm 1.01	0.3611 \pm 0.010	0.2613 \pm 0.017	0.3037 \pm 0.002
11	1.4180 \pm 0.159	1393.70 \pm 121.70	7.27 \pm 4.71	0.3379 \pm 0.008	0.2471 \pm 0.004	0.3030 \pm 0.003
12	2.0287 \pm 0.373	2138.63 \pm 312.33	14.31 \pm 1.84	0.3454 \pm 0.008	0.2630 \pm 0.011	0.3203 \pm 0.004
13	2.5578 \pm 0.047	2677.74 \pm 153.45	15.14 \pm 1.96	0.3670 \pm 0.012	0.2415 \pm 0.009	0.3245 \pm 0.006
14	1.3586 \pm 0.018	1091.33 \pm 158.13	8.79 \pm 1.96	0.3422 \pm 0.059	0.2746 \pm 0.015	0.3086 \pm 0.001
15	1.5431 \pm 0.119	1594.93 \pm 76.67	10.17 \pm 1.93	0.3678 \pm 0.002	0.2659 \pm 0.003	0.3337 \pm 0.003
16	1.2238 \pm 0.058	1250.00 \pm 385.72	8.36 \pm 1.78	0.3284 \pm 0.024	0.2666 \pm 0.005	0.3182 \pm 0.001

Medias \pm DE; BT: betalainas totales; PT: polifenoles totales; AA: actividad antioxidante; EAG: equivalentes de ácido gálico; ET: equivalentes de trolox; I: isorhamnetina; Q: quercetina; K: kaempferol.

Tabla 10. Análisis de varianza de las propiedades químicas de los polvos de pitaya encapsulados con diferentes proporciones de fructanos, proteína y almidón OSA como materiales de pared.

Fuente	GL	Suma de Cuadrados					
		BT	PT	AA	I	Q	K
Modelo	5	2.33*	4.31×10 ⁶ *	49.45	0.0051	0.002	0.0012
Mezcla lineal	2	2.29*	4.21×10 ⁶ *	45.89*	0.0021	0.0005	0.0008
AB	1	0.0008	35266.26	3.31	0.0001	0.007	5.55×10 ⁻⁸
AC	1	0.0002	31150.61	2.23	0.0003	0.0009	0.000
BC	1	0.0257	73967.22	0.1258	0.0014	1.405×10 ⁻⁹	0.0001
ABC	1	0.0041	17699.95	1.82	0.0004	0.0013	0.000
Residual	10	0.078	1.52×10 ⁵	22.28	0.003	0.0026	0.0026
Falta de ajuste	5	0.028	13849.27	9.45	0.002	0.0013	0.0021
Error	5	0.049	1.39×10 ⁵	12.84	0.001	0.0013	0.0006
R²		0.968	0.966	0.689	0.629	0.4383	0.3172

*Significancia ($p < 0.05$). A: fructanos; B: proteína; C: almidón OSA; GL: grados de libertad; BT: betalaínas totales; PT: polifenoles totales; AA: actividad antioxidante; EAG: equivalentes de ácido gálico; ET: equivalente de trolox; I: isorhamnetina; Q: quercetina; K: kaempferol.

Tabla 11. Coeficientes de regresión del modelo polinomial ajustado para las propiedades químicas de los encapsulados de pitaya.

Coeficientes	BT	PT	AA	I	Q	K
β_1	0.89*	69.62*	-0.196*	0.401	0.159	0.346
β_2	2.61*	2577.45*	13.74*	0.354	0.252	0.321
β_3	1.32*	652.26*	7.92*	0.321	0.271	0.302
β_{12}	0.413	2769.08	26.83	-0.142	0.379	-0.004
β_{13}	0.195	2664.15	22.53	-0.281	0.445	-0.085
β_{23}	-0.970	1644.61	2.15	0.226	0.0002	0.071
β_{123}	-3.59	-7490.52	-75.95	1.09	-2.03	0.360

*Significancia ($p < 0.05$). BT: betalaínas totales; PT: polifenoles totales; AA: actividad antioxidante; EAG: equivalentes de ácido gálico; ET: equivalente de trolox; I: isorhamnetina; Q: quercetina; K: kaempferol.

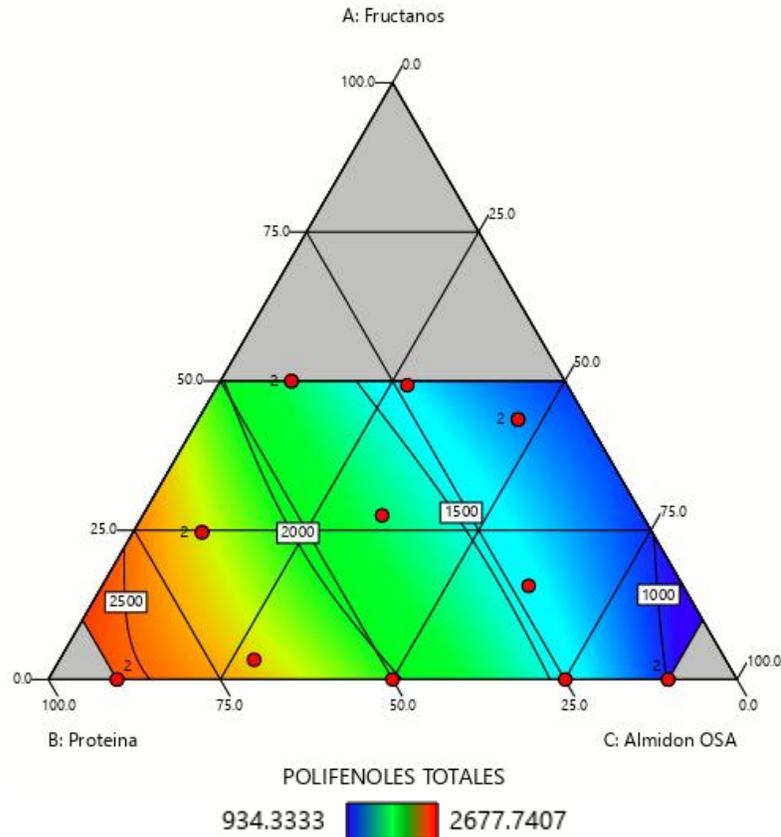


Figura 12. Superficie de respuesta del contenido de polifenoles de los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.

Esto es similar a lo reportado por Bazaria y Kumar (2016) y por Bhusari *et al.* (2014) quienes utilizaron concentrado de proteína de suero para la encapsulación de jugo de betabel y pulpa de tamarindo, relacionando este efecto a la formación de una capa “vidriosa” debido a las propiedades de superficie activa de las proteínas.

El estudio de Sassy *et al.* (2020) evaluó el uso de proteína de yema de huevo y goma arábica como materiales de pared en la encapsulación de polifenoles de dátil (*Phoenix dactylifera L.*) mediante liofilización. El contenido de polifenoles se utilizó para determinar la eficiencia de encapsulación de ambos materiales, donde la proteína de yema mostró un efecto potenciador debido a la formación de interacciones más fuertes de los polifenoles con las proteínas que las de goma arábica. Estas interacciones, tanto de proteínas como de carbohidratos con los polifenoles, son principalmente



puentes de hidrógeno hidrofóbicos y no covalentes, pero su número e intensidad depende en gran medida de la composición de las macromoléculas (Jakobek, 2015).

Al comparar el contenido de polifenoles del jugo de pitaya (679.26 mg EAG/100 g b.s.) y de los encapsulados con altas proporciones de proteína (1714.52-2726.89 mg EAG/100 g b.s), se observó que hubo un incremento de hasta cuatro veces. Esto también se pudo observar en el estudio de Robert *et al.* (2015) durante la encapsulación de jugo de tuna, el cual mostró un contenido de polifenoles de 73.2 mg EAG/100 g e incrementó hasta el triple en los encapsulados con proteína (231 mg EAG/100 g polvo). De manera similar, Saézn *et al.* (2009), reportan un incremento en el contenido de polifenoles en la encapsulación de tuna mediante inulina y maltodextrina.

La elección del material de la pared y la formulación de la alimentación juega un papel vital con respecto al efecto protector sobre los compuestos fenólicos y los parámetros más relevantes en este aspecto son: la tasa de retención de los fenólicos en el núcleo, el contenido fenólico total y la actividad antioxidante (Anandharamakrishnan, 2015).

En el estudio de do Carmo *et al.* (2017), los tratamientos de proteína y su combinación con inulina produjeron los encapsulados de betabel con la actividad antioxidante más alta, 78.19 y 85.01%, respectivamente. Lo cual puede relacionarse con la capacidad de las proteínas para preservar los compuestos fenólicos reflejándose en la capacidad antioxidante.

La retención de polifenoles al emplear proteína como material de pared ha sido reportada en otros estudios con observaciones particulares, tal es el caso de Pang *et al.* (2014) donde reportan que una menor cantidad de proteína (0.05% en peso) logró una mayor retención de compuestos fenólicos, mientras altas concentraciones la redujeron. Esta diferencia fue atribuida a que, a altas concentraciones, la solubilidad de la proteína disminuye como resultado de la desnaturalización (Anandharamakrishnan *et al.*, 2008). Consecuentemente, los polifenoles pueden no ser tan accesibles como aquellos encapsulados con proteína soluble sin desnaturalizar, lo que condujo a una menor conservación durante el secado por atomización.



Por otro lado, el contenido de polifenoles disminuyó a medida que las proporciones de almidón OSA incrementaban. Resultados similares fueron presentados por da Silva *et al.* (2013) tras la encapsulación de propóleo con goma arábica y almidón OSA donde la preservación de los compuestos fenólicos fue mayor en la encapsulación con goma arábica.

Otros estudios reportan que la retención de compuestos se ha favorecido utilizando almidón modificado como material de pared, tal es el caso de Baranauskienė *et al.* (2007), donde se evaluó el efecto de almidones modificados como materiales de pared en la retención de aceite de menta (*Mentha piperita L.*). Acorde a los resultados, los almidones OSA mostraron una mayor eficiencia de encapsulación que los almidones hidrolizados.

Los polvos encapsulados con mayor contenido de fructanos mostraron contenidos entre 1117 y 1862 mg EAG/100 g de polvo los cuales se sitúan en la zona de color verde como lo muestra la superficie de respuesta en la Figura 12. La adición de fructanos resultó en valores medios en el contenido de polifenoles para el resto de los tratamientos.

En contraste, en el estudio de Sánchez-Madrigal *et al.* (2019) el incremento del contenido de fructanos causó una disminución en la retención de polifenoles tras encapsulación de antocianinas de maíz azul. Otros estudios han mostrado una mejor retención de diversos compuestos utilizando estos polímeros. Tarone *et al.* (2020) evaluaron inulina y fructooligosacáridos con distintos grados de polimerización en la encapsulación de polifenoles extraídos de cáscara de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). De acuerdo a los resultados, las propiedades químicas como bioactividad y eficiencias de encapsulación, aumentaron tras incrementar el grado de polimerización. Esto puede explicarse debido a que la ramificación de la estructura aumenta con el aumento del grado de polimerización aumentando el número de sitios disponibles para interacciones.



7.5.2 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los polvos de pitaya fue afectada significativamente ($p < 0.05$) por los agentes acarreadores evaluados (Tabla 10) y los valores obtenidos variaron entre 7.27 y 15.14 $\mu\text{mol ET/g b.s.}$ (Tabla 9). A medida que la proporción de proteína incrementaba en las mezclas, la actividad antioxidante de los polvos fue mayor. La Figura 13 muestra las tendencias de esta respuesta según las proporciones de los agentes acarreadores, la zona naranja corresponde a los polvos con mayor actividad antioxidante situados en el área de la proteína como mayor componente. do Carmo *et al.* (2017) reportaron resultados similares, encontrando que la actividad antioxidante fue mayor en los tratamientos donde se utilizó la proteína de suero como único acarreador al igual que las mezclas de este material con maltodextrina y con inulina en la encapsulación de betabel. Esto fue atribuido al alto contenido de azúcar del jugo y a la presencia de proteína, lo cual pudo haber dado lugar, a reacciones de Maillard debido a las altas temperaturas obteniendo compuestos que contribuyeron con la actividad antioxidante.

De manera similar, se ha reportado que la proteína de yema de huevo tiene un mejor efecto en la actividad antioxidante de los polvos de dátil en comparación con la goma arábica. Esto relacionado a que la proteína posee gran capacidad antioxidante por la fuerte propiedad quelante de metales de la fosvitina, que representa el 16% de la fracción granular de la proteína (Sassy *et al.*, 2020).

Los polvos de pitaya encapsulados con mayor proporción de almidón OSA presentaron menor actividad antioxidante y en la Figura 13 se observa como la respuesta disminuye a medida que las proporciones de este material aumentan. Resultados similares se obtuvieron en el estudio de da Silva *et al.* (2013), debido a que la actividad antioxidante disminuyó al incrementar las concentraciones de ambos acarreadores. Se sugiere que las concentraciones evaluadas se encontraban cerca del punto de saturación de esta propiedad, por lo que el incremento de la concentración no tuvo efecto en la actividad antioxidante.

Respecto al uso de fructanos como material de pared, la tendencia fue similar a la observada en el contenido de polifenoles. La adición de fructanos dio lugar a valores

situados al centro del rango de los valores obtenidos en todos los tratamientos, esto corresponde a la zona de color verde en la superficie de respuesta de la Figura 13.

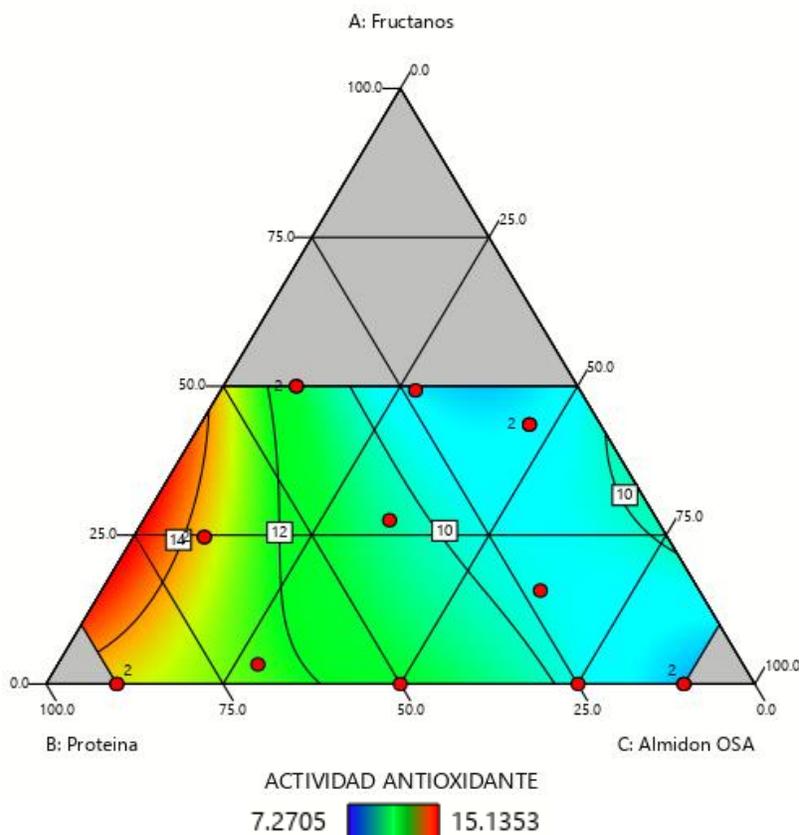


Figura 13. Superficie de respuesta de la actividad antioxidante de los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.

Los fructanos han sido evaluados en distintos estudios obteniendo resultados similares. Sánchez-Madriral *et al.* (2019), reportaron que la actividad antioxidante en polvos de antocianinas de maíz azul disminuyó al incrementar la concentración de fructanos como materiales de pared.

Comparando las respuestas del contenido de polifenoles y la actividad antioxidante en este trabajo, ambas fueron mayores al incrementar el contenido de proteína de suero. Lo mismo ocurrió en el estudio de Bazarria y Kumar (2016), donde el incremento gradual de la concentración de proteína de suero promovió el contenido de polifenoles



y, por lo tanto, incrementó la actividad antioxidante en encapsulados de betabel debido a las propiedades gelificantes y emulsificantes de las proteínas.

7.5.3 Flavonoides individuales

Los contenidos de flavonoides se muestran en la Tabla 9. La isorhamnetina presentó los contenidos más altos, seguida del kaempferol y la quercetina presentó los contenidos más bajos. El análisis de varianza en la Tabla 10, mostró que ni los acarreadores ni el modelo tuvieron un efecto significativo ($p>0.05$) en el contenido de flavonoides.

El contenido de isorhamnetina varió de 0.328 a 0.409 mg/100 mg de polvo y los valores más altos corresponden a las mezclas 3 (0F-50P-50A) y 8 (3.3F-68.4P-28.3A) con 0.391 y 0.409, respectivamente (Figura 14a).

Los contenidos de kaempferol oscilaron de 0.303 a 0.366 y los de quercetina de 0.241 a 0.303. La tendencia en ambos es menos clara en la superficie de respuesta de la Figura 14a, sin embargo, el contenido más alto de kaempferol corresponde a la mezcla 1(50F-39.7P-10.3A) y el de quercetina a la mezcla 4 (43.6F-10P-46.4A) (Figura 14b y c). Estos valores mostraron una disminución evidente en relación al jugo de pitaya con porcentajes de retención de 32.51% para la isorhamnetina, 13.78% para el kaempferol y 24.77 % para la quercetina. Estos resultados coinciden con los reportados por Ruíz-Gutiérrez *et al.* (2014) donde el contenido de flavonoides en los encapsulados de tuna no fue afectado de manera significativa por las variables estudiadas, sin embargo, los contenidos reportadas son mayores a los que se obtuvieron en los encapsulados de pitaya.

En el estudio de Ramakrishnan *et al.* (2018), se reporta una degradación en el contenido de flavonoides en microcápsulas de jugo de tamarillo con diferentes materiales de pared durante el almacenamiento lo cual puede contribuir a la degradación de otros compuestos como antocianinas y carotenoides.

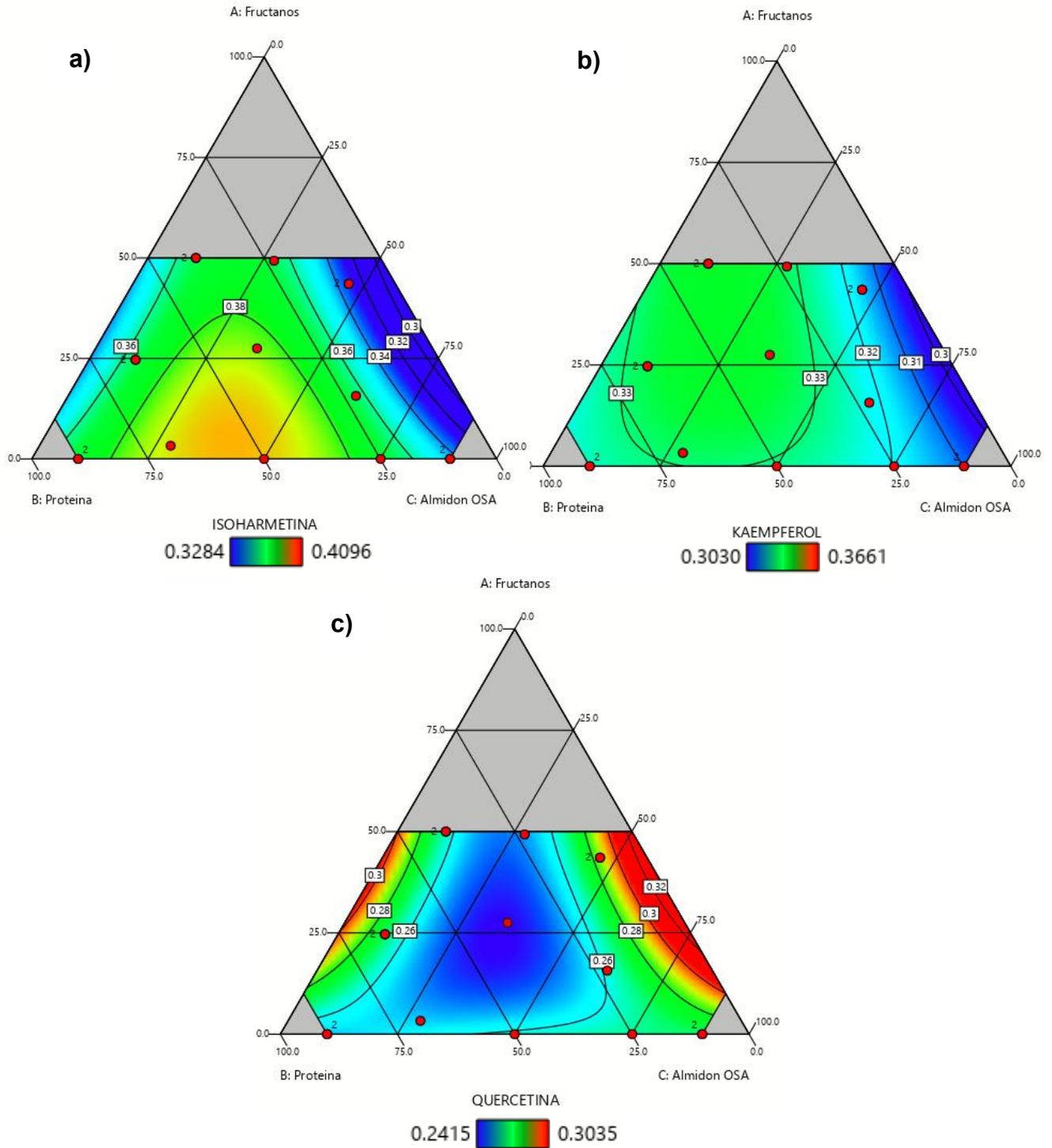


Figura 14. Superficies de respuesta del contenido de isorhamnetina (a), kaempferol (b) y quercetina (c) en los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.



7.5.4 Betaínas totales

La cuantificación de los pigmentos de los polvos de pitaya se muestra en la Tabla 9. El análisis de varianza (Tabla 10) de los datos mostró que los acarreadores, en su efecto lineal tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en el contenido de betaínas y el modelo propuesto, presentó un ajuste significativo, describiendo adecuadamente la respuesta, resultando con valores de $R^2 = 0.968$, mostrando una tendencia de punto silla (Anexo 3, Tabla 16) en el rango experimental.

El incremento de las proporciones de proteína en las mezclas resultó en un mayor contenido de betaínas, esto puede observarse en la superficie de respuesta en la Figura 15, donde los valores más altos se posicionaron en la zona naranja. Mientras que, los pigmentos disminuyeron a medida que las proporciones almidón OSA y fructanos eran mayores, siendo más evidente la disminución en los incrementos del almidón. Esta tendencia puede observarse en la Figura 15, donde el contenido de betaínas disminuye conforme las proporciones de estos materiales aumentan.

Estos resultados concuerdan con los reportados por Robert *et al.* (2015) donde la encapsulación de jugo de tuna con aislado de proteína de soya, sola y en combinación con maltodextrina o inulina mostró mayores eficiencias de encapsulación. Este comportamiento puede ser debido a las características catiónicas de las betaínas (Moreno *et al.*, 2008) que promueven interacciones entre betaína y polímero por interacciones electrostáticas o puentes de hidrógeno. Adhikari *et al.* (2009), observaron que, durante el secado por aspersión de sacarosa, se formó una película de aislado de proteína de suero alrededor de las partículas inmediatamente después de entrar en contacto con el aire de secado, incluso más rápido que la maltodextrina, lo que también podría explicar la retención de pigmento en este trabajo.

En cuanto a la encapsulación de betaínas utilizando fructanos o inulina los trabajos reportados son escasos. Sin embargo, Saénz *et al.* (2009) determinaron las condiciones óptimas en cuanto a la relación núcleo/material de pared y la temperatura del aire de entrada para la encapsulación de pulpa de tuna y del extracto etanólico de pulpa.

De manera general, no se informó ningún efecto individual de los materiales de pared concluyendo que, en todos los sistemas las indicaxantinas mostraron una degradación lenta durante el almacenamiento siendo más estables que las betacianinas.

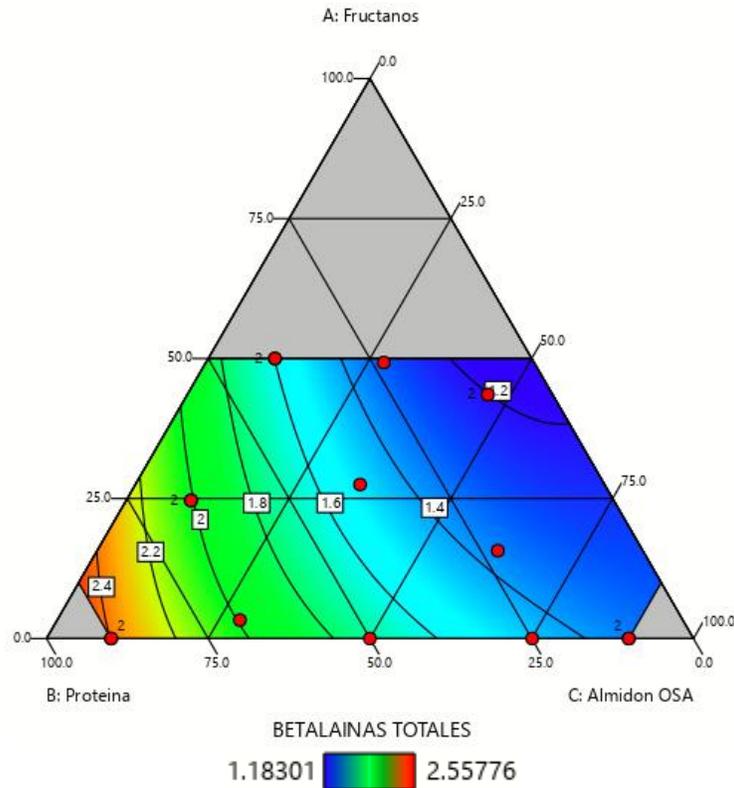


Figura 15. Superficie de respuesta del contenido de betalaínas en los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.

Kuhn *et al.* (2020), encapsularon extracto de bugambilia (*Bougainvillea glabra*) mediante secado por aspersión y liofilización, utilizando povidona, inulina y albúmina de huevo como materiales de pared. Las microcápsulas obtenidas con inulina mediante liofilización mostraron una mejor retención de betalaínas, 78.2% para betacianinas y 51.15% para betaxantinas. Esto fue atribuido a las posibles interacciones entre las betalaínas con los grupos hidroxilo de la inulina debido a enlaces de puentes de hidrógeno o interacciones electrostáticas como se mencionó anteriormente.



Los contenidos de betalaínas utilizando almidón OSA como material de pared fueron bajos, sin embargo, son superiores a los reportados por Vergara *et al.* (2014) con 0.36 y 0.16 mg/g para betacianinas y betaxantinas, respectivamente. Mientras que en un estudio realizado por Vargas-Campos *et al.* (2018) en la encapsulación de jugo de pitaya comparando el efecto de almidones modificados por succinilación y fosforilación con un almidón industrial, donde los contenidos de betalaínas reportados también son inferiores a los obtenidos en este trabajo, concluyeron que las microcápsulas producidas con el almidón modificado mostraron mejor potencial de pigmentación y más estabilidad que las obtenidas con el producto industrial.

Al comparar los resultados del contenido de polifenoles, betalaínas y actividad antioxidante de los encapsulados de pitaya, todas las respuestas incrementaron cuando la proteína era el componente de mayor contenido en las mezclas. Esto era de esperarse debido a que se ha reportado que las betalaínas poseen actividad antioxidante y, por lo tanto, contribuyen a la estabilidad de esta (Gandía-Guerrero *et al.*, 2013; Miguel, 2019).

Para confirmar la correlación entre el contenido de polifenoles y betalaínas totales y la actividad antioxidante, se realizó un análisis de Pearson. Los resultados mostraron que su correlación es fuerte debido a que los valores obtenidos fueron muy cercanos al uno (Tabla 12). Por otro lado, la correlación resultó altamente significativa ($p < 0.05$) y positiva lo que significa que las respuestas se ven afectadas de igual forma por los acarreadores, donde el aumento en el contenido de betalaínas se presenta un aumento en la actividad antioxidante y en el contenido de polifenoles.

Tabla 12. Coeficientes de correlación entre el contenido de betalaínas, el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de los encapsulados de pitaya.

	BT		PT
PT	0.931	←	Correlación de Pearson
	0.000	←	Valor de p
AA	0.871		0.877
	0.000		0.000

BT: betalaínas totales; PT: polifenoles totales; AA: actividad antioxidante.

7.6 Análisis cromatográfico de betalaínas individuales

El contenido de pigmentos de los encapsulados se completó con la detección de betalaínas individuales mediante un análisis de cromatografía líquida. Debido a que los estándares de betalaínas no se encuentran disponibles para realizar la cuantificación, se utilizó como referencia el trabajo reportado por García-Cruz *et al.* (2017) donde se realizó el perfil de betalaínas y compuestos fenólicos en pulpa de pitaya de la misma variedad mediante cromatografía de gases. Los cromatogramas obtenidos en este estudio se muestran en la Figura 16 donde se identificaron la filocactina (pico 6, Figura 16a) y la indicaxantina (pico 2, Figura 16b).

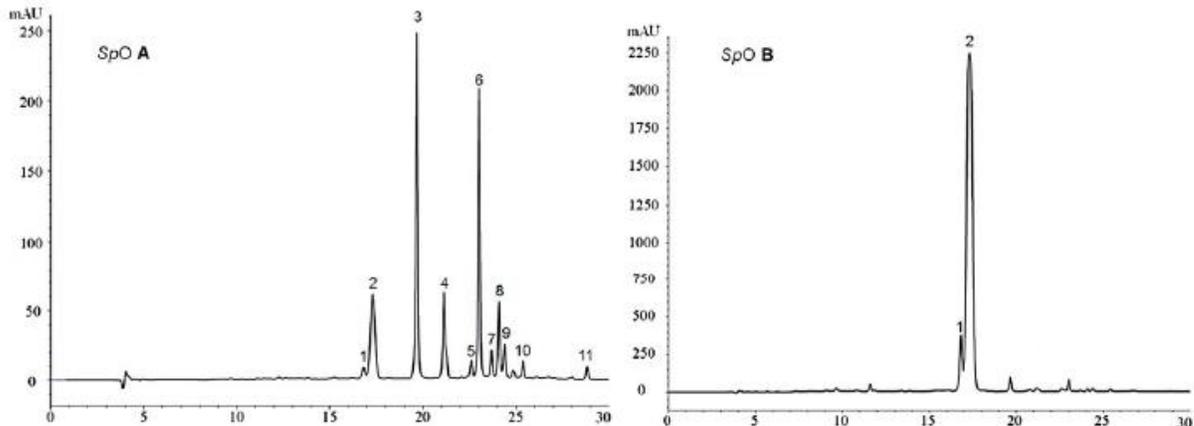


Figura 16. Perfil de HPLC de betalaínas de la pulpa de *Stenocereus Prinosus* (SpO) a 530 nm (A) y 480 nm (B).

Estos componentes fueron identificados tentativamente en los cromatogramas obtenidos tras el análisis de los encapsulados de pitaya y se calcularon los porcentajes de retención respecto al jugo utilizado como materia prima. Algunos de los cromatogramas obtenidos se muestran en la Figura 17, y, se puede observar que los patrones son consistentes entre tratamientos al igual que los tiempos de retención para cada compuesto.

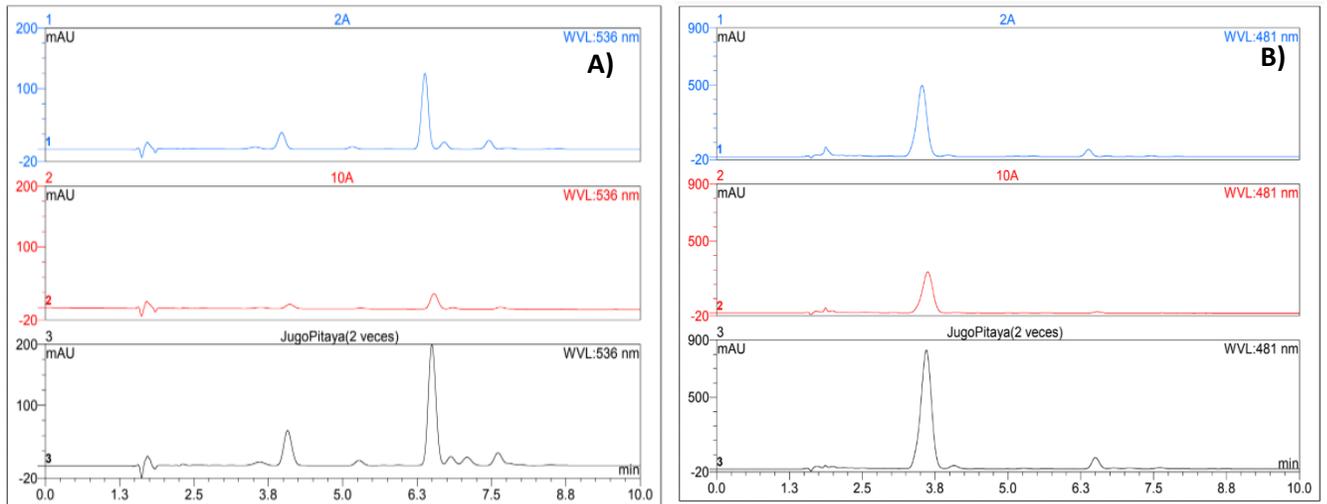


Figura 17. Cromatogramas para la detección de betalainas por HPLC en encapsulados de jugo de pitaya a 536 nm (A) y 481 nm (B).

Los porcentajes de retención variaron de 5.73 a 26.88 y de 17.02 a 28.87 para betacianinas (filocactina) y betaxantinas (indixantina), respectivamente (Tabla 13). Los datos fueron analizados mediante un ANOVA (Tabla 14), donde se observa que los acarreadores no presentaron efectos significativos ($p > 0.05$) en los porcentajes de retención de los polvos. Las mezclas con mayor porcentaje de almidón y fructanos mostraron la mayor retención para los dos pigmentos (Figura 18), mientras que la retención más baja fue para el jugo de pitaya encapsulado con mayor contenido de proteínas (Tabla 13). Se puede observar que los porcentajes de retención de betaxantinas son ligeramente mayores lo cual se atribuye a que estos pigmentos tienen mayor estabilidad a altas temperaturas que las betaxantinas (Gandía-Herrero *et al.*, 2013; Azeredo *et al.*, 2007).

En comparación con otros estudios la retención de betalainas en este trabajo fue menor, tal es el caso de Ruíz-Gutiérrez *et al.* (2014) quienes reportaron porcentajes de 40-57% para betacianinas y de 36.44-56.29% para betaxantinas en la encapsulación de jugo de tuna.

do Carmo *et al.* (2017), reportaron una retención de betalainas totales del 88.45 al 95.69% en la encapsulación de betabel. Mientras que Delia *et al.* (2019), reportaron



una de retención del 90% de las betalaínas encapsuladas con mucílago después de tres meses de almacenamiento.

Tabla 13. Retención de betalaínas en polvos de pitaya encapsulados mediante mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.

Mezcla	FILOCACTINA (%)*	INDICAXANTINA (%)*
1	13.51 ± 0.477	21.83 ± 0.191
2	26.88 ± 0.881	28.87 ± 1.181
3	22.82 ± 0.385	26.35 ± 0.273
4	22.12 ± 0.601	25.59 ± 0.804
5	9.77 ± 0.261	21.96 ± 0.460
6	14.56 ± 0.593	23.14 ± 0.336
7	8.26 ± 0.600	19.85 ± 0.221
8	8.53 ± 0.148	20.30 ± 0.197
9	7.97 ± 0.288	18.73 ± 0.086
10	6.38 ± 0.230	17.02 ± 0.654
11	5.73 ± 0.079	17.81 ± 0.186
12	5.98 ± 0.257	22.90 ± 0.052
13	8.28 ± 0.362	20.82 ± 0.160
14	18.24 ± 0.464	27.70 ± 0.658
15	10.82 ± 0.299	20.80 ± 0.189
16	12.88 ± 0.493	25.60 ± 0.808

*Media ± DE.

Tabla 14. Análisis de varianza de los porcentajes de retención de betalaínas en los polvos de pitaya encapsulados con diferentes proporciones de fructanos, proteína y almidón OSA como materiales de pared.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	
		BTC	BTX
Modelo	5	0.0195	0.086
Mezcla lineal	2	0.007	0.248
AB	1	0.011	0.0007
AC	1	0.004	0.0003
BC	1	0.039	0.0102
ABC	1	0.015	0.0010
Residual	10	0.032	0.0020
Falta de ajuste	5	0.016	0.0018
Error	5	0.044	0.0021
R ²		0.2921	0.9667

*Significancia ($p < 0.05$). A: fructanos; B: proteína; C: almidón OSA; GL: grados de libertad; BTC: betacianinas, BTX: betaxantinas.

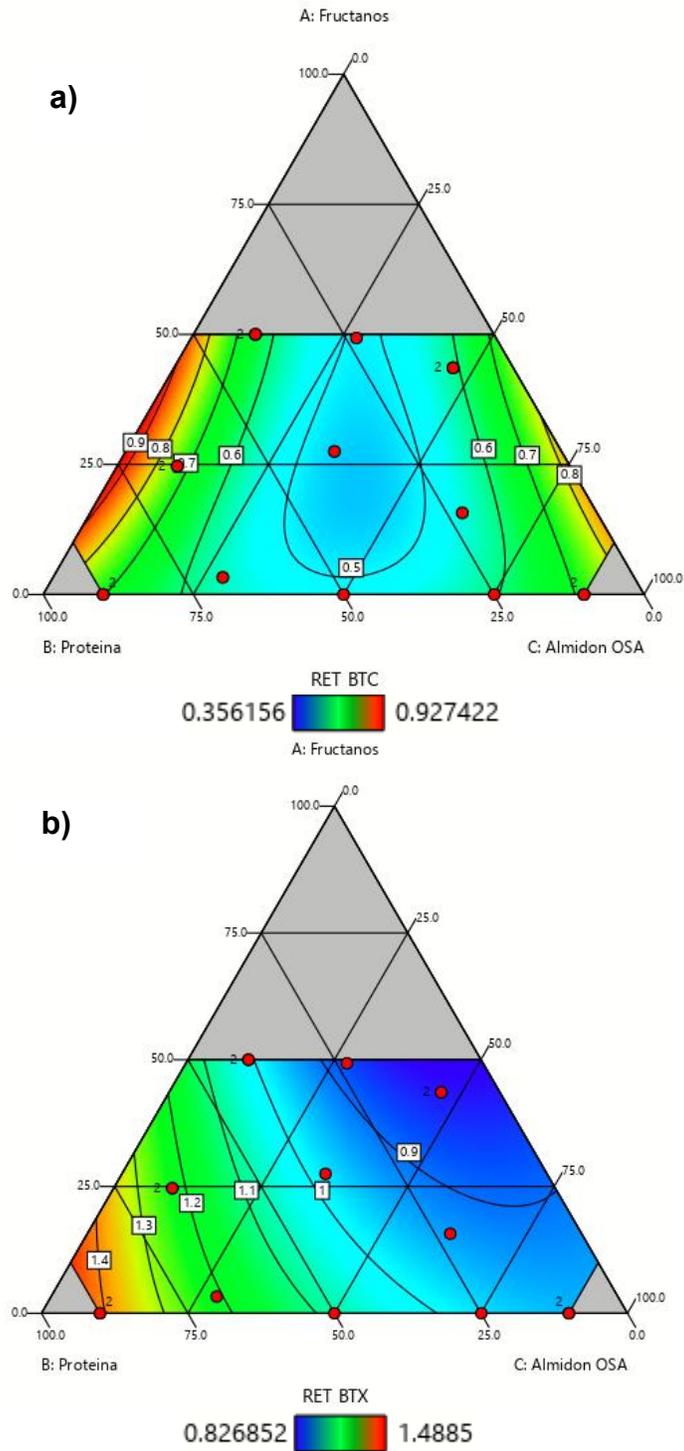


Figura 18. Superficie de respuesta de la retención de betacianinas (a) y betaxantinas (b) en los encapsulados de pitaya producidos con mezclas de fructanos, proteína de suero y almidón OSA como materiales de pared.



Existen muchos factores que pudieron haber influenciado en las diferencias entre la retención de pigmentos, entre estos se encuentra el origen del fruto, ya que el contenido puede variar dependiendo de la fuente. Así como la variedad de los métodos de extracción de betalaínas, el cual pudo ser afectado por el tipo de solvente empleado y si este es o no, sometido a extracción asistida por sonicación. Otro factor, es el tipo de acarreador seleccionado en los diferentes estudios, además de las condiciones del proceso de secado por aspersión como técnica de encapsulación.

Los altos porcentajes de retención obtenidos en la encapsulación del jugo de pitaya con mayores proporciones de almidón OSA pueden ser atribuidos a las distintas propiedades que presenta el material como agente acarreador. Por ejemplo, se ha reportado que el almidón modificado es tolerante a altas temperaturas en comparación con otros materiales de pared, lo que pudo haber minimizado la degradación de los pigmentos (Partanen *et al.*, 2002). El estudio de Choudhari *et al.* (2012) demostró que las microcápsulas de licopeno producidas con almidón OSA fueron relativamente estables al proceso de extrusión con temperaturas mayores a 187 °C.

Otra de las propiedades que contribuye a la preservación de compuestos es su estructura geométrica que permite un empaque compacto, convirtiéndose en una estructura optimizada para maximizar la retención de compuestos bioactivos, así como para minimizar las rupturas durante el procesamiento (Hoyos-Leyva *et al.*, 2018).

Los almidones modificados también han sido utilizados en combinación con otros polisacáridos, como proteínas u otro tipo de carbohidratos lo que puede incrementar la preservación de los pigmentos debido a una posible sinergia entre los materiales de pared. Por ejemplo, Shen *et al.* (2010) utilizaron quitosano como material de pared el cual es un polisacárido catiónico el cual formó enlaces electrostáticos con el almidón OSA (aniónico) resultando en partículas muy estables.

A pesar de que los estudios de encapsulación de betalaínas mediante almidón OSA son escasos, los resultados obtenidos demuestran que es un material prometedor para la producción de microcápsulas estables como colorantes naturales en la producción de alimentos.



7.7 Optimización de las proporciones en las mezclas

Para la obtención de las proporciones óptimas de cada acarreador se llevó a cabo la técnica de optimización gráfica de respuestas múltiples (Floros y Chinnan, 1988; Quintero-Ramos *et al.*, 2002).

Uno de los objetivos principales del estudio fue obtener polvos encapsulados con alto contenido de betalaínas y con tonalidades rojas para ser utilizados como pigmentos naturales en la producción de alimentos. Bajo este esquema, se procedió a maximizar las respuestas de contenido de betalaínas totales y parámetro a^* de color como criterio de optimización. El resto de las variables se mantuvieron en el rango debido a que no tuvieron un efecto significativo tanto en la estabilidad, como en el manejo en general de los polvos.

Las condiciones óptimas de encapsulación corresponden al área coloreada del gráfico de superposición que se muestra en la Figura 19. Como se observa, la zona está definida por rangos que van de 0.6 a 13.4% para fructanos, de 6.3 a 15.8% para proteína y de 75.2 a 88.2% para almidón OSA, bajo estas condiciones se obtendrían valores de 1.30 a 1.36 mg/g para el contenido de betalaínas y de 22.22 a 25 para el parámetro a^* .

Según lo anterior, es el almidón modificado quien debe estar en mayor proporción en las mezclas y, si bien los contenidos más altos de betalaínas, polifenoles y actividad antioxidante se obtuvieron con altas proporciones de proteína, los valores de a^* disminuyeron por el efecto de blanqueamiento y los polvos obtenidos eran más opacos. Por lo tanto, el contenido de proteína se mantuvo en una proporción que contribuyera a la preservación de las betalaínas sin afectar el color de los encapsulados.

Finalmente, se seleccionó un punto de la zona óptima con las proporciones de acarreador necesarias para para lograr las propiedades fisicoquímicas utilizadas como criterio de optimización. En la Figura 19, puede observarse que las proporciones fueron: 7.0% de fructanos, 10.3% de proteína y 82.7% de almidón OSA.

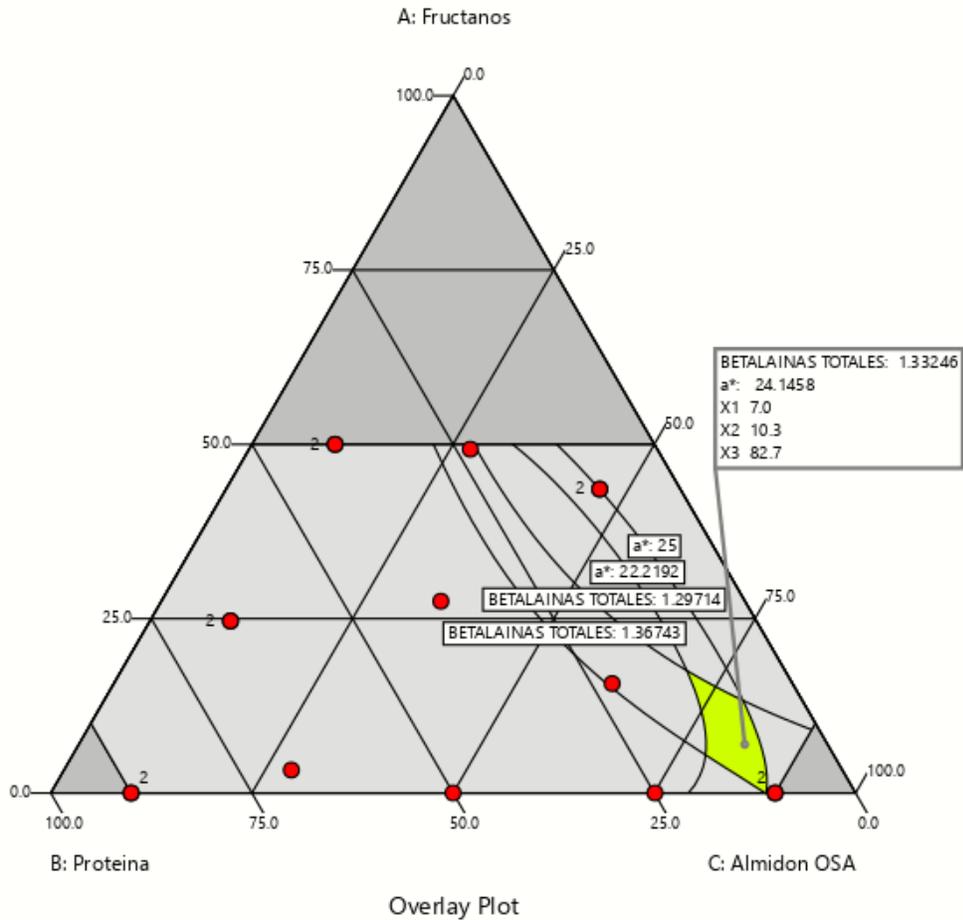


Figura 19. Gráfico de contorno de sobreposición que muestra las proporciones óptimas de los materiales de pared para la encapsulación de jugo de pitaya.

7.8 Verificación experimental

La mezcla óptima de agentes portadores se verificó realizando un tratamiento de encapsulación independiente utilizando las proporciones de 7% de fructanos, 10.3% de proteína de suero y 82.7% de almidón OSA bajo las mismas condiciones del proceso de secado.

Los datos experimentales, los valores de predicción estimados por el modelo y el error relativo calculado se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15. Estimación del error relativo entre los valores de predicción y los valores experimentales de las propiedades fisicoquímicas de los encapsulados de pitaya obtenidos con la mezcla óptima de fructanos, proteína y almidón OSA.

Variable de respuesta	Valor de predicción	Valor experimental	Error (%)
H (%)	1.1074	1.3 ± 0.33	17.39*
aw	0.067	0.071 ± 0.07	5.97
ISA	0.8342	1.0042 ± 0.31	20.38*
IAA	0.3587	0.3209 ± 0.01	10.54*
DA	0.675	0.5863 ± 0.01	13.14*
HIG (%)	31.251	32.1294 ± 0.38	2.81
Tg (°C)	38.9622	37.4842 ± 0.47	4.73
L*	52.6923	53.0953 ± 0.01	0.76
a*	23.7285	23.7243 ± 0.09	0.02
b*	38.9031	38.2216 ± 0.07	1.75
Hue (°)	1.0355	1.0151 ± 0.01	1.97
Croma	46.1466	44.9874 ± 1.36	2.51
ΔE	4.3803	4.3915 ± 0.08	0.26
AA (μmol TE/g)	9.0312	8.5364 ± 0.44	5.48
PT (mg GAE/100 g)	1064.4505	1030.42 ± 2.74	3.20
BT (mg/g)	1.3252	1.238 ± 0.02	6.58
RET BTC (%)	17.7359	13.64 ± 0.74	23.09*
RET BTX (%)	24.7535	17.25 ± 0.79	30.31*
I (mg/100 g)	0.3408	0.3678 ± 0.06	0.11
Q (mg/100 g)	0.2736	0.2641 ± 0.05	0.04
K (mg/100 g)	0.3107	0.2936 ± 0.01	0.07

*Error relativo > 10%. H: contenido de humedad; aw: actividad de agua; ISA: índice de solubilidad de agua; IAA: índice de absorción de agua; DA: densidad aparente; HIG: higroscopicidad; Tg: temperatura de transición vítrea; AA: actividad antioxidante; PT: polifenoles totales; BT: betalaínas totales; RET BTC y BT: retención de betacianinas y betaxantinas; I: isorhamnetina; Q: quercetina; K: kaempferol.



El error relativo es una herramienta utilizada para determinar la precisión de la medición determinando la proporción del error con respecto al valor exacto de dicha medición. La precisión de una medición dependerá del proceso en cuestión, por lo general, una medida es buena cuando no supera el 10% de error relativo (Vivanco, 2005).

El error relativo obtenido para las respuestas de contenido de betalaínas y parámetro a^* fue de 6.58 y 0.02%, respectivamente. Por lo tanto, la calidad de la medición es aceptable y, considerando que estas variables fueron seleccionadas para la optimización, se interpreta que el modelo predice de manera correcta el comportamiento de las variables.

En lo que respecta al resto de las variables, la mayoría presentaron errores menores al 10% lo que indica que la verificación de las condiciones óptimas fue satisfactoria. El hecho de que algunas respuestas mostraron porcentajes de error mayores puede deberse a la sensibilidad de las técnicas. Tal es el caso del análisis por HPLC donde la preparación del sistema de solventes pudo haber interferido. Por otro lado, se considera complicado que las variables en estudio resulten aceptables en su totalidad en especial cuando la cantidad es considerable como en este estudio. Por tal motivo, se priorizaron las variables que fueron de mayor importancia en cuanto a la calidad de los encapsulados de pitaya.



VIII. CONCLUSIÓN

El modelo polinomial de Scheffé propuesto para describir el proceso de encapsulación de pigmentos de pitaya empleando diferentes proporciones de materiales de pared (fructanos, proteínas y almidón OSA) se ajustó de manera adecuada para las respuestas de: densidad aparente, índice de solubilidad en agua, color (a^* y ΔE), contenido total de betalaínas, polifenoles y actividad antioxidante.

La combinación de carbohidratos complejos con proteínas dio lugar a la producción de micropartículas con propiedades fisicoquímicas aceptables. Las mezclas con mayor proporción de proteínas mostraron una mejor retención para el contenido de betalaínas y la actividad antioxidante. Además, con este acarreador, el contenido de polifenoles se incrementó hasta cuatro veces con respecto a los polifenoles contenidos en el jugo de pitaya. No obstante, altas proporciones de proteína opacaron las tonalidades de interés en los polvos (parámetro a^*) por efecto de blanqueamiento, por lo que se mantuvo a niveles que permitieran la preservación de betalaínas sin perjudicar las propiedades de color. Por otro lado, el almidón OSA potenció el color rojo de los polvos y presentó mejor retención de betalaínas según el análisis cromatográfico.

La condición óptima de las proporciones para los acarreadores está definida por rangos que van de 0.6 a 13.4% para fructanos, de 6.3 a 15.8% para proteína y de 75.2 a 88.2% para almidón OSA para alcanzar un contenido de betalaínas de 1.30 a 1.36 mg/g y valores de 22.22 a 25 para el parámetro a^* .

La verificación experimental bajo la condición de 7% de fructanos, 10.3% de proteína y 82.7 % de almidón OSA resultó en un contenido de betalaínas de 1.24 mg/g y 23.72 para el parámetro a^* . El resto de las variables mostraron errores relativos aceptables concluyendo que las mediciones fueron precisas y validando el proceso de optimización.

De los hallazgos antes mencionados, se puede concluir que el tipo de matriz de encapsulación tiene un efecto importante sobre la estabilidad de las betalaínas. La combinación de polisacáridos puede aportar diferentes características a la matriz, además de una mayor protección a los compuestos bioactivos. Se demostró que la combinación proteína-polisacárido provee mayor estabilidad para las betalaínas y a su



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

vez, esto dependerá del tipo de polisacárido seleccionado debido a que según la estructura las propiedades del material pueden variar. Tanto la encapsulación de betalaínas para incrementar su estabilidad, como el efecto del material de pared seleccionado seguirá siendo uno de los objetivos en el desarrollo de estudios futuros. En general, los resultados sugieren que el empleo de fructanos, proteína de suero y almidón modificado como materiales de pared es viable para la encapsulación de betalaínas y permite la producción de polvos física y químicamente estables como alternativa al uso de colorantes sintéticos en la producción de alimentos.



IX. BIBLIOGRAFÍA

- Adhikari, B., Howes, T., Bhandari, B. R., y Langrish, T. A. G. (2009). Effect of addition of proteins on the production of amorphous sucrose powder through spray drying. *Journal of Food Engineering*, 94(2), 144-153.
- Ahmed, M., Akter, S. y Eun, J. (2010). Impact of amylase and maltodextrine on physicochemical functional and antioxidant capacity of spray-dried sweet potato flour. *J. Sci. Food Agr.* 90: 494-502.
- Anandharamakrishnan, C., Rielly, C.D. and Stapley, A.G.F. (2008). Loss of solubility of α - lactalbumin and β -lactoglobulin during the spray drying of whey proteins. *LWT- Food Science and Technology* 41, 270–277.
- Anandharamakrishnan, C. (2015). *Spray drying techniques for food ingredient encapsulation*. John Wiley y Sons.
- Amchova, P., Kotolova, H., y Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 73(3), 914-922.
- Amjadi, S., Ghorbani, M., Hamishehkar, H., y Roufegarinejad, L. (2018) Improvement in the stability of betanin by liposomal nanocarriers: its application in gummy candy as a food model. *Food Chemistry* 256: 156–162.
- Aparicio-Fernández X, Vega-Ahuatzin A, Ochoa-Velasco CE. (2018) 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: 368–379.
- Arburto, L.C., Tavares, D.Q., Martucci, E.T., 1998. Microencapsulación de aceite esencial de naranja. *Ciencia y Tecnología de Alimentos* 18, 45–48.
- Augustin, M. A., y Hemar, Y. (2009). Nano-and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical society reviews*, 38(4), 902-912.
- Azeredo, H. M. C., Santos, A. N., Souza, A. C. R., Mendes, K. C., y Andrade, M. I. R. (2007). Betacyanin stability during processing and storage of a microencapsulated red beetroot extract. *American Journal of Food Technology*, 2(4), 307-312.



- Badui-Dergal, S. (2013). Química de los alimentos de Salvador Badui Dergal. 5ta. Edición.
- Bakowska-Barczak, A. M., y Kolodziejczyk, P. P. (2011). Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial crops and products*, 34(2), 1301-1309.
- Bao, T., Xu, Y., Gowd, V., Zhao, J., Xie, J., Liang, W., *et al.* (2016). Systematic study on phytochemicals and antioxidant activity of some new and common mulberry cultivars in China. *Journal of Functional Foods*, 25, 537-547.
- Baranauskienė, R., Bylaitė, E., Žukauskaitė, J., y Venskutonis, R. P. (2007). Flavor retention of peppermint (*Mentha piperita L.*) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(8), 3027-3036.
- Bartkowiak, A., Krawczynska, W., y Federowicz, A. (2017). Novel polymer systems and additives to protect bioactive substances applied in spray-drying. *New Polymers for Encapsulation of Nutraceutical Compounds*, 1st ed. Wiley, West Sussex, UK, 99-120.
- Bastos, D.S., Araújo, K.G.L., Rocha-Leão, M.H.M. (2009). Ascorbic acid retaining using a new calcium alginate – Capsul® based edible film. *J. Microencapsul.* 26, 97–103.
- Belmonte-Vázquez, J. L., Arroyo-Córdoba, I. J., Vázquez-Guevara, M. A., Cruz-Cruz, D., y Peña-Cabrera, E. (2016). Colorantes artificiales en alimentos. *Naturaleza y Tecnología*, (10).
- Beltrán-Orozco, M. C., Oliva-Coba, T. G., Gallardo-Velázquez, T., y Osorio-Revilla, G. (2009). Ácido ascórbico, contenido fenólico, y capacidad antioxidante de las variedades roja, cereza, amarilla y blanca del fruto del cactus de la pitaya (*Stenocereus stellatus Riccobono*). *Agrociencia*, 43(2), 153-162.
- Bhandari, B. R., Datta, N., y Howes, T. (1997). Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Drying Technology*, 15, 671-684.



- Bhusari, S. N., Muzaffar, K., y Kumar, P. (2014). Effect of carrier agents on physical and microstructural properties of spray dried tamarind pulp powder. *Powder technology*, 266, 354-364.
- Bicudo, M. O. P., Jo, J., Oliveira, G. A. d., Chaimsohn, F. P., Sierakowski, M. R., Freitas, R. A. d., *et al.* (2015). Microencapsulation of juçara (*Euterpe edulis M.*) pulp by spray drying using different carriers and drying temperatures. *Drying Technology*, 33(2), 153-161.
- Borrmann, D., Pierucci, A. P. T. R., Leite, S. G. F., y da Rocha Leão, M. H. M. (2013). Microencapsulation of passion fruit (*Passiflora*) juice with n-octenylsuccinate-derivatised starch using spray-drying. *Food and Bioproducts Processing*, 91(1), 23-27.
- Botrel, D. A., de Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V., y Yoshida, M. I. (2014). Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. *Food Research International*, 62, 344-352.
- Butera, D., Tesoriere, L., Di Gaudio, F. *et al.* (2002). Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6895–6901.
- Cai, Y., Sun, M. y Corke, H. (1998). Colourant properties and stability of Amaranthus betacyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4491–4495.
- Cai, Y. Z., y Corke, H. (2000). Production and properties of spray-dried Amaranthus betacyanin pigments. *Journal of food science*, 65(7), 1248-1252.
- Calvo TRA, Perullini M and Santagapita PR. (2018). Encapsulation of betacyanins and polyphenols extracted from leaves and stems of beetroot in Ca (II)-alginate beads: a structural study. *Journal of Food Engineering*, 235: 32–40.
- Castellanos-Santiago, E., y Yahia, E. M. (2008). Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5758-5764.



- Castellar, M.R., Obón, J.M. y Fernández-López, J.A. (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*, 86, 122–128.
- Castro-Enríquez, D. D., Montañó-Leyva, B., Del Toro-Sánchez, C. L., Juárez-Onofre, J. E., Carvajal-Millan, E., Burruel-Ibarra, S. E., ... y Rodríguez-Félix, F. (2020). Stabilization of betalains by encapsulation—a review. *Journal of food science and technology*, 57(5), 1587-1600.
- Celli, G. B., y Brooks, M. S. L. (2017). Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins—A current review. *Food Research International*, 100, 501-509.
- Cerezal Mezquita, P., y Nuñez Lucisano, D. (1996). Caracterización del colorante de remolacha roja (*Beta vulgaris L.*) en polvo. *Alimentaria*, (269), 91-94.
- Cerezal, M. P., Pino, A. J. y Salabarría, Y. (1994). Red beet (*Beta vulgaris L.*) colourant stability in the form of a concentrated liquor. *Tecnología Alimentaria*, 29, 7–16.
- Chegini, G. R., y Ghobadian, B. (2007). Spray dryer parameters for fruit juice drying. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(2), 230-236.
- Chen, W., Zhao, J., Bao, T., Xie, J., Liang, W. y Gowd, V. (2016). Comparative study on phenolics and antioxidant property of some new and common bayberry cultivars in China. *Journal of Functional Foods*, 27, 472-482.
- Chen, J., Du, J., Ge, Z. Z., Zhu, W., Nie, R., y Li, C. M. (2016). Comparison of sensory and compositions of five selected persimmon cultivars (*Diospyros kaki L.*) and correlations between chemical components and processing characteristics. *Journal of food science and technology*, 53(3), 1597-1607.
- Chew, S.C., Tan, C. P., Nyam, K. L. (2018). Microencapsulation of refined kenaf (*Hibiscus cannabinus L.*) seed oil by spray drying using β -cyclodextrin/gum arabic/sodium caseinate, *J. Food Eng.* 237,78-85.
- Chiou, D., y Langrish, T. A. G. (2007). Development and characterization of novel nutraceuticals with spray drying technology. *Journal of Food Engineering*, 82, 84-91.



- Choudhari, S., Bajaj, I., Singhal, R., y Karwe, M. (2012). Microencapsulated lycopene for pre-extrusion coloring of foods. *Journal of Food Process Engineering*, 35(1), 91-103.
- Chuck-Hernández, C., Sandate-Flores, L., Rodriguez-Rodriguez, J., Calvo-Segura, S., Mayorga-Martinez, A. y Parra-Saldivar, R. (2016). Evaluation of different methods for betanin quantification in pitaya (*Stenocereus spp.*). *Agro Food Ind Hi Tech*, 27, 20-25.
- Chuck-Hernández, C., Parra-Saldívar, R., y Sandate-Flores, L. (2016). Pitaya (*Stenocereus spp.*).
- Chranioti, C., Nikoloudaki, A., y Tzia, C. (2015). Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydrate Polymers*, 127, 252-263.
- Clifford T, Constantinou CM, Keane KM, *et al.* (2016). The plasma bioavailability of nitrate and betanin from Beta vulgaris rubra in humans. *European Journal of Nutrition* 56: 1245–1254.
- Codex Alimentarius Commission (2004). ALINORM 05/28/27 - Report of the Twenty-Second Session of the Codex Committee on Processed Fruits and Vegetables. Available at: http://www.codexalimentarius.net/download/report/624/al28_27e.pdf (accessed 24 / 06 / 2006). Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Cohen, E. y Saguy, I. (1983). Effect of water activity and moisture content on the stability of beet powder pigments. *Journal of Food Science*, 48, 703–707.
- Cortés-Rojas, D. F., y Oliveira, W. P. (2012). Physicochemical properties of phytopharmaceutical preparations as affected by drying methods and carriers. *Drying Technology*, 30(9), 921-934.
- da Silva, F. C., da Fonseca, C. R., de Alencar, S. M., Thomazini, M., de Carvalho Balieiro, J. C., Pittia, P., y Favaro-Trindade, C. S. (2013). Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. *Food and Bioproducts Processing*, 91(1), 28-36.



- Dalmoro, A., Barba, A. A., Lamberti, G., y d'Amore, M. (2012). Intensifying the microencapsulation process: Ultrasonic atomization as an innovative approach. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 80, 471-477.
- de Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V., y Botrel, D. A. (2014). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate polymers*, 101, 524-532.
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A.R. y Paredes-López, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains - characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40, 173-289.
- Delia, S. C., Chávez, G. M., Frank, M., Araceli, S., Irais, A. y Franco, A. (2019). Spray drying microencapsulation of betalain rich extracts from *Escontria chiotilla* and *Stenocereus queretaroensis* fruits using cactus mucilage. *Food Chem* 272:715-722.
- Desai, K. G. H., y Jin Park, H. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying technology*, 23(7), 1361-1394.
- do Carmo, E. L., Teodoro, R. A. R., Félix, P. H. C., de Barros Fernandes, R. V., de Oliveira, É. R., Veiga, T. R. L. A., ... y Botrel, D. A. (2018). Stability of spray-dried beetroot extract using oligosaccharides and whey proteins. *Food chemistry*, 249, 51-59.
- Drdák, M. y Vallová, M. (1990). Kinetics of the thermal degradation of betanine. *Die Nahrung*, 34, 307-310.
- Drunkler, D. A., Fett, R., y Bordignon Luiz, M. T. (2006). The evaluation of stability of betalains in beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract add to of α -, β - and γ -cyclodextrins. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, 24, 259-276.
- Esatbeyoglu T, Wagner AE, Motafakkerazad R, et al. (2014). Free radical scavenging and antioxidant activity of betanin: electron spin resonance spectroscopy studies and studies in cultured cells. *Food and Chemical Toxicology* 73: 119-126.



- Esquivel, P., y Araya, Y. (2012). Características del fruto de la pitahaya (*Hylocereus sp.*) y su potencial de uso en la industria alimentaria. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3(1), 113-129.
- Estevinho, B. N., y Rocha, F. (2018). Application of Biopolymers in Microencapsulation Processes. In *Biopolymers for Food Design* (pp. 191-222). Academic Press.
- Fang, Z., y Bhandari, B. (2012). Comparing the efficiency of protein and maltodextrin on spray drying of bayberry juice. *Food Research International*, 48(2), 478-483.
- Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Kalbasi Ashtari, A., y Omid, M. (2012). Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food and Bioproducts Processing*, 90, 667-675.
- Femat-Castañeda, C., Chávez-Rodríguez, A., Chávez-Rodríguez, A. M., Flores-Martínez, H., Farías-Cervantes, V. S., y Andrade-González, I. (2019). Effect of agave fructans and maltodextrin on Zn²⁺ chlorophyll microencapsulation by spray drying. *Journal of Food Quality*, 2019.
- Ferrari, C. C., Marconi Germer, S. P., Alvim, I. D., y de Aguirre, J. M. (2013). Storage for pre-extrusion coloring of foods. *Journal of Food Process Engineering*, 35, 91–103.
- Floros, J. D., y Chinnan, M. S. (1988). Seven factor response surface optimization of a double stage lye (NaOH) peeling process for pimiento peppers. *J. Food Sci.* 53, 631-638.
- Frank, T., Stintzing, F., Carle, R., et al. (2005) Urinary pharmacokinetics of betalains following consumption of red beet juice in healthy humans. *Pharmacological Research* 52: 290–297.
- García Barrera, F. A., Reynoso, C. R., y González de Mejía, E. (1998). Estabilidad de las betalaínas extraídas del garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). *Food science and technology international*, 4(2), 115-120.
- García-Cruz, L., Dueñas, M., Santos-Buelgas, C., Valle-Guadarrama, S., y Salinas-Moreno, Y. (2017). Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus spp.*) fruit from two species (*S. Prinosus* and *S. stellatus*). *Food chemistry*, 234, 111-118.



- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., y Joaquín-Cruz, E. (2013). Physical, chemical, and antioxidant activity characterization of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(4), 403-410.
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., y del Carmen Luna-Morales, C. (2016). Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 69-76.
- García-Tejeda, Y. V., Salinas-Moreno, Y., Barrera-Figueroa, V., y Martínez-Bustos, F. (2018). Preparation and characterization of octenyl succinylated normal and waxy starches of maize as encapsulating agents for anthocyanins by spray-drying. *Journal of food science and technology*, 55(6), 2279-2287.
- Gandía-Herrero, F., Cabanes, J., Escribano, J., García-Carmona, F., y Jiménez-Atiénzar, M. (2013). Encapsulation of the most potent antioxidant betalains in edible matrixes as powders of different colors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(18), 4294-4302.
- González-Ponce, H.A., Rincón-Sánchez, A. R., Jaramillo-Juárez, F. and Moshage, H. (2018). Natural dietary pigments: potencial mediators against hepatic damage induced by over-the-counter non-steroidal anti-inflammatory and analgesic drugs. *Nutrients* 10: 117.
- Gradinaru, G., Biliaderis, C. G., Kallithraka, S., Kefalas, P., y Garcia-Viguera, C. (2003). Thermal stability of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins in solution and in solid state: effects of copigmentation and glass transition. *Food Chemistry*, 83(3), 423-436.
- Grinberg, V. Y., y Tolstoguzov, V. B. (1997). Thermodynamic incompatibility of proteins and polysaccharides in solutions. *Food Hydrocolloids*, 11(2), 145-158.
- Hamburg, A., y Hamburg, A. (1991). The stability properties of red beet pigments: Influence of pH, temperature and some stabilizers. *Medicine Faculty of Landbouw University Genetics*, 56, 1693–1695.
- Hammami, C., y Ren, F. (1997). Determination of freeze-drying process variables for strawberries. *Journal of Food Engineering*, 32, 133-154.



- Han, J.Y., Ma, D.S., Zhang, M., Yang, X.L. and Tan, D.H. (2015) Natural antioxidant betanin protects rats from paraquat-induced acute lung injury interstitial pneumonia. *BioMed Research International*.
- Havlíková, L., Miková, K., y Kyzlink, V. (1983). Heat stability of betacyanins. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 177(4), 247-250.
- ~~Herbach, K.M., Stintzing, F.C., y Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation—structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science* 71: R41–R50.~~
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C. y Carle, R. (2004a). Impact of thermal treatment on colour and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris L.*) preparations. *Journal of Food Science*, 69, C491–C498.
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C. y Carle, R. (2004b). Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton and Rose) monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. *European Food Research and Technology*, 219, 377–385.
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., y Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation—structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, 71, R41–R50.
- Hidalgo, A., Brandolini, A., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G. and Šaponjac VT. (2018). Microencapsulates and extracts from red beetroot pomace modify antioxidant capacity, heat damage and colour of pseudo-cereals-enriched einkorn water biscuits. *Food Chemistry* 268: 40–48.
- Hong, J. H., y Choi, Y. H. (2007). Physico-chemical properties of protein-bound polysaccharide from *Agaricus blazei* Murill prepared by ultrafiltration and spray drying process. *International journal of food science y technology*, 42(1), 1-8.
- Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Pérez, L. A., Alvarez-Ramirez, J., y Garcia, H. S. (2018). Microencapsulation using starch as wall material: A review. *Food reviews international*, 34(2), 148-161.
- Huang, A. S., y Von Elbe, J. H. (1986). Stability comparison of two betacyanine pigments — Amaranthine and betanine. *Journal of Food Science*, 51 (3), 670–674.



- Hussain, E. A., Sadiq, Z., y Zia-UI-Haq, M. (2018). *Betalains: Biomolecular Aspects. Springer International Publishing.*
- I Ré, M. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying technology*, 16(6), 1195-1236.
- Jackman, R.L. y Smith, J.L. (1996). Anthocyanins and betalains. In: *Natural food colourants* (edited by G.F. Hendry y J.D. Houghton). pp. 244–309. London: *Blackie Academic y Professional.*
- Jakobek, L. (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, 175, 556–567.
- Jumah, R. Y., Tashtoush, B., Shaker, R. R., y Zrai, A. F. (2000). Manufacturing parameters and quality characteristics of spray dried jameed. *Drying Technology*, 18(4-5), 967-984.
- Kanner, J., Harel, S. and Granit, R. (2001). Betalains. a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 5178–5185.
- Kaur, N., y Gupta, A. K. (2002). Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of biosciences*, 27(7), 703-714.
- Kearsley, M. W., y Katsaboxakis, K. Z. (1980). Stability and use of natural colours in foods Red beet powder, copper chlorophyll powder and cochineal. *International Journal of Food Science y Technology*, 15, 501–514.
- Kha, T. C., Nguyen, M. H., y Roach, P. D. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, 98, 385-392.
- Khan, M., y Giridhar, P. (2015). Plant betalains: chemistry and biochemistry. *Phytochemistry* 117: 267–295.
- Khan, M. I. (2016). Stabilization of betalains: A review. *Food chemistry*, 197, 1280-1285.
- Kim, H., Choi, H. K., Moon, J. Y., Kim, Y. S., Mosaddik, A., y Cho, S. K. (2011). Comparative antioxidant and antiproliferative activities of red and white pitayas and their correlation with flavonoid and polyphenol content. *Journal of food science*, 76(1), C38-C45.



- Kingwatee, N., Apichartsrangkoon, A., Chaikham, P., Worametrachanon, S., Kong, K. W., y Ismail, A. (2011). Lycopene content and lipophilic antioxidant capacity of by-products from Psidium guajava fruits produced during puree production industry. *Food and Bioproducts Processing*, 89, 53-61.
- Kong, K. W., y Ismail, A. (2011). Lycopene content and lipophilic antioxidant capacity of by-products from Psidium guajava fruits produced during puree production industry. *Food and Bioproducts Processing*, 89(1), 53-61.
- Krajka-Kuzniak, V., Paluszczak, J., Szaefer, H. and Baer-Dubowska, W. (2013). Betanin, a beetroot component, induces nuclear factor erythroid-2-related factor 2-mediated expression of detoxifying/antioxidant enzymes in human liver cell lines. *British Journal of Nutrition* 110: 2138–2149.
- Kugler, F., Stintzing, F.C. y Carle, R. (2004). Identification of betalains from petioles of differently coloured Swiss chard (*Beta vulgaris L. ssp. cicla* [L.] Alef. cv. Bright Lights) by highperformance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 2975–2981.
- Kuhn, F., de Azevedo, E. S., y Noreña, C. P. Z. (2020). Behavior of inulin, polydextrose, and egg albumin as carriers of Bougainvillea glabra bracts extract: Rheological performance and powder characterization. *Journal of Food Processing and Preservation*, e14834.
- Kumar, S. and Brooks, M. (2018) Use of red beet (*Beta vulgaris L.*) for antimicrobial applications – a critical review. *Food and Bioprocess Technology* 11: 17–42.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732.
- Kuusi, T., Pyysalo, H., y Pippuri, A. (1977). The effect of iron, tin, aluminium, and chromium on fading, discoloration, and precipitation in berry and red beet juices. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 163, 196–202.
- Kuti, J. O. (2004). Antioxidant compounds from four Opuntia cactus pear fruit varieties. *Food chemistry*, 85(4), 527-533.



- Labuschagne, P. (2018). Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. *Food Research International* 107, 227-247.
- Leong, H. Y., Show, P. L., Lim, M. H., Ooi, C. W., y Ling, T. C. (2018). Natural red pigments from plants and their health benefits: A review. *Food reviews international*, 34(5), 463-482.
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., y Alves, V. D. (2020). Microencapsulation of Pineapple Peel Extract by Spray Drying Using Maltodextrin, Inulin, and Arabic Gum as Wall Matrices. *Foods*, 9(6), 718.
- Lozano-Navarro JI, Díaz-Zavala NP, Velasco-Santos C, *et al.* (2018) Chitosan-starch films with natural extracts: physical, chemical, morphological and thermal properties. *Materials* 11(1), 120.
- Macías-Cortés, E., Gallegos-Infante, J. A., Rocha-Guzmán, N. E., Moreno-Jiménez, M. R., Medina-Torres, L., y González-Laredo, R. F. (2020). Microencapsulation of phenolic compounds: technologies and novel polymers. *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, 19(2), 491-521.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., y Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International journal of food science y technology*, 41(1), 1-21.
- McCrae, C., Debon, S., Guthrie, B., Heigis, J., Mondro, G., y Shieh, W. (2009). Materials for Encapsulation of Food Ingredients: Understanding the Properties to Find Practical Solutions.
- Mahdi, A. A., Mohammed, J. K., Al-Ansi, W., Ghaleb, A. D., Al-Maqtari, Q. A., Ma, M., y Wang, H. (2020). Microencapsulation of Fingered citron extract with gum Arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying. *International journal of biological macromolecules*, 152, 1125-1134.
- Marques, L. G., Ferreira, M. C., y Freire, J. T. (2007). Freeze drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46, 451-457.



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

- Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., y Ferreira, I. C. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science y Technology*, 52, 1-15.
- Martín-Villena, M.J., Morales-Hernández, M.E., Gallardo-Lara, V., Ruíz-Martínez, M.A. (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para micro encapsular probióticos. *Ars Pharmaceutica* 50, 43-50.
- Martínez-Girón, J., y Ordóñez-Santos, L. E. (2016). Determination of carotenoid pigments in palm pear fruit (*Bactris gasipaes*) waste flour. *Producción+ Limpia*, 11(1), 85-93.
- Mehran, M., Masoum, S., y Memarzadeh, M. (2020). Improvement of thermal stability and antioxidant activity of anthocyanins of *Echium amoenum* petal using maltodextrin/modified starch combination as wall material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 768-776.
- Miguel, M. (2019). Betalains. *Departamento de Química e Farmácia, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve, Faro, Portugal* 1-19. John Wiles y Sons.
- Miguel, Maria G. (2019). Betalains. In: eLS. John Wiley y Sons, Ltd: Chichester.
- Mintel. 2019. *Healthy Lifestyles—U.S.* Intel Intl., Chicago. intel.com.
- Mishra, M. (2016). Overview of encapsulation and controlled release, In: Mishra, M. (Ed.), *Handbook of Encapsulation and Controlled Release*. CRC Press Taylor y Francis Group, Boca Raton, FL., USA, pp. 2-19.
- Mishra, P., Mishra, S., y Mahanta, C. L. (2014). Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Emblica officinalis*) juice powder. *Food and Bioproducts Processing*, 92, 252-258.
- Mizrahi, Y., Nerd, A. y Nobel, P.S. (1997). Cacti as crops. *Horticultural Reviews*, 18, 291–320.



- Mobhammer, M.R., Stintzing, F.C. y Carle, R. (2005). Colour studies on fruit juice blends from *Opuntia* and *Hylocereus* cacti and betalain-containing model solutions derived therefrom. *Food Research International*, 38, 975–981.
- Moreno, D. A., García-Viguera, C., Gil, J. I., y Gil-Izquierdo, A. (2008). Betalains in the era of agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Review*, 7, 261-280.
- Murali, S., Kar, A., Mohapatra, D., y Kalia, P. (2015). Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. *Food Science and Technology International*, 21, 604-612.
- Nachay, K. (2019). Color goes natural. *IFT. Food Technology Magazine*. 57-71.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technology for food applications. *Procedia Food Science* 1, 1806-1815.
- Neelwarne, B. (2012). *Red beet biotechnology: Food and pharmaceutical applications*. New York: Springer Science y Business Media.
- Nkhata, S. G. (2020). Total color change (ΔE^*) is a poor estimator of total carotenoids lost during post-harvest storage of biofortified maize grains. *Heliyon*, 6(10), e05173.
- Pang, S.F., Yusoff, M.M. and Gim bun, J. (2014). Assessment of phenolic compounds stability and retention during spray drying of *Orthosiphon stamineus* extracts. *Food Hydrocolloids* 37, 159–165.
- Partanen, M. Ahro, M. Hakala, H. Kallio, P. Forssell. (2002). Microencapsulation of caraway extract in β -cyclodextrin and modified starches. *Eur. Food Res. Technol.*, 214, 242-247.
- Pasch, J.H. y Von Elbe, J.H. (1979). Betanine stability in buffered solutions containing organic acids, metal cations, antioxidants, or sequestrants. *Journal of Food Science*, 44, 72–74.
- Patil, V., Chauhan, A. K., y Singh, R. P. (2014). Optimization of the spray drying process for developing guava powder using response surface methodology. *Powder Technology*, 253, 230-236.



- Pérez-Alonso, C., Beristain, C. I., Lobato-Calleros, C., Rodríguez-Huezo, M. E., y Vernon- Carter, E. J. (2006). Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. *Journal of Food Engineering*, 77(4), 753–760.
- Pérez-Loredo, M. G., Jesús, H. D., y Barragán-Huerta, B. E. (2017). Extracción de compuestos bioactivos de Pitaya Roja (*Stenocereus stellatus*) aplicando pretratamientos con microondas, ultrasonido y enzimáticos. *Agrociencia*, 51(2), 135-151.
- Pérez-Loredo, M. G., García-Ochoa, F., y Barragán-Huerta, B. E. (2016). Comparative analysis of betalain content in *Stenocereus stellatus* fruits and other cactus fruits using principal component analysis. *International Journal of Food Properties*, 19(2), 326-338.
- Phisut, N. (2012). Spray drying technique of fruit juice powder: Some factors influencing the properties of product. *International Food Research Journal*, 19, 1297-1306.
- Pimienta-Barrios, E., y Nobel, P. S. (1994). Pitaya (*Stenocereus spp.*, *Cactaceae*): an ancient and modern fruit crop of Mexico. *Economic Botany*, 48(1), 76-83.
- Pitalua, E., Jimenez, M., Vernon-Carter, E. J., y Beristain, C. I. (2010). Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. *Food and Bioproducts Processing*, 88(2-3), 253-258.
- Pourrat, H., Lejeune, B., Regeat, F., y Pourrat, A. (1983). Purification of red beetroot dye by *Reviews*, 19, 227–285.
- Premi, M., y Sharma, H. K. (2017). Effect of different combinations of maltodextrin, gum arabic and whey protein concentrate on the encapsulation behavior and oxidative stability of spray dried drumstick (*Moringa oleifera*) oil. *International journal of biological macromolecules*, 105, 1232-1240.
- Puerta-Gomez, A. F., y Castell-Perez, M. E. (2015). Physical Stability of Octenyl Succinate–Modified Polysaccharides and Whey Proteins for Potential Use as Bioactive Carriers in Food Systems. *Journal of Food Science*, 80(6), E1209-E1217.



- Quintero-Ramos, A., Bourne, M., Barnard, J., González-Laredo, R., Anzaldúa-Morales, A., Pensaben-Esquivel, M., y Márquez-Meléndez, R. (2002). Low temperature blanching of frozen carrots with calcium chloride solutions at different holding times on texture of frozen carrots. *Journal of food processing and preservation*, 26(5), 361-374.
- Quirino-Lacerda, E. C., de Araújo-Calado, V. M., Monteiro, M., Finotelli, P. V., Torres-Guedes, A. y Perrone, D. (2016). Starch, inulin and maltodextrin as encapsulating agents affect the quality and stability of jussara pulp microparticles. *Carbohydrate polymers*, 151, 500-510.
- Quek, S. Y., Chok, N. K., y Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(5), 386-392.
- Ramakrishnan, Y., Adzahan, N. M., Yusof, Y. A., y Muhammad, K. (2018). Effect of wall materials on the spray drying efficiency, powder properties and stability of bioactive compounds in tamarillo juice microencapsulation. *Powder technology*, 328, 406-414.
- Ravichandran, K., Palaniraj, R., Saw, N. M. M. T., Gabr, A. M., Ahmed, A. R., Knorr, D., y Smetanska, I. (2014). Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. *Journal of food science and technology*, 51(9), 2216-2221.
- Restrepo Gallego, M. (2007). Substitution of colorants in food. *Revista Lasallista de Investigación*, 4(1), 35-39.
- Robert, P., Torres, V., García, P., Vergara, C., y Sáenz, C. (2015). The encapsulation of purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) pulp by using polysaccharide-proteins as encapsulating agents. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 1039-1045.
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2019). Betalains.
- Rodríguez-Hernández, G., González-García, R., Grajales-Lagunes, A., Ruiz- Cabrera, M., y Abud-Archila, M. (2005). Spray-drying of cactus pear juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the physicochemical properties of powder and reconstituted product. *Drying Technology*, 23, 955-973.



- Ruiz-Gutiérrez, M. G., Amaya-Guerra, C. A., Quintero-Ramos, A., de Jesús Ruiz-Anchondo, T., Gutiérrez-Urbe, J. A., Baez-González, J. G., ... y Campos-Venegas, K. (2014). Effect of soluble fiber on the physicochemical properties of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) encapsulated using spray drying. *Food Science and Biotechnology*, 23(3), 755-763.
- Saénz, C., Tapia, S., Chávez, J., y Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food chemistry*, 114(2), 616-622.
- Saguay, I., Goldman, M., Bord, A. y Cohen, E. (1984). Effect of oxygen retained on beet powder on the stability of betanine and vulgaxanthine-I. *Journal of Food Science*, 49, 99–101.
- Saguay, I., Kopelman, I.J. y Mizrahi, S. (1978). Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26, 360–362.
- Sánchez-López, D. B., Gómez-Vargas, R. M., Garrido Rubiano, M. F., y Bonilla Buitrago, R. R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(7), 1401-1415.
- Sánchez-Madrigal, M. Á., Quintero-Ramos, A., Amaya-Guerra, C. A., Meléndez-Pizarro, C. O., Castillo-Hernández, S. L., y Aguilera-González, C. J. (2019). Effect of Agave Fructans as Carrier on the Encapsulation of Blue Corn Anthocyanins by Spray Drying. *Foods*, 8(7), 268.
- Sapers, G.M. y Hornstein, J.S. (1979). Varietal differences in colorant properties and stability of red beet pigments. *Journal of Food Science*, 44, 1245–1248.
- Sassy, C. B., Marcet, I., Rendueles, M., Díaz, M., y Fattouch, S. (2020). Egg yolk protein as a novel wall material used together with gum Arabic to encapsulate polyphenols extracted from *Phoenix dactylifera L* pits. *LWT*, 131, 109778.
- Sawicki T, Juskiewicz J and Wiczkowski W. (2017) Using the SPE and micro-HPLC-MS/MS method for the analysis of betalains in rat plasma after red beet administration. *Molecules* 22: 2137.



- Sawicki T, Topolska J, Romaszko E and Wickzowski W. (2018). Profile and content of betalains in plasma and urine of volunteers after long-term exposure to fermented red beet juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66: 4155–4163.
- Schliemann, W. y Strack, D. (1999). Intramolecular stabilization of acylated betacyanins. *Phytochemistry*, 49, 585–588.
- Schwartz, S.J. y Von Elbe, J.H. (1983). Identification of betanin degradation products. *European Food Research and Technology*, 176, 448–453.
- Serries, G. S., y Biliaderis, C. G. (2001). Degradation kinetics of beetroot pigment encapsulated in polymeric matrices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 691-700.
- Shen, Z., Augustin, M. A., Sanguansri, L., y Cheng, L. J. (2010). Oxidative stability of microencapsulated fish oil powders stabilized by blends of chitosan, modified starch, and glucose. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(7), 4487-4493.
- Shen, X. L., Wu, J. M., Chen, Y., y Zhao, G. (2010). Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 285-290.
- Sheu, T. Y., y Rosenberg, M. (1998). Microstructure of microcapsules consisting of whey proteins and carbohydrates. *Journal of Food Science*, 63(3), 491-494.
- Shishir, M. R. I., y Chen, W. (2017). Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. *Trends in food science y technology*, 65, 49-67.
- Shishir, M. R. I., Taip, F. S., Aziz, N. A., Talib, R. A., y Sarker, M. S. H. (2016). Optimization of spray drying parameters for pink guava powder using RSM. *Food Science and Biotechnology*, 25, 461-468.
- Singer, J.W. y Von Elbe, J.H. (1980). Degradation rates of vulgaxanthine I. *Journal of Food Science*, 45, 489–491.
- Singleton, V. L., y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.



- Slade, L., y Levine, H. (1995). Glass transitions and water-food structure interactions. In *Advances in food and nutrition research* (Vol. 38, pp. 103-269). Academic Press.
- Slade, L., y Levine, H. (1991). A food polymer science approach to structure-property relationships in aqueous food systems: non-equilibrium behavior of carbohydrate-water systems. In *Water relationships in foods* (pp. 29-101). Springer, Boston, MA.
- Sporna-Kucab, A., Wybraniec, S., Mitka, K., Kowalski, P., y Michalowski, T. (2011). Influence of metal cations on betalain stability in different solvent systems used for a modern chromatographic separation technique. Presented at the VI Krakowska Konferencja Młodych Uczonych, Kraków.
- Soottitantawat, F., Bigeard, H., Yoshii, T., Furuta, M., Ohkawara, P. Linko. (2005) Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray drying, *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 6 107–114.
- Souza, A. L., Hidalgo-Chávez, D. W., Pontes, S. M., Gomes, F. S., Cabral, L. M., y Tonon, R. V. (2018). Microencapsulation by spray drying of a lycopene-rich tomato concentrate: Characterization and stability. *LWT*, 91, 286-292.
- Stahl, W., y Sies, H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1740(2), 101-107.
- Stintzing, F.C., Conrad, J., Klaiber, I., Beifuss, U. y Carle, R. (2004). Structural investigations on betacyanin pigments by LC NMR and 2D NMR spectroscopy. *Phytochemistry*, 65, 415– 422.
- Stintzing, F.C., Kugler, F., Carle, R. y Conrad, J. (2006). First ¹³CNMR assignments of betaxanthins. *Helvetica Chimica Acta*, 89, 1008–1016.
- Stintzing, F.C., Schieber, A. y Carle, R. (2001). Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *European Food Research and Technology*, 212, 396–407.



- Stintzing, F.C., Schieber, A. y Carle, R. (2002a). Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton y Rose. *Food Chemistry*, 77, 101–106.
- Stintzing, F.C., Schieber, A. y Carle, R. (2002b). Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2302–2307.
- Stintzing, F.C., Schieber, A. y Carle, R. (2003). Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research and Technology*, 216, 303–311.
- Strack, D., Schmitt, D., Reznik, H., Boland, W., Grotjahn, L. y Wray, V. (2003). Humilixanthin, a new betaxanthin from *Rivina humilis*. *Phytochemistry*, 26, 2285–2287.
- Sweedman, M. C., Tizzotti, M. J., Schäfer, C., y Gilbert, R. G. (2013). Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: a review. *Carbohydrate Polymers*, 92, 905–920.
- Tan DH, Wang YH, Bai B, Yang XL and Han JY (2015) Betanin attenuates oxidative stress and inflammatory reaction in kidney of paraquat-treated rat. *Food and Chemical Toxicology* 78: 141–146.
- Tan, L. W., Ibrahim, M. N., Kamil, R., y Taip, F. S. (2011). Empirical modeling for spray drying process of sticky and non-sticky products. *Procedia Food Science*, 1, 690–697.
- Tarone, A. G., Silva, E. K., Cazarin, C. B. B., y Junior, M. R. M. (2020). Inulin/fructooligosaccharides/pectin-based structured systems: Promising encapsulating matrices of polyphenols recovered from jaboticaba peel. *Food Hydrocolloids*, 106387.
- Tonon, R. V., Brabet, C., y Hubinger, M. D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 88, 411–418.



- Tontul, I., y Topuz, A. (2017). Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties. *Trends in food science y technology*, 63, 91-102.
- Tze, N. L., Han, C. P., Yusof, Y. A., Ling, C. N., Talib, R. A., Taip, F. S., y Aziz, M. G. (2012). Physicochemical and nutritional properties of spray-dried pitaya fruit powder as natural colorant. *Food Science and Biotechnology*, 21(3), 675-682.
- Tze, N. L., Han, C. P., Yusof, Y. A., Ling, C. N., Talib, R. A., Taip, F. S., *et al.* (2012). Physicochemical and nutritional properties of spray-dried pitaya fruit powder as natural colorant. *Food Science and Biotechnology*, 21, 675-682.
- Vaillant, F., Perez, A., Davila, I., Dornier, M. y Reynes, M. (2005). Colourant and antioxidant properties of red-purple pitahaya (*Hylocereus sp.*) *Fruits*, 60, 1–10.
- Vargas-Campos, L., Valle-Guadarrama, S., Martínez-Bustos, F., Salinas-Moreno, Y., Lobato-Calleros, C., y Calvo-López, A. D. (2018). Encapsulation and pigmenting potential of betalains of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit. *Journal of food science and technology*, 55(7), 2436-2445.
- Vergara, C., Saavedra, J., Sáenz, C., García, P., y Robert, P. (2014). Microencapsulation of pulp and ultrafiltered cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) extracts and betanin stability during storage. *Food chemistry*, 157, 246-251.
- Vivanco, M. (2005). *Muestreo estadístico. Diseño y aplicaciones*. Editorial Universitaria.
- Vojdani, A., y Vojdani, C. (2015). Immune reactivity to food coloring. *Altern. Ther*, 21, 1-100.
- Von Elbe, J.H. y Attoe, E.L. (1985). Oxygen involvement in betanine degradation – Measurement of active oxygen species and oxidation-reduction potentials. *Food Chemistry*, 16, 49–67.
- Von Elbe, J. H., Maing, I. Y., y Amundson, C. H. (1974). Color stability of betanin. *Journal of Food Science*, 39(2), 334-337.
- Walkowiak-Tomczak, D. (2002). Microbiological denitrification of red beet juice. *European Food Research and Technology*, 215(5), 401–406.



- Walton, D. E., y Mumford, C. J. (1999). The morphology of spray-dried particles: the effect of process variables upon the morphology of spray-dried particles. *Chemical Engineering Research and Design*, 77(5), 442-460.
- Wang, X., Yuan, Y., y Yue, T. (2015). The application of starch-based ingredients in flavor encapsulation. *Starch-Stärke*, 67(3-4), 225-236.
- Wybraniec, S. (2005). Formation of decarboxylated betacyanins in heated purified betacyanin fractions from red beet root (*Beta vulgaris L.*) monitored by LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 3483–3487.
- Yong YY, Dykes G, Lee SM and Choo WS. (2018) Effect of refrigerated storage on betacyanin composition, antibacterial activity of red pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) and cytotoxicity evaluation of betacyanin rich extract on normal human cell lines. *LWT–Food Science and Technology* 91: 491–497.
- Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z., y Mousavi, S. (2011). Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica granatum L.*). *Journal of Food Science and Technology*, 48, 677-684.
- Zimeri, J. E., & Kokini, J. L. (2002). The effect of moisture content on the crystallinity and glass transition temperature of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 48(3), 299-304.

X. APÉNDICES

Anexo 1: Barrido para determinar la absorbancia de betacianinas y betaxantinas por espectrofotómetro

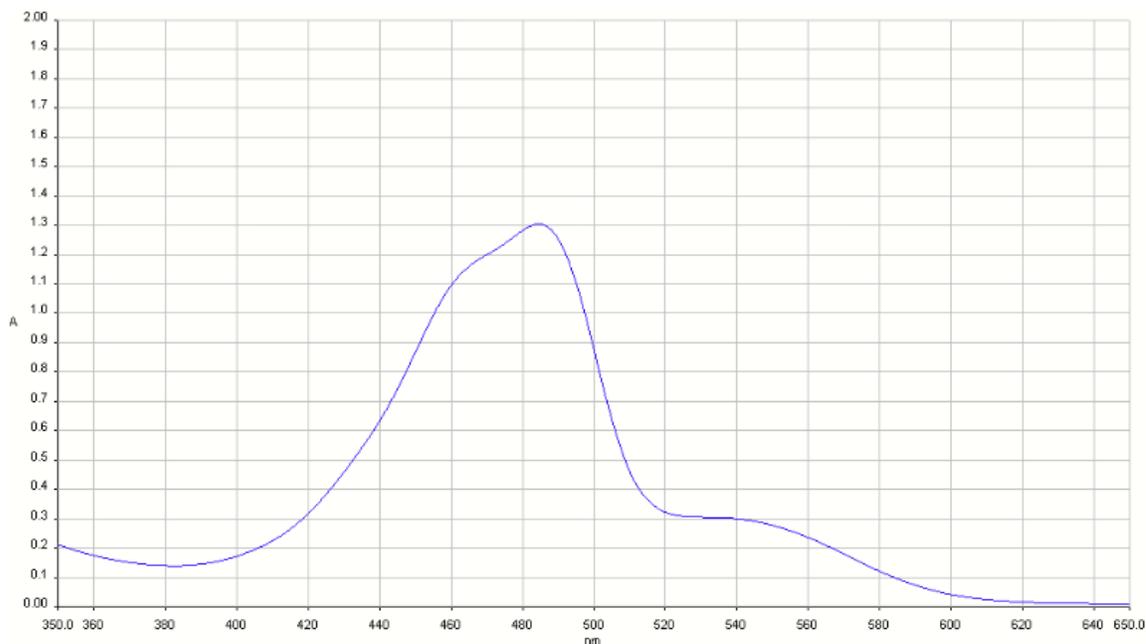


Figura 20. Barrido para determinar la absorbancia de betalaínas

Anexo 2: Curvas de calibración

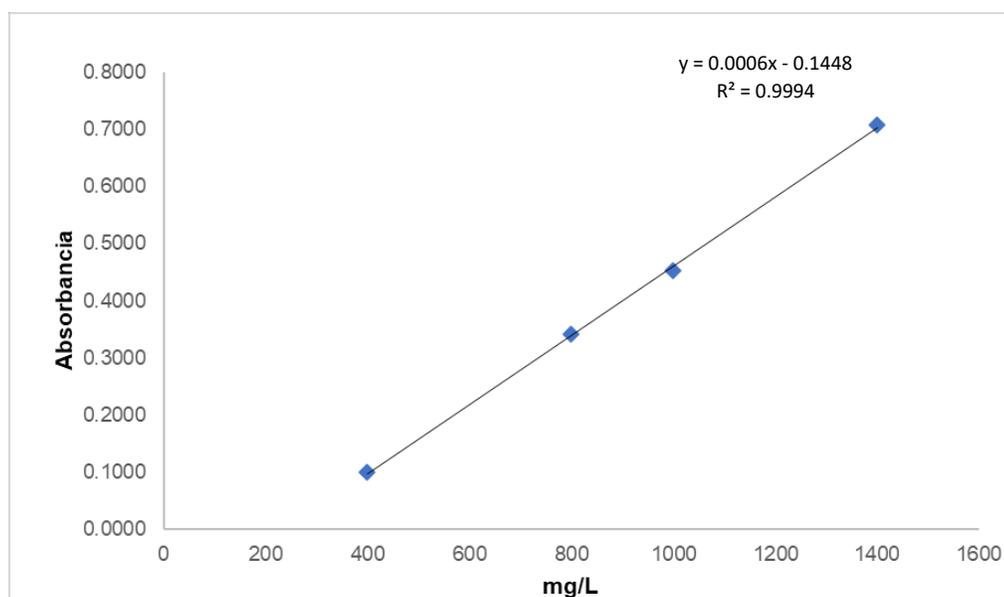


Figura 21. Curva de calibración para polifenoles totales.

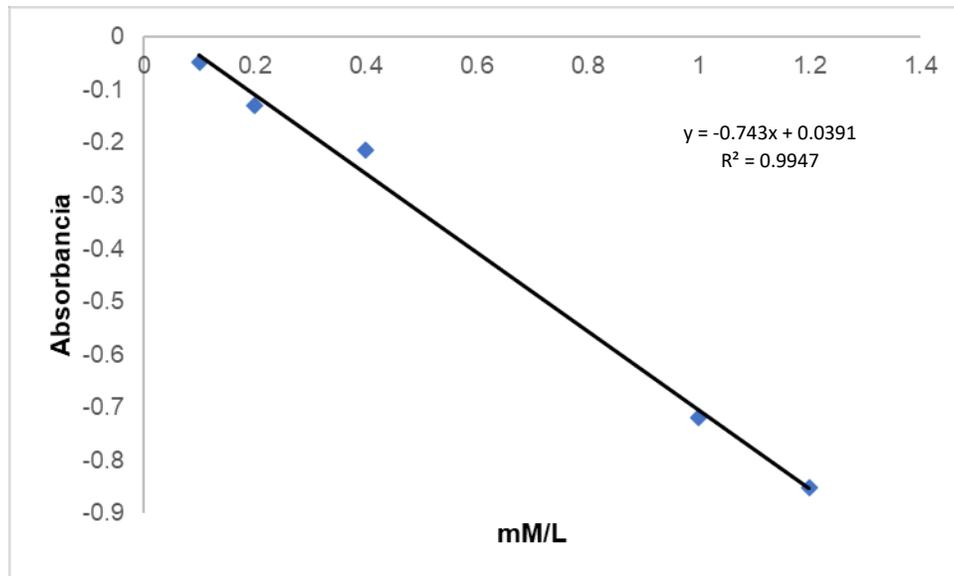


Figura 22. Curva de calibración para la actividad antioxidante.

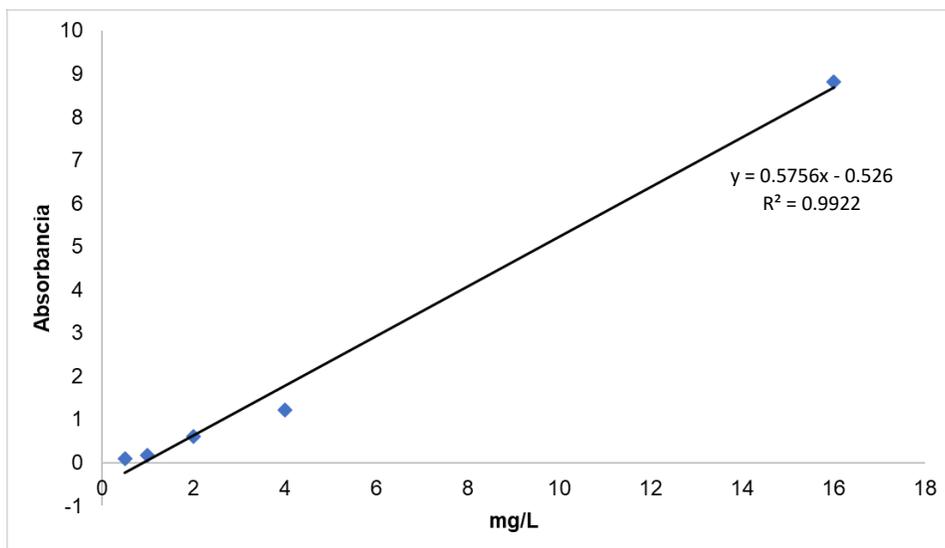


Figura 23. Curva de calibración para el contenido de isorhamnetina.

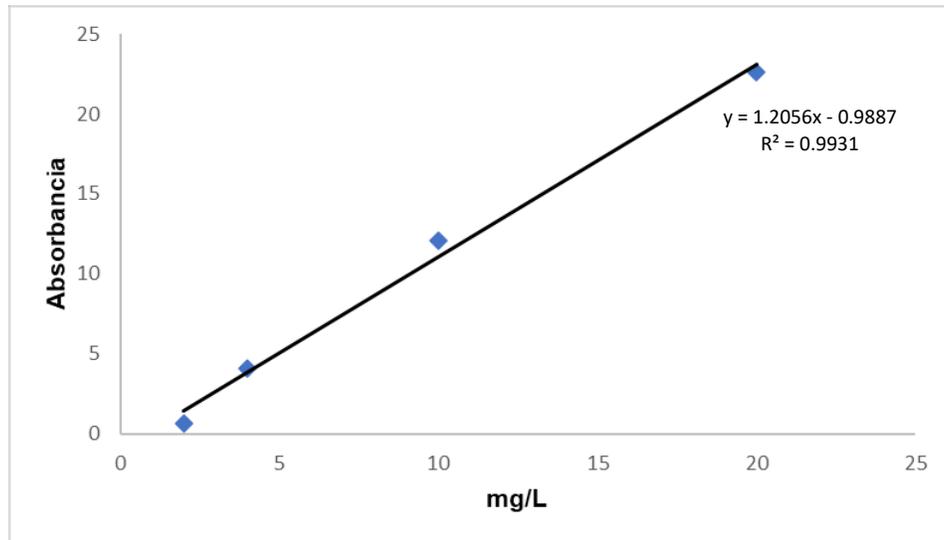


Figura 24. Curva de calibración para el contenido de quercetina.

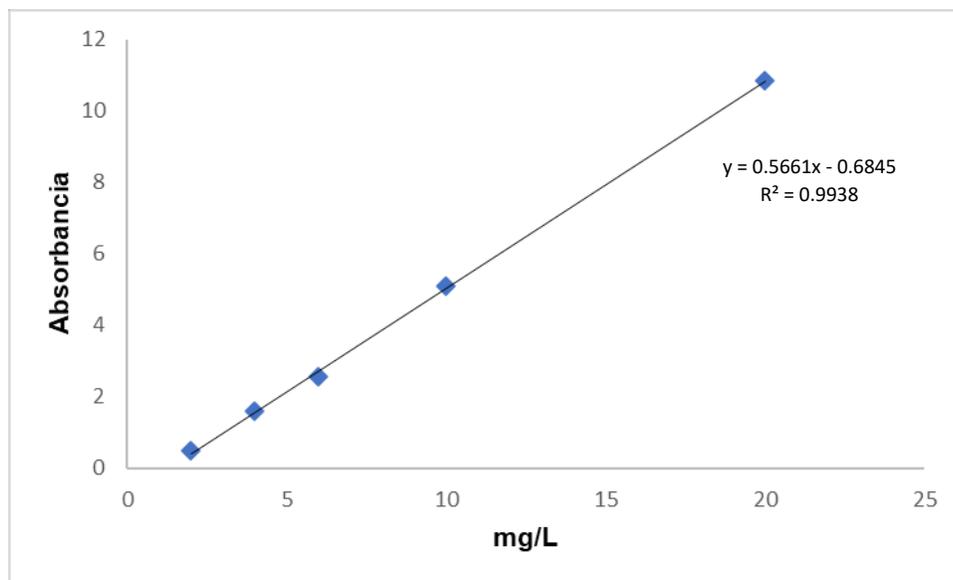


Figura 25. Curva de calibración para el contenido de kaempferol.

Anexo 3: Determinación de los puntos máximos y mínimos de las propiedades fisicoquímicas de los encapsulados de pitaya

Tabla 16. Análisis de cordilleras para la estimación de los puntos críticos del modelo.

Parámetro

Solución

L^*

Solución	
Variable	Valor crítico
fructanos/0.8	-33.26262
(proteina-0.1)/0.8	8.8957443
(almidon-0.1)/0.8	25.366877

La solución es Máximo

Se asume la siguiente suma de mezcla:
fructanos+proteina+almidon=1

Los valores críticos están fuera del rango de datos

Valor previsto en la solución 4.4975316

a^*

Solución	
Variable	Valor crítico
fructanos/0.8	-25.38299
(proteina-0.1)/0.8	19.926541
(almidon-0.1)/0.8	6.4564473

La solución es Mínimo

Se asume la siguiente suma de mezcla:
fructanos+proteina+almidon=1

Los valores críticos están fuera del rango de datos

Valor previsto en la solución -4.396013

b^*

Solución	
Variable	Valor crítico
fructanos/0.8	-33.6339
(proteina-0.1)/0.8	10.985024
(almidon-0.1)/0.8	23.648877

La solución es Máximo

Se asume la siguiente suma de mezcla:
fructanos+proteina+almidon=1

Los valores críticos están fuera del rango de datos

Valor previsto en la solución 5.1573374



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Densidad aparente

Solución

Variable	Valor crítico
fructanos/0.8	-72.18645
(proteina-0.1)/0.8	-76.60838
(almidon-0.1)/0.8	149.79484

La solución es Máximo
Se asume la siguiente suma de mezcla:
fructanos+proteina+almidon=1
Los valores criticos están fuera del rango de datos
Valor previsto en la solución 0.150924

Curvatura canónica

Índice de solubilidad en agua

Solución

Variable	Valor crítico
fructanos/0.8	33.938967
(proteina-0.1)/0.8	-243.1322
(almidon-0.1)/0.8	210.19325

La solución es Punto de silla
Se asume la siguiente suma de mezcla:
fructanos+proteina+almidon=1
Los valores criticos están fuera del rango de datos
Valor previsto en la solución 0.4818782

Betalainas totales

Solución

Variable	Valor crítico
fructanos/0.8	941.31185
(proteina-0.1)/0.8	637.2377
(almidon-0.1)/0.8	-303.0741

La solución es Mínimo
Se asume la siguiente suma de mezcla:
fructanos+proteina+almidon=1
Los valores criticos están fuera del rango de datos
Valor previsto en la solución -5.46202

Curvatura canónica

Polifenoles totales

Solución

Variable	Valor crítico
fructanos/0.8	-54.94619
(proteina-0.1)/0.8	96.379208
(almidon-0.1)/0.8	-40.43302

La solución es Máximo
Se asume la siguiente suma de mezcla:
fructanos+proteina+almidon=1
Los valores criticos están fuera del rango de datos
Valor previsto en la solución 1015.2247

Curvatura canónica



▲ Solución

Variable	Valor crítico
fructanos/0.8	-65.75518
(proteina-0.1)/0.8	93.10375
(almidon-0.1)/0.8	159.85893

La solución es Punto de silla

Se asume la siguiente suma de mezcla:

$$\text{fructanos} + \text{proteina} + \text{almidon} = 1$$

Los valores críticos están fuera del rango de datos

Valor previsto en la solución -1.055094

▷ Curvatura canónica