



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

LA PITAYA ROJA (*HYLOCEREUS POLYRHIZUS*): EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE LA SEMILLA CON DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO Y DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO, FENOLES TOTALES Y BETALAÍNAS DE LA PULPA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A:

JÉSICA CRISTIANI HERNÁNDEZ

MÉXICO, D.F.

2011





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente: Profesora: Hermilo Leal Lara
Vocal: Profesor: Jorge Arturo Aburto Anell
Secretario: Profesor: Miquel Gimeno Seco
1er. Suplente: Profesor: Verónica Hernández Briones
2do. Suplente: Profesor: Alberto López Luna

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorio 314 edificio E, Facultad de Química, Departamento de Alimentos y Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Campus Ciudad Universitaria, Coyoacán, México DF.

Asesor del tema: Dr. Miquel Gimeno Seco

Sustentante: Jesica Cristiani Hernandez

Agradecimientos:

En primer lugar quiero agradecer a Dios por haberme puesto en este camino de haberme dado la oportunidad de culminar esta carrera a base de mucho esfuerzo y dedicación.

A mis padres Martha y Armando que siempre están conmigo apoyándome en todo momento, por sus enseñanzas, amor y cariño les estaré eternamente agradecida, los amo.

A mi hermana Erika que durante toda la vida has sido y seguirás siendo un ejemplo a seguir, eres causa de mi total admiración espero algún día ser igual que tú, te amo hermana.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, mi amada casa de estudios que sin ti esto no sería posible, estoy infinitamente orgullosa por haber estudiado en la mejor Universidad de Iberoamérica.

A la Facultad de Química de Ciudad Universitaria, mi segundo hogar durante años que me brindo ahora todo lo que se y que jamás olvidaré.

A mi asesor Miquel Gimeno Seco que me dio la oportunidad de participar en este proyecto de tesis, por su dedicación, tiempo y asesoría para cada paso de este proyecto.

A todos los miembros de mi gran familia que me apoyaron emocionalmente, intelectualmente y espiritualmente en algún momento de mi carrera en especial a mi Abuelita Felix, Abuelito José, Tío Gerardo, Tío Isaías y prima Andrea.

A todos mis amigos que tuve el gusto de hacer en mi carrera y a las que ya conocía desde hace muchos años que me aportaron enseñanzas pero en especial a Mariana, Itzel, Alexandra, Fer, Beto, Paco y Aldo por compartir tantas vivencias durante todo este camino, espero seamos amigos toda la vida.

A mis queridos compañeros y amigos Qas que compartimos clases y laboratorios, que me hicieron ameno cada día de mi carrera en especial Cynthia, Luis, Rod, Pam, Lucy, Majo y Ale.

A los nuevos amigos que hice durante mi ultima etapa de mi carrera, pero que ahora son importantes en mi vida, gracias por brindarme su amistad: Ely, Kary, Yan, Polo y Lili.

A los profesores que marcaron mi vida durante la carrera que gracias a ellos tengo el conocimiento necesario para ejercer mi carrera.

Índice:

1. Resumen.....	8
2. Introducción.....	9
3. Antecedentes.....	11
3.1 Alimento funcional.....	11
3.2 El ácido ascórbico.....	13
3.2.1 Acidez del ácido ascórbico.....	14
3.2.2 Vitamina C.....	15
3.2.3 Mecanismo antioxidante del ácido ascórbico.....	17
3.3 Fenoles.....	18
3.3.1 Funciones.....	19
3.3.2 Atribuciones.....	20
3.4 Colorantes.....	20
3.4.1 Generalidades.....	20
3.4.2 Degradación de betalainas.....	23
3.4.3 Las betalainas como aditivo alimentario.....	26
3.5 La pitaya roja.....	27
3.5.1 Composición Nutricional de la Pitaya.....	27
3.5.2 La pitaya en México.....	28
3.6 Los ácidos grasos de la pitaya roja.....	31
3.6.1 Clasificación de los Ácidos grasos.....	32
3.6.2 El ácido linoléico.....	36
3.7 Degradación de lípidos.....	37
3.8.1 Oxidación de lípidos.....	37
3.7.2 Autooxidación.....	37
3.8 Extracción con Fluidos supercríticos.....	38
3.8.1 Propiedades.....	39

3.8.2	Principales Fluidos Supercríticos.....	40
3.8.3	Características de los fluidos supercríticos.....	41
3.8.4	Extracción de Fluidos supercríticos.....	42
3.8.5	Aplicaciones en la Industria Alimentaria.....	43
4.	Objetivos.....	45
4.1	Objetivo principal.....	45
4.2.	Objetivos particulares.....	45
5.	Diagrama general del experimento.....	46
6.	Materiales y métodos.....	47
6.1	Separación de semillas y pulpa.....	47
6.2	Molienda de las semillas.....	47
6.3	Determinación de contenido de aceite por el método Soxhlet.....	47
6.4	Extracción por el método de fluido supercrítico.....	48
6.5	Caracterización de los aceites de las semillas.....	48
6.5.1	Acidez titulable.....	48
6.5.2	Índice de peróxidos.....	49
6.5.3	Índice de saponificación.....	49
6.5.4	Índice de Kreiss.....	50
6.6	Cuantificación de ácidos grasos.....	50
6.6.1	Derivatización de la muestra.....	50
6.6.2	Determinación del perfil de ácidos grasos	51
6.7	Determinación de ácido ascórbico en la pulpa de la pitaya.....	51
6.7.1	Preparación de disoluciones extractoras.....	51

6.7.2 Preparación de extracto.....	52
6.7.3 Análisis cromatográfico.....	52
6.7.3.1 Condiciones de trabajo.....	52
6.8 Determinación de Betalainas en la pulpa de la pitaya.....	53
6.9 Determinación de Fenoles totales en la pulpa de la pitaya.....	53
6.9.1 Preparación de extractos.....	53
6.9.2 Medicion de fenoles totales con el método colorimétrico que utiliza el reactivo de Folin Ciocalteu.....	54
7. Resultados y discusión.....	54
7.1 Rendimientos de extracción Soxhlet.....	54
7.2 Perfil de ácidos grasos obtenidos mediante el método de Soxhlet.....	54
7.3 Rendimientos de aceite en la extracción mediante CO ₂ sc.....	55
7.4 Perfil de ácidos grasos mediante la extracción con CO ₂ sc.....	57
7.5 Rendimiento (%) de ácidos grasos en el aceite extraído.....	60
7.6 Densidades del Dióxido de Carbono calculadas en programa EOS.....	62
7.7 Caracterización de los aceites obtenidos por extracción Soxhlet y sc CO ₂	64
7.7.1 Calidad del aceite.....	64
7.8 Determinación de ácido ascórbico en la pulpa de la pitaya por HPLC (Cromatogramas).....	66
7.8 Concentraciones de ácido ascórbico en la pulpa.....	66
7.9 Betalainas en la pulpa de la pitaya.....	67
7.10 Determinación de Fenoles Totales en la pulpa de la pitaya.....	68

8. Conclusiones	70
9. Bibliografía	71
10 Anexos	75

1. Resumen

En el presente trabajo se propone de forma novedosa un método alternativo de extracción con fluidos supercríticos (EFS) usando CO₂ para la obtención de los aceites esenciales de su semilla. El uso de esta tecnología evita toxicidad en los productos y riesgos de accidentes que se pudieran generar con los disolventes orgánicos inflamables. Las condiciones supercríticas del CO₂ al ser su temperatura crítica de 31°C y presión crítica de 72.9 bar, así como su carácter apolar, resultan recomendables para este tipo de sustancias (aceite) ya que su estabilidad a la temperatura no es muy alta y presenta baja polaridad. En este estudio se variaron la presión y temperatura para observar el comportamiento óptimo de extracción y se cuantificaron los aceites mediante cromatografía de gases.

Paralelamente, se determinó el contenido de ácido ascórbico, fenoles totales y betalainas de la pulpa de la pitaya roja (*Hylocereous polyrhizus*) con el fin de promover el contenido nutracéutico de la pitaya roja. Estas determinaciones se lograron usando los equipos de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y por espectrofotometría UV-visible.

2. Introducción

El pitayo (*Stenocerus stellatus Riccobono*) es un cactus columnar muy resistente a la sequía, que produce frutos comestibles conocidos localmente como pitayas, véase ejemplo en Figura 1, los cuales representan una alternativa económica valiosa para los campesinos de las regiones semiáridas de México. Las pitayas disponibles comercialmente incluyen a las de los géneros: *Hylocereus*, *Pachycereus*, *Stenocereus*, *Carnigea*, *Machaocereus* y *Echinocereus* (Bravo y Sánchez, 1991).



Fig. 1 Pitaya roja *Hylocereus polyrhizus*.

Se han desarrollado varias aplicaciones para los pigmentos de los frutos, principalmente betalaínas, y mucílago presentes en la pulpa y el mesocarpo de estos frutos. Existen reportes de la capacidad antioxidante y cuantificación de compuestos fenólicos en la pitaya.

Así, la vitamina C ha sido reconocida como un nutriente importante en varios productos alimentarios. La importancia de esta vitamina es bien entendida, particularmente como antioxidante y en la síntesis del colágeno. La dosis diaria recomendada (DDR) de vitamina C se ha determinado en 60 mg, suficiente para prevenir el escorbuto y mantener una reserva de 1.500 mg, mucha de la cual proviene de frutas y vegetales. Debido a su fácil degradación, la vitamina C es un compuesto muy utilizado en la tecnología de alimentos como índice de calidad

nutricional de las comidas procesadas. Se dice que sí esta vitamina resiste los tratamientos térmicos de los alimentos, todos los demás nutrientes se encuentran en buen estado (<http://acidoascorbico.com/>).

Los compuestos fenólicos son sustancias orgánicas ampliamente distribuidas en el reino vegetal. Se sintetizan como metabolitos secundarios con funciones de defensa y son en gran medida responsables de las propiedades del color, la astringencia y el flavor (sabor y aroma) de los vegetales. Se encuentran en las verduras y frutas. Su estructura química es propicia para secuestrar radicales libres, teniendo así un alto poder antioxidante (Arzate, 2007).

Por otra parte, las Betalainas son un grupo de alrededor de 70 pigmentos hidrosolubles que se encuentran compartimentalizadas dentro de las células en las vacuolas con estructura de glúcidos, se dividen en betacianinas (violetas) y betaxantinas (amarillas), se encuentran en varios géneros de las cactáceas.

La coloración se pierde coloración bajo influencia del pH, luz, altas temperaturas, oxígeno y actividad acuosa. La formula general de las betalainas representa la condensación de una amina primaria o secundaria con ácido betalámico.

Estos pigmentos son estables en el intervalo de pH 3-7 y se ven afectados al igual que la mayoría de los pigmentos naturales por los metales, la temperatura, la presencia de aire y por la radiación ultravioleta.

3. Antecedentes

3.1 Alimento funcional

El término de Alimento Funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80`s, con la publicación de la reglamentación para los “Alimentos para uso específico de salud” y se refiere a aquellos alimentos en forma natural o procesada que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona (Arzate, 2007).

Otros términos creados para caracterizar los “alimentos funcionales” se señalan en las siguientes viñetas:

- Fármaco alimentos
- Fitoalimentos, fitonutrintes
- Alimentos inteligentes
- Alimentos terapéuticos
- Alimentos de valor añadido
- Prebióticos/Probióticos
- Fuentes fitoquímicas

Hoy en día, una de las propuestas de mayor aceptación para alimentos declarados funcionales es “Cualquier alimento o parte de un alimento, en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales (compuestos bioactivos) que favorecen la salud, la capacidad física y el estado mental, ayudando también a la prevención, reducción y tratamiento de enfermedades” (Arzate, 2007).

Los compuestos bioactivos son constituyentes extra nutricionales presentes en alimentos en pequeñas cantidades; han sido estudiados para evaluar sus efectos sobre la salud. Estos compuestos han sido agrupados por su variación en estructura química y función. Dentro de estos compuestos se encuentran:

polifenoles, flavonoides, fitoestrógenos, carotenos, compuestos organosulfurados, esteroides, β -glucanos, isotiocianatos, monoterpenos, vitaminas, fibra dietética, oligosacáridos, prebióticos, tocoferoles, entre otros.

Expertos han opinado que muchas de las enfermedades crónicas que afligen a la sociedad de un modo particular (cáncer, obesidad, hipertensión, trastornos cardiovasculares) se relacionan de manera estrecha con la dieta alimenticia y el envejecimiento. Recientemente, la evidencia científica que sostiene el papel de los alimentos, así como de los compuestos bioactivos en la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades se ha incrementado (Arzate, 2007).

Los alimentos son excelentes fuentes de compuestos bioactivos, en su gran mayoría son antioxidantes e incluso pueden tener efectos sinérgicos con algunos nutrientes. Los compuestos bioactivos no ejercen un papel nutricional, puesto que no se trata de sustancias indispensables para el organismo, su consumo supone una protección adicional contra la acción nociva de sustancias provenientes de la dieta y del entorno ambiental y que afectan la salud. En la tabla 1 se muestran los componentes bioactivos para diferentes tipos de alimentos que pueden presentar cierta funcionalidad.

Tabla 1. Componentes bioactivos para diferentes tipos de alimentos que pueden presentar funcionalidad.

Alimento	Compuestos bioactivos
Frutas	Vitaminas, flavonoides, ácidos polifenólicos, fibra, carotenos, monoterpenoides.
Vegetales	Vitaminas, flavonoides, ácidos polifenólicos, carotenos, isotiocianatos, ácido fítico
Aceite de vegetales	Vitamina E, tocotrienoles, ácidos linoléico y linolénico.

3.2 El ácido ascórbico

El ácido ascórbico ((R)-3,4-dihidroxi-5-((S)-1,2-dihidroxiethyl)furano-2(5H)-ona; Nombre IUPAC) es un ácido de azúcar con propiedades antioxidantes. Su aspecto es de polvo o cristales de color blanco-amarillento. Es soluble en agua. El enantiómero *L*- del ácido ascórbico se conoce popularmente como vitamina C. El nombre "ascórbico" procede del prefijo *a*- (que significa "no") y de la palabra latina *scorbuticus* (escorbuto), una enfermedad causada por la deficiencia de vitamina C.

Este ácido contiene varios elementos estructurales que contribuyen a su comportamiento químico: la estructura de la lactona y dos grupos hidroxilos enólicos, así como un grupo alcohol primario y secundario. La estructura endiol motiva sus cualidades antioxidantes, ya que los endioles pueden ser oxidados fácilmente a dicetonas, como se muestra en el esquema de la Figura 2.

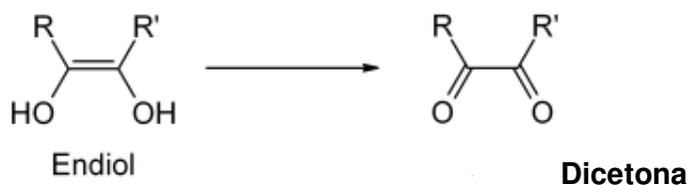


Fig. 2 Estructuras químicas del enediol y la forma oxidada.

Por eso, los endioles con grupos carbonilo vecinos se llaman también reductonas.

El ácido ascórbico forma dos enlaces de puentes de hidrógeno intramoleculares (mostrado en rojo en Figura 3) que contribuyen de manera decisiva a la estabilidad, y con eso a las cualidades químicas de la estructura enediol.

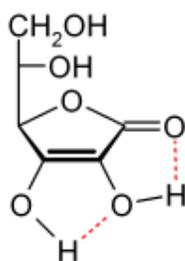


Fig. 3 Estructura química del ácido ascórbico

3.2.1 Acidez

El ácido ascórbico se comporta como un ácido carboxílico vinílico, en donde el doble enlace ("vinilo") transmite pares de electrones entre el hidroxilo y el carbonilo. Hay dos estructuras de resonancia para la forma desprotonada, que se diferencian en la posición del doble enlace.

Otro modo de ver el ácido ascórbico es considerarlo como un enol. La forma desprotonada es un enolato, que por lo general es fuertemente básico. Sin embargo, el doble enlace adyacente estabiliza la forma desprotonada (Figura 4).

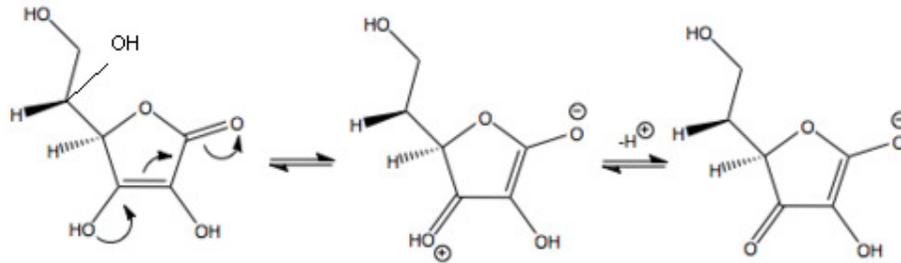


Fig. 4 Movimiento de los pares de electrones en la desprotonación

3.2.2 La Vitamina C

La vitamina C es una vitamina hidrosoluble sensible al calor. Químicamente hablando, se trata de ácido *L*-ascórbico y sus sales, los ascorbatos (los más comunes, que son ascorbatos de sodio y de calcio).

La vitamina C es un cofactor enzimático implicado en diversas reacciones fisiológicas (hidroxilación). Es necesaria para la síntesis del colágeno y de los glóbulos rojos, y contribuye al buen funcionamiento del sistema inmunitario. También juega un papel en el metabolismo del hierro, en la transformación de dopamina en noradrenalina y en la biosíntesis de carnitina. Bajo su forma oxidada, atraviesa la barrera hemato-encefálica para acceder al cerebro y a varios órganos. Muy frágil en solución, se destruye al contacto con el aire, por la luz o el calor. Se trata de un antioxidante, molécula capaz de contrarrestar la acción nociva de oxidantes como los radicales libres. Con este fin, también se emplea la forma *R*-del ácido ascórbico, la cual, al contrario que la forma *L*-, no presenta actividad vitamínica. La ingesta diaria recomendada de vitamina C es de 75 mg para la mujer y 90 mg para el hombre.

Ciertos autores consideran que las aportaciones nutritivas recomendadas deberían ser de por lo menos 200 mg, lo que corresponde a cerca de cinco frutas frescas al día. Los seguidores de la medicina ortomolecular, liderados por el premio Nobel Linus Pauling, recomiendan un consumo de entre 3,000 mg y 18,000 mg al día, y más en caso de enfermedad, basándose, por una parte, en lo que otros primates consumen y, por otra parte, en la cantidad que sintetizan los animales capaces de ello cuando sufren estrés. Tales dosis deben ser tomadas repartidas en muchas veces, debido a la capacidad limitada del organismo para absorberla. Un consumo demasiado rápido de vitamina C en forma de ácido da lugar a una diarrea ligera y benigna. Las dosis muy elevadas (más de 3 gramos por día) pueden ser administradas en forma de perfusión de ascorbato de sodio, pero podrían generar ciertos problemas carenciales anexos.

El ácido ascórbico apoya el sistema inmune (los glóbulos sanguíneos blancos). La vitamina C fortalece no sólo las células inmunes (linfocitos y macrófagos) sino también la concentración de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo. Un estudio que data de 1986 indica que la vitamina C podría tener un papel importante en la regulación de la síntesis del colesterol.

La producción mundial anual de ácido *L*-ascórbico es de 80,000 toneladas, de las que un 50% se utilizan en las industrias farmacéuticas y parafarmacéuticas, un 25% en la industria agroalimentaria como conservante (E300, E301, E302), un 15% en la fabricación de bebidas, y el resto para nutrición de animales.

En los vegetales, la síntesis de vitamina C se efectúa en todas las células de la planta. Los cítricos son excepcionalmente ricos en vitamina C.

Entre los animales que son capaces de sintetizarla, la síntesis se efectúa mayoritariamente en el hígado, y aunque las demás células también tienen la capacidad de hacerlo, es sin embargo muy limitada.

En los alimentos, la vitamina C está presente sobre todo en la fruta, la verdura y el té verde (Figura 5). Sin embargo, su contenido disminuye al hervir, secar o remojar los alimentos. Cítricos como las naranjas, limones y uvas contienen mucha vitamina C en su estado maduro directamente después de la cosecha. La col verde tiene el mayor contenido de vitamina C de todos los tipos de col (105-120 mg por cada 100 g de sustancia consumible). Cuando se cocina la col, las moléculas de ácido ascórbico se descomponen en L-ascórbico e indol, de manera que contiene más vitamina C que en su estado crudo. Sin embargo, la vitamina se destruye en parte si se hierve el alimento demasiado tiempo. Las mayores concentraciones de vitamina C naturales se han encontrado en el Camu-Camu y en la acerola.



Fig. 5 Alimentos ricos en vitamina C.

Muchos tipos de verdura contienen ascorbato-oxidasa, una enzima que rompe la vitamina. Esto puede conducir a pérdidas de vitamina C considerables.

Hay medicamentos que pueden disminuir la vitamina C en el organismo, como por ejemplo la píldora anticonceptiva, ciertos antibióticos y el ácido acetilsalicílico (Aspirina). También las operaciones, infecciones, cáncer, heridas graves, diabetes mellitus, enfermedades intestinales o estomacales, estrés permanente y consumo excesivo de alcohol.

3.2.3 Mecanismo antioxidante del ácido ascórbico

El ascorbato actúa como un antioxidante, al estar disponible para una oxidación energéticamente favorable. Muchos oxidantes (típicamente, las especies de oxígeno reactivas) como el radical hidroxilo (formado a partir del agua

oxigenada), contienen un electrón no emparejado, y, así, son muy reactivos y perjudiciales para las personas y las plantas a nivel molecular. Esto se debe a su interacción con los ácidos nucleicos, proteínas y lípidos. Las especies de oxígeno reactivas oxidan (toman electrones) al ascorbato, formando primero monodehidroascorbato y luego dehidroascorbato. Las especies de oxígeno reactivas son reducidas a agua, mientras que las formas oxidadas del ascorbato son relativamente estables y no reactivas, por lo que no causan daño celular (<http://www.acidoascorbico.com/>) ejemplo en figura 6.



Dónde H_2A es el ácido ascórbico y A es el ácido dehidroascórbico.

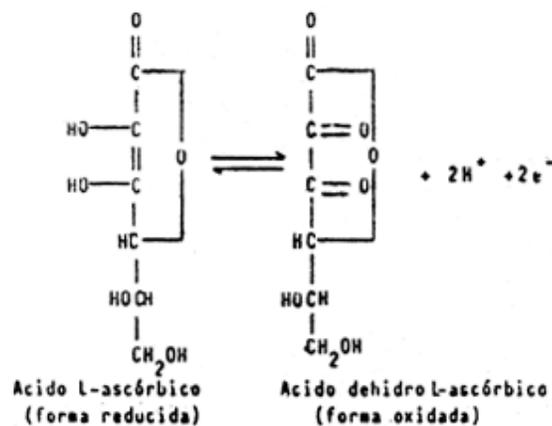


Fig. 6 Moléculas del ácido ascórbico y del ácido dehidroascórbico

3.3 Fenoles

Los compuestos fenólicos y los polifenoles son considerados metabolitos secundarios de las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar, algunas veces ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y otros compuestos fenólicos unidos a los grupos hidroxilos y se encuentran distribuidos en los tejidos y células vegetales, variando considerablemente de acuerdo al tipo de

compuesto químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular.

Sus principales funciones en las células vegetales son actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción y como agentes protectores frente a la acción de patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa.

Es evidente que algunos compuestos fenólicos son metabolizados en el tracto gastrointestinal. En el colon, las agliconas son absorbidas a través del epitelio intestinal y metiladas y/o conjugadas con ácido glucorónico o sulfato en el hígado. El principal órgano involucrado en el metabolismo de los polifenoles es el hígado, también están implicados los riñones y la mucosa intestinal, ya que contienen enzimas que intervienen en el metabolismo de los polifenoles.

3.3.1 Funciones

Los compuestos fenólicos funcionan como antioxidantes naturales de los alimentos (inhiben la oxidación de otras moléculas). Además la reacción de oxidación de estos compuestos hacia la formación de quinonas, catalizada por ejemplo por las enzimas polifenol oxidasas, produce un pardeamiento enzimático en los alimentos.

Para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante debe cumplir dos condiciones básicas. La primera es que cuando se encuentre en una concentración baja con relación al sustrato que va a ser oxidado pueda retrasar o prevenir la auto oxidación o la oxidación mediada por un radical libre. La segunda es que el radical formado tras el secuestro sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores. Entre los compuestos fenólicos con una reconocida actividad antioxidante destacan los flavonoides, los ácidos fenólicos, taninos, resveratrol y cumarinas (Figura 7).



Fig. 7 Alimentos como el chocolate y el vino contienen polifenoles.

3.3.2 Atribuciones

A los compuestos fenólicos se les han atribuido actividades farmacológicas y médicas relacionadas con la prevención o mejora del estado de salud. Entre éstas destacan sus efectos vasodilatadores, anticarcinogénicos, anti-inflamatorios, bactericidas, estimuladores de la respuesta inmune, antialérgicos, antivirales, efectos estrógenicos e inhibidores de la fosfolipasa A2 y otras enzimas. Los polifenoles pueden interferir en distintas etapas que conducen al desarrollo de tumores malignos al proteger el ADN del daño oxidativo, inactivando de este modo los carcinógenos, inhibiendo la expresión de los genes mutágenos y de la actividad de las enzimas encargadas de la activación de pro carcinógenos y activando los sistemas enzimáticos responsables de la detoxificación de xenobióticos (Arzate, 2007).

3.4 Colorantes

3.4.1 Generalidades

Los colorantes son el grupo de aditivos que se encarga de proporcionar aquel color deseado y esperado de cada alimento o producto; es decir, proporcionan, refuerzan u homogenizan su color para hacerlo más apetecible. Los colorantes no deben emplearse de manera arbitraria, sino que la cantidad de estos aditivos en cada alimento debe atender a la corrección de la pérdida de color

producida por alguno de los factores que se indican a continuación durante el proceso de elaboración o almacenamiento de un producto alimenticio:

- Procesos tecnológicos: tratamientos térmicos, pelado, deshidratación, etc.
- Variaciones físico-químicas: cambios de pH, luz, potencial redox, etc.
- Efectos bioquímicos: microorganismos y sus metabolitos, pardeamiento enzimático y no enzimático, entre otros.

Todos estos cambios hacen que el producto sea menos atractivo para el consumidor y surja la necesidad de usar colorantes como aditivos. El color de los alimentos es muy importante para el consumidor, pues determina la aceptación o rechazo de un producto. De acuerdo a regulaciones mexicanas, existen 51 colorantes, naturales y sintéticos, que están permitidos para uso en alimentos, como por ejemplo las normas NMX-F-201-1976, NMX-F-263-1975 y la NOM-118.

Los pigmentos naturales, incluyen a los carotenoides, xantofilas, antocianinas, betalaínas, clorofilas, azafrán y ácido carmínico. Dentro de la categoría de colorantes naturales está el color caramelo, la riboflavina y el bióxido de titanio (TiO_2), el cual proviene de un mineral y es usado para impartir color blanco. Los colorantes sintéticos o también llamados artificiales, se fabrican mediante síntesis química y no se encuentran disponibles en la naturaleza.

Los vegetales de hojas verdes presentan una serie de colorantes, entre ellos la clorofila, responsables del color, y los carotenos cuya presencia no es tan evidente, ya que habitualmente su color no alcanza a manifestarse. Las moléculas de clorofila se encuentran estrechamente unidas a lípidos, proteínas y lipoproteínas. Entre las clorofilas más abundantes se encuentra la *a* y la *b*, siendo la *a* la más abundante.

Las antocianinas o antocianidinas pertenecen al grupo de los bioflavonoides y son las responsables de los colores rojos, azulados o violetas de la mayoría de las frutas y flores. Las antocianinas, además de estar presentes en las flores

también pueden encontrarse en las hojas, haciendo que muestren un color rojizo. Las betalainas son un grupo de alrededor de 70 pigmentos hidrosolubles, se encuentran compartimentalizadas dentro de las células en las vacuolas con estructuras de glúcidos. Se dividen en betacianinas (violáceas) y betaxantinas (amarillas). Se encuentran en varios géneros de las cactáceas. Pierden coloración bajo influencia de p H, luz, altas temperaturas, oxígeno y actividad acuosa. La formula general de las betalainas (Fig 8.) representa la condensación de una amina primaria ó secundaria con ácido betalámico (Fig 9.)

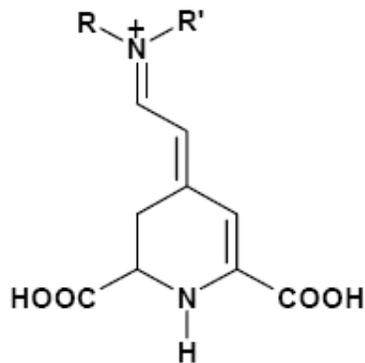


Fig. 8 Estructura general de las Betalainas

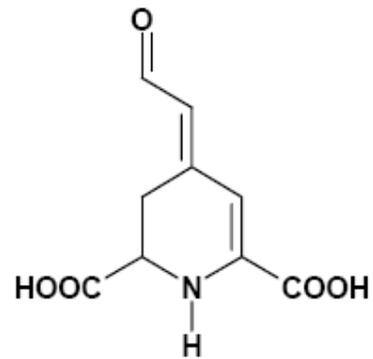
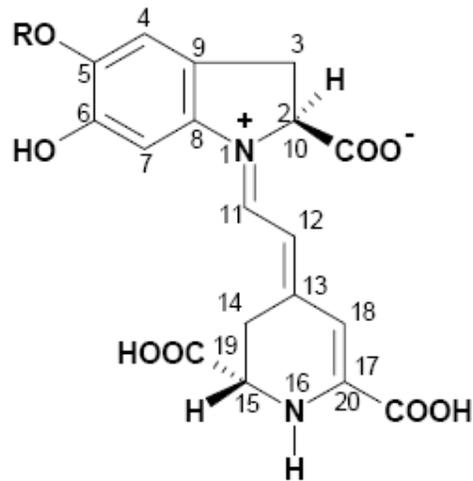


Fig 9. Estructura del ácido betalámico

Estos pigmentos son estables en el intervalo de p H de 3-7 y se ven afectados al igual que la mayoría de los pigmentos naturales por los metales, la temperatura, la presencia de aire y por las radiaciones ultravioletas.

Las betacianinas, se consideran glúcidos, su principal componente es la betanina (Fig 10), (Mondjuano, 2006).



Betanina R = Glucosa

Betanidina R = H

Fig.10 Estructura química de la betanina.

Absorben a una longitud máxima de entre los 534 y 555 nm. Son mas estables que las betaxantinas. Generalmente representan del 75% al 95% de las betalainas.

3.4.2 Degradación de Betalainas

Bajo condiciones alcalinas suaves la betanina se degrada a BA= Ácido betalámico y CDG= Ciclodopa-5-0-glucósido (Figura 11). Si se calienta fuertemente se acelera la hidrólisis de la betanina en solución y se produce BA y CDG (Fig 10.), pero esta reacción es parcialmente reversible de acuerdo con el pH. Ambos productos de degradación son sensibles al oxígeno y el BA es afectado a condiciones acidas o alcalinas fuertes. En vista de que ambas betalainas, poseen la misma estructura general, el mecanismo de degradación de betacianinas debería emplearse para las betaxantinas. La degradación de betanina a BA y CDG muestra ser reversible y por lo tanto la regeneración parcial del pigmento ocurre en la termodegradación del pigmento. El BA

muestra ser más estable a pH neutro y el CDG muestra serlo en condiciones ácidas; por lo tanto la regeneración de betanina es maximizada en un rango de pH entre 4 y 5.

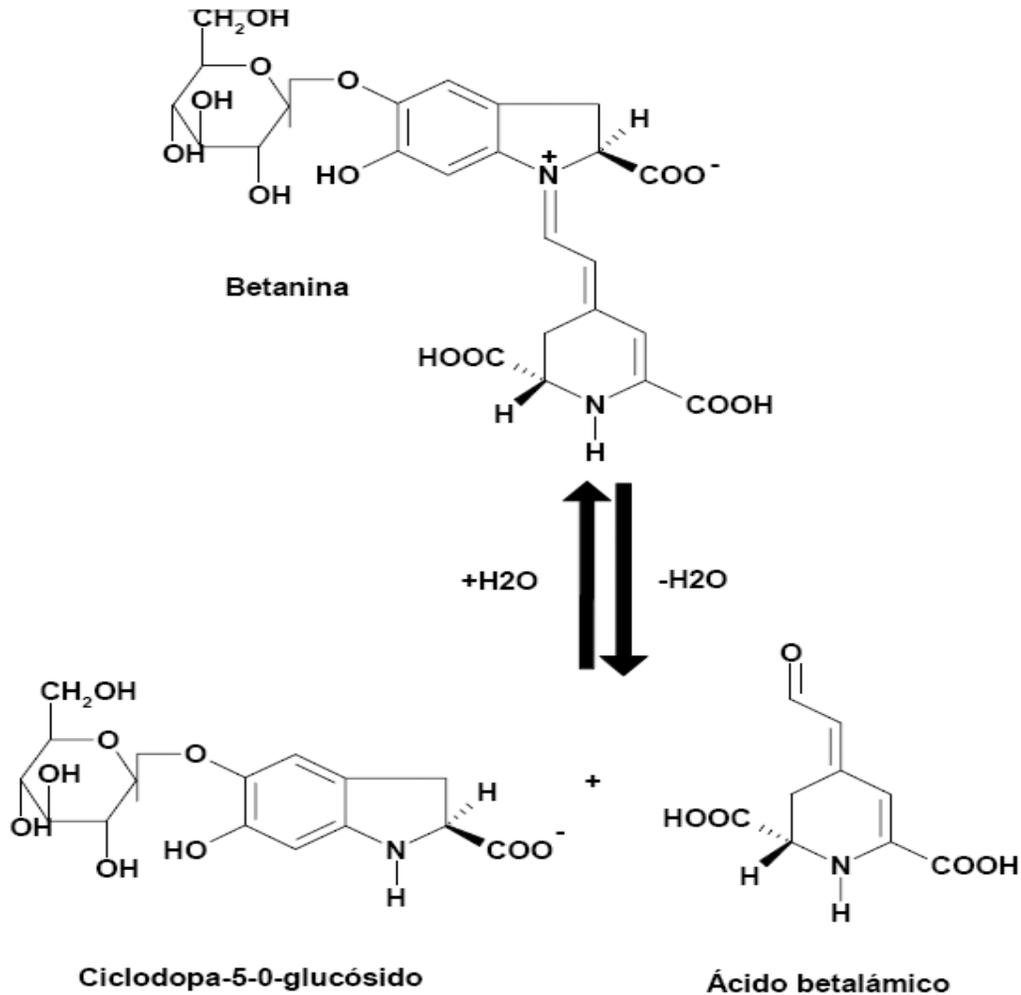


Fig 11 Degradación de la Betanina.

Por otro lado, la presencia de oxígeno atmosférico en productos de betabel enlatados es largamente conocida por acelerar la pérdida del color del pigmento de betabel. En solución, conteniendo un exceso molar de oxígeno sobre betanina, la pérdida de betanina sigue aparentemente una cinética de reacción de primer orden. Esta degradación se desvía de la cinética de primer orden cuando la concentración molar de oxígeno se aproxima a la concentración de betanina. En ausencia de oxígeno la estabilidad se

incrementa, ya que el oxígeno molecular está implicado como el agente activo en la degradación oxidativa de betanina.

El efecto de pH en la degradación de las betalainas está fundamentado teóricamente en que dentro de un rango de pH de 4 a 6, la menor cantidad de oxígeno se encuentra en disolución. Fuera de un rango de pH, el número de moles de oxígeno excede el número de moles de betanina en solución. Esto sugiere que más de una molécula de oxígeno puede interactuar con cada molécula de betanina. Esto puede ser explicado por el hecho de que fuera del rango de pH de 4 a 6, la betanina es más fácilmente degradada a CDG y BA y ambas especies son susceptibles a degradación oxidativa. La adición de antioxidantes debe por tanto resultar en mejoramiento de la estabilidad. La adición de ácido ascórbico a jugo de betabel concentrado resulta en mejoramiento de la estabilidad del color, el ácido ascórbico protege el color rojo aún cuando es expuesto a tratamientos drásticos como la esterilización. Los antioxidantes fenólicos (como BHA, BHT y α -tocoferol), que inhiben la oxidación en cadena por radicales libres, el sulfito, metabisulfito y tiosulfato de sodio, el ácido tiopropiónico y la cisteína no son efectivos para mantener la estabilización de la betanina ya que por ejemplo en el caso del α -tocoferol a concentraciones de 100 ppm no tiene efecto protector sobre la betanina, y por ejemplo a concentración de 1000 ppm se reduce la estabilidad del pigmento debido a que el α -tocoferol actúa como prooxidante a estas concentraciones.

Sin embargo, la presencia de EDTA, en niveles bajos (1 ppm), en solución incrementa la estabilidad de betanina. El mecanismo por el cual el EDTA reduce la oxidación de betanina puede ser explicado en parte por su habilidad para quelar cationes metálicos polivalentes. También es propuesto que protege a la betanina por directa interacción con su centro electrofílico. También es importante recalcar que la betanina se vuelve más inestable a medida que aumenta la actividad acuosa y el contenido de humedad del alimento. La degradación de betanina requiere la hidrólisis de la molécula de betanina a CDG y BA. Esta reacción es altamente dependiente de la disponibilidad de

agua, por consiguiente, un decremento en la actividad acuosa corresponde a una menor degradación de betanina.

La exposición de la luz visible también reduce la estabilidad de betalainas. Generalmente es reconocido que bajo luz fluorescente, y en presencia de oxígeno, las betaxantinas son más lábiles que las betacianinas. Para terminar esta sección se menciona que los colorantes naturales pueden ser degradados por varias enzimas encontradas en los tejidos vegetales. Los pigmentos son fácilmente destruidos por enzimas durante su almacenamiento a temperatura ambiente. Estas enzimas pueden ser inactivadas mediante calor; la pérdida del pigmento puede ser minimizada mediante un escaldado durante 45 a 60 seg, antes de congelar o pasteurizar. Las betalainas se pueden decolorar por acción enzimática, el sistema enzimático betalainasa muestra actividad óptima a 40°C y pH de 3.4, observándose efectos menos drásticos al aumentar el pH.

3.4.3 Las betalainas como aditivo alimentario

Estudios de toxicidad y seguridad indican que las betalainas pueden ser alternativas viables para colorantes sintéticos. Sin embargo, por las limitaciones de su estabilidad, su uso se restringe a ciertos productos en los que el pigmento se conserva más fácilmente. Las betalainas se obtienen en forma de concentrado o de deshidratado a partir de una extracción acuosa a pH ácido; la purificación de los pigmentos se logra por medio de ultrafiltración y ósmosis inversa. Debido a su potencial se ha ensayado el cultivo de tejidos para producir betabeles con mayor cantidad de betaninas. Se ha sugerido aplicar las betalainas en la elaboración de productos cárnicos, debido a que los nitritos causan controversia por su implicación en la síntesis de nitrosaminas, se considera que la mezcla de betalainas y sorbato de potasio puede sustituirlos. En embutidos con carne de pollo, el color producido por las betalainas es más estable que el que produce los nitritos, y el sabor y la textura no se alteran.

El colorante es fácilmente soluble en agua; es razonablemente estable cuando es usado a pH entre 4 y 7 y es adecuadamente estable a la luz. Sin embargo es degradado fácilmente a temperaturas superiores a 50°C, particularmente cuando es expuesto a aire o luz, es más estable al calor a pH entre 4 y 5, por estas propiedades las betalainas son usadas en alimentos que reciban mínimo tratamiento térmico durante el procesado, tengan baja actividad acuosa y sean empacados minimizando la exposición de la luz, oxígeno y humedad. Por todo lo anterior, las betalainas tienen aplicación en productos cárnicos, dulces, yogurts, helados, confiterías, mayonesas, sustitutos de carne, bebidas en polvo, mezclas para pasteles, jugos de carne, malvaviscos, gelatinas y productos secos. Es adicionado en niveles de 0.1 a 1% basado en el peso del producto final (Mondjuano, 2006).

3.5 La Pitaya Roja

Las cactáceas comestibles se pueden clasificar en tres tipos; tunas, pitayas y pereskias. Los frutos de las cactáceas trepadoras, denominadas de esta forma debido a su hábito de crecimiento en el cual utilizan arboles como soporte físico, se conocen como pitaya ó pitahaya. A diferencia de las tunas, estas contienen pequeñas semillas digeribles y no presentan espinas típicas de la tuna. La pitaya, conocida como fruta de dragón crece en ambientes tropicales, la especie *H. polyrhizus* (cascara roja pulpa roja) es cultivada principalmente en Israel.

3.5.1 Composición Nutricional de la Pitaya Roja

A continuación en la Tabla 2 se menciona la composición nutricional de la pitaya roja. (<http://huitoto.udea.edu.co/FrutasTropicales/pitahayad.html>).

Tabla 2. Composición nutricional de *H. polyrhizus*. (Por cada 100g en BH)

Acido ascórbico	25mg
Agua	89.4g
Calcio	6.0mg
Calorias	36
Carbohidratos	9.2g
Fibra	0.3g
Fósforo	19mg
Proteína	0.5 g
Hierro	0.4mg

3.5.2 La pitaya en México

Los principales productores de pitaya roja son además de México, Colombia, Nicaragua, Vietnam e Israel y La mejor época en la variedad roja está disponible tan sólo en los meses de junio a agosto. El nombre de pitaya (Figura 12) se le dio en las Antillas y significa "fruto escamoso". Los antiguos mexicanos la llamaban "coapetilla", que quiere decir serpiente gruesa, refiriéndose a la apariencia de las ramas de pitayo. Desde la época prehispánica esta planta, que se produce en la época calurosa del año, ha sido un complemento importante en la dieta de las comunidades indígenas que habitan las tierras semiáridas, tropicales y subtropicales del país. Entre los indios Seris, la pitaya ha sido considerada una de las fuentes más importa de alimento. El fruto se almacenaba seco y las semillas eran consumidas por separado e incluso los pétalos de las flores también se comían. Los Nahuas le daban a la pitaya un uso ritual, pues lo consideraban un "alimento y regalo". En una celebración que se realizaba para hacer alianzas para la guerra, a los invitados del pueblo y de las comunidades vecinas se les ofrecía una bebida a base de esta fruta y mezcal.



Fig. 12 Frutos de pitaya

Los Californianos o Cochimíes hacían harina de las semillas tostadas para consumirlas en el invierno, como si se tratara de una segunda cosecha de pitayas. Durante la conquista, la pitaya llamó la atención de los españoles por su vistoso colorido y sabor dulce. Las primeras plantaciones comerciales, siempre a pequeña escala, se iniciaron a finales del siglo XIX y una de las principales regiones fue el suroeste de Jalisco. (<http://www.gaceta.udg.mx/Hemeroteca/paginas/115/5-115.pdf>).

Se trata de una fruta con un contenido de calorías muy bajo, concretamente 36 por cada 100 gramos, debido a su escaso aporte de carbohidratos (9,2%), y a la casi ausencia de grasas y proteínas. Su aporte de fibra es de unos 0,3 gramos por cada 100, no muy alto, y su contenido de vitamina C es la mitad que el de una naranja, unos 25 miligramos por cada 100 gramos de fruta. (http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/en_la_cocina/alimentos_de_temporada/2007/05/14/162610.php).

Es un fruto ideal para aportar vitamina C al organismo sin tener que ingerir cítricos, pimientos u otros vegetales que la contienen casi en exclusiva

Por su escaso aporte energético y riqueza en vitamina C, esta fruta es adecuada para quienes tienen un mayor riesgo de sufrir carencias de dicha vitamina, por ejemplo las personas que no toleran los cítricos, el pimiento u otros vegetales, que son la fuente casi exclusiva de vitamina C en nuestra alimentación.

El índice de madurez más determinante es el color de la cáscara, hasta una coloración completamente roja. Aspectos importantes durante el momento de la cosecha son además del color, contenido de sólidos solubles, acidez, tiempo que transcurre desde la floración hasta la cosecha (alrededor de 32 días).

Los frutos del género *Hylocereus* resisten hasta siete días a temperatura ambiente y a temperaturas de 10-12°C se pueden almacenar hasta 14 días. El tiempo de almacenamiento se puede aumentar a temperaturas más bajas.

De algunos clones de *H. polyrhizus* se ha obtenido colorantes púrpuras encendidos de carácter único los cuales se han denominado hyloceranina y isohyloceranina. A diferencia de las antocianinas, el color de los pigmentos de la pitaya (betalaínas) mantienen su apariencia en un ámbito de pH más amplio, esta propiedad las hace ideales para su uso como colorantes en productos alimenticios de baja acidez, también se han evaluado las propiedades reológicas que pueden tener tanto la cáscara como el mucílago.

Reportes en la literatura indican que el contenido de fenoles totales dentro de la pulpa de la pitaya roja se encuentran en el intervalo de 1384-1552 EGA, (expresados como equivalentes de ácido gálico por 100 gramos de muestra seca ó EAG) y que son equiparables al contenido de fenoles de los frutos con alta actividad antioxidante derivada de su contenido de compuestos fenólicos, tales como la manzana (*Malus pumila*, 1300-1310 EAG) y la fresa (*Fragaria ananassa*, 1600 a 1800 EAG).

(<http://www.alfaeditores.com/alimentaria/Noviembre%20Diciembre%2005/TECNOLOGIA%20Pitaya.htm>).

Aplicación medicinal: las semillas actúan como un potente laxante ya que tienen un alto contenido de aceite. Además, la pitaya ayuda a reducir el ácido úrico en sangre, con lo que previene la gota. Muy recomendada para personas que padecen anemia por su gran aporte de hierro (posee más que la mayoría de las verduras). En México, los tallos se emplean para la preparación de drogas con efecto espasmolítico y promueven la circulación de la sangre. También las flores tienen su utilidad, se elaboran infusiones que sirven como

tónico cardíaco.

(<http://www.mercadosmunicipales.es/uploads/frutas/Pitahaya.pdf>).

3.6 Los ácidos grasos en las semillas de la pitaya roja.

Diversos estudios publicados han reportado el contenido de aceite en las semillas de pitaya, el cual va de 29% y éste proporciona el mayor porcentaje conocido de ácido linoléico con 49.6%. En la Tabla 3 se muestra la composición de ácidos grasos reportados por Abdul y col. (2008) en la semilla de la pitaya roja.

Tabla 3 Ácidos grasos contenidos en la pitaya roja.

Ácido graso	Composición (%)
Ácido Mirístico (C14:0)	0.20 ± 0.02
Ácido Palmítico (C16:0)	17.9 ± 1.10
Ácido Esteárico (C18:0)	5.49 ± 0.29
Ácido Palmitoléico (C16:1)	0.91 ± 0.05
Ácido Oléico (C18:1)	21.6 ± 0.53
Ácido Linoléico (C18:2)	49.6 ± 0.33
Ácido Linolénico (C18:3)	1.21 ± 0.20

La estructura química de los ácidos grasos contenidos en la semilla de la pitaya roja se muestran en la Figura 13.

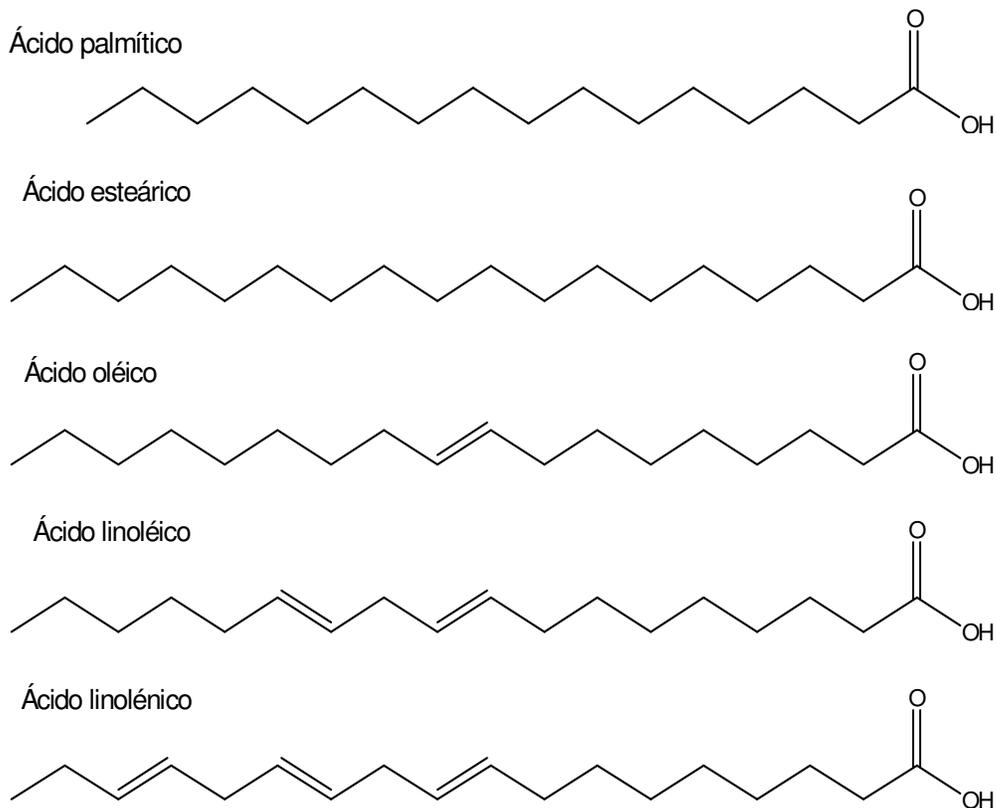


Fig.13 Estructuras químicas de los principales ácidos grasos contenidos en la semilla de la pitaya roja.

3.6.1 Clasificación de los ácidos grasos

Los ácidos grasos, definidos como cualquier ácido monocarboxílico alifático que pueda liberarse por hidrólisis de las grasas naturales (Fennema, 2000), se encuentran comúnmente en los alimentos y son relativamente pocos, considerando que se conocen más de 400. Generalmente, se encuentran esterificados como parte de los triacilglicéridos, cuando los encontramos en estado libre se debe a que ocurrió una hidrólisis en el enlace éster y la mayoría son ácidos monocarboxílicos de cadena lineal con número par de carbonos.

Los ácidos grasos saturados más abundantes en alimentos son el ácido mirístico (tetradecanoico), el ácido láurico (dodecanoico), el ácido palmítico (hexadecanoico) y el ácido esteárico (octadecanoico).

El punto de fusión de éstos ácidos grasos aumenta con el peso molecular, su solubilidad en agua es inversamente proporcional al peso molecular

La estabilidad a los procesos oxidativos de estos ácidos grasos es mayor que la de ácidos grasos insaturados. Los ácidos grasos insaturados presentan alta reactividad química por la presencia de insaturaciones. Y son propensos a sufrir reacciones de oxidación e isomerización. Son abundantes en los aceites vegetales y de origen marino, y su temperatura de fusión disminuye al incrementarse el número de insaturaciones. A los que poseen una sola doble ligadura se llaman monoinsaturados o monoenoicos, a los que presentan más de una doble ligadura se les denomina poliinsaturados o polienoicos.

Las insaturaciones presentan isomerismo geométrico (*cis*, *trans*) y posicional dependiendo de la localización de las insaturaciones. En forma natural la mayoría se encuentran en isomería *cis*; las formas *trans* se encuentran en grasas hidrogenadas comerciales. Los isómeros *trans* son termodinámicamente más estables que los *cis*.

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) tienen efectos en diferentes procesos fisiológicos que impactan a la salud, regulan los niveles de lípidos en la sangre, funciones inmunológicas y cardiovasculares, acción de la insulina, desarrollo neural y función visual. También reduce el nivel de triglicéridos y la viscosidad de la sangre, tiene actividad antitrombótica y fibrinolítica y reduce la isquemia lo que aparentemente se debe a la incorporación de ácido eicosapentanoico en los fosfolípidos de la membrana celular.

Una manera de denominar a los ácidos grasos es distinguiéndolo de acuerdo a la localización del doble enlace que está más cerca del metilo terminal, el carbono omega (ω). En cuyo caso por ejemplo el ácido linoléico que presenta dos insaturaciones (9, 12-octadecadienoico) es el ácido 18:2 ω 6 o n-6.

El ácido linoléico (n-6) y el alfa-linolénico (n-3) no se pueden sintetizar por humanos por lo que resultan ser beneficiosos en la dieta, el alfa-linolénico se encuentra en las verduras verde oscuro como el brócoli y la espinaca además de oleaginosas y cereales; mientras que el linoléico se encuentra en peces como el atún. El ácido linoléico está en nuestra dieta y en mayor grado en la dieta no mediterránea, en cantidades límite o incluso superiores al valor máximo recomendado. La razón se encuentra en el importante consumo de aceites de semillas y más concretamente aceite de girasol. En nuestra actual situación alimentaria la ingesta no debe ser sobrepasada, no tanto por razones intrínsecas de inadecuación nutricional que pueden no existir, sino por las repercusiones que pueden ejercer sobre los efectos benéficos que entraña la ingesta adecuada de ácidos grasos ω -3 (Mataix y col, 1996). En la tabla 4 se muestra igualmente la grasa total y el perfil de ácidos grasos de diferentes frutos secos.

Tabla 4. Grasa total y contenidos en ácidos grasos saturados, monoinsaturados, ω -6 y ω -3 de diversas frutas y frutos secos (g/100g).

Á C I D O S G R A S O S						
Polinsaturados						
Alimento	Grasa Total	Saturado	Monoinsaturado	ω -6	ω - 3	ω 6/ω 3
Aguacate	19.3	3	15	2	0.07	23
Aceitunas	11	2	8	1.16	0.06	19.3
Almendras	56	4.4	38.2	10.2	0.3	38
Nueces de Brasil	68.2	17.4	22.4	25.43	0	0
Coco	36	31.4	2.4	1	0	0
Avellana	64	5	49.2	7	0.12	54.1
Cacahuete	46	9	22	13	0.35	36.4
Semillas de amapola	47	7	11	27.2	0.45	60.4
Semillas de calabaza	46	9	13.3	22	0.13	166.1
Semillas de sésamo	58	9	23	25.3	0.15	169
Semillas de girasol	48	7	11	28	0.1	311.1
Nuez	69	8	11	39.3	7.4	5.2

(Mataix y col, 1996).

Aceites ricos en grasa saturada, como el de coco y en menor grado el aceite de palma, el cual presenta también un apreciable contenido en ácido oleico.

Aceites ricos en ácido graso ω -6, que son como por ejemplo el de algodón, borraja, cártamo, prímula, germen de trigo, girasol, maíz, nuez, pepita de uva y soja (Tabla 5).

Tabla 5 Porcentajes en peso referidos a la fracción de ácidos grasos.

Aceites

Acido graso	Soja	Girasol	Cártamo	Algodón	Germen de maíz	Colza	Cacahuete	Pepita de uva
C 12:0	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1	-
C 14:0	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 1.2	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.3	≤ 0.1
C 16:0	7 a 12	5 a 8	4 a 10	17-29	9 a 17	2 a 7	8 a 13	5 a 10
C 16:1	≤ 0.5	≤ 0.2	≤ 0.1	≤ 1	≤ 0.2	≤ 1	≤ 0.3	≤ 1.2
C 18:0	2 a 6	3 a 7	2 a 4	1 a 3	1 a 3	1 a 3	3 a 5	3 a 5
C 18:1	20-35	15-38	11 a 25	16-44	22-40	50-65	38-63	12 a 26
C 18:2	45-60	50-72	55-80	33-58	45-65	15-30	18-42	58-77
C 18:3	5 a 10	≤ 0.2	≤ 1	≤ 2	≤ 1.5	6 a 14	≤ 1	≤ 1

Los ácidos grasos esenciales son el ácido linoleico y el ácido α -linolénico, que a su vez son precursores de las series o familias ω -6 y ω -3 respectivamente. Desde la perspectiva científica, aunque la esencialidad radica en los dos ácidos citados, linoleico y linolénico, la cantidad requerida disminuiría si se aportan a través de la dieta derivados de sus series correspondientes. Así por, ejemplo, el aporte de ácido araquidónico (20:4 ω -6), reduce el requerimiento de ácido linoleico. De un modo semejante, el aporte de ácidos grasos ω -3 a través del pescado, o de otras fuentes que lo contengan, disminuye las necesidades de ácido linolénico. Este hecho dificulta el poder establecer unas cantidades recomendadas de ingesta de ácidos grasos, pues por ejemplo, sería diferente expresarlas como ácidos linolénico o como ácidos grasos ω -3 en conjunto.

El problema de esencialidad se complica en alguna circunstancia, aunque extrañamente puede producirse, concretamente cuando por déficit de alguna de las enzimas que catalizan las correspondientes vías enzimáticas, no se asegura la síntesis adecuada de los miembros de las familias de ácidos grasos correspondientes. Esto es evidente en niños prematuros y puede que en algunos neonatos a término, y asimismo, ha sido descrito en individuos de edad avanzada (Mataix y col., 1996)

3.6.2 El ácido linoleico

Se identifica bioquímicamente por análisis de lípidos plasmáticos, observándose unos niveles disminuidos de que el ácido y de su derivado. La deficiencia del ácido linoleico en lactantes, que tienen obviamente elevados requerimientos, se manifiesta entre otros signos, por una piel seca y escamosa, pudiendo llegar a un crecimiento disminuido. Asimismo, se han descrito casos de deficiencia en niños prematuros con un retraso en la ingesta grasa, así como en adultos en donde se presentaban piel escamosa, alopecia más o menos severa y deficiencias en la curación de heridas cuando los pacientes eran nutridos con nutrición parental externa de grasa. Además de estos casos, pacientes con problemas graves de mala absorción debidos a atresia biliar y fibrosis quística, pueden también presentar deficiencias en ácido linoleico. (Mataix y col, 1996).

Evidencias clínicas y bioquímicas por deficiencia, se sitúan entre un 1 y un 2% de ingesta energética total, como se ha demostrado, tanto en experimentación humana como animal. En el caso de adultos, una ingesta adecuada de ácido linoléico esta situada entre 3 y 6 g/día que aproximadamente representa de un 1 a un 2% de energía total. La llamada dieta occidental, suele presentar altos niveles de ácido linoleico que van desde un 5 a un 10% de las calorías totales por el consumo de distintos aceites de semillas y/o productos derivados, ricos en el citado ácido. En la actualidad, se aconseja que la ingesta media del ácido linoleico de la población se mantenga alrededor de un 7% de calorías, no

excediéndose del 10% por las posibles consecuencias nocivas a largo plazo de una elevada ingesta de este ácido graso. (Mataix y col., 1996).

3.7 Degradación de lípidos

3.7.1 Oxidación de lípidos

La oxidación de los lípidos es una de las causas del deterioro de alimentos y propicia la aparición de sabores y aromas indeseados en los alimentos que los contienen. La autooxidación que se refiere a la reacción con oxígeno molecular mediante mecanismo catalítico, es la principal responsable de las reacciones de deterioro oxidativo de los lípidos.

3.7.2 Autooxidación

La oxidación de los lípidos es una de las principales causas de deterioro de los alimentos, lo que representa un gran interés económico para la industria alimentaria ya que da lugar a la aparición de sabores y olores desagradables, llamados generalmente como enranciamiento, en los aceites comestibles y en los alimentos que contienen grasas, lo que hace que estos alimentos sean inaceptables para el consumidor o que reduzcan su vida útil. Además, las reacciones de oxidación pueden disimular la calidad nutritiva de los alimentos, y algunos productos de oxidación son potencialmente tóxicos. La autooxidación ocurre por mecanismos en los que participan los radicales libres (Fennema, 2000).

Para explicar la autooxidación se ha postulado un mecanismo simplificado en tres etapas: iniciación, propagación y terminación.

Los hidroperóxidos, productos primarios de la autooxidación lipídica, son relativamente inestables, e intervienen en numerosas y complejas reacciones de ruptura e interacción, que son las responsables de la producción de miríadas de compuestos de distintos pesos moleculares, capaces de producir aromas, y que son biológicamente significativos. El oxígeno en el estado

singulete es más electrofílico que en el estado triplete y por tanto, puede reaccionar más rápidamente. Los hidroperóxidos resultantes pueden entonces romperse para iniciar una reacción convencional en cadena por radicales libres.

Los hidroperóxidos se rompen en varias etapas dando lugar a una amplia variedad de productos de descomposición. Cada hidropéroxido origina una serie de productos de ruptura iniciales típicos de cada uno de ellos que dependen de su posición en la molécula originaria; estos compuestos pueden experimentar oxidaciones y descomposiciones posteriores, contribuyendo así a la formación de una gran cantidad de radicales libres de distinto tipo. La multiplicidad de las posibles vías de reacción da lugar a unos productos de autooxidación tan complejos que en muchos casos se pierde la pista del hidroperóxido original (Fennema, 2000).

3.8 Extracción con Fluidos supercríticos

Un fluido supercrítico (FSC) es aquel que se encuentra en condiciones de temperatura y presión por encima del punto crítico como lo muestra la Figura 10, para el CO₂. Sin embargo desde el punto de vista de la Extracción por Fluidos Supercríticos (EFS), una definición más específica es la de un gas pesado con poder de solvencia dependiente de la densidad, y en el que el estado líquido y gaseoso no se distinguen (Luque de Castro y col., 1994). Por este motivo, el poder disolvente de un FSC es altamente dependiente de su temperatura y presión.

(<http://www.termo.esiqie.ipn.mx/english/labtermo/definicion.htm>).

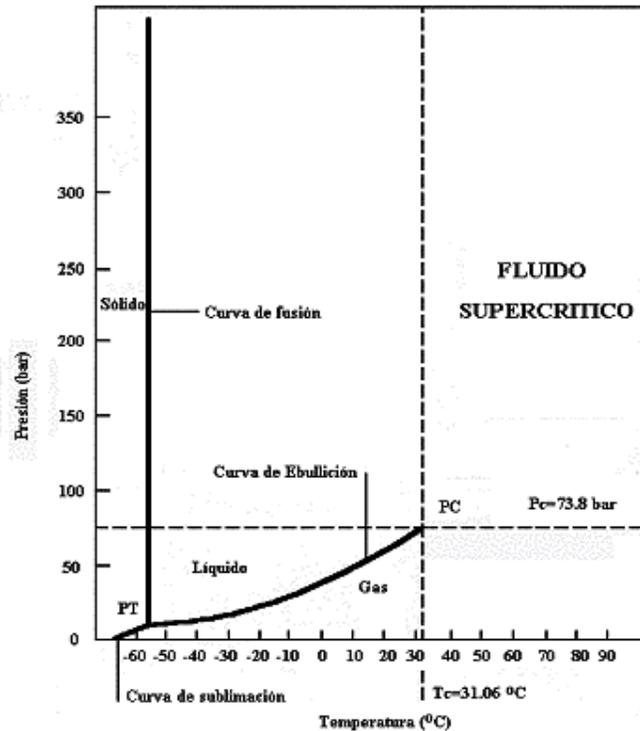


Fig. 14. Zona de localización del ScCO₂.

En esta representación gráfica (Figura 14) podemos ubicar el punto crítico del CO₂, en el cual a una temperatura y presión críticas no existirá licuefacción al aumentar la presión y no se formará un gas al aumentar la temperatura.

El punto crítico (T_c , P_c) representa la temperatura y presión más altas a las que existe una sustancia en equilibrio líquido-vapor.

3.8.1 Propiedades

Como ya se mencionó, en un FSC no se distinguen el estado líquido ni el gaseoso, esto debido a que los dos estados desaparecen para formar una sola fase, esto le permite a un FSC tener propiedades tanto de líquido como de gas y algunas de estas propiedades se resumen en la Figura 15 (Luque de Castro y col, 1994).

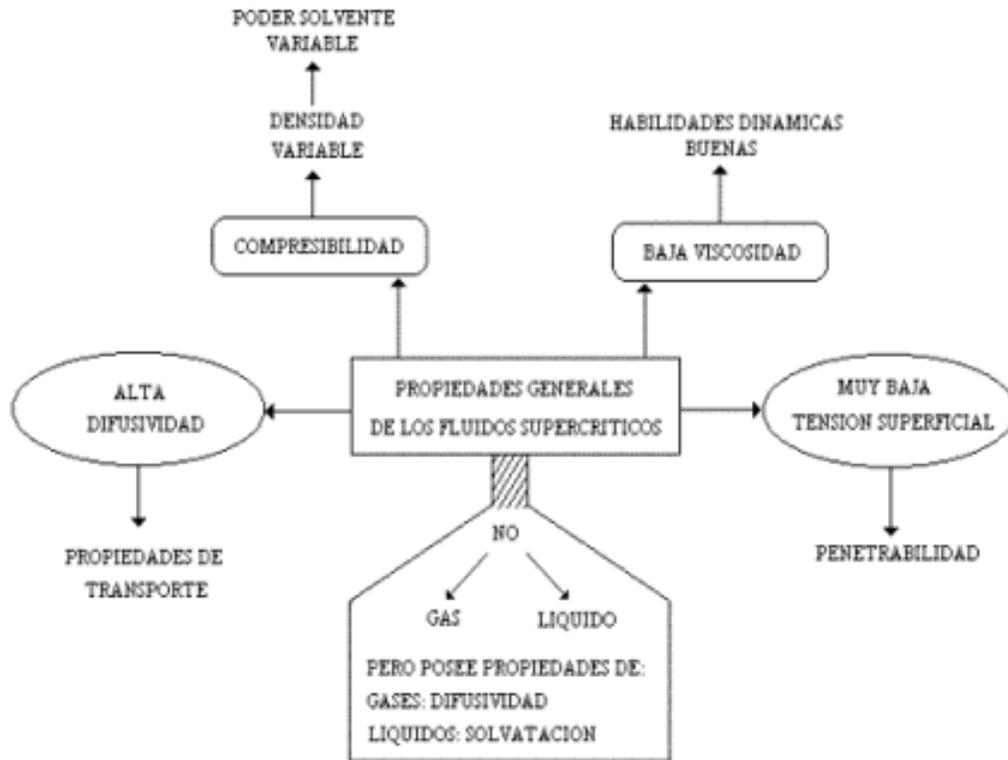


Fig. 15. Propiedades de los FSC.

3.8.2 Principales FSC

Los FSC más usados en procesos industriales e investigación, se presentan en la tabla 6.

Tabla 6. Constantes críticas de los principales FSC.

Compuesto	Tc (°C)	Pc (bar)
Xenón	16.6	57.6
Triclorometano	25.9	46.9
Clorotrifluorometano	29.0	38.7
Bióxido de Carbono	31.0	72.9
Monóxido de Dinitrógeno	36.5	71.7
Hexafluoruro de Azufre	45.5	37.1
Clorodifluorometano	96.4	48.5
Propano	96.8	42.4
Amonio	132.4	111.3
Troclofluorometano	198.0	43.5
Agua	374.0	217.7

3.8.3 Características de los FSC

Los FSC no son gases ni líquidos, sin embargo, presentan propiedades de difusividad al igual que los gases de solvatación como de líquido. La difusividad es mayor en los gases debido a la mayor movilidad de las moléculas.

Es muy importante tomar en cuenta las propiedades del fluido supercrítico que se relacionan con el proceso de extracción; el fluido supercrítico debe presentar un poder solvatante directamente relacionado con la densidad, tener una difusividad relativamente alta y una densidad baja además de una tensión superficial mínima.

El poder disolvente se incrementa con la densidad manteniendo la temperatura constante y, el poder disolvente aumentaron la temperatura al mantener una densidad constante. La difusividad incrementa con el aumento de la temperatura.

3.8.4 Extracción con FSC

Los factores que determinan el grado de extracción son los siguientes:

- Solubilidad del analito en el fluido supercrítico utilizado,
- Interacción analito-matriz,
- Ubicación del analito en la matriz, y
- Porosidad de la matriz.

El dióxido de carbono es el gas más utilizado en los estudios de extracción supercrítica por las siguientes características (Taylor, 1996):

- Es relativamente no tóxico,
- No es combustible,
- Alcanza fácilmente los parámetros críticos,
- Comercialmente se consigue con alta pureza, y
- No destruye la capa de ozono

Se sabe que a una mayor densidad, el poder disolvente aumenta significativamente. La molécula de CO₂ no presenta momento dipolo por lo que se considera como no polar usualmente. Sin embargo, presenta un poder solvatante elevado debido a su configuración molecular, ya que es una base de Lewis y su dipolo inducido ácido/base le permite solvatar un número elevado de sustancias. Además al añadir co-solventes, se disuelven analitos polares que requieren más interacciones con el disolvente o analitos de alto peso molecular. Al no existir todos los diagramas de fase P-T para sistemas que incluyan co-solventes, no se puede saber con certeza el comportamiento del fluido además de que se obtienen extractos con residuos de co-solvente.

Los componentes básicos de un extractor analítico de FSC *off-line* (Figura 16) el cual se utiliza para optimar las condiciones de extracción son:

- Suministro de CO₂ u otro fluido
- Compresor de gas o bomba

- Zona de calentamiento u horno
- Recipiente de extracción
- Restrictor de salida o de válvula
- Trampa o acumulador de extracto.
-

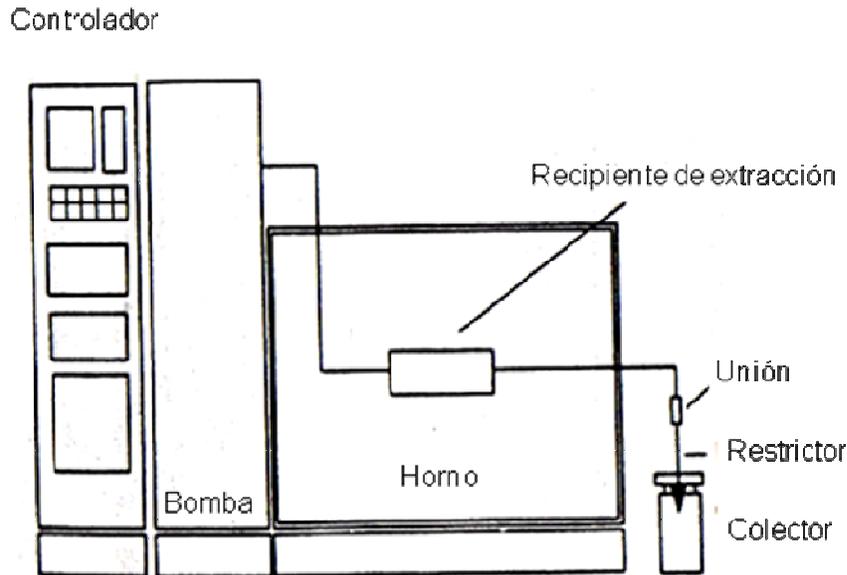


Fig. 16 Componentes básicos de un extractor de alta presión (Taylor, 1996)

3.8.5 Aplicación de extracción FSC en la industria alimentaria

En la industria de los alimentos se ha aplicado la extracción con fluido supercrítico, siendo CO₂ el más empleado porque debido a su temperatura crítica baja (31.1 °C) resulta ideal para extraer compuestos termolábiles además de sus ventajas ya mencionadas. Industrialmente se utiliza para extracción de cafeína del café, extracción de lúpulo, extracción de aceites naturales.

Hablando de extracción de aceite a partir de semillas, se observa que el contenido de Hierro y Fosforo es más bajo, fundamentalmente debido a la baja solubilidad de los fosfolípidos en CO₂ supercrítico (scCO₂) frente a los triglicéridos. Por otra parte, el aceite es menos coloreado debido a la baja solubilidad de los carotenos y otros pigmentos en el scCO₂, por lo que no es necesario refinarlo. Cuando un aceite tiene un alto contenido de fosfolípidos, su

uso está limitado por su rápido deterioro. La aplicación de la extracción con scCO_2 a estos aceites da a lugar a un aceite que esta compuesto casi exclusivamente por lípidos no polares, sin contaminación de fosfolípidos, debido a la baja solubilidad que presentan estos en el scCO_2 (Luque de Castro y col. 1993).

4 Objetivos

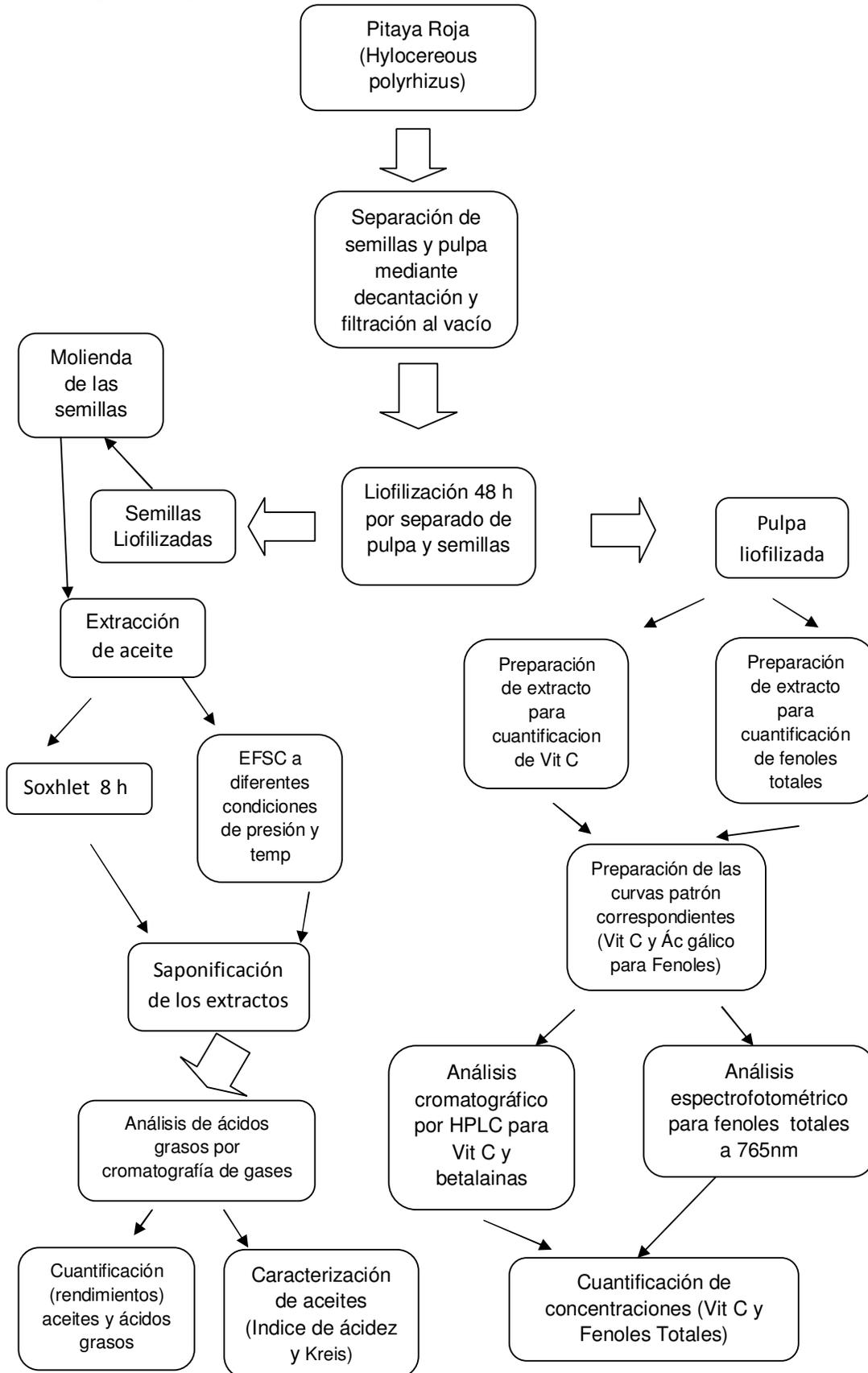
4.1 Objetivo principal

Realizar la cuantificación de ácido ascórbico, fenoles totales y betalaínas en la pulpa de pitaya roja y de la calidad los aceites esenciales de la semilla obtenida mediante extracción Soxhlet y ScCo₂.

4.1 Objetivos particulares

- Realizar la extracción de aceite de pitaya con FSC utilizando scCO₂ para tal fin.
- Observar el efecto de la presión y la temperatura, en la extracción de aceite mediante FSC.
- Determinar y cuantificar la composición de ácidos grasos del extracto por cromatografía de gases.
- Comparar el rendimiento de aceite extraído con el obtenido con el método de Soxhlet.
- Determinar ácido ascórbico y betalainas de la pulpa de la pitaya mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- Determinar fenoles totales de la pulpa de la pitaya mediante espectrofotometría UV-visible.

5. Diagrama general del proyecto



6. Materiales y métodos

Como materia prima se utilizó pitaya roja (*Hylocereous polyrhizus*) proveniente de los agricultores del Estado de Puebla y suministrada por el laboratorio de la Dra. Andrea Trejo (FES Cuautitlán, Estado de México).

6.1 Separación de semillas y pulpa

Se puso a agitar muestras de pitaya roja previamente molidas, con agua en agitación magnética durante 2 h, se decantó por 40 minutos y se filtraron las semillas, esto se repitió dos veces más, hasta tener lo más libre de pulpa posible a las semillas. Mientras tanto la pulpa acumulada también se filtró para eliminar el agua de ella.

Después se filtró al vacío tanto la pulpa como las semillas, para eliminación de humedad, de ahí se guardaron en pequeños lotes donde se almacenaron en el ultracongelador por 24 h.

Dichos lotes se liofilizaron para la total eliminación de agua, durante 48 h.

6.2 Molienda de las semillas

La muestra se pulverizó haciéndola pasar por un molino MF 10 basic Microfine grounder drive, IKA 5250 con un cabezal de molienda de impacto.

6.3 Determinación de contenido de aceite por el método Soxhlet

Se extrajo el aceite de una muestra de la harina antes obtenida mediante el método de extracción semicontinua Soxhlet. Se utilizó n-hexano como disolvente a 90 °C durante 8 h.

La eliminación del disolvente se realizó con un rotavapor (Büchi R-124) a 45°C con un baño de agua (Büchi Waterbath B-481) utilizando presión reducida (30 kPa).

Mediante gravimetría se determinó la cantidad de aceite extraído el cual se almacenó en un frasco ámbar con una atmósfera de nitrógeno y se almacenó a 5 °C.

6.4 Extracción por el método de FSC

El desarrollo experimental de extracción supercrítica (scCO₂) se realizó en un extractor de alta presión SFT-250 SFE/SFR (Supercritical Fluid Technology, Inc., Newark, Del., USA) utilizando un vaso de extracción de 0,5 L.

Para cada extracción se colocó la harina de semilla de pitaya (60 g) en el vaso de extracción, así mismo se programaron las condiciones de extracción de acuerdo al diseño experimental. Una vez alcanzada la Temperatura (°C) deseada, se bombeó CO₂ al vaso de extracción mediante una bomba de pistones (Haskel) hasta el valor de presión correspondiente. Al alcanzar las condiciones determinadas para cada extracción se abrió la válvula de restricción y a partir de este momento se empezó a contar el tiempo de extracción.

El aceite extraído fue colectado y pesado gravimétricamente en una balanza de precisión (Sartorius BL 610, Alemania). Se almacenó en un frasco ámbar y se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno.

6.5 Caracterización de los aceites de las semillas

6.5.1 Acidez titulable

La determinación de la acidez titulable se realizó de acuerdo al método IUPAC 2.201.

Se colocó 0.50 g de aceite en un matraz Erlenmeyer de 50 mL y se agregaron 25 mL de alcohol, así como 3 gotas de solución de fenolftaleína al 1%. Posteriormente se calentó en agua a ebullición y se tituló en caliente con KOH 0,0025 N.

El cálculo de la acidez titulable se realiza utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Valor ácido} = \frac{\text{Título (mL)} \times N \times 56,1}{\text{Peso de la muestra empleada}}$$

El valor ácido se expresa como porcentaje de ácido oléico mediante la ecuación que a continuación se muestra:

$$\% \text{Oléico} = \frac{282 \cdot N \cdot \text{Título (mL)}}{10 \cdot \text{Peso de la muestra empleada}}$$

6.5.2 Índice de peróxidos

La determinación del índice de peróxidos se realizó de acuerdo al método oficial AOCS Cd-8-53 (1997). Sin embargo debido a la cantidad de muestra de aceite disponible para las determinaciones, se utilizó cada reactivo respetando las proporciones a una décima parte.

Se pesaron 0,5 g de aceite en un matraz Erlenmeyer a los cuales se les agregaron 2,5 mL de ácido acético/diclorometano (3:2) y 0,05 mL de solución de KI. Se deja en oscuridad durante 60 segundos, transcurridos éstos se agregan 7,5 mL de agua desionizada y 0,1 mL de almidón (1%). Se realizó la titulación con una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0.000984 N).

El cálculo del índice de peróxidos se realiza mediante la siguiente expresión:

$$\text{Índice de peróxidos} = \frac{(V \text{ título} - V \text{ blanco}) \cdot N \cdot 1000 \text{ mEq/kg}}{m(\text{g}) \text{ muestra}}$$

6.5.3 Índice de saponificación

La AOAC 1998 indica el cálculo de este valor, para esto es necesario conocer el perfil de ácidos grasos del aceite y obtener el peso molecular promedio del mismo y de acuerdo a lo obtenido donde se incluyen los factores de conversión necesarios tomando en cuenta la reacción de saponificación ya que el factor numérico 3 se refiere al número de ácidos grasos de un triacilglicerol, el 56.1 representa el peso molecular del hidróxido de potasio en g/mol, se incluye además el factor de conversión de unidades de miligramos a gramos por lo que se multiplica por 1000. Se utilizan los pesos moleculares del glicerol y del agua

los cuales son 92.09 g/mol y 18 g/mol respectivamente se utiliza la ecuación siguiente:

$$\text{índice de saponificación} = \frac{3 \times 56.1 \times 1000}{(PM \times 3) + 92.09 - (3 \times 18)}$$

6.5.4 Índice de Kreis

El índice de Kreis indica la presencia de productos como aldehído malónico o de aldehído epidrínico, ya que la floroglucina reacciona en medio ácido con las grasas oxidadas, dando una coloración roja, cuya intensidad aumenta con el deterioro de las grasas y/o aceites.

Disolver de 50 a 500 mg de grasa en 5 mL de diclorometano. Añadir 10 mL de una solución de ácido tricloroacético al 30% en ácido acético glacial y 1 mL de floroglucinol al 1% en ácido acético. Agitar e incubar por 15 min, en un baño maría a 45°C, dejar enfriar y agregar 4 mL de etanol. Medir la absorbancia de la muestra a 540 nm frente a un blanco de reactivos. El Índice de Kreis se calcula como Abs a 540 nm/g de grasa.

6.6 Cuantificación de ácidos grasos

6.6.1 Derivatización de la muestra

Se determinó el perfil de ácidos grasos del aceite de pitaya por cromatografía de gases de acuerdo a la NOM-490-1999, la cual se basa en el método oficial AOAC 963.22 (1995). Se sigue el siguiente procedimiento para la derivatización de la muestra:

Se pesó 500 mg de aceite en un matraz de bola de 50 mL, se agregaron 6 mL de solución metanólica de NaOH 0.5 N. Se llevó a calentamiento a 40°C a reflujo durante 5 minutos. Transcurridos estos se agregaron 7 mL de solución metabólica de trifloruro de boro por el extremo superior del refrigerante, se calentó por 5 minutos mas. Posteriormente, se agregaron 4 mL de hexano y se dejó enfriar el sistema, al ocurrir esto se añadieron 10 mL de solución saturada de NaCl y se agitó suavemente, se agregó más solución saturada de NaCl para

llevar la fase orgánica al cuello del matraz la cual se colectó para trasvasarla a un tubo con 0.05 g de sulfato de sodio anhidro para la eliminación total de agua. La fase orgánica libre de agua se dispuso en viales con atmósfera de nitrógeno y almacenadas protegidas de la luz a -20°C.

6.6.2 Determinación del perfil de ácidos grasos

Para determinar el perfil de ácidos grasos se inyectaron las muestras derivatizadas en un cromatógrafo de gases (HP 5890 Serie II Plus), mediante inyección automática (HP 7673). El cromatógrafo utilizado cuenta con un detector de ionización de llama (FID). La separación cromatográfica se realizó con una columna de CG (Chrompack Wcot fused silica 30 m. 0.25 mm: coating:CP WAX 52CB DF=0,25µm).

Las muestras se inyectaron a una temperatura de 260°C, la temperatura inicial de la columna fue de 170°C y se utilizó una rampa de calentamiento a una razón de 2.5 °C/min hasta 190°C la cual se mantuvo durante 1 minuto seguida de un incremento de 1°C/min hasta 205°C.

Para la identificación de los éster metílicos se inyectaron previamente al cromatógrafo de gases patrones de referencia de los ácidos grasos (SIGMA-Aldrich y Matreya) los cuales se derivatizaron como se mencionó anteriormente.

La cuantificación de los ácidos grasos se expresó en porcentajes relativos de ácidos grasos.

6.7 Determinación de ácido ascórbico en la pulpa de la pitaya

6.7.1 Preparación de disoluciones extractoras

De la pulpa liofilizada se preparó un extracto donde se prepararon unas disoluciones:

Disolución extractora A: 3% ácido metafosfórico, 8% ácido acético: Se disolvieron 30 g de perlas de HPO_3 en 80 mL de ácido acético glacial y 400 mL de agua; se diluyó a 1 L con agua grado HPLC y se filtró rápidamente a través de papel de filtro en una botella con tapa de vidrio. Esta disolución, si se mantiene en refrigeración, debe utilizarse en un periodo de 7-10 días.

Disolución extractora B: Se disolvieron 3,6 g de EDTA (“ácido etilendiaminotetraacético”) en 400 mL de agua con agitación y se diluyó a 1 L. Esta disolución se conserva en buen estado hasta por 6 meses.

Disolución extractora de trabajo: Se mezclaron volúmenes iguales de las disoluciones A y B inmediatamente antes de usar. Esta disolución debe estar fresca.

6.7.2 Preparación de extractos

Se pesaron 2 gramos de pulpa en un vaso aforado de 10 mL y se llevo a volumen con la disolución extractora de trabajo. Una vez aforadas, las disoluciones se trasvasaron a botellas para centrífuga, en el agitador mecánico se agitaron vigorosamente durante 30 minutos. Se dejaron reposar por una hora y luego se centrifugaron por 15 minutos a 4.000 rpm. Las disoluciones se filtraron por microporo (0,45 μm) y se inyectaron.

6.7.3 Análisis cromatográfico

6.7.3.1 Condiciones de trabajo

La fase móvil utilizada fue una disolución de fosfato diácido de potasio en agua bidestilada, KH_2PO_4 0,1 mol/L (13,60 g/L) llevada a pH 2,5 con ácido fosfórico concentrado, filtrada por filtro de 0,45mm y desgasificada en ultrasonido por 20 minutos. El flujo fue de 0,7 mL/min y la temperatura de la columna es la temperatura ambiente. El detector UV-Vis se utilizó a una longitud de onda de 254 nm para el ácido ascórbico.

Una vez que el equipo alcanzó las condiciones deseadas, se procedió a inyectar los patrones y luego las muestras. Entre inyección e inyección se lavó la jeringa con disolución extractora de trabajo por lo menos 6 veces para asegurarse de que no se contaminaran entre sí las muestras.

El valor de la concentración en la muestra se estimó interpolando el área a partir de la regresión de la curva de calibración.

6.8 Determinación de Betalainas en la pulpa de la pitaya:

Del mismo extracto para el ácido ascórbico y las mismas condiciones de trabajo pero usando una absorbancia de 535 y 540 nm, solamente para ver presencia de este colorante en el espectro UV-visible.

6.9 Determinación de Fenoles totales en la pulpa de la pitaya

6.9.1 Preparación de extractos

Se pesó 0,5 g de muestra y se agregaron 10,0 mL de metanol:agua (50:50). La mezcla fue puesta en agitación por 30 minutos a 50 °C. Posteriormente se centrifugó a 6000 r.p.m durante 15 min a 4 °C. El sobrenadante se almacenó en la oscuridad a -20 °C. El residuo fue sometido a una segunda extracción con 10,0 ml de acetona:agua (70:30) a temperatura 50 °C por 30 minutos y se centrifugó a 6000 r.p.m. por 15 min a 4°C. Se efectuaron en total cuatro extracciones con acetona:agua (70:30). Los cinco sobrenadantes fueron reunidos y almacenados a -20° C en oscuridad, estos fueron centrifugados a 5000 r.p.m. por 45 minutos a 4°C. Sobre los sobrenadantes se efectuó la cuantificación de fenoles.

6.9.2 Medicion de fenoles totales con el método colorimétrico que utiliza el reactivo de Folin Ciocalteu

Se evaluó por duplicado la concentración de polifenoles totales mediante el método colorimétrico que utiliza el reactivo de Folin Ciocalteu, con algunas modificaciones. Se preparó una curva de calibración con ácido gálico El extracto de pitaya (20 μ L) se mezcló con 1,58 mL de agua y 100 μ L de una solución al 10% de Folin Ciocalteu. La mezcla se dejó en reposo por 5 minutos. Seguidamente se adicionó 300 μ L de una solución al 20% de bicarbonato de sodio, se agitó y se permitieron 2 horas en reacción a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia a 765 nm.

7. Resultados y discusión

7.1 Rendimientos de aceite en la extracción Soxhlet

El mayor rendimiento de aceite en soxhlet inicialmente se obtuvo en las semillas molidas harina (19.6%) que en las semillas enteras (4.6%), por esta razón en las extracciones posteriores se usó muestras previamente molidas (véase metodología sección 6.2).

7.2 Perfil de ácidos grasos obtenidos mediante el método de Soxhlet

En las Figuras 17 y 18 podemos observar los cromatogramas correspondientes a una muestra extraída por el método de Soxhlet de semillas enteras y semillas hechas harina, respectivamente.



Fig. 17. Cromatograma de la extracción soxhlet de semillas enteras

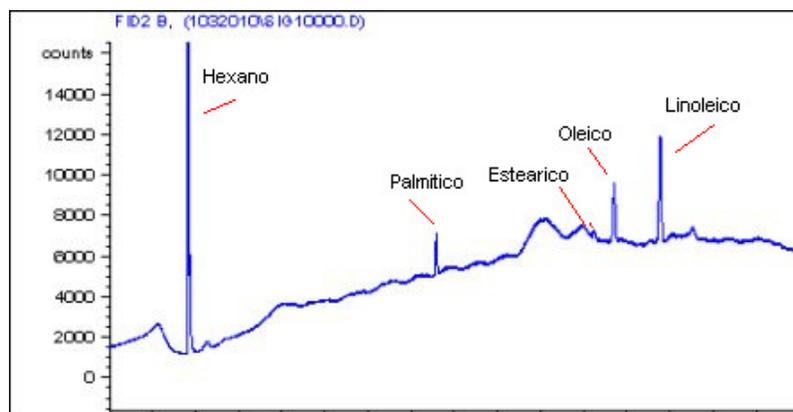


Fig. 18. Cromatograma de la extracción Soxhlet de harina de semillas

Como se observa en los perfiles de ácidos grasos de la extracciones Soxhlet tanto de semillas enteras como de harina de semillas que no hay una diferencia significativa entre los dos ya que los picos de cada ácido graso salieron en el tiempo de retención correspondiente de cada ácido graso (según la mezcla de estandares) y casi al mismo tiempo los dos perfiles de ácidos grasos.

7.3 Rendimientos de aceite en la extracción mediante CO₂ sc

En las extracciones con CO₂ sc se emplearon (30 gramos de semillas en cada extracción) y los resultados se muestran en la Tabla 7 para los rendimientos de las extracciones a 200 y 400 Bar.

Tabla 7. Rendimientos (%) de los 30 g de semillas en BS de las extracciones a diferentes presiones y temperaturas.

Presión (bar)	TEMPERATURA (°C)		
	40	60	80
200	5.63	9.83	1.6
400	6.76	13	10.13

Como se observa, en las temperaturas de 40 y 60° C las diferencias son pequeñas así que no hay diferencia significativa, sin embargo en la temperatura de 80° C si la hay, pero sabemos que las presiones influyen ya que eran valores de mayores bares.

También con respecto a la presión se calculó la desviación estándar, obteniendo para 200 Bar una desviación de 4.11529262 y para 400 Bar una desviación de 3.12333689, las dos desviaciones son pequeñas y no hay diferencia significativa entre ambas.

Siguiendo la discusión con base a rendimientos, se observa que en la extracción con CO₂ sc éstos son mayores a la presión de trabajo más alta (400 bar), en comparación con la extracción a 200 bar. Esto puede ser debido a que entre más presión se utiliza, hay más CO₂ en el sistema, lo que hace aumentar la densidad, por lo tanto, su poder de solvatación y extracción.

La influencia de la temperatura fue poco significativa, en el caso de la temperatura de 80 °C, influyó la presión ya que era mayor en unidades de presión y podemos concluir que a mayor presión es mayor el porcentaje de rendimiento de extracción.

7.4 Perfil de ácidos grasos mediante la extracción con CO₂ sc

En los cromatogramas de las **Figuras 19 a 25** podemos observar el grado de extracción de los ácidos grasos esenciales (linoléico y linolénico). Se observó una mayor extracción de ácido linoléico a una mayor presión pero el ácido linolénico disminuye y se observa en bajo porcentaje a menor presión y concuerda con la literatura (Abdul y col, 2008 y Hanming Rui y col 2009).

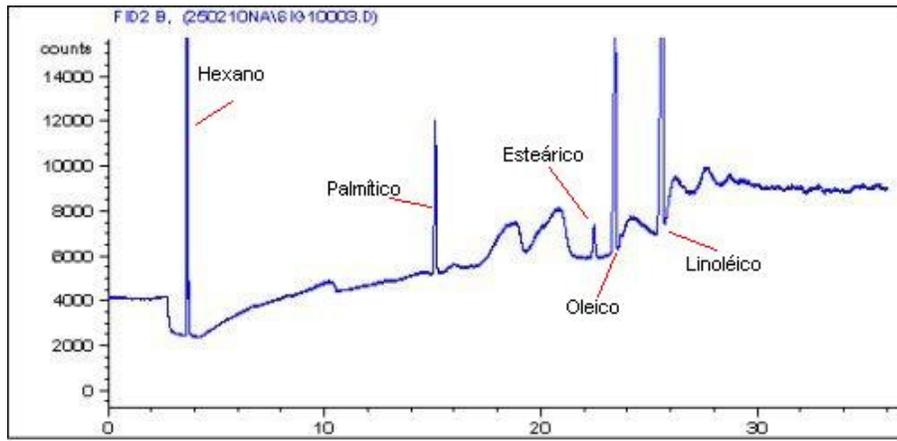


Fig. 19. Cromatograma del aceite extraído con CO₂ sc a 200 Bar a 60°C

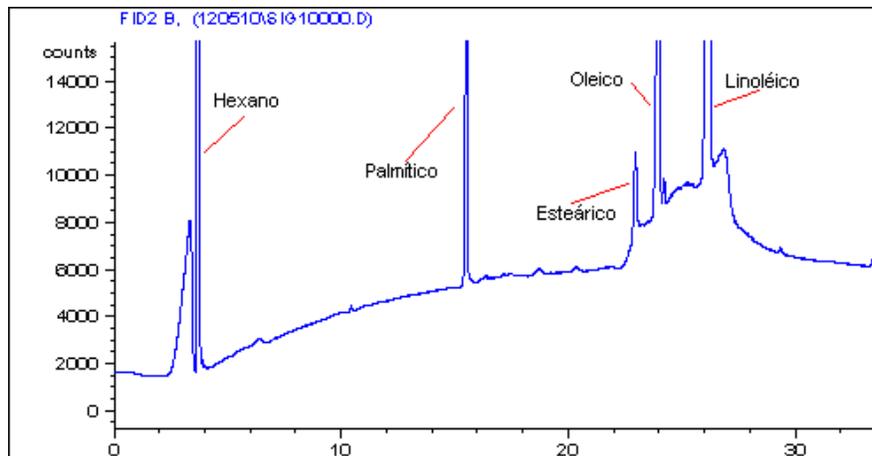


Fig. 20. Cromatograma del aceite extraído con CO₂ sc a 200 Bar a 40°C

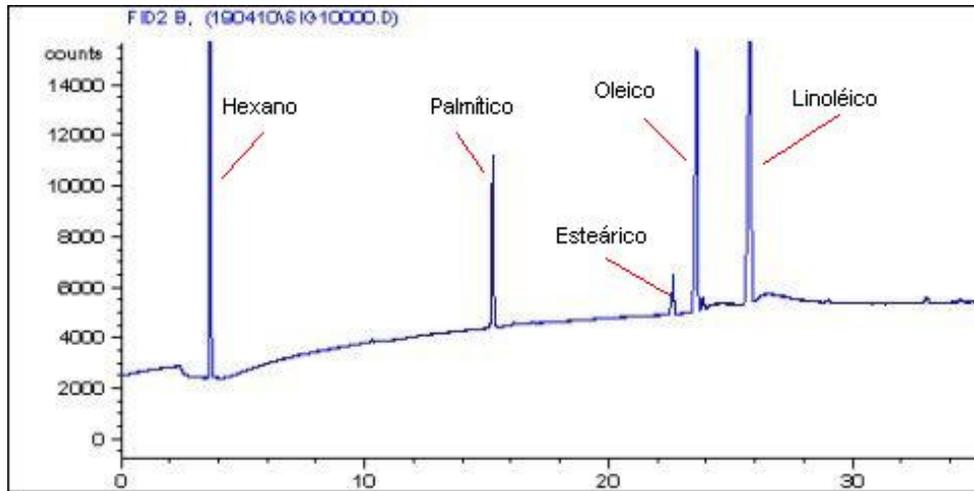


Fig. 21 Cromatograma del aceite extraído con CO₂ sc a 200 Bar a 80°C

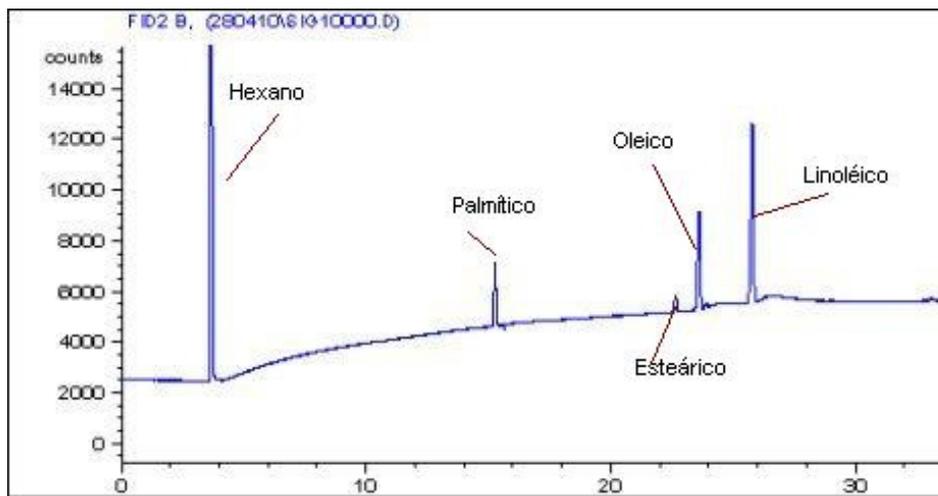


Fig. 22 Cromatograma del aceite extraído con CO₂ sc a 400 Bar a 80°C (1er duplicado)

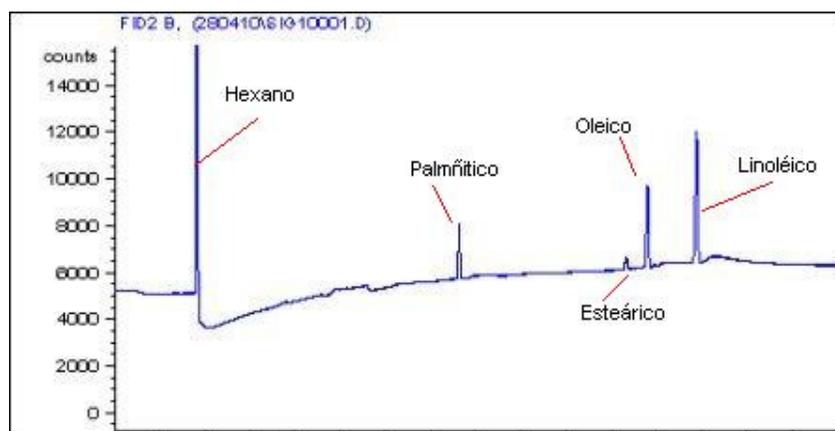


Fig. 23 Cromatograma del aceite extraído con CO₂ sc a 400 Bar a 80°C (2do duplicado).

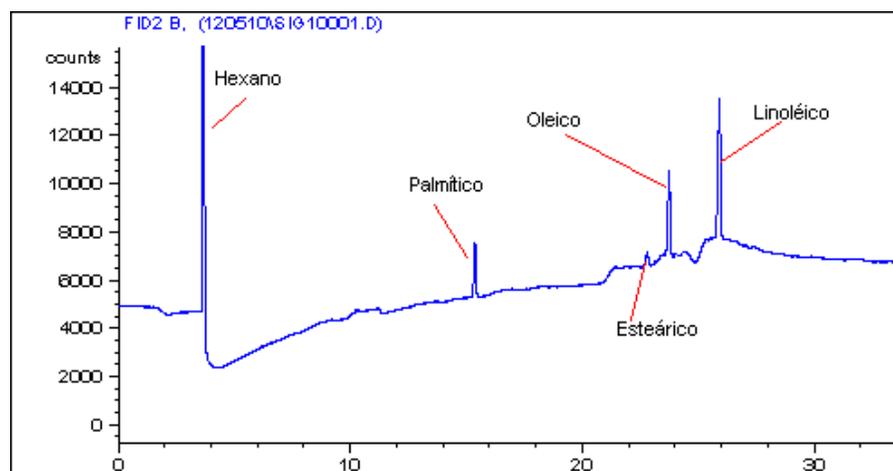


Fig. 24 Cromatograma del aceite extraído con CO₂ sc a 400 Bar a 40°C

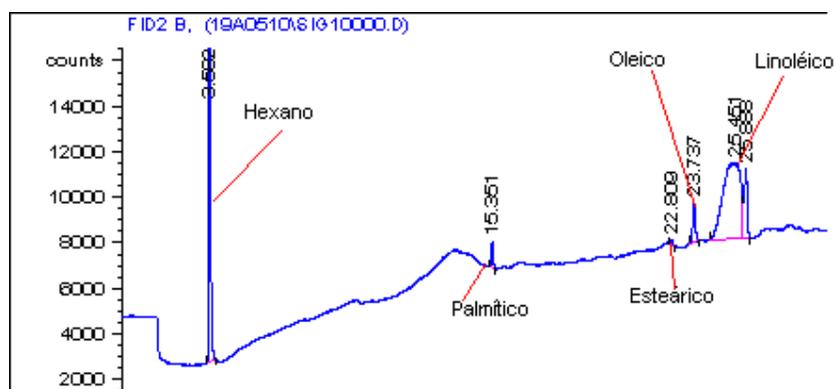


Fig. 25 Cromatograma del aceite extraído con CO₂ sc a 400 Bar a 60°C

Adicionalmente, se observó una mayor extracción del aceite a una temperatura de 60°C tanto a 200 y 400 bar (véase abajo).

7.5 Rendimiento (%) de ácidos grasos en el aceite extraído.

El rendimiento de ácidos grasos del aceite extraído (método de normalización de las áreas) se muestran en las tablas 8 y 9 para las condiciones de Extracción Soxhlet de semillas enteras y harina de semillas, respectivamente:

Tabla 8. Porcentaje de ácidos grasos en extracción de Soxhlet Semillas Enteras

Ácido graso	Tiempo de retención (min)	Porcentaje (%)
Palmítico	14.976	14.4
Estearico	22.256	4.42
Oleico	23.202	30.8
Linoléoico	25.355	50.3
Linolénico	-	0
Total		100

Tabla 9. Porcentaje de ácidos grasos en extracción Soxhlet de harina de semillas

Ácido graso	Tiempo de retención (min)	Porcentaje (%)
Palmítico	15.1	14.5
Esteárico	22.4	3.61
Oleico	23.38	28.6
Linoléico	25.532	53.3
Linolénico	-	0
Total		100

En las tablas 10 y 11, se muestra el rendimiento de ácidos grasos obtenido por el método de normalización de áreas del aceite extraído a diferentes condiciones de extracción con sc CO₂.

Tabla 10 Porcentajes de ácidos grasos en la extracción con CO₂ sc a 200 Bar y a diferentes temperaturas.

Rendimiento (%) de las extracciones a diferentes temperaturas

Ácido graso	40 °C	60 °C	80 °C
Palmítico	13.4	25.9	14.1
Esteárico	10.3	7.5	4.35
Oleico	42.6	56.6	28.1
Linoléico	33.4	9.8	53.1
Linolénico	0.298	0	0.30

Tabla 11. Porcentaje de ácidos grasos en la extracción con CO₂ sc a 400 Bar y diferentes temperaturas.

Rendimiento (%) de las extracciones a diferentes temperaturas

Ácido graso	40 °C(%)	60 °C(%)	80 °C (%)	80 °C (duplicado) (%)	Desv. Est (±) de los duplicados en 80° C
Palmítico	10.7	3.03	14.3	14.3	0,03
Esteárico	3.24	6.66	4.32	4.4	0,05
Oleico	24.4	6.75	30.6	30.5	0,04
Linoléico	61.7	83.6	50.8	50.7	0,05
Linolénico	0	0	0	0	0

Cabe mencionar, que el rendimiento de aceite aun siendo mayor en soxhlet (19.6%) que en fluido supercrítico (13%) esto podría ser resultado de un error experimental debido a que en el aceite obtenido en Soxhlet propablemente no estaba suficientemente puro, por el remanente de hexano. El CO₂ como disolvente tiene la ventaja de que se suprime la operación de separación de disolventes como en este caso sería el hexano utilizado en soxhlet, ya que se obtiene íntegramente el aceite y el CO₂ se separa completamente por aumento de la presión atmosférica. En términos generales, la extracción del aceite aumenta con la presión.

7.6 Densidades del CO₂ calculadas en programa EOS

El programa EOS se trata de un software para calcular la densidad del sc CO₂ en función de la presión y la temperatura.

Debido a que el poder solvatante del FSC está en función de su densidad en la tabla 12 se muestran las densidades del CO₂ calculadas en programa EOS a 200 y 400 Bar, respectivamente.

Tabla 12 Densidades de la fase scCO₂ a 200 Bar y 400 bar en función de la temperatura.

DENSIDAD (mol/L)		
Temperatura (°C)	200 bar	400 bar
40	19.09	21.74
60	16.47	20.24
80	13.54	18.70

Con el programa EOS vemos que a una mayor presión la densidad del CO₂ es mayor y que disminuye con la temperatura. Las condiciones óptimas encontradas fueron de 60 °C y 400 bar, las cuales no corresponden con las más drásticas de 80 °C y 400 bar. Esto se atribuye a la posible degradación del aceite a la temperatura más alta. En la tabla 13 se compara el perfil de extracción de la extracción Soxhlet y la de FSC a 400 bar y 60 °C.

Tabla 13 Comparación del perfil de ácidos grasos del extracto de aceite de pitaya por FSC (60°C,400 Bar) con el extracto de aceite obtenido por Soxhlet (n-hexano).

Perfil de ácidos grasos de extracto de aceite por 2 métodos de extracción

Ácido Graso	% Soxhlet	% sc CO₂
Palmítico	14.5	3.03
Estearico	3.61	6.66
Oleico	28.6	6.75
Linoléico	53.3	83.6
Linolénico	0	0

Como podemos ver en la tabla 14, el porcentaje de ácidos grasos es muy diferente entre los dos tipos de extracción y concuerda con la literatura sólo en

la proporción de ácidos esteárico y linoléico. (Abdul y col, 2008 y Hanming y col, 2009)

7.7 Caracterización de los aceites obtenidos por extracción Soxhlet y sc CO₂

7.7.1 Calidad del aceite

El aceite obtenido a 200 Bar y 80°C no fue caracterizado en su totalidad debido al bajorendimiento

En la siguiente tabla (Tabla 14) se muestran los resultados de las determinaciones de la calidad del aceite en las diferentes condiciones de extracción de sc CO₂

Tabla 14. Caracterización de la calidad de los aceites

Condiciones (Bar y °C)	Kreis (nm/g de grasa)	Acidez (%)	Peróxidos (mEq/Kg)	Oleico (%)
200, 60	0.3872	0.765	0.4782	0.442
40	0.4276	0.722	0.5123	0.415
400, 80	0.4679	0.798	0.5423	0.399
40	0.4198	0.786	0.5076	0.303
60	0.4321	0.725	0.4821	0.363
Soxhlet	0.5624	1.65	0.6321	0.825

La Acidez titulable es menor en todos los extractos obtenidos por sc CO₂ en comparación con el método de soxhlet. Esto se debe a que las condiciones de extracción en soxhlet son menos cuidadosas ya que se expone a la luz y se usa una temperatura mayor a las usadas en sc CO₂ por lo que aumenta la probabilidad de que el aceite de la semilla se oxide más rápido y se incremente la acidez.

Lo mismo ocurre con el índice de peróxidos para ambas condiciones de extracción. El resultado es menor a 1 mEq/kg, ya que se trata de aceites frescos, por lo cual no se espera un valor muy alto de este parámetro debido a que la rancidez es notable después de algunas semanas o incluso meses de almacenamiento del aceite. Este tipo de aceites tiene una vida útil de 24 meses y para la medición de este parámetro fue en un tiempo muchísimo menor. Para que se note rancidez es necesario que presente un valor de peróxido mayor a 20 mEq/kg

Por el mismo motivo, los valores fueron bajos en la medición de Índice de Kreiss, siguiendo los bajos valores de peróxidos. Ya que como se mencionó anteriormente el índice de Kreiss indica la presencia de productos como aldehído malónico o de aldehído epidrínico, ya que la floroglucina reacciona en medio ácido con las grasas oxidadas, dando una coloración roja, cuya intensidad aumenta con el deterioro de las grasas y/o aceites.

El índice de saponificación indica el número de miligramos (mg) de hidróxido de potasio que se requieren para neutralizar los ácidos grasos que resultan de hidrolizar completamente una muestra de 1 g de aceite. El valor de saponificación es inversamente proporcional a la media de pesos moleculares de ácidos grasos en los glicéridos presentes, ya que los ésteres de ácidos grasos de peso molecular bajo requieren más álcali para saponificarse. Los valores de índice de saponificación son muy similares para muchos aceites por lo que no resulta una medida confiable para autenticar un tipo de aceite. El

índice de saponificación del aceite de la pitaya roja resultó de 192.4 mg KOH/g en promedio.

Tanto la presión como la temperatura en las extracciones efectuadas tuvieron influencia alguna en la calidad del aceite obtenido ya que no hubo valores significativos en algún parámetro de medición efectuado.

7.8 Determinación de ácido ascórbico en la pulpa de la pitaya por HPLC

7.8.1 Concentraciones de ácido ascórbico en la pulpa

Con la curva patrón de ácido ascórbico que se realizó en el HPLC se calcularon las concentraciones de ácido ascórbico con las áreas de las muestras registradas en los cromatogramas. Esta medición se realizó por duplicado dando un promedio de 0.612 ± 0.129 mg Ac Asc/g de muestra de ácido ascórbico, lo cual parece lógico ya que lo reportado en la bibliografía (http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/en_la_cocina/alimentos_de_temporada/2007/05/14/162610.php) es que por cada 100 gramos de pulpa hay 25 miligramos de ácido ascórbico en la pitaya roja, y en este caso las muestras eran de 2 gramos y por tanto habría que tener ± 0.5 miligramos de ácido ascórbico. El cromatograma del ácido ascórbico se muestra a modo de ejemplo en la figura 26.

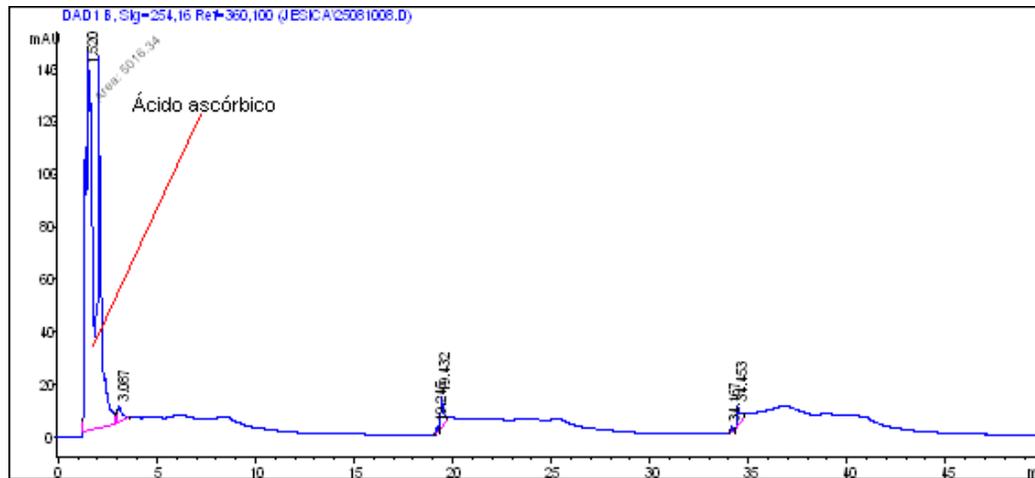


Fig. 26 Cromatograma HPLC de la medición del ácido ascórbico

7.9 Betalainas en la pulpa de la pitaya

En las siguientes Figuras 27 y 28 se observan los cromatogramas de la muestra a 535 nm y 540 nm, respectivamente.

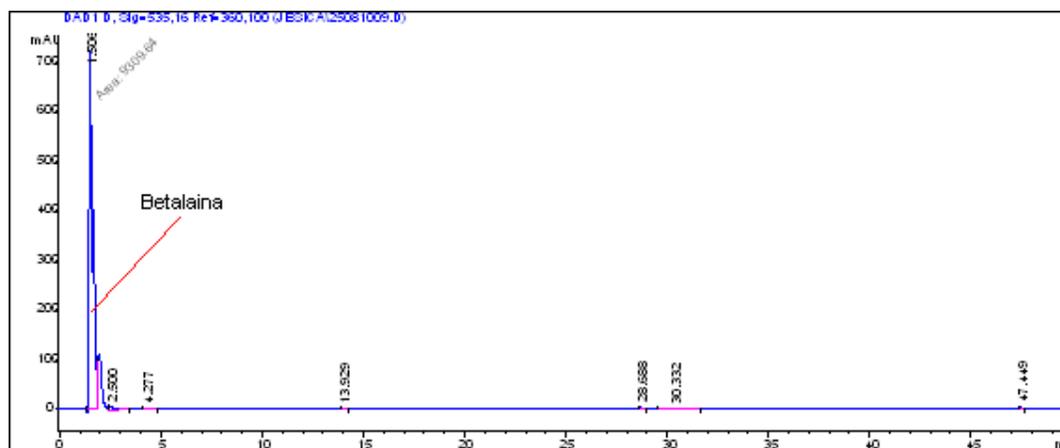


Fig. 27 Cromatograma de la muestra a 535 nm

Fig

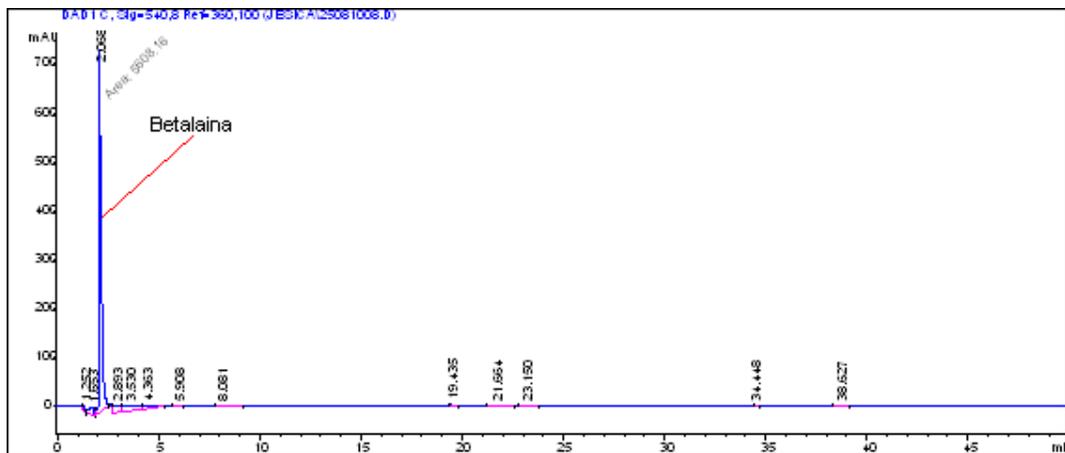


Fig. 28 Cromatograma de la muestra a 540 nm

Como podemos observar en los cromatogramas, existe la presencia de betalainas en la pulpa de la pitaya roja como lo vemos en los picos grandes a diferentes longitudes de onda de 535 y 540 nm propios de dichos colorantes, más de las betacianinas que dan el color púrpura o rojizo de la pulpa. Esto se realizó para corroborar la presencia de estos colorantes que también tienen propiedades de antioxidantes elevadas y para uso a nivel industrial en alimentos.

7.10 Fenoles Totales en la pulpa de la pitaya

Se analizó la muestra de pulpa de pitaya con 5 duplicados (sobrenadantes de las extracciones hechas), se determinó por método espectrofotométrico a una absorbancia de 765 nm y con la respectiva curva patrón se cuantificó el contenido de fenoles totales. Los promedios de cada duplicado se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16. Resultado de las concentraciones en los respectivos extractos.

Extracto	Equivalentes de ácido gálico/ 100 gramos de muestra
1	1447
2	1550
3	1420
4	1410
5	1384

Como podemos ver en los resultados las muestras están dentro del intervalo de 1384-1552 EAG por cada 100 gramos de muestra que se reporta que hay en la bibliografía en la pitaya roja.

Por lo tanto, la presencia de fenoles totales resulta ser muy parecida a la reportada en la bibliografía y también vemos que al tener estos compuestos la pitaya se hace aun más nutritiva por el hecho de que también los fenoles son compuestos nutraceuticos por lo tanto beneficos para la salud.

8. Conclusiones

- La presión tiene efecto directamente proporcional al rendimiento de extracción en FSC de los aceites de la semilla de pitaya por el poder de solvatación que ejerce el sc CO₂ que aumenta cuando la presión es mayor.
- La temperatura óptima de extracción en sc CO₂ de 60 °C
- El rendimiento de extracción es mayor en soxhlet que en sc CO₂ pero la pureza del extracto es mayor en este último que en referencia a soxhlet.
- El porcentaje de ácido linoléico (ω -6) es mayor a presiones altas.
- Los índices de acidez y de peróxidos del aceite obtenido a las condiciones óptimas con scCO₂ son más bajos a los del aceite extraído con hexano, lo que indica que el extracto de sc CO₂ presenta una mayor estabilidad a la oxidación.
- La concentración obtenida de ácido ascórbico entra en el rango reportado de la pulpa de pitaya roja en la bibliografía
- Se corroboró la presencia de betalainas (betacianinas) en la pitaya roja a las longitudes de onda de 535 y 540 nm en el HPLC.
- La cuantificación de fenoles totales en la pulpa de la pitaya roja que se determinaron también coincidieron a los equivalentes de ácido gálico reportados en la bibliografía
- Por todos los datos anteriores se comprueba que la pitaya roja es un alimento funcional con adecuadas propiedades benéficas para la salud por contener elevados compuestos de tipo antioxidantes tanto en su pulpa como en sus semillas tales como todos los mencionados anteriormente (ácido graso ω -6, vitamina C, betalainas y fenoles)

9. Bibliografía

1. Abdul Azis Ariffin *,2008, Jamilah Bakar, Chin Ping Tan, Russly Abdul Rahman, Roselina Karim, Chia Chun Loi, “Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil”, Artículo científico.
2. A. Madrid Vicente ediciones, “Producción, análisis y control de calidad de aceites y grasas comestibles”, Editorial Iragra, 4ta edición.
3. AOAC.1990. Official methods of analysis. 15th ed. *Association of Official Analytical Chemists*, Arlington, VA.
4. AOCS. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists’ Society, 15th Edition, *AOCS Press*, Champaign, Illinois. (1998).
5. Arzate Ruiz Elizabeth, 2007, “Alimentos funcionales de México: Determinación del perfil de compuestos bioactivos en Nopal deshidratado”, tesis de licenciatura, Facultad de química, UNAM.
6. Badui, S., 1999, *Química de los alimentos*, Pearson educación, México.
7. Boskou Dimitrios, año 1998, “Química y Tecnología del aceite de oliva”, 1ra edición, AMV ediciones, editorial Igrara.
8. CODEX STANDARD FOR EDIBLE FATS AND OILS NOT COVERED BY INDIVIDUAL STANDARDS, CODEX STAN 19-1981.
9. CODEX STANDARD FOR OLIVE OILS AND OLIVE POMACE OILS, *CODEX STAN 33-1981*

10. Fennema, O., 2000, *Química de los alimentos*, 2ª edición, editorial Acribia, Zaragoza, España.
11. García, I., 1995, *Biocatálisis en medios supercríticos*, trabajo monográfico de actualización, Facultad de Química, UNAM.
12. Hanming Rui, Liyan Zhang, Zuowei Li , Yanli Pan,” Extraction and characteristics of seed kernel oil from white pitaya”, Artículo científico, Año de publicación 2009.
13. Harris D, 1999, *Análisis Químico Cuantitativo*, 2ª edición, editorial Reverté
14. Harris, W., 2001, *Omega-3 long chain PUFA and triglyceride lowering minimum effective intakes*, European haert journal supplements 3 (supplement D) d59-d61, E.U.
15. Hart Leslie F., “Análisis Moderno de los Alimetos”, Editorial Acribia, 2da edición.
16. Kimball Dan.A., “Procesado de cítricos”, 2da edición, Editorial Acribia
17. Kirk, R., 2005, *Composición y análisis de alimentos de pearson*, CECSA, séptima reimpresión, México, p.p. 680, 691-699
18. Mataix José, Gil Ángel, (1996) “Libro Blanco de los aceites omegas-3”, Editorial Medica Panamericana.

- 19.M.D. Luque de Castro, "Extracción con fluidos Supercríticos en el proceso analítico", Editorial Reverté, Año de impresión 1993.
- 20.Mondjuano Ruiz Reynolds Ricardo, " Estudio preliminar de los pigmentos presentes en cáscara de pitaya (*Stenocereus stellatus*) de la región Mixteca, tesis de licenciatura, Universidad Tecnológica de la Mixteca.
- 21.Muller H.G., "Nutrición y Ciencia de los alimentos", Editorial Acribia, Año de la edición 1998.
- 22.Mundi, "Métodos oficiales de Análisis de los Alimentos", AMV Ediciones, Año de la Edición 1994.
- 23.NOM-F-101, Método de prueba para la determinación del índice de acidez en aceites y grasas vegetales o animales.
24. NOM-F-222, Determinación de rancidez en aceites y grasas vegetales o animales.
25. NOM-K-302, Método de prueba para determinar la composición de ácidos grasos por cromatografía gaseosa.
- 26.NORMA DEL CODEX PARA LA PITAHAYA, (CODEX STAN 237-2003
27. Shahidi, F., 2009, *Nutraceuticals and functional foods: whole versus processed foods*, Food science and technology 20, 376-387.
28. Shih, F., Daugle, K., 2001, *Supercritical Fluid Extraction of Encapsulated Oil Products*, JAOCS vol. 78.
- 29.Singh, P., Heldman, D.,1998, *Introducción a la ingeniería de los alimentos*, Ed. Acribia, Zaragoza, España.

30. Taylor, L., 1996, *Supercritical fluid extraction, Techniques in Analytical Chemistry*, John Wiley & sons, inc.

31. Vega Ramirez Andrea Tonantzi, 2010, Determinación y cuantificación de ácidos grasos por cromatografía de gases a partir de muestras de extractos de aceite de semilla de chía con dióxido de carbono supercrítico, tesis de licenciatura, facultad de química, UNAM, México, D.F.

Consultas en internet:

http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/en_la_cocina/alimentos_de_temporada/2007/05/14/162610.php

<http://www.alfa-editores.com/alimentaria/Noviembre%20Diciembre%2005/TECNOLOGIA%20Pitaya.htm>

<http://huitoto.udea.edu.co/FrutasTropicales/pitahayad.html>

<http://www.acidoascorbico.com/>

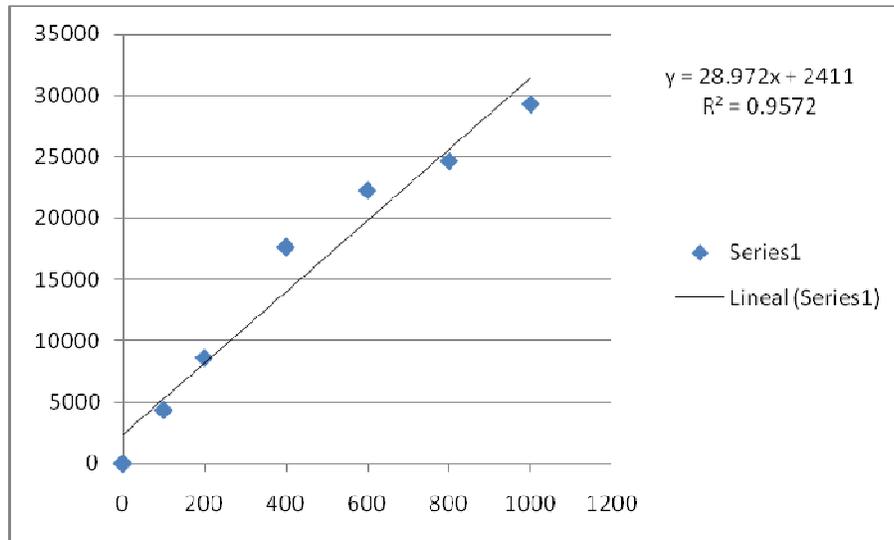
<http://www.gaceta.udg.mx/Hemeroteca/paginas/115/5-115.pdf>

<http://www.mercadosmunicipales.es/uploads/frutas/Pitahaya.pdf>

<http://www.termo.esiqie.ipn.mx/english/labtermo/definicion.htm>

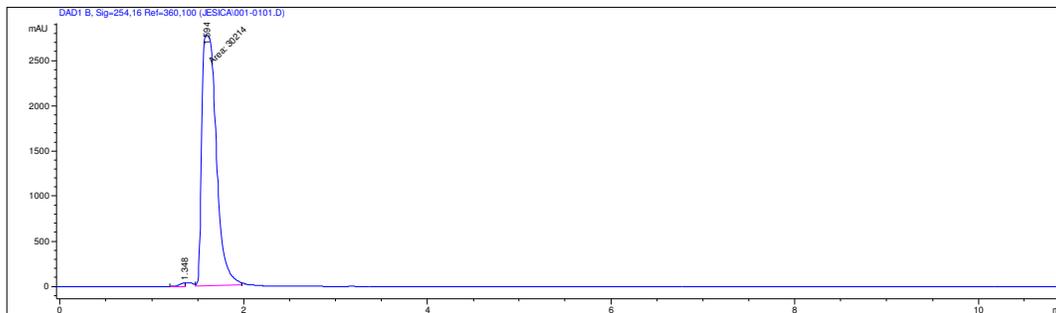
10. Anexos

Anexo 1 Curva patrón ácido ascórbico

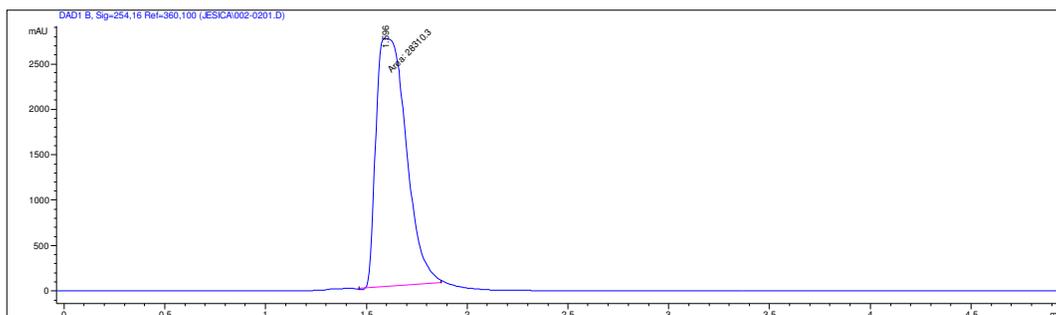


Anexo 2 Cromatogramas de la curva patrón de ácido ascórbico:

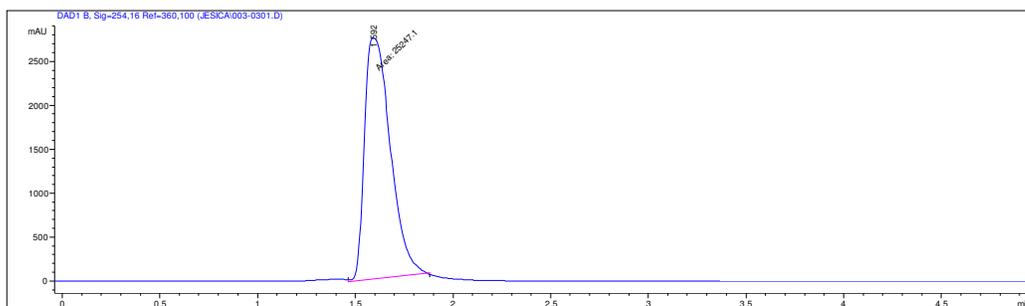
Concentración de 100 mg/L



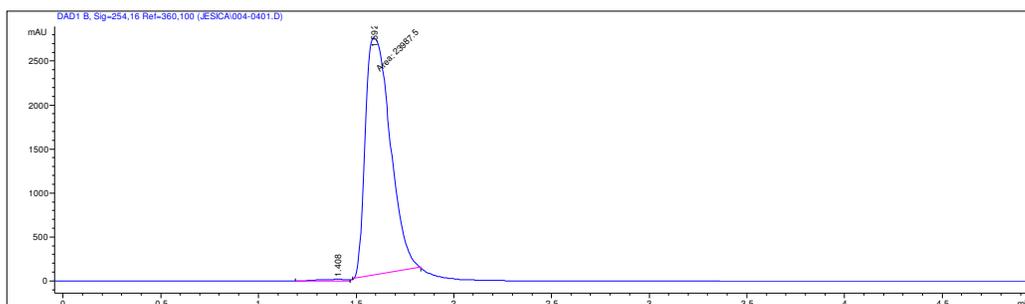
Concentración de 80 mg/L



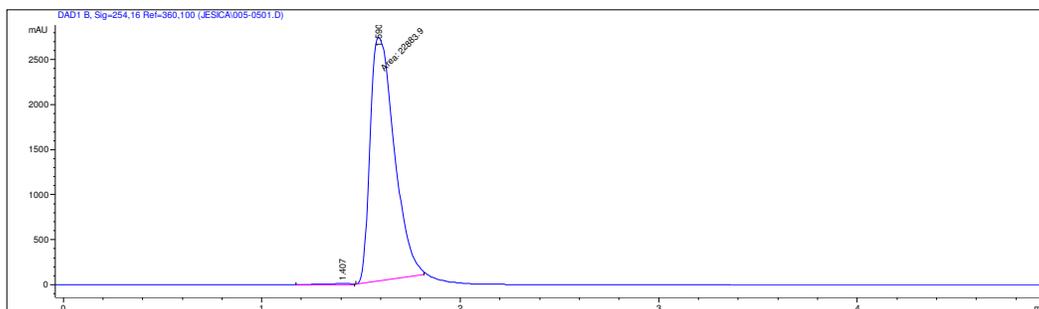
Concentración de 60 mg/L



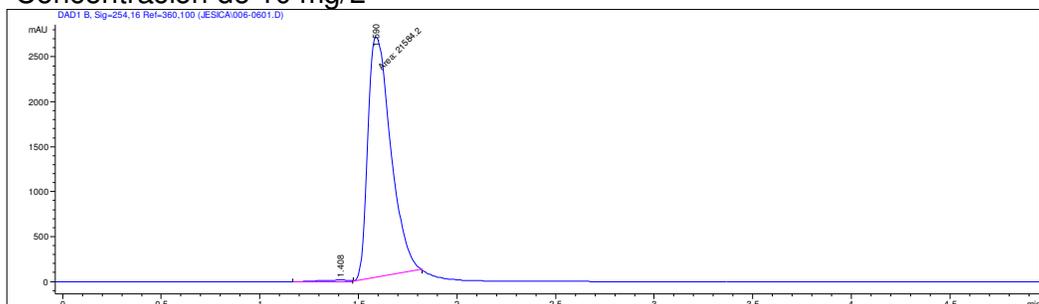
Concentración de 40 mg/L



Concentración de 20 mg/L



Concentración de 10 mg/L



Anexo 3 Curva patrón fenoles totales

