

Universidad de Costa Rica
Facultad de Ciencias Agroalimentarias
Escuela de Tecnología de Alimentos

Trabajo Final de Graduación bajo la modalidad de Proyecto para
optar por el Grado de Licenciatura en Tecnología de Alimentos

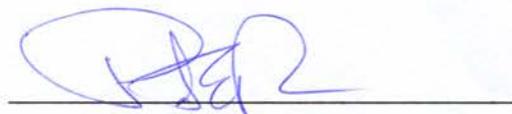
**Efecto del procesamiento sobre la estabilidad de una
pulpa pasteurizada de pitaya (*Hylocereus* sp.) durante
el almacenamiento**

Carolina Ramírez Truque
Carné A34260

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio
Universidad de Costa Rica
San José, Costa Rica
Octubre, 2009

Hoja de aprobación del Trabajo Final de Graduación

Proyecto de graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Tecnología de Alimentos.



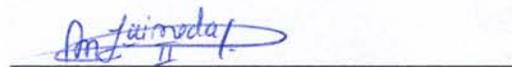
Ph D. Patricia Esquivel Rodríguez
Directora del Proyecto



Ph D. Víctor Jiménez García
Asesor del Proyecto



M. Sc. Yorlenny Araya Quesada
Asesor del Proyecto



Dra. María Lourdes Pineda Castro
Presidente del Tribunal Examinador



Lic. María Gabriela Villalobos Gutierrez
Profesora Designada

Derechos de propiedad intelectual

La información que se genere en este proyecto sobre las condiciones de procesos se considera público.

Dedicatoria

A Dios,
Mis papás y
Abuelos,
¡Porque el logro es también de Uds!

Agradecimientos

A Dios, por todas las buenas cosas y bendiciones que me has dado y por haberme permitido llegar hasta acá.

A mami, papi y Mau por compartir conmigo cada minuto de angustia, estrés pero sobre todo felicidad, por siempre estar ahí y por haberme enseñado el sentido de la responsabilidad. ¡Los quiero mucho!

A mi abuelito Tata, que aunque ya no está, siempre creyó en mí y que sé que me sigue apoyando desde arriba. ¡Todo un ejemplo a seguir! Al resto de mi familia gracias por apoyarme y estar siempre dispuestos a ayudar.

A Patricia por todo el apoyo, las buenas ideas y todas las enseñanzas adquiridas, por el tiempo y dedicación a este trabajo. A Víctor por su dedicación al proyecto y por ser un buen guía. A Yorleny, muchas gracias por todo el apoyo, los buenos consejos y por ayudarme en los momentos de más estrés.

Al Instituto de Ciencias de los Alimentos y Biotecnología de la Universidad de Hohenheim, Alemania, especialmente al Prof. Dr. Dr. Reinhold Carle y Ellen Hemme del SCRD, por el apoyo al proyecto y la oportunidad que me brindaron de conocer y aprender de importantes cosas más allá de mi tesis.

A Giova por su incondicional apoyo. Mil gracias por sus recomendaciones, su ayuda excepcional y sus buenos consejos. Me ayudó a abrir muchas puertas para llegar a estar donde estoy hoy.

A la gente de la Escuela de Tecnología de Alimentos, en especial a Luis M., a Erick, Luis, María Lourdes y Tatiana porque fueron un gran apoyo durante la elaboración del trabajo

A Gaby Villalobos, por ser mi gran ayudante con toda la parte experimental y haberme guiado para tomar buenas decisiones durante el trabajo.

A Ileana Alfaro, por haber sido una inspiración durante mi carrera, por demostrar que al hacer las cosas con dedicación se puede transmitir eso a los demás.

A mis amigos Andre, Vivi, Carla, Manu, Sandra, Caro, Choco, Ire, Benji y Ale por haber estado siempre ahí, por todos los momentos que hemos pasado juntos, las estudiadas y las fiestas, buenos y malos momentos. ¡Muchas gracias, los quiero mucho!

A todos mis compañeros y profesores, les agradezco todo el tiempo compartido y las enseñanzas que me ayudaron a ser la persona que soy. Gracias!!!

Índice General

Hoja de aprobación del Trabajo Final de Graduación.....	i
Derechos de propiedad intelectual	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos.....	iv
Índice General	v
Índice de cuadros	viii
Índice de figuras	x
Resumen	xi
I. Justificación.....	1
II. Objetivos	6
2.1 Objetivo general	6
2.2 Objetivos específicos.....	6
III. Marco Teórico	7
3.1 Generalidades de la pitaya	7
3.1.1 Descripción y distribución geográfica.....	7
3.1.2 Composición del fruto	8
3.2 Betalaínas.....	9
3.2.1 Betacianinas	10
3.2.2. Betaxantinas	11
3.3. Propiedades físico-químicas de las betalaínas	12
3.4 Efectos de las betalaínas sobre la salud.....	12
3.5 Degradación de las betalaínas	13
3.5.1 Efecto del pH	13
3.5.2 Efecto de la actividad del agua	14
3.5.3 Efecto de la atmósfera	14
3.5.4 Efecto de la luz	15
3.5.5 Efecto de la temperatura.....	16
3.6 Uso de las betalaínas como aditivo alimentario	16
IV. Materiales y métodos	18
4.1 Localización del proyecto	18
4.2 Materia prima.....	18

4.3 Extracción de la pulpa	18
4.3.1 Diseño experimental	19
4.4 Descripción de las condiciones de procesamiento para evaluar estabilidad.....	19
4.4.1 Extracción de la pulpa de pitaya y adición del ácido ascórbico.....	20
4.4.2 Adición de sorbato de potasio.....	20
4.4.2 Desaireado con nitrógeno.....	20
4.4.3 Tratamiento térmico.....	20
4.4.4 Estudio de almacenamiento.....	21
4.4.5 Diseño experimental	21
4.6 Métodos de análisis	22
4.6.1 Determinación del rendimiento de extracción de pulpa.....	22
4.6.2 Determinación de pH	23
4.6.3 Determinación de acidez	23
4.6.4 Determinación de sólidos solubles (grados brix).....	23
4.6.5 Determinación de concentración de betacianinas y análisis de color.....	23
4.6.6 Determinación del perfil de betacianinas en HPLC-UV.....	24
4.6.7 Determinación de la concentración de pectina	24
4.6.8 Determinaciones microbiológicas: recuento de hongos y levaduras	24
V. Resultados	25
5.1 Comparación de los rendimientos y propiedades físico-químicas de los genotipos Rosa y Orejona	25
5.2 Efecto del método de estabilización, de la temperatura y del tiempo de almacenamiento sobre las variables estudiadas	26
5.2.1. Color.....	26
5.2.2 Concentración de betacianinas.....	36
5.2.3 Perfil de las betacianinas	38
5.2.4 pH.....	42
5.3 Microbiología de los tratamientos de la pulpa de pitaya	44
VI. Discusión	46
6.1 Comparación de los rendimientos y propiedades físico-químicas de los genotipos Rosa y Orejona	46
6.2 Efecto del método de estabilización, de la temperatura y del tiempo de almacenamiento sobre las variables estudiadas	47
6.2.1. Color	47

6.2.2 Concentración de betacianinas	52
6.2.3 Perfil de las betacianinas	53
6.2.4 pH	55
6.3 Microbiología de los tratamientos de la pulpa de pitaya	56
VII. Conclusiones y Recomendaciones	57
7.1 Conclusiones	57
7.2 Recomendaciones	59
VIII. Bibliografía	60
Apéndice A. Comparación de los genotipos Rosa y Orejona	73
Apéndice B. T student para la comparación de genotipos.....	75
Apéndice C. Análisis físico-químicos	78
Apéndice D. ANDEVA Δ Tratamientos	81

Índice de cuadros

Cuadro 1. Características de la pulpa de los frutos <i>Hylocereus</i> sp.....	8
Cuadro 2. Diseño de covarianza de dos vías (4x2) utilizado para evaluar el efecto del método de estabilización y la temperatura de almacenamiento sobre la pulpa de pitaya.....	22
Cuadro 3. Rendimientos y características físico-químicas de los genotipos de Rosa y Orejona	25
Cuadro 4. Efecto del método de estabilización, temperatura y tiempo sobre los parámetros de color durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya	27
Cuadro 5. Valores promedio de a* obtenidos para cada tratamiento con métodos de estabilización distintos.....	29
Cuadro 6. Valores y cambio de b* al inicio y al final del almacenamiento para los tratamientos estudiados	31
Cuadro 8. Diferencia total de color (ΔE^*) entre tratamientos al tiempo 0 días y 42 días: Sorbato-nitrógeno (S-N), Sorbato (S), Nitrógeno (N), Control (C).....	33
Cuadro 9. Regresión lineal de los parámetros de color analizados durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya a temperatura de 4°C y 25°C.....	35
Cuadro 10. ANDEVA del efecto del método de estabilización, temperatura y tiempo sobre la concentración de betacianinas durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya.....	36
Cuadro 11. Valores y cambio de la concentración de betacianinas al inicio y al final del almacenamiento para los tratamientos estudiados.....	37
Cuadro 12. Regresión lineal de la concentración de betacianinas durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya a temperatura de 4°C y 25°C.....	38
Cuadro 13. ANDEVA del efecto del método de estabilización, temperatura y tiempo sobre el porcentaje de betacianinas acetiladas y no acetiladas durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya	39
Cuadro 14. Valores y cambio del porcentaje de betacianinas acetiladas y no acetiladas al inicio y al final del almacenamiento para los tratamientos estudiados	41
Cuadro 15. Regresión lineal del porcentaje de betacianinas no acetiladas y acetiladas durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya a temperatura de 4°C y 25°C	42
Cuadro 16. Efecto del método de estabilización, temperatura y tiempo sobre el pH durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya.....	42

Cuadro 17. Regresión lineal del pH durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya a temperatura de 4°C y 25°C	44
Cuadro 18. Análisis microbiológicos de hongos y levaduras para los distintos tratamientos de la pulpa de pitaya durante el almacenamiento	45

Índice de figuras

Figura 1. Estructuras de la betanina, filocactina e hilocerenina	11
Figura 2. Estructura de algunas betaxantinas	12
Figura 3. Estructuras de (a) <i>cyclo-Dopa-5-O-β-glucósido</i> y (b) ácido betalámico	14
Figura 4. Diseño de la aplicación de los tratamientos sobre la pulpa de pitaya del genotipo "Rosa"	19
Figura 5. Valor L* a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: sorbato-nitrógeno, sorbato, nitrógeno, control	28
Figura 6. Valor a* a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: sorbato-nitrógeno, sorbato, nitrógeno, control	29
Figura 7. Valor b* a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: sorbato-nitrógeno, sorbato, nitrógeno, control	30
Figura 8. Valor C* a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: sorbato-nitrógeno, sorbato, nitrógeno, control	31
Figura 9. Valor h° a temperatura de almacenamiento de 4°C y 25°C	32
Figura 10. Concentración de las betacianinas (mg/L) a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: sorbato-nitrógeno, sorbato, nitrógeno, control	37
Figura 11. Porcentaje de betacianinas no acetiladas a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: sorbato-nitrógeno, sorbato, nitrógeno, control.....	40
Figura 12. Porcentaje de betacianinas acetiladas a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: sorbato-nitrógeno, sorbato, nitrógeno, control.....	40
Figura 13. pH de todos los tratamientos a lo largo del estudio de almacenamiento. ...	43
Figura 14. Grupos de acetilación de la filocactina y la hilocerenina.....	54

Resumen

Ramírez Truque, Carolina

Efecto del procesamiento sobre la estabilidad de una pulpa pasteurizada de pitaya (*Hylocereus* sp.) durante el almacenamiento

Tesis Tecnología de Alimentos.-San José, CR:

C.Ramírez., 2009

Se realizó una comparación de rendimientos de extracción y de algunas propiedades físico-químicas entre los genotipos de pitaya, Rosa y Orejona. De acuerdo con esos resultados, se escogió el genotipo Rosa por su mayor rendimiento tanto con cáscara como sin ella. Con respecto a las propiedades físico-químicas, se encontraron diferencias significativas entre genotipos para el pH, °Brix y pectina; Orejona obtuvo un pH y °Brix mayores que Rosa, pero un porcentaje de pectina menor.

Durante el estudio se evaluó el efecto de la adición de sorbato de potasio como preservante, de la utilización de una atmósfera con nitrógeno y de la temperatura sobre los parámetros de color, la concentración de betacianinas, el perfil de betacianinas y el pH de la pulpa. Entre los tratamientos estudiados, se obtuvo mejores resultados de color, mayor concentración de betacianinas y un menor aumento en el porcentaje de betacianinas no acetiladas para los tratamientos que se almacenaron a temperatura de refrigeración. Los tratamientos con nitrógeno provocaron una mayor disminución en la concentración de betacianinas, mientras que se observó una mayor estabilidad en los parámetros de color y en la concentración de betacianinas para los tratamientos con sorbato.

Se concluye que, entre los dos genotipos evaluados, Rosa es el que, por su mayor rendimiento permite un mejor aprovechamiento de la fruta, y que las mejores condiciones de estabilidad de la pulpa de pitaya a las condiciones estudiadas, se da cuando se le adiciona 0,1% de sorbato y se da el almacenamiento a temperatura de refrigeración, con lo que se mantendrá una mayor concentración del pigmento deseado y una menor degradación del color.

PITAYA; HYLOCEREUS; ESTABILIDAD

Patricia Esquivel

Escuela de Tecnología de Alimentos

I. Justificación

El consumo de alimentos naturales se ha incrementado en los últimos años, ya que existe un mayor deseo de las personas por alimentarse sanamente como parte de su estilo de vida. Debido a esto, nuevos colorantes naturales se están desarrollando para la industria alimentaria, pues se consideran de buena calidad y beneficiosos para la salud (Downham y Collins, 2000). El mercado actual para todos los colorantes alimenticios se estima en un billón de dólares por año, donde los pigmentos naturales solo representan la cuarta parte del total; a pesar de ello, el mercado de los colorantes sintéticos tiene una tendencia a disminuir, mientras que el de los naturales va en crecimiento (Azeredo, 2008). Un ejemplo de esta tendencia se mostró en un informe de la firma Business Communications Co, en Connecticut, Estados Unidos del año 2005, donde señalan que ha habido una gran demanda por los colorantes naturales, mientras que no ha existido crecimiento notable en el consumo de los sintéticos (Trim, 2006).

Los principales pigmentos naturales que se comercializan actualmente son las antocianinas, las betalaínas y el ácido carmínico, los cuales son solubles en agua, así como los carotenoides y las clorofilas, solubles en aceite (Azeredo, 2008). Las betalaínas son moléculas derivadas del ácido betalámico, que se clasifican en dos grupos: las betacianinas (rojo-morado) y las betaxantinas (amarillo) (Díaz-Sánchez *et al.*, 2006). Hasta el momento se han encontrado en la naturaleza aproximadamente 50 betacianinas y 20 betaxantinas (Cai *et al.*, 2006). Las betalaínas se aislaron por primera vez de la remolacha (*Beta vulgaris*), lo cual le dio a esta clase de pigmentos su nombre (Castellanos-Santiago y Yahia, 2008).

Las betalaínas y las antocianinas pueden encontrarse en raíces, frutos y flores, pero su presencia es mutuamente excluyente (Cai *et al.*, 2006), es decir, que nunca se ha encontrado una especie que posea tanto antocianinas como betalaínas (Stafford, 1994). Sobre las antocianinas, las betalaínas tienen la ventaja que son estables en un pH de rango de 3 a 7, lo que les permite ser una alternativa muy útil para alimentos con baja acidez (Stintzing *et al.*, 2000).

El residuo que se une al ácido betalámico determina la clasificación de los pigmentos en betacianinas y betaxantinas. Las betacianinas contienen un residuo de cyclo-3,4-dihidroxifenilalanina (*cyclo-Dopa*). La condensación con la estructura cerrada de la *cyclo-Dopa* provoca que se produzca una resonancia electrónica con el anillo aromático difenólico. Esta conjugación induce a un cambio en la absorción máxima de 480 nm (absorbancia máxima de las betaxantinas) a aproximadamente 540 nm, donde se produce el color morado de las betacianinas (Strack *et al.*, 2003; Azeredo, 2008;). Las betaxantinas, en cambio, son producto de la condensación del ácido betalámico con aminas o aminoácidos, exceptuando la *cyclo-Dopa* (Esquivel, 2007).

Se han estudiado varias estructuras de las betacianinas. La mayoría son 5-O-glucósidos, tales como la betanina, pero también existen los 6-O-glucósidos (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). La glucosilación de los 5-O-glucósidos y la esterificación con ácidos hidroxicinámicos, tales como el ácido ferúlico y p- cumárico, son los más comunes (Wybraniec y Mizrahi, 2002), los cuales provocan la formación de las distintas betacianinas.

Estos pigmentos se han encontrado únicamente en 13 familias de plantas del orden de las Caryophyllales. Además de la remolacha (Chenopodiaceae) se encuentran en la pitaya y tunas (Cactaceae), semillas de amaranto (Amaranthaceae), en las brácteas de Bougainvillea (Nyctaginaceae), y en flores y otras partes de plantas de las familias Aizoacea, Basellaceae Didieraceae, Holophytaceae, Phytolaccaceae y Portulacaceae (Delgado-Vargas y Paredes-López, 2002). También se encuentran en algunos géneros de los Basidiomycetes como *Amanita* e *Hygrocybe* (Castellanos-Santiago y Yahia, 2008).

Algunas especies vegetales comestibles que contienen betalaínas son la remolacha (roja y amarilla) - *Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*- (Han *et al.*, 1998; Kujala *et al.*, 2002, Stintzing *et al.*, 2002ab), la pitaya - *Hylocereus* spp. (Cai *et al.*, 2005; Vaillant *et al.*, 2005; Harivaindaran *et al.*, 2008) las tunas- *Opuntia* spp. (Castellar *et al.*, 2006; Castellanos-Santiago y Yahía, 2008), las acelgas coloradas - *Beta vulgaris* L. ssp. *cicla* [L.] Alef. cv. Bright Lights- (Kugler *et al.*, 2004) y las semillas y hojas de amaranto – *Amaranthus* sp. - (Cai *et al.*, 2005). Además se encuentran en algunas plantas

ornamentales tales como el cactus de Navidad- *Schlumbergera*- (Kobayashi *et al.*, 2000) y la *Phytolacca americana* (Schliemann *et al.*, 1996).

A pesar de conocer actualmente gran variedad de fuentes de betalaínas, solo la remolacha se explota industrialmente (Kugler *et al.*, 2004). Se le han atribuido varios problemas a la remolacha roja, ya que a pesar de que contiene grandes cantidades de este pigmento, contiene además altos niveles de nitratos, lo cual está asociado a la formación de nitrosaminas carcinogénicas. Asimismo, presenta olor y sabor a tierra debido a compuestos derivados de la pirazina presentes en el extracto (Stintzing y Carle, 2004). Debido a ello, se comenzó a investigar la posibilidad de utilizar nuevas fuentes de este pigmento. Las betalaínas presentes en las *Cactaceae* no presentan ninguna de las desventajas mencionadas para la remolacha y, además, ofrecen un amplio rango de colores para su aplicación (Herbach *et al.*, 2007). Además de las ventajas generales ya mencionadas para los cactus, las pitayas están libres de gloquidios causantes de irritación al contacto, lo cual es también una superioridad con respecto a *Opuntia*. *Hylocereus* sp. ofrece un tono rojo-morado excelente y tiene concentraciones de betalaínas significativamente más altas (280-400 mg de betacianinas/kg pulpa) por lo que podrían ser muy adecuadas para la producción de colorantes naturales (Stintzing y Carle, 2006).

Los colores en las frutas y vegetales, además de ser naturales, pueden brindar efectos beneficiosos para la salud (Shelke, 2004). Recientes estudios han demostrado una serie de beneficios de las betalaínas. Se encontró que son efectivas contra los desórdenes de estrés oxidativo en las personas, debido a su potencial para bloquear los efectos de los radicales libres, previniendo la oxidación y peroxidación de moléculas biológicas (Kanner *et al.*, 2001, Butera *et al.*, 2002; Stintzing *et al.*, 2005). Tienen efectos anti-inflamatorios y antirradicales, lo que los hace buenos agentes antioxidantes (Butera *et al.*, 2002; Cai *et al.*, 2003; Gentile *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2006) y, además, en comparación con ciertos colorantes sintéticos, estos pigmentos naturales no son tóxicos ni causan reacciones alérgicas (Schwartz *et al.*, 1983; Lucas *et al.*, 2001).

Los antioxidantes impiden la oxidación de sustancias químicas producto de reacciones metabólicas en el cuerpo o de la exposición a ciertas radiaciones (Nazareno y

González, 2008). Wu *et al.* (2006) estudiaron el contenido fenólico total y antioxidante de la pitaya madura y su efecto sobre células cancerígenas. Según su trabajo, la pulpa y la cáscara tienen un alto contenido de fenoles y son buenas fuentes de antioxidantes.

La pitaya es una fruta que comenzó a cobrar importancia hace solamente 15 años en los mercados Europeos, así como los mercados productores tales como Vietnam, Colombia, México, Costa Rica y Nicaragua (Le Bellec *et al.*, 2006).

Existe una gran variedad de genotipos de pitaya. La que se cultiva en mayor proporción es la pitaya roja (cáscara roja y pulpa blanca) *Hylocereus undatus* [(Haworth) Britton & Rose], pero, además, se comercializan *H. polyrhizus* [(F.A.C Weber) Britton & Rose] y *H. costaricensis* [(F.A.C Weber) Britton & Rose], las cuales tienen cáscara y pulpa rojas (Esquivel *et al.*, 2007a). Según Vaillant *et al.* (2005), genotipos de la pitaya como la Rosa y Orejona con cáscara y pulpa roja, se comercializan en Nicaragua con una producción de aproximadamente 3000 toneladas en 420 hectáreas. Ambos genotipos son recomendados para su utilización como ingredientes en la industria alimentaria y cosmética (Esquivel *et al.*, 2007b).

Centroamérica es una región con capacidad para cultivar dicho fruto en condiciones sumamente favorables, ya que es un fruto nativo de la región (Nerd *et al.*, 2002) y, considerando su alto potencial industrial, es importante realizar estudios para evaluar su procesamiento y así garantizar la calidad y estabilidad de los productos procesados.

La pitaya tiene grandes ventajas para ser utilizada como pigmento, pero como todo colorante natural, es muy inestable; factores como la luz, la exposición al oxígeno, la temperatura y tiempo de procesamiento, pH, Aw, estructura de las betalaínas y concentración pueden llegar a afectar su estabilidad (Herbach *et al.*, 2006a). Herbach *et al.* (2007) realizaron por primera vez la elaboración de jugo de pitaya sin mucílago a escala piloto y evaluaron el efecto del procesamiento del jugo sobre la retención de las betalaínas; el color del jugo y su efecto en el almacenamiento. A pesar de que se ha demostrado que las betalaínas son susceptibles a la oxidación (Mandujano, 2006), no se han evaluado los efectos del desaireado con nitrógeno y el uso del sorbato de

potasio como preservante en la pulpa de pitaya almacenada a temperatura de refrigeración y temperatura ambiente. Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la estabilidad de las betalaínas en la matriz propia del fruto para analizar su efecto protector con el fin de conocer las mejores condiciones para poder desarrollar una pulpa comercializable que permita la fácil utilización de sus pigmentos en la industria.

II. Objetivos

2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del procesamiento sobre las propiedades físico-químicas y microbiológicas de la pulpa de pitaya durante su almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración.

2.2 Objetivos específicos

Comparar los rendimientos de extracción de la pulpa de pitaya y las propiedades físico-químicas (acidez, pH, °Brix, concentración de pectina y color) en los genotipos Rosa y Orejona para seleccionar el genotipo más indicado para el estudio.

Evaluar el efecto del desaireado con nitrógeno y del sorbato de potasio sobre la estabilidad físico-química y microbiológica de la pulpa de pitaya a lo largo del almacenamiento a temperatura ambiente (25°C) y en refrigeración (4°C).

III. Marco Teórico

3.1 Generalidades de la pitaya

3.1.1 Descripción y distribución geográfica

La pitaya pertenece al género *Hylocereus* de la familia Cactaceae. *Hylocereus* se caracteriza por ser una planta trepadora, que utiliza árboles o rocas como soporte físico. Sus tallos tienen tres alas y producen unas bayas de tamaño mediano y grande con brácteas (Nerd y Mizrahi, 1997); algunos tipos tienen pelos suaves o pequeñas espinas, pero éstas se remueven fácilmente durante su maduración (Esquivel, 2004). La familia dicotiledónea de las Cactaceas (Caryophyllales) comprende entre 120 y 200 géneros dentro de los cuales hay entre 1500 y 2000 especies (Le Bellec *et al.*, 2006). *Hylocereus* sp. se encuentra principalmente en las zonas semi-áridas del trópico de Latinoamérica. Se cultiva mayormente en Centroamérica en condiciones naturales y en Vietnam e Israel bajo condiciones controladas (Mizrahi y Nerd, 1999).

En Latinoamérica el término genérico “pitaya” se utiliza para una gran cantidad de especies y frutas, por lo que su clasificación botánica se dificulta. A pesar de ello, las pitayas se encuentran agrupadas en cuatro géneros principales: *Stenocereus* [Britton y Rose], *Cereus* Mill., *Selenicereus* (A. Berger) Riccob e *Hylocereus* [Britton y Rose] (Mizrahi *et al.*, 1997).

El cactus florece entre junio y setiembre. Sus flores son de las más grandes del mundo y llegan a medir hasta 30 cm de largo y 25 cm de diámetro. Generalmente se sitúan al final de las ramas, son de color blanco o amarillento y solo abren por la noche (Le Bellec *et al.*, 2006).

Las frutas de *Hylocereus* poseen una cáscara rosada o roja. El color de la pulpa puede variar de rojo-púrpura (*H. polyrihus* [(F.A.C Weber) Britton & Rose]; *H. costaricensis* [(F.A.C Weber) Britton & Rose], hasta blanco (*Hylocereus undatus* [(Haworth) Britton & Rose]). Es jugosa y contiene numerosas semillas comestibles de color negro (Crane y Balerdi, 2006).

3.1.2 Composición del fruto

El mesocarpio de *Hylocereus* sp. está constituido aproximadamente por 82-88% de agua, con un total de sólidos solubles entre 7 y 11% (Vaillant *et al.*, 2005). El ácido málico es el principal ácido orgánico (Stintzing y Carle, 2006) y son pobres en vitamina C (Stintzing *et al.*, 2003). En el Cuadro 1 se muestra una recopilación de ciertos autores, realizada por Esquivel (2007), de algunas características de varios frutos de *Hylocereus* sp.

Cuadro 1. Características de la pulpa de los frutos *Hylocereus* sp. (recopilado por: Esquivel, 2007)

Parámetro	<i>Hylocereus costaricensis</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	<i>Hylocereus polyrhizus</i>
Total azúcares (g/L)	35-60	65	75
Total Ácidos titulables (g/L)	2.4- 3.0	3.3	3.4
Contenido total de aminoácidos (mg/kg jugo)	n.a. ¹	420.7	597.2
Prolina (mg/L)	n.a.	415.0	332.5
Glucosa (g/L)	30-54	46.6	55.4
Fructosa (g/L)	4.0-7.0	18.4	19.2
Contenido de pigmento (mg/kg)	300-400	290	280

¹ no hay información disponible

Según Le Bellec *et al.* (2006), no se ha determinado el contenido exacto de la cantidad de proteína en *Hylocereus*, ya que los resultados obtenidos por diversos autores varían mucho entre sí (0,3%-1,5%). Mencionan que las posibles causas de ello son la metodología aplicada para su determinación o la interferencia de las betalaínas. El contenido mineral es bastante alto, siendo el potasio el ion prevalente (Le Bellec *et al.*, 2006).

3.2 Betaláinas

Las betaláinas son pigmentos N-heterocíclicos derivados del ácido betalámico, solubles en agua, que se depositan en las vacuolas de las plantas. Se dividen en dos grupos: las betacianinas de color rojo y betaxantinas de color amarillo (Stintzing y Carle, 2007). No se ha encontrado una especie que contenga tanto antocianinas como betaláinas, por lo que se dice que las vías de síntesis de estos grupos de pigmentos son mutuamente excluyentes (Kimler *et al.*; 1970, Stafford, 1994; Cai *et al.*, 2005).

Únicamente se conocen 13 familias del orden Caryophyllales que producen estos pigmentos, algunas de ellas son: Aizoacea, Amaranthaceae, Basellaceae, Cactaceae, Chenopodiaceae, Didieraceae, Holophytaceae, Nyctaginaceae, Phytolaccaceae y Portulacaceae (Delgado-Vargas y Paredes-López, 2002). Además, también se han encontrado en algunos hongos, tales como *Amanita*, *Hygrocybe* e *Hygrophorus* (Stintzing y Carle, 2007).

Algunos alimentos que contienen estos compuestos son las tunas, nopales, el higo mexicano, remolacha, granos de amaranto, acelgas y la pitaya (Kanner *et al.*, 2001); a pesar de ello, solo la remolacha está comercialmente explotada (Herbach *et al.*, 2006a). Los pigmentos de la remolacha (*Beta vulgaris* L.), que se comercializan, generalmente en polvo, están aprobados como aditivos alimentarios tanto en Estados Unidos (Título 21 del Código Federal de Regulaciones, 21 CFR 73.40) como en Europa con el código E-162 (Castellar *et al.*, 2003). Estos pigmentos se utilizan en alimentos, fármacos y cosméticos.

A pesar de que los pigmentos de la remolacha están aprobados, en la actualidad, su extracción está siendo más controlada, ya que además de contener las betaláinas, los extractos contienen altos niveles de nitratos, los cuales se han asociado con la formación de nitrosaminas cancerígenas. La remolacha también contiene derivados de la pirazina, que le dan un sabor y olor a tierra (Stintzing y Carle, 2004).

Las principales betaláinas presentes en los frutos de *Hylocereus* son: la betanina, filocactina, hilocerenina y sus respectivos isómeros (Stintzing *et al.*, 2002a). Además

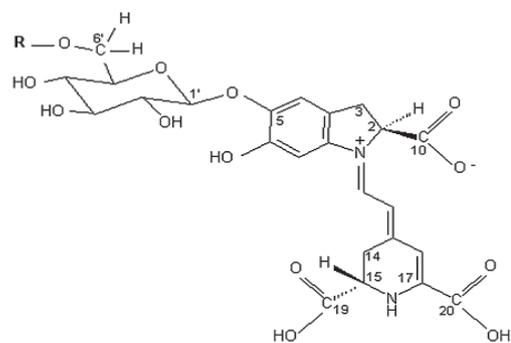
también se encontró recientemente la presencia de la neobetanina (Esquivel *et al.*, 2007b).

3.2.1 Betacianinas

Las betacianinas, pigmentos de color violeta-rojo, son conjugados del ácido betalámico, ya sea con *cyclo-Dopa* o con derivados glicosídicos o acílicos de la *cyclo-Dopa* en la posición C-5 o C-6 (Tesoriere *et al.*, 2008). Absorben luz a longitudes de onda entre los 534 y 555 nm. Son ópticamente activas por los dos carbonos quirales C-2 y C-15. Su naturaleza es altamente iónica por contener tres grupos carboxilos (dos con un pKa de 3,4 y el otro con un pKa de 2), además de un grupo fenólico (pKa de 8,5) (Mandujano, 2006).

Estos compuestos tienen dos grupos, uno fenólico y otro amino, que actúan como antioxidantes por ser buenos donadores de electrones (Kanner *et al.*, 2001). Según Cai *et al.* (2003), las betacianinas tienen entre tres y cuatro veces mayor actividad antioxidante que el ascorbato y dos veces más que algunos flavonoides como la rutina y la catequina.

En la Figura 1 se muestra la estructura de la betanina, la cual, junto con la iso-betanina (el correspondiente C-15 diastereoisómero), son las estructuras básicas de las betacianinas no acetiladas. En la pitaya, además de las betacianinas no acetiladas ya mencionadas, se han encontrado betacianinas acetiladas (Figura 1) como la filocactina [betanidina 5-O-(6'-O-malonil)- β -glucósido], y la hilocerenina [betanidina 5-O-(6'-O-3-hidroxi-3-metilglutaril)- β -glucósido] y sus respectivos C₁₅ isómeros (Herbach *et al.*, 2004). La acetilación de las betacianinas produce el efecto batocrómico en la fracción betanidínica (efecto de la copigmentación), lo cual provoca una disminución en la velocidad de racemización y una mayor estabilidad en comparación con las correspondientes betacianinas no acetiladas, esto probablemente debido al agrupamiento intramolecular de los residuos acílicos (Schliemann y Strack, 1998).



R = H : Betanina

R = CO — CH₂ — COOH : Filocactina

R = CO — CH₂ — $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{C} \\ | \\ \text{OH} \end{array}$ — CH₂ — COOH : Hilocerenina

Figura 1. Estructuras de la betanina, filocactina e hilocerenina (Herbach *et al.*, 2005)

La betanina es un pigmento que no se ve afectado por ácidos monocarboxílicos, como el ácido láctico y el ácido acético a concentraciones de 100 ppm y 5,9%, respectivamente, pero varios cationes metálicos, principalmente cobre, aceleran su degradación (Mandujano, 2006).

3.2.2. Betaxantinas

Las betaxantinas son pigmentos amarillo-naranja producto de la condensación del ácido betalámico con un aminoácido como serina, valina, leucina, isoleucina y fenilalanina o un derivado de aminoácidos, tales como el 3-metoxitiramina (Moreno *et al.*, 2007). Estos compuestos solo tienen el anillo de dihidropiridina en común, todas las demás partes estructurales de la molécula son mucho más variables que en las betacianinas (Belitz *et al.*, 2009). Dependiendo de la estructura del compuesto amino, la máxima longitud de onda a la que absorben varía entre 460 y 480 nm.

La primera betaxantina descubierta fue la indicaxantina, aislada del fruto de *Opuntia ficus-indica*, en total ocho de las quince betaxantinas aisladas naturalmente, contienen aminoácidos no proteicos (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Algunos ejemplos de betaxantinas se muestran en la Figura 2.

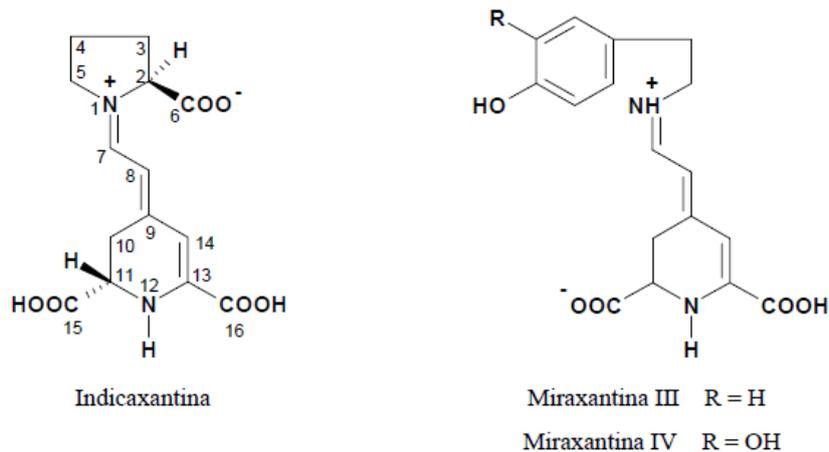


Figura 2. Estructura de algunas betaxantinas (Madujano, 2006)

3.3. Propiedades físico-químicas de las betalaínas

Las betalaínas tienen algunos efectos fisiológicos sobre las plantas, tales como protegerlas de la luz ultravioleta (Ibdah *et al.*, 2002) y de ciertos virus (Stafford, 1994). A estos pigmentos se les ha atribuido también propiedades antioxidantes (Azeredo, 2008). En comparación con ciertos colorantes sintéticos, estos pigmentos no son tóxicos, ni causan reacciones alérgicas (Schwartz *et al.*, 1983; Lucas *et al.*, 2001).

3.4 Efectos de las betalaínas sobre la salud

Estudios recientes sobre las betalaínas les han atribuido varios beneficios a la salud del ser humano. Estos compuestos son considerados fitoquímicos bioactivos, los cuales pueden llegar a ser efectivos contra desórdenes de estrés oxidativo (Tesoriere *et al.*, 2008) debido a su potencial para inhibir la oxidación lipídica y la peroxidación (Kanner *et al.*, 2001). Además, tienen efectos anti-inflamatorios (Gentile *et al.*, 2004) y antirradicales, lo que los hace buenos agentes oxidantes (Pedreño y Escribano, 2001; Cai *et al.*, 2003; Stintzing *et al.*, 2005).

3.5 Degradación de las betalaínas

La estabilidad de las betalaínas se ve afectada por una gran cantidad de factores tanto estructurales y de concentración, como factores externos de almacenamiento a los que se expongan, como la temperatura, luz y oxígeno (Herbach *et al.*, 2006a).

3.5.1 Efecto del pH

Las betalaínas son pigmentos naturales que se mantienen estables en un ámbito de pH entre 3 y 7 (Stintzing y Carle, 2004). El pH óptimo para la estabilidad de la betanina (principal betacianina) fue reportado en un ámbito entre 5 y 7, siendo el ideal 5,6 (Cai *et al.*, 1998). En presencia de oxígeno, la betanina es más estable a un pH entre 5.5 y 5.8, mientras que en condiciones anaeróbicas, pH más bajos, entre 4,0 y 5,0, son más favorables (Huang y von Elbe, 1987). Las betaxantinas tienen su estabilidad en un ámbito entre 4 y 7 (Cai *et al.*, 2001a); su estabilidad ideal se da a pH 5,5, el cual corresponde al pH óptimo de las betacianinas (Savolainen y Kuusi, 1978).

En condiciones alcalinas, la betanina se hidroliza en ácido betalámico y en *cyclo-Dopa-5-O glucósido* (figura 3). Estos hidrolizados alcalinos son amarillos debido a la absorción de la luz del ácido betalámico a 430 nm. La acidificación induce la recondensación del ácido betalámico y del compuesto amino (betaxantina) o *cyclo-Dopa 5-O-β- glucósido* – betacianinas- (Schwartz y von Elbe, 1983).

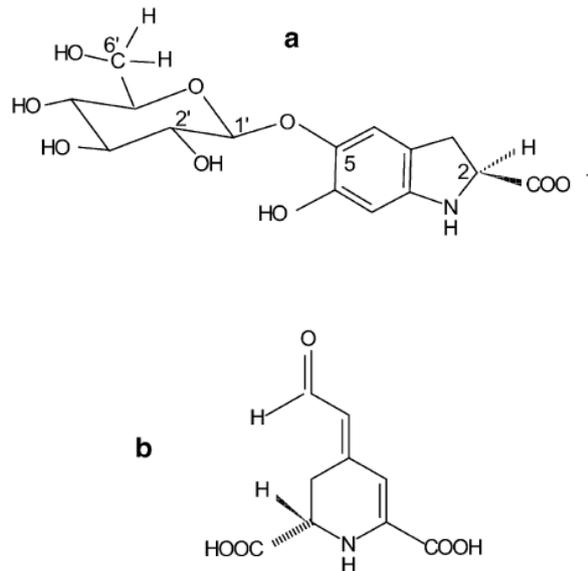


Figura 3. Estructuras de (a) *cyclo-Dopa-5-O-β-glucósido* y (b) ácido betalámico (Herbach *et al.*, 2004)

3.5.2 Efecto de la actividad del agua

La degradación de la betanina requiere la hidrólisis de la molécula en *cyclo-Dopa-5-O-β-glucósido* y ácido betalámico, reacción que es altamente dependiente de la disponibilidad del agua. Un decrecimiento en la actividad del agua corresponde con una menor degradación de la betanina (Mandujano, 2006). Pasch y von Elbe (1975) demostraron que la betanina es cuatro veces más estable a un A_w de 0,37 que a un A_w de 1.0. También, Kearsley y Katsaborakis (1980) reportaron una mayor estabilidad de la betanina en sistemas con baja actividad de agua; un A_w menor a 0,63 permite una mayor estabilidad.

Las betaxantinas y betalaínas son más estables en sus matrices naturales que cuando se comparan con soluciones puras; los constituyentes de las plantas como azúcares, ácidos y sustancias pécticas, reducen el valor de A_w y, por tanto, estabilizan los pigmentos betaláinicos (Herbach *et al.*, 2006a).

3.5.3 Efecto de la atmósfera

La composición de la atmósfera puede llegar a afectar la estabilidad de las betalaínas. Tanto la betanina como la betanidina son inestables en la presencia de oxígeno (Pasch y von Elbe, 1979). Se ha demostrado que la degradación de betanina en

condiciones aeróbicas es más dependiente del pH que en ausencia de oxígeno (von Elbe y Attoe, 1985), esto debido a que cuando la betanina es hidrolizada, se vuelve más susceptible a la degradación oxidativa (Mandujano, 2006).

La degradación de la betanina sigue una cinética de reacción de primer orden al incrementar la concentración de oxígeno (Attoe y von Elbe, 1982; Czapski, 1985; Mandujano, 2006), es decir, que la degradación de la betanina es directamente proporcional a la concentración de oxígeno. Cuando la concentración molar de oxígeno se aproxima a la concentración de la betanina, se deja de cumplir la proporcionalidad y se desvía de la cinética de primer orden (von Elbe y Goldman, 2000).

Se ha comprobado que especies de oxígeno activo como el oxígeno simple y aniones superoxidados no causan una oxidación de la betanina, mientras que el peróxido de hidrógeno acelera la degradación (Mandujano, 2006). Además, algunos autores han evaluado una mejora en la estabilidad al exponer la betanina aislada a una atmósfera con nitrógeno (von Elbe y Attoe, 1985).

3.5.4 Efecto de la luz

Varios estudios han demostrado que la luz es un factor que afecta la estabilidad de las betalaínas (Cai *et al.*, 2005, Herbach *et al.*, 2007; Harivaindaran *et al.*, 2008). La susceptibilidad de las betalaínas a la luz fue explicada por Jackman y Smith (1996), los cuales establecieron que la absorción de la luz, tanto en el espectro visible como el ultravioleta, produce la excitación de los electrones del cromóforo de las betalaínas a un estado energético mayor, produciendo una reactividad mayor o una menor activación energética de la molécula.

El efecto de la luz solo ocurre en presencia de oxígeno, ya que en condiciones anaeróbicas no se produce un efecto significativo en la disminución de la concentración de los pigmentos tanto con luz como en oscuridad (Huang y von Elbe, 1986). Además, se ha visto que bajo luz fluorescente y en presencia de oxígeno, las betaxantinas son más lábiles que las betacianinas (Mandujano, 2006). Se ha comprobado que la adición de 1% de ácido ascórbico a los jugos de pitaya y

remolacha inhibe la degradación por el efecto de la luz durante su almacenamiento (Herbach *et al.*, 2007).

3.5.5 Efecto de la temperatura

La temperatura es uno de los factores que más afecta la estabilidad de los pigmentos tanto durante su procesamiento, como en el almacenamiento. Los pigmentos, al ser expuestos al calor, son degradados a ácido betalámico y *cyclo-Dopa-5-O-glucósido* (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). A medida que aumenta la temperatura y el tiempo de exposición al calor, la degradación se acelera (von Elbe *et al.*, 1974^a; Saguy, 1979; García-Barrera *et al.*, 1998) y se ha visto que los pigmentos se deterioran más rápidamente en presencia de oxígeno y fuera del rango de pH óptimo (Huang y von Elbe, 1986; Herbach *et al.*, 2006a). A temperaturas superiores a los 40°C la degradación por calor es mucho más significativa que la degradación por efecto de la luz (Attoe y von Elbe, 1981) y a temperaturas superiores a los 50°C su estabilidad disminuye considerablemente (Saguy *et al.*, 1978).

Se han realizado varios estudios sobre la termoestabilidad del pigmento y se ha demostrado que la degradación térmica de la betanina sigue una reacción cinética de primer orden (von Elbe *et al.*, 1974^a; Saguy 1979; Reynoso *et al.*, 1997; Herbach *et al.*, 2004). Además la reacción de degradación de la betanina es parcialmente reversible (Huang y von Elbe, 1985) y la betanina puede ser regenerada luego del tratamiento térmico con ayuda de ciertos antioxidantes tales como el ácido ascórbico e isoascórbico (Han *et al.*, 1998).

3.6 Uso de las betalaínas como aditivo alimentario

Los pigmentos naturales han venido a sustituir a los sintéticos como aditivos alimentarios, ya que estos últimos han sido considerados los responsables de algunas toxicidades y enfermedades. Las betalaínas son utilizadas como pigmento y se encuentran aprobadas como aditivo tanto en Estados Unidos como en Europa (Castellar *et al.*, 2003).

Las betalaínas provenientes de la remolacha pueden obtenerse en forma de concentrado o de producto deshidratado a partir de una extracción acuosa a pH ácido, y su purificación se logra por medio de ultrafiltración y ósmosis inversa (Mandujano, 2006).

Varias investigaciones han estudiado la aplicación de las betalaínas como aditivo alimentario. Se ha propuesto su utilización como sustitución de los nitritos en la elaboración de productos cárnicos embutidos como la salchicha (von Elbe *et al.*, 1974b). Vereltzis y Buck (1984), citado por Mandujano (2006), demostraron que en embutidos con carne de pollo, el color producido por las betalaínas es más estable que el que producen los nitritos, sin alterar el sabor ni la textura.

Se ha sugerido también la aplicación de los colorantes en productos de la industria láctea, tales como el yogurt y los helados (Herbach, *et al.*, 2006a), además de preparaciones de frutas o barras de cereal (Stintzing y Carle, 2006). Roy *et al.* (2004) obtuvieron buenos resultados al aplicar estos pigmentos a confites producidos en la India, donde anteriormente solo utilizaban colorantes sintéticos.

Cai y Corke (1999) utilizaron betacianinas provenientes de *Amaranthus* en una gelatina, helados y una bebida y las compararon con los colorantes comerciales. Los alimentos con betacianinas tenían un color más brillante que aquellos con antocianinas. Además, obtuvieron una estabilidad similar, tanto durante 20 semanas de almacenamiento a temperatura $\leq 14^{\circ}\text{C}$, como durante las primeras cuatro semanas de almacenamiento a temperaturas $\leq 25^{\circ}\text{C}$. A pesar de ello, sí fueron más inestables que las antocianinas a 37°C . En comparación con los colorantes sintéticos, las betacianinas mostraron mayor inestabilidad a cualquier temperatura de almacenamiento.

Las betaxantinas han sido utilizadas para fortificar alimentos procesados con amino ácidos esenciales, por lo que además se consideran como un colorante esencial dietético (Azeredo, 2008).

IV. Materiales y métodos

4.1 Localización del proyecto

El estudio se realizó en el Laboratorio de Química de la Escuela de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica (UCR), Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, con el apoyo financiero de la Universidad de Hohenheim, Stuttgart, Alemania. Las determinaciones microbiológicas de hongos y levaduras se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Aguas de la Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio.

4.2 Materia prima

Se utilizó pitaya (*Hylocereus* sp.) de los genotipos "Orejona" y "Rosa", cultivados orgánicamente en Barranca, en la provincia de Puntarenas, Costa Rica (N 9°57.566'; O 84°43.217'). Se utilizaron frutos en estado maduro.

4.3 Extracción de la pulpa

Los frutos fueron troceados en cuatro partes y pelados manualmente para separar la cáscara. Luego se pasaron por un extractor de jugo (Oster, Oskar 3000), para la separación de la mayoría de las semillas. La pulpa extraída se coló manualmente mediante un colador con un poro de 1 mm para asegurar la separación completa de las semillas.

Se calculó el rendimiento por peso de pulpa obtenido a partir de la fruta entera y de la fruta sin la cáscara para ambos genotipos. Luego se realizó una caracterización de las pulpas de ambos genotipos por medio de determinaciones físicas y químicas tales como acidez, pH, °Brix, color y pectina. Estos procedimientos se describen en el apartado 4.6.1. Para las muestras de cada genotipo se calcularon los rendimientos y se hicieron las determinaciones físico-químicas por triplicado.

4.3.1 Diseño experimental

Se realizó un diseño irrestricto aleatorio con dos tratamientos (los dos genotipos), utilizando como variables respuestas rendimiento, acidez, pH, brix, color y pectina.

Para el análisis de datos entre los genotipos tanto en los rendimientos como en la comparación de las propiedades físico-químicas se realizó una prueba t de Student.

4.4 Descripción de las condiciones de procesamiento para evaluar estabilidad

A partir de los resultados obtenidos sobre el rendimiento en el apartado 4.6.1 se escogió el genotipo Rosa para realizar el estudio de almacenamiento.

En la figura 4 se muestra, en forma esquemática, el proceso de aplicación de los tratamientos (concentración de sorbato de potasio, el desaireado con nitrógeno y temperatura de almacenamiento) sobre la pulpa de pitaya.

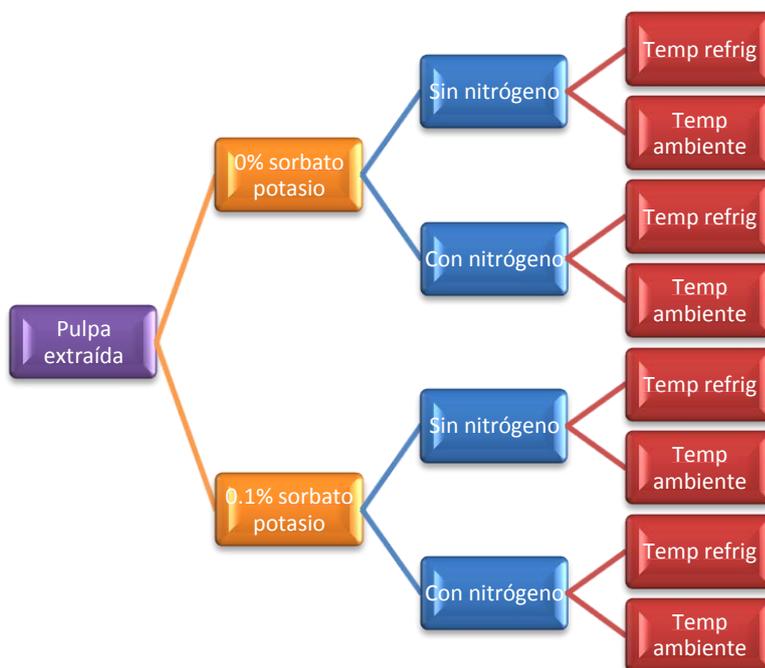


Figura 4. Diseño de la aplicación de los tratamientos sobre la pulpa de pitaya del genotipo "Rosa".

4.4.1 Extracción de la pulpa de pitaya y adición del ácido ascórbico

La pulpa de pitaya se extrajo de acuerdo con la metodología descrita en el apartado 4.3. La pulpa obtenida se colocó en un envase de plástico y se pesó para determinar la masa total extraída. Se le adicionó 1% de ácido ascórbico, ya que, según Herbach *et al.* (2007), la degradación por los efectos de la luz se ve completamente prevenida, además que mejora la estabilidad de los pigmentos (García-Barrera *et al.*, 1998).

4.4.2 Adición de sorbato de potasio

A las muestras que se debían tratar con sorbato de potasio, se les adicionó un 0,1% (Codex Alimentarius, 1995). Al resto de la pulpa no se le adicionó ningún preservante (0% de sorbato de potasio).

4.4.2 Desaireado con nitrógeno

Previo al proceso de desaireado, se colocaron 25 mL de pulpa, tanto con sorbato como sin él, en frascos de vidrio ámbar. A las muestras que debían desairearse, se les aplicó nitrógeno. A cada frasco, se le aplicó un flujo de 5 mm/s de nitrógeno gaseoso a una presión de 1700 psi y un tiempo de 30 segundos por medio de una manguera. Inmediatamente los frascos se cerraron.

4.4.3 Tratamiento térmico

El tratamiento térmico se realizó en autoclave (Varioklav, 400E) controlando la temperatura. Los frascos se colocaron en canastas de metal con el fin de mantenerlos en posición vertical fija; se colocaron 6 frascos por cada canasta. Se les aflojó un poco la tapa para liberar presión y se colocaron dentro de la autoclave. Se programó el equipo para que las muestras se expusieran a una temperatura de 97°C por 1 minuto. La autoclave tardó aproximadamente 25 minutos en calentarse y llegar a 97°C, permaneció a esa temperatura por 1 minuto y luego tardó 15 minutos en llegar a 85°C, temperatura en la cual el equipo puede abrirse. Inmediatamente se retiraron del

autoclave, se cerró adecuadamente la tapa de los frascos y se colocaron en un baño de hielo por 90 segundos, siguiendo la metodología descrita por Herbach *et al.* (2007). Las muestras se almacenaron a dos temperaturas: ambiente (a 25°C en incubadora con temperatura controlada) y en refrigeración (a 4°C en refrigeradora con temperatura controlada).

4.4.4 Estudio de almacenamiento

Las muestras obtenidas luego del tratamiento térmico se utilizaron para el estudio de almacenamiento. Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas (pH, color, concentración de betalaínas y perfil de betalaínas) y se realizaron mediciones microbiológicas de hongos y levaduras. El estudio se realizó por un tiempo de 42 días, donde se realizaron las mediciones correspondientes de las características físicas, químicas y microbiológicas cada siete días. El tiempo de medición se estableció con base en pruebas preliminares.

4.4.5 Diseño experimental

Para el estudio de almacenamiento se evaluaron dos factores: método de estabilización con 4 niveles (control, sorbato, nitrógeno, nitrógeno-sorbato) y temperatura de almacenamiento con dos niveles (refrigeración y ambiente), por lo que se aplicaron 8 tratamientos para evaluar la estabilidad de los pigmentos de la pulpa de pitaya (ver cuadro 2). Además el tiempo se analizó como covariable. Se realizaron tres repeticiones del estudio de almacenamiento, determinando las variables respuesta (color, concentración de betalaínas, betacianinas acetiladas, betacianinas no acetiladas y pH) por triplicado.

Cuadro 2. Diseño de covarianza de dos vías (4x2) utilizado para evaluar el efecto del método de estabilización y la temperatura de almacenamiento sobre la pulpa de pitaya

Tratamiento	Método de estabilización	Temperatura almacenamiento
1	Control	Refrigeración
2	Control	Ambiente
3	Sorbato	Refrigeración
4	Sorbato	Ambiente
5	Nitrógeno	Refrigeración
6	Nitrógeno	Ambiente
7	Sorbato-Nitrógeno	Refrigeración
8	Sorbato-Nitrógeno	Ambiente

Se analizaron los resultados por medio de ANCOVA y se compararon las medias de los tratamientos por medio de Tukey, utilizando el programa de estadística JMP Versión 4.0 (SAS Institute). Para evaluar el efecto del tiempo se realizó un análisis de regresión. Además, se analizaron las diferencias entre los valores finales (tiempo 42) e iniciales (tiempo 0) del almacenamiento (Δ tratamientos) por medio de un diseño irrestricto aleatorio. En los casos en que se encontraron diferencias entre los deltas (Δ) de los tratamientos, se realizó la prueba de Tukey para determinar cuál o cuáles tratamientos eran los diferentes

4.6 Métodos de análisis

4.6.1 Determinación del rendimiento de extracción de pulpa

Se evaluó la masa de pulpa obtenida con respecto a la fruta con cáscara, como sin ella, para ambos genotipos. El rendimiento se calculó aplicando las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ rendimiento fruta con cáscara} = \frac{\text{pulpa}(g)}{\text{masa total fruta}(g)} * 100 \quad (1)$$

$$\% \text{ rendimiento fruta sin cáscara} = \frac{\text{pulpa}(g)}{\text{masa total fruta}(g) - \text{masa cáscara}(g)} * 100 \quad (2)$$

4.6.2 Determinación de pH

El pH de la pulpa de la fruta fresca de pitaya se determinó por triplicado utilizando un pHmetro (Corning, 430).

4.6.3 Determinación de acidez

Para la determinación de la acidez (Metrohm, 836) se utilizó 1 g de pulpa homogenizada en 100 mL de agua destilada, que se tituló con 0,1 mol/L de NaOH hasta obtener un pH de 8,1. Los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como g de ácido málico por 100 g de fruta (IFU, 1995a).

4.6.4 Determinación de sólidos solubles (grados brix).

Se utilizó un refractómetro de Abbé (Atago Co, NAR-1T) con control de temperatura. Las mediciones se realizaron por triplicado.

4.6.5 Determinación de concentración de betacianinas y análisis de color

El color de la pulpa procesada (20 mL) se determinó con el instrumento Colourflex (Hunterlab), utilizando una luz D_{65} y 10° como ángulo. El color se expresó como L^*, a^*, b^* , saturación $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ y tono $\{h^\circ = \arctan(b^*/a^*)\}$, como es descrito por Stintzing *et al.* (2003). Las diferencias de color (ΔE^*) fueron determinadas de acuerdo con Gonnet (1998), donde $\Delta E^* = \{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2\}^{1/2}$. Luego se realizó una cuantificación fotométrica del total de las betacianinas utilizando el método de Stintzing *et al.* (2003), en un espectrofotómetro UV/VIS a 538nm (Shimadzu, UV1203), realizando previo un filtrado para separar las partículas que pudieran interferir con el análisis. Los análisis se realizaron por triplicado.

4.6.6 Determinación del perfil de betacianinas en HPLC-UV

Las muestras del pigmento de las pulpas se cuantificaron siguiendo el procedimiento descrito por Esquivel *et al.* (2007c). Se utilizó un sistema HPLC-Cromatografía líquida de alta presión- (Merck, LaChrom) equipado con una columna analítica Sunfire C₁₈ (250 * 4,6 mm i.d) con un tamaño de partícula de 5 µm. La separación se hizo a 30°C utilizando un flujo de 1 mL/min. La fase móvil A consistió en 0,2% (v/v) de ácido fórmico en agua y una fase móvil B de MeCN:H₂O (80:20, v/v). Se utilizó en los primeros 5 minutos 100% de la fase A. Luego se adicionó a los 20 minutos 10% B, a los 40 min 13% B, a los 45 min 20% B y finalmente a los 50 min 100% B, para un reequilibrio antes de establecer las condiciones iniciales. El monitoreo se llevó a cabo a 538 nm calculando luego las áreas relativas del cromatograma y los rangos específicos para las betacianinas más importantes acetiladas y no acetiladas. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

4.6.7 Determinación de la concentración de pectina

Para la determinación de la concentración de pectina en las muestras de pulpa de pitaya se utilizó el método 26 de la IFU (1995b). Se utilizó el ácido galacturónico como estándar y las mediciones se realizaron espectrofotométricamente por triplicado.

4.6.8 Determinaciones microbiológicas: recuento de hongos y levaduras

El recuento de hongos y levaduras fue realizado según el procedimiento descrito por APHA (2001). Se tomó una muestra de 25 mL de pulpa y se prepararon diluciones decimales con agua peptonada hasta 10⁻⁵. Las diluciones se montaron en agar papa dextrosa acidificado a pH 3,5 y se incubaron a 25°C por 5 días. Se contabilizaron las unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de muestra para las distintas diluciones.

V. Resultados

5.1 Comparación de los rendimientos y propiedades físico-químicas de los genotipos Rosa y Orejona

Se calcularon los rendimientos de pulpa obtenidos tanto de la fruta con cáscara como sin ella para ambos genotipos. Con respecto a estos parámetros, se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ambos genotipos (Cuadro 3). Tanto para la fruta con cáscara como sin ella, el rendimiento obtenido en Rosa fue casi un 40% mayor que para Orejona.

Cuadro 3. Rendimientos y características físico-químicas de los genotipos de Rosa y Orejona

Parámetro	Rosa	Orejona	prob > t
Rendimiento de la fruta con cáscara (%)	28,14 ± 0,91	16,44 ± 0,83	<.0001*
Rendimiento de la fruta sin cáscara (%)	42,02 ± 2,39	26,35 ± 1,74	0,0008*
L*	8,41 ± 0,15	8,20 ± 0,12	0,1219
a*	37,92 ± 0,18	37,68 ± 0,24	0,2365
b*	2,50 ± 0,24	2,37 ± 0,36	0,6288
C*	38,01 ± 0,18	37,75 ± 0,22	0,1986
h°	3,77 ± 0,36	3,59 ± 0,57	0,6792
pH	4,25 ± 0,08	4,8 ± 0,02	0,0003*
°Brix	12,0 ± 0,1	14,7 ± 0,0	0,0038*
Acidez (g/L)	3,80 ± 0,27	3,42 ± 0,39	0,2408
Pectina (mg/g)	1,47 ± 0,20	1,00 ± 0,16	0,0253*

* Efecto significativo ($p < 0,05$)

Los parámetros de color determinados (L^* , a^* , b^* , C^* , h°) para ambos genotipos no mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$), lo que evidencia que el color fue muy similar en ambos (Cuadro 3).

El pH del genotipo Orejona fue significativamente mayor que el de Rosa ($p < 0,0003$). El genotipo Orejona obtuvo valores de sólidos solubles ($^\circ\text{Brix}$) de 14,7, significativamente mayores a los valores obtenidos para Rosa (12 $^\circ\text{Brix}$) (Cuadro 3).

En el cuadro 3 se muestra también que la acidez titulable para Rosa y Orejona se encuentra entre 3,4 y 3,8 g/L, valores que no presentaron diferencia significativa entre genotipos. Rosa contiene 1470 mg/kg de pectina, lo cual fue significativamente mayor que los contenidos medidos en Orejona (Cuadro 3)

5.2 Efecto del método de estabilización, de la temperatura y del tiempo de almacenamiento sobre las variables estudiadas

Para determinar el método de estabilización (la utilización de nitrógeno para eliminar el oxígeno presente en la pulpa y el sorbato de sodio como preservante), la temperatura y el tiempo adecuados para la estabilidad de los pigmentos de la pulpa de pitaya del genotipo Rosa, se realizaron 8 tratamientos utilizando un diseño factorial de 4x2 (Ver Cuadro 2).

5.2.1. Color

Cambios cromáticos de los distintos tratamientos aplicados a la pulpa de pitaya durante su almacenamiento fueron evaluados midiendo los valores de luminosidad (L^*), tonalidad de rojo a verde (a^*), tonalidad de amarillo a azul (b^*), saturación (C^*) y ángulo de tono (h°).

En el Cuadro 4, se muestran los resultados del ANDEVA con sus interacciones para los parámetros de color. Se observa que para las variables L^* , b^* , C^* y h° existe una interacción entre temperatura*tiempo de almacenamiento. Todas las variables de color con excepción de h° , presentaron diferencias con respecto al método de estabilización utilizado en los diferentes tratamientos y para saturación (C^*) se encontró además una interacción entre método de estabilización*tiempo de almacenamiento.

Cuadro 4. Efecto del método de estabilización, temperatura y tiempo sobre los parámetros de color durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya

Parámetro	Efectos	Grados libertad	Valor F	Prob>F
L*	Método de estabilización	3	3,5480	0,0252*
	Temperatura	1	3,4860	0,0711
	Método de estabilización*temperatura	3	0,4471	0,7211
	Tiempo	1	16,7404	0,0003*
	Método de estabilización*tiempo	3	0,8488	0,4775
	Temperatura*tiempo	1	8,5541	0,0063*
	Método de estabilización*temperatura*tiempo	3	0,2457	0,8637
a*	Método de estabilización	3	4,7412	0,0076*
	Temperatura	1	2,0986	0,1572
	Método de estabilización*temperatura	3	0,3632	0,7800
	Tiempo	1	0,0216	0,8842
	Método de estabilización*tiempo	3	1,9470	0,1419
	Temperatura*tiempo	1	2,2969	0,1394
	Método de estabilización*temperatura*tiempo	3	0,379	0,7687
b*	Método de estabilización	3	10,4109	<,0001*
	Temperatura	1	31,2507	<,0001*
	Método de estabilización*temperatura	3	1,0254	0,3944
	Tiempo	1	10,0895	0,0033*
	Método de estabilización*tiempo	3	1,0886	0,368
	Temperatura*tiempo	1	5,7194	0,0228*
	Método de estabilización*temperatura*tiempo	3	0,0247	0,9946
C*	Método de estabilización	3	9,6829	0,0001*
	Temperatura	1	2,5230	0,1220
	Método de estabilización*temperatura	3	0,8931	0,4553
	Tiempo	1	2,4196	0,1297
	Método de estabilización*tiempo	3	2,9351	0,0482*
	Temperatura*tiempo	1	7,1227	0,0119*
	Método de estabilización*temperatura*tiempo	3	0,4549	0,7157
h°	Método de estabilización	3	2,7897	0,0528
	Temperatura	1	7,2031	0,0105*
	Método de estabilización*temperatura	3	1,2624	0,3002
	Tiempo	1	35,3826	<,0001*
	Método de estabilización*tiempo	3	0,7024	0,5562
	Temperatura*tiempo	1	7,3631	0,0098*
	Método de estabilización*temperatura*tiempo	3	0,2454	0,8641

* Efecto significativo ($p < 0,05$)

La Figura 5 muestra el comportamiento de la variable L^* para los distintos tratamientos a ambas temperaturas de almacenamiento. Del cuadro 4 se determinó que existe una interacción entre la temperatura y tiempo de almacenamiento. Algunos tratamientos almacenados a 25°C muestran un pequeño incremento en la luminosidad, especialmente el tratamiento de nitrógeno, pero los cambios observados en general son muy pequeños. Con el fin de observar si los cambios de L^* al inicio (tiempo 0) y final (tiempo 42) del almacenamiento (ΔL^*) eran distintos entre tratamientos se realizó un diseño irrestricto aleatorio (ver Apéndice D). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para el cambio de la luminosidad durante el almacenamiento (ΔL^*).

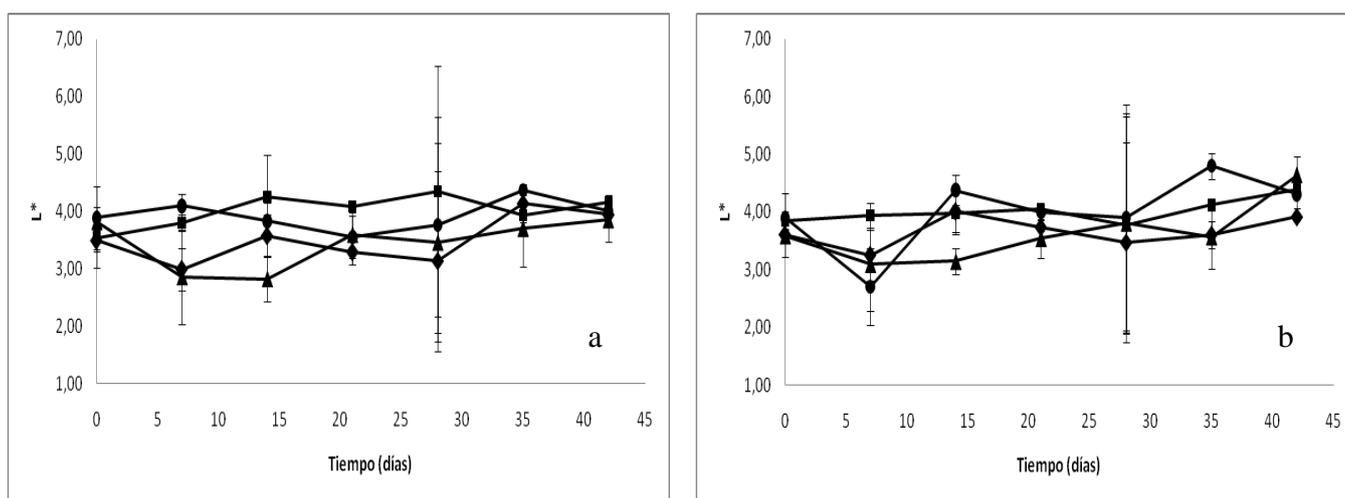


Figura 5. Valor L^* a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: (-◆-) sorbato-nitrógeno, (-■-) sorbato, (-▲-) nitrógeno, (-●-) control

La Figura 6 presenta el comportamiento del componente a^* para todos los tratamientos estudiados. Como se determinó en el cuadro 4, para esta variable solo existe diferencia significativa entre los métodos de estabilización utilizados. Al no haber diferencias a lo largo del tiempo, ni entre las temperaturas de almacenamiento estudiadas, se compararon estadísticamente los valores totales promedio para cada método de estabilización por medio de la prueba de Tukey (Cuadro 5). Los valores de a^* para el tratamiento con sorbato, son estadísticamente mayores a los de sorbato-

nitrógeno y nitrógeno. Además, se encontraron diferencias entre el control y el tratamiento con nitrógeno.

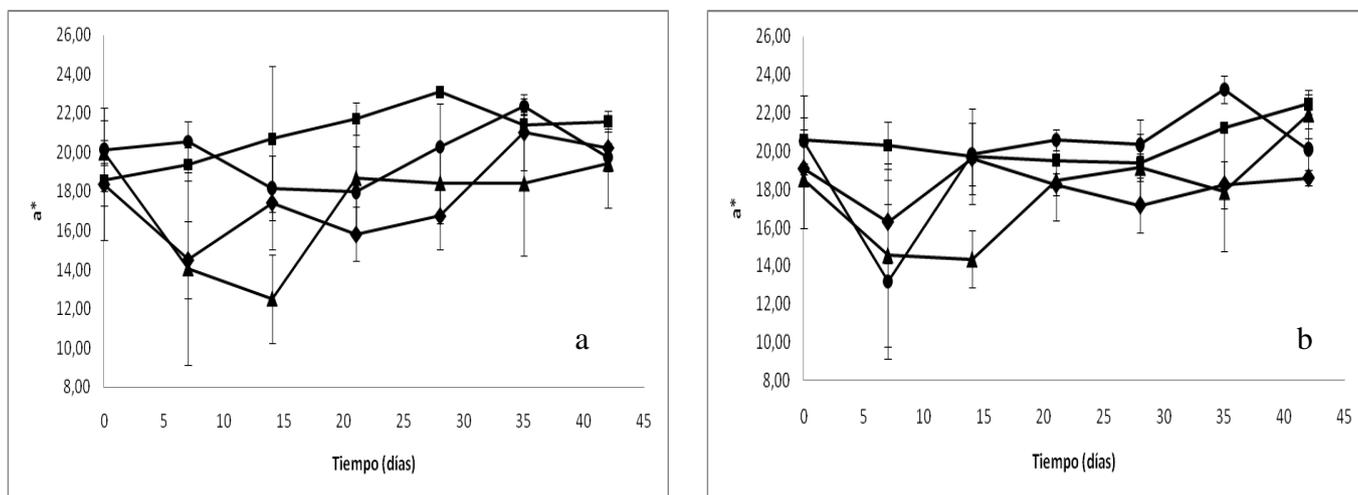


Figura 6. Valor a^* a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: (-◆-) sorbato-nitrógeno, (-■-) sorbato, (-▲-) nitrógeno, (-●-) control

Cuadro 5. Valores promedio de a^* obtenidos para cada tratamiento con métodos de estabilización distintos.

Método de estabilización	a^* promedio
Control	19,79 ^{ab}
Sorbato	20,69 ^a
Nitrógeno	17,60 ^c
Sorbato-nitrógeno	17,95 ^{bc}

Nota: entre promedios con diferente letra existe diferencia significativa ($p < 0,05$)

Las variaciones en las tonalidades azul-amarillas (b^*) para los distintos tratamientos se presentan en la Figura 7. Como se observó en el cuadro 4, el parámetro b^* de los tratamientos mostró una interacción entre la temperatura y el tiempo de

almacenamiento. En la gráfica se observa un gran aumento del valor de b^* a los 35 días para ambas temperaturas, siendo más pronunciada para aquellos tratamientos almacenados a temperatura ambiente. El tratamiento de control para ambas temperaturas fue el que tuvo mayores valores de b^* durante casi todo el almacenamiento. El diseño irrestricto aleatorio (Apéndice D) mostró que existe diferencia del Δb^* entre los tratamientos. Se evaluó por medio de la prueba de Tukey (Cuadro 6) y se encontró un aumento significativamente mayor de b^* para el tratamiento de nitrógeno a 25°C en comparación con los tratamientos control, sorbato y nitrógeno sorbato a 4°C. También se encontró un cambio menor de b^* para el tratamiento con nitrógeno-sorbato a 4°C en comparación con el mismo tratamiento almacenado a temperatura ambiente.

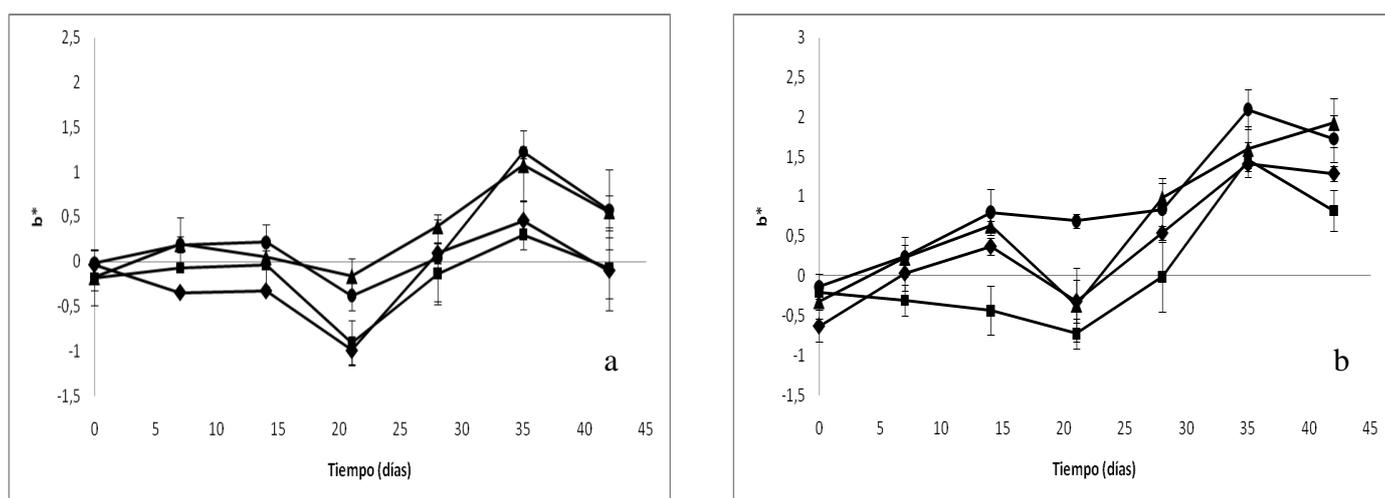


Figura 7. Valor b^* a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: (-◆-) sorbato-nitrógeno, (-■-) sorbato, (-▲-) nitrógeno, (-●-) control

Cuadro 6. Valores y cambio de b^* al inicio y al final del almacenamiento para los tratamientos estudiados

Método de estabilización	Temp (°C)	b^*		
		Día 0	Día 42	Δb^*
Control	4	-0,01	0,58	0,59 ^{bc}
Sorbato		-0,18	-0,07	0,11 ^{bc}
Nitrógeno		-0,17	0,56	0,73 ^{abc}
Nitr-Sorb		-0,03	-0,10	-0,07 ^c
Control	25	-0,14	1,72	1,86 ^{ab}
Sorbato		-0,21	0,82	1,03 ^{abc}
Nitrógeno		-0,32	1,93	2,25 ^a
Nitr-Sorb		-0,63	1,29	1,92 ^{ab}

Nota: entre promedios de cada columna con diferente letra existe diferencia significativa ($p < 0,05$)

La Figura 8 muestra los valores de saturación (C^*) obtenidos para los distintos tratamientos. Durante el almacenamiento, a temperatura de refrigeración, el tratamiento con sorbato mantuvo valores de saturación mayores, mientras que para los tratamientos almacenados a temperatura ambiente fue el tratamiento control el que produjo mayores valores de C^* . Se observaron además oscilaciones en el tiempo muy marcadas para los tratamientos con sorbato-nitrógeno y nitrógeno para ambas temperaturas.

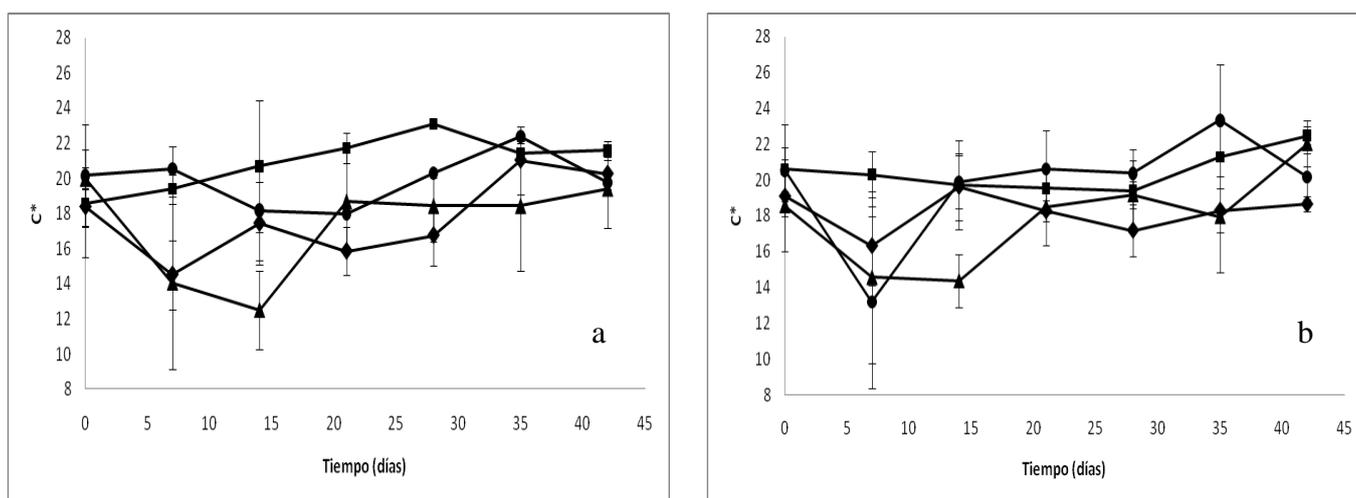


Figura 8. Valor C^* a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: (-◆-) sorbato-nitrógeno, (-■-) sorbato, (-▲-) nitrógeno, (-●-) control

Según el Cuadro 4, para los valores de C^* existen dos interacciones dobles, una entre temperatura*tiempo y otra entre método de estabilización*tiempo. Es decir, que la saturación en las pulpas es dependiente de la temperatura y del método de estabilización a través del tiempo. Como se observa en la Figura 8, la saturación oscila entre las mediciones realizadas cada 7 días, para todos los tratamientos a las dos temperaturas estudiadas, teniendo una tendencia a mantenerse o ir incrementando un poco. El diseño irrestricto aleatorio del Apéndice D, muestra que no existe diferencia de las variaciones de C^* durante el almacenamiento (ΔC^*) para los tratamientos evaluados.

Se calculó el parámetro de h° para determinar las diferencias en el ángulo de tonalidad de color en los distintos tratamientos estudiados. Al no haber diferencias significativas por el método de estabilización utilizado (Cuadro 4), se muestra el comportamiento del ángulo de tonalidad a través del tiempo únicamente para ambas temperaturas de almacenamiento, entre las cuales sí se observó diferencia significativa (Figura 9), resultando valores de h^* más altos a la temperatura de 25°C.

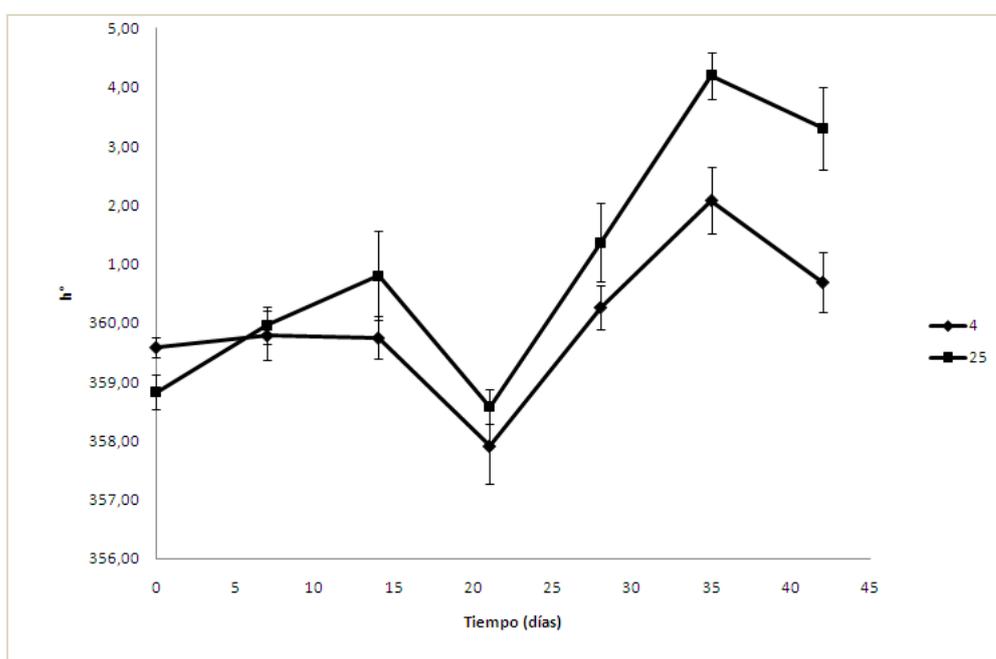


Figura 9. Valor h° a temperatura de almacenamiento de 4°C y 25°C

Se encontró una interacción entre la temperatura*tiempo de almacenamiento para el ángulo h° (Cuadro 4), por lo que el ángulo de tonalidad es dependiente de la temperatura a través del tiempo. Como se muestra en la figura 9, la diferencia en h° entre las dos temperaturas es mayor al aumentar la temperatura.

La diferencia total de color (ΔE^*) fue determinada siguiendo la metodología descrita por Esquivel *et al.* (2007c). Las menores diferencias entre el inicio (0 días) y final del almacenamiento (42 días), se encontraron para los tratamientos de control a 4°C y nitrógeno a 4°C (resaltados en negrita en el Cuadro 8).

Cuadro 8. Diferencia total de color (ΔE^*) entre tratamientos al tiempo 0 días y 42 días: Sorbato-nitrógeno (S-N), Sorbato (S), Nitrógeno (N), Control (C)

ΔE^*		0 días							
		S-N 25°C	S-N 4°C	S 25°C	S 4°C	N 25°C	N 4°C	C 25°C	C 4°C
42 días	S-N 25°C	2							
	S-N 4°C		1,9						
	S 25°C			2,2					
	S 4°C				3,1				
	N 25°C					4,2			
	N 4°C						0,9		
	C 25°C							2	
	C 4°C								0,7

El Cuadro 9 muestra las regresiones lineales de los parámetros de color con respecto al tiempo de almacenamiento. Para el parámetro L* se obtuvo un comportamiento lineal significativo ($p < 0,05$) para los tratamientos de sorbato y sorbato-nitrógeno a 4°C y todos aquellos almacenados a 25°C con excepción del de sorbato-nitrógeno. Se obtuvo una mayor pendiente, aunque pequeña para los tratamientos de control y nitrógeno a 25°C.

La tonalidad de a^* presentó una tendencia lineal para los tratamientos con sorbato y sorbato-nitrógeno en refrigeración y para el control y nitrógeno a temperatura ambiente. El tratamiento de sorbato-nitrógeno a 25°C presentó una ligera pendiente negativa, mientras que el tratamiento con sorbato a 4°C fue el que tuvo un mayor aumento de a^* (pendiente positiva mayor). Todos los tratamientos almacenados a temperatura ambiente y el control y nitrógeno en refrigeración tuvieron una tendencia a la linealidad para el parámetro de b^* a través del tiempo. Para aquellos tratamientos almacenados a 25°C se obtuvo una pendiente más pronunciada que para los almacenados a 4°C, por lo que hubo un mayor aumento de b^* para los primeros. La mayor correlación (R^2) obtenida y por lo tanto la mejor linealidad para todos los parámetros de color, fue el comportamiento de b^* en el tratamiento de sorbato-nitrógeno a 25°C.

Los valores de croma tuvieron una tendencia lineal para los tratamientos de sorbato y sorbato-nitrógeno en refrigeración y control y nitrógeno en ambiente. El tratamiento de control a 25°C fue el que obtuvo la mayor pendiente entre todos los tratamientos, y por lo tanto, el que mostró la mayor saturación a través del tiempo de almacenamiento.

Para el ángulo de tonalidad (h°), se obtuvo una linealidad para todos los tratamientos a ambas temperaturas con excepción del sorbato a 4°C. Los tratamientos almacenados a temperatura ambiente mostraron pendientes más pronunciadas en comparación con los tratamientos en refrigeración.

Cuadro 9. Regresión lineal de los parámetros de color analizados durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya a temperatura de 4°C y 25°C

Parámetro	Método de estabilización	Temperatura (°C)	Pendiente	Intercepto	R ²	Valor P
L*	Control	4	0,0039626	3,8438	0,0087	0,4682
	Sorbato		0,0141709	3,6661	0,0980	0,0188*
	Nitrógeno		0,0123583	3,1819	0,0349	0,1426
	Sorbato-Nitrógeno		0,0163435	3,1683	0,1427	0,0023*
	Control	25	0,0252381	3,4786	0,1787	0,0006*
	Sorbato		0,0091440	3,8239	0,0871	0,0189*
	Nitrógeno		0,0207296	3,2722	0,1089	0,0053*
	Sorbato-Nitrógeno		0,0055045	3,5398	0,0252	0,2144
a*	Control	4	0,0223810	19,4070	0,0105	0,4239
	Sorbato		0,0958291	18,6237	0,1506	0,0031*
	Nitrógeno		0,0657143	15,9725	0,0281	0,1890
	Sorbato-Nitrógeno		0,0915306	15,8091	0,1325	0,0034*
	Control	25	0,0985374	17,6618	0,1018	0,0108*
	Sorbato		0,0365363	19,6860	0,0390	0,1209
	Nitrógeno		0,0937092	16,4041	0,0689	0,0281*
	Sorbato-Nitrógeno		-0,0001130	18,1798	0,0000	0,9959
b*	Control	4	0,0185261	-0,1263	0,1352	0,0030*
	Sorbato		0,0036033	-0,2416	0,0083	0,5033
	Nitrógeno		0,0219444	-0,1843	0,2579	<.0001*
	Sorbato-Nitrógeno		0,0093311	-0,3732	0,0486	0,0825
	Control	25	0,0476134	-0,1038	0,5830	<.0001*
	Sorbato		0,0361054	-0,6741	0,3364	<.0001*
	Nitrógeno		0,0468673	-0,3906	0,4717	<.0001*
	Sorbato-Nitrógeno		0,0442630	-0,5440	0,6067	<.0001*
C*	Control	4	0,0230159	19,4081	0,0111	0,4112
	Sorbato		0,0959375	18,6298	0,1511	0,0031*
	Nitrógeno		0,0661111	15,9750	0,0284	0,1868
	Sorbato-Nitrógeno		0,0917460	15,8157	0,1332	0,0033*
	Control	25	0,1005782	17,6556	0,1053	0,0095*
	Sorbato		0,0372846	19,6886	0,0405	0,1140
	Nitrógeno		0,0955153	16,3978	0,0713	0,0255*
	Sorbato-Nitrógeno		0,0009184	18,1794	0,0000	0,9671
h°	Control	4	0,0490873	359,5312	0,1078	0,0086*
	Sorbato		0,0186416	359,0500	0,0270	0,2278
	Nitrógeno		0,0673583	359,2499	0,2624	<.0001*
	Sorbato-Nitrógeno		0,0371088	358,5096	0,0652	0,0434*
	Control	25	0,1336791	359,4743	0,5497	<.0001*
	Sorbato		0,0935714	358,2053	0,2986	<.0001*
	Nitrógeno		0,1341824	358,9470	0,4514	0,0001*
	Sorbato-Nitrógeno		0,1356519	358,4190	0,5744	<.0001*

*Efecto significativo ($p < 0,05$)

5.2.2 Concentración de betacianinas

En el Cuadro 10 se muestran los resultados del ANDEVA para la concentración de las betacianinas. Se observó el efecto del método de estabilización, de la temperatura y del tiempo evaluados. Además, se observaron dos interacciones dobles, una entre el método de estabilización*tiempo y otra entre temperatura*tiempo, lo cual indica que las variaciones en la concentración de las betacianinas a través del tiempo son dependientes de la temperatura y del método de estabilización que se utilice.

Cuadro 10. ANDEVA del efecto del método de estabilización, temperatura y tiempo sobre la concentración de betacianinas durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya

Efectos	Grados libertad	Valor F	Prob>F
Método de estabilización	3	5,0277	0,0047*
Temperatura	1	100,8946	<,0001*
Método de estabilización*temperatura	3	1,5776	0,2098
Tiempo	1	186,9102	<,0001*
Método de estabilización*tiempo	3	3,3835	0,0273*
Temperatura*tiempo	1	63,6384	<,0001*
Método de estabilización*temperatura*tiempo	3	1,4862	0,2329

*Efecto significativo ($p < 0,05$)

La Figura 10 muestra la concentración de betacianinas presentes en la pulpa de pitaya para los distintos tratamientos estudiados. Como se puede observar, existe una disminución mayor a temperatura ambiente que en refrigeración; a temperaturas de 4°C, la concentración de betacianinas se mantiene mucho más estable.

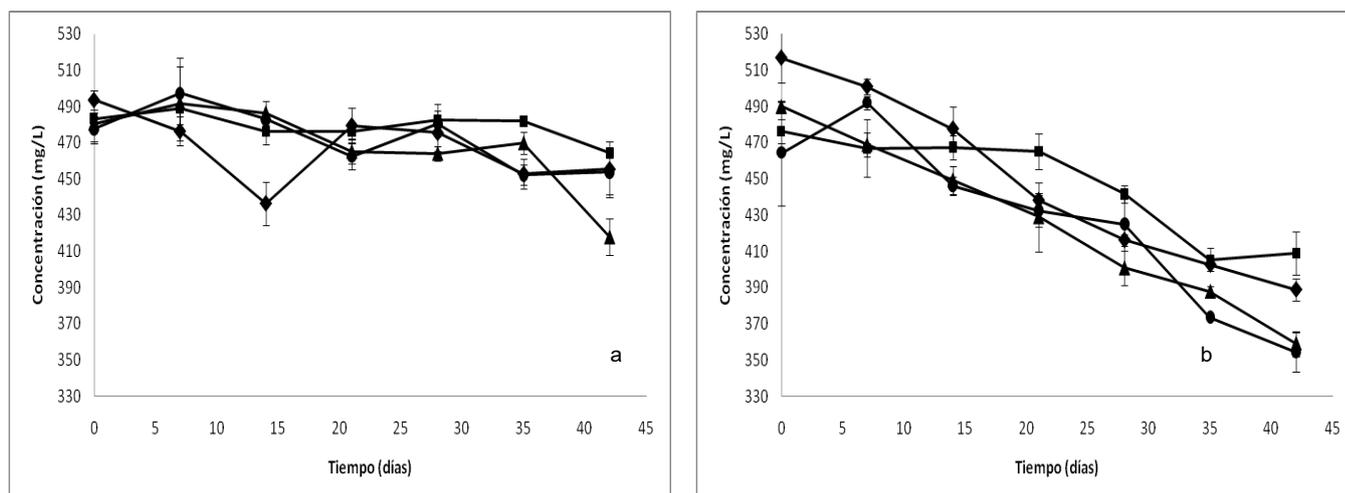


Figura 10. Concentración de las betacianinas (mg/L) a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: (-◆-) sorbato-nitrógeno, (-■-) sorbato, (-▲-) nitrógeno, (-●-) control

El Cuadro 11 muestra los cambios en la concentración de betacianinas obtenidos para cada tratamiento y temperatura de almacenamiento al inicio y al final del período de evaluación por medio del tukey. Debido al tratamiento térmico aplicado, se observaron valores de concentración distintos en el día cero. Se obtuvieron diferencias de concentración entre las temperaturas de almacenamiento. La disminución para el tratamiento de nitrógeno-sorbato a 25°C es significativamente mayor que el tratamiento control, sorbato y sorbato-nitrógeno a 4°C. Además la disminución de la concentración de betacianinas en el tratamiento con nitrógeno a 4°C fue mayor que para el control y sorbato a la misma temperatura de almacenamiento.

Cuadro 11. Valores y cambio de la concentración de betacianinas al inicio y al final del almacenamiento para los tratamientos estudiados

Método de estabilización	Temp (°C)	Concentración		
		Día 0	Día 42	ΔConc
Control	4	477,35	453,59	-23,76 ^a
Sorbato		483,34	464,28	-19,06 ^a
Nitrógeno		480,61	417,92	-121,59 ^{bc}
Nitr-Sorb		493,42	455,12	-38,30 ^{ab}
Control	25	464,26	354,25	-110,00 ^{bc}
Sorbato		476,13	409,02	-67,11 ^{abc}
Nitrógeno		489,82	359,02	-71,9 ^{abc}
Nitr-Sorb		516,76	388,77	-128,00 ^c

Nota: entre promedios con diferente letra existe diferencia significativa ($p < 0,05$)

Las regresiones lineales de la concentración de las betacianinas con respecto al tiempo para ambas temperaturas de almacenamiento se muestran en el Cuadro 12. La concentración para los cuatro tratamientos almacenados a temperatura ambiente muestra una tendencia lineal mientras que únicamente los tratamientos de control y nitrógeno en refrigeración mostraron linealidad. Se obtuvo una correlación lineal muy buena entre la concentración de los tratamientos con nitrógeno y sorbato-nitrógeno a 25°C con respecto al tiempo de almacenamiento ($R^2 > 0,9$). Para todos los tratamientos se obtuvieron pendientes negativas, siendo más pronunciadas para los tratamientos a temperatura ambiente, por lo que para estos, se observó una disminución mayor en la concentración.

Cuadro 12. Regresión lineal de la concentración de betacianinas durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya a temperatura de 4°C y 25°C

	Método de estabilización	Temperatura	Pendiente	Intercepto	R ²	Valor P
Concentración de betacianinas	Control	4	-0,836611	489,8017	0,2670	0,0165*
	Sorbato		-0,332986	485,9795	0,1418	0,0925
	Nitrógeno		-1,297500	489,1361	0,6437	0,0299*
	Sorbato-Nitrógeno		-0,650150	480,3237	0,1354	0,1008
	Control	25	-3,000026	489,6871	0,7044	<,0001*
	Sorbato		-1,785553	484,8268	0,6333	<,0001*
	Nitrógeno		-2,955051	489,5104	0,9961	<,0001*
	Sorbato-Nitrógeno		-3,275526	517,4595	0,9067	<,0001*

*Efecto significativo ($p < 0,05$)

5.2.3 Perfil de las betacianinas

Se analizó el perfil de betalaínas mediante HPLC para determinar el porcentaje de betacianinas acetiladas y no acetiladas. Al realizar el ANDEVA se encontró que tanto para las betacianinas acetiladas como no acetiladas existe una interacción triple entre método de estabilización* temperatura de almacenamiento* tiempo (Cuadro 12). Además se presentaron diferencias para la temperatura utilizada y el tiempo de almacenamiento.

Cuadro 13. ANDEVA del efecto del método de estabilización, temperatura y tiempo sobre el porcentaje de betacianinas acetiladas y no acetiladas durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya

Parámetro	Efectos	Grados libertad	Valor F	Prob>F
% betacianinas no acetiladas	Método de estabilización	3	0,0875	0,9665
	Temperatura	1	106,5029	<,0001*
	Método de estabilización*temperatura	3	2,3431	0,0875
	Tiempo	1	94,6193	<,0001*
	Método de estabilización*tiempo	3	0,036	0,9907
	Temperatura*tiempo	1	18,2164	0,0001*
	Método de estabilización*temperatura*tiempo	3	3,6017	0,0215*
% betacianinas acetiladas	Método de estabilización	3	0,0879	0,9663
	Temperatura	1	106,5026	<,0001*
	Método de estabilización*temperatura	3	2,3429	0,0875
	Tiempo	1	94,6264	<,0001*
	Método de estabilización*tiempo	3	0,036	0,9907
	Temperatura*tiempo	1	18,2161	0,0001*
	Método de estabilización*temperatura*tiempo	3	3,6017	0,0215*

*Efecto significativo ($p < 0,05$)

Las Figuras 11 y 12 muestran el comportamiento de las concentraciones de betacianinas acetiladas y no acetiladas para los tratamientos estudiados. Se observa un aumento en la concentración de las betacianinas no acetiladas (Figura 11), mientras que se muestra una disminución en el porcentaje de betacianinas acetiladas (Figura 12).

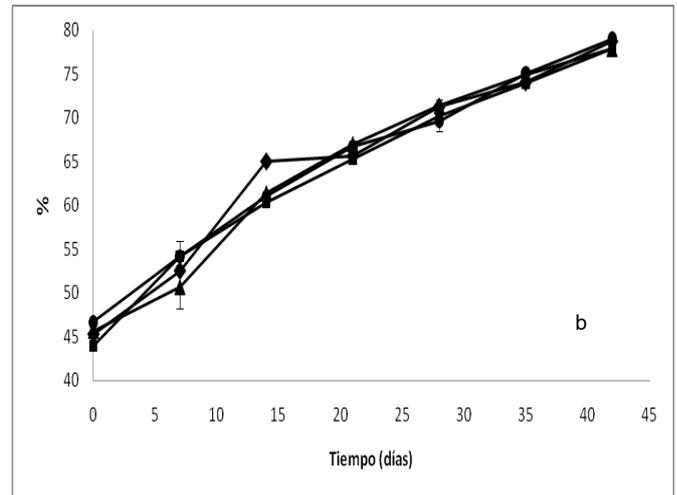
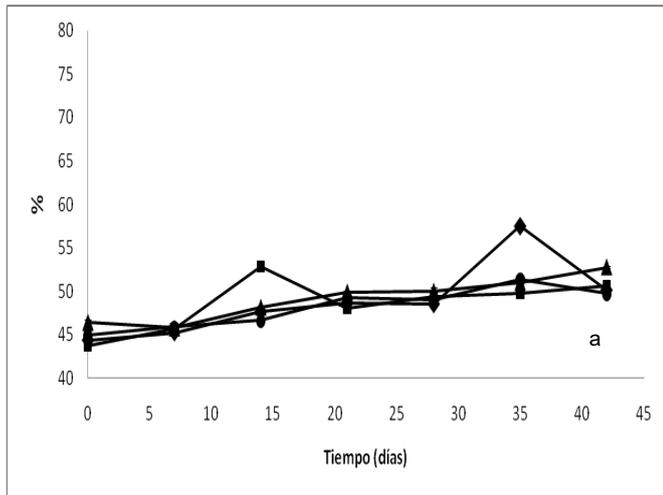


Figura 11. Porcentaje de betacianinas no acetiladas a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: (-◆-) sorbato-nitrógeno, (-■-) sorbato, (-▲-) nitrógeno, (-●-) control

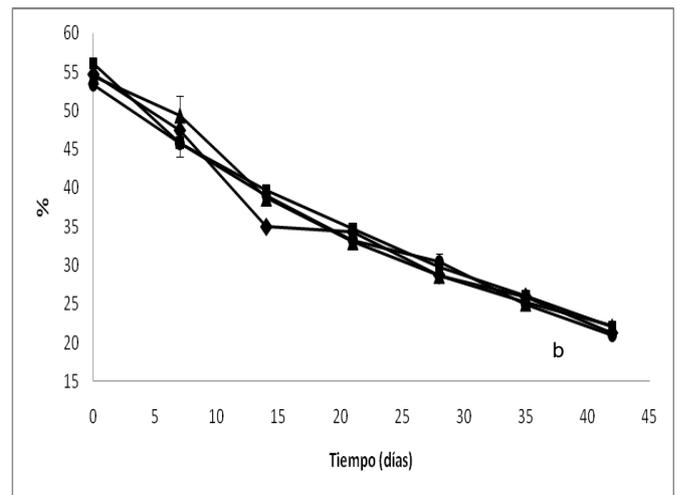
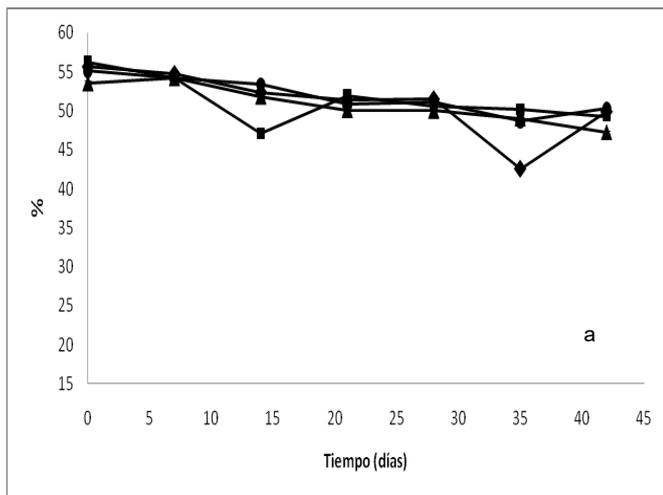


Figura 12. Porcentaje de betacianinas acetiladas a temperatura de almacenamiento de 4°C (a) y 25°C (b) para los diferentes tratamientos: (-◆-) sorbato-nitrógeno, (-■-) sorbato, (-▲-) nitrógeno, (-●-) control

En las Figuras 11 y 12, es difícil observar el efecto del método de estabilización para los distintos tratamientos, y como el Apéndice D muestra que existe diferencia en las variaciones del porcentaje de acetiladas y no acetiladas se realizó la prueba de Tukey, la cual se muestra en el Cuadro 14. Se obtuvo diferencias significativas entre los tratamientos almacenados a temperatura ambiente y aquellos en refrigeración, el aumento de las betacianinas no acetiladas fue mayor a temperatura ambiente.

Cuadro 14. Valores y cambio del porcentaje de betacianinas acetiladas y no acetiladas al inicio y al final del almacenamiento para los tratamientos estudiados

Método de estabilización	Temp (°C)	% betac no acetiladas			% betac acetiladas		
		Inicial	Final	$\Delta\%NA$	Inicial	Final	$\Delta\%A$
Control	4	44,93	49,69	4,76 ^a	55,07	50,31	-4,76 ^a
Sorbato		43,76	50,68	6,92 ^b	56,25	49,33	-6,92 ^b
Nitrógeno		46,47	52,78	6,31 ^b	53,54	47,23	-6,31 ^b
Nitr-Sorb		44,37	50,12	5,75 ^{ab}	55,63	49,88	-5,75 ^{ab}
Control	25	46,65	79,05	32,40 ^{cd}	53,36	20,96	-32,40 ^{cd}
Sorbato		43,91	77,93	34,02 ^d	56,09	22,07	-34,02 ^d
Nitrógeno		45,61	77,86	32,25 ^c	54,39	22,14	-32,25 ^c
Nitr-Sorb		45,27	78,69	33,42 ^d	54,73	21,31	-33,42 ^d

Nota: entre promedios con diferente letra existe diferencia significativa ($p < 0,05$)

El cuadro 15 muestra las regresiones en función del tiempo del porcentaje de concentración de betacianinas acetiladas y no acetiladas. En todos los casos se observa un comportamiento lineal con una alta probabilidad ($p < 0,0001$), a excepción del tratamiento de sorbato-nitrógeno a 4°C, donde la linealidad es de $p < 0,015$. Las pendientes fueron mayores en los tratamientos almacenados a temperatura ambiente, por lo que se observó un aumento mayor en el porcentaje de betacianinas no acetiladas y una disminución mayor en el porcentaje de betacianinas acetiladas a lo largo del tiempo a mayor temperatura. En general se obtuvieron buenas correlaciones (R^2), con excepción del tratamiento con sorbato-nitrógeno a 4°C.

Cuadro 15. Regresión lineal del porcentaje de betacianinas no acetiladas y acetiladas durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya a temperatura de 4°C y 25°C

	Método de estabilización	Temperatura	Pendiente	Intercepto	R ²	Valor P
Betacianinas no acetiladas	Control	4	0,1406293	45,1401	0,7905	<,0001*
	Sorbato		0,1576875	44,5889	0,8737	<,0001*
	Nitrógeno		0,1590306	45,8227	0,8742	<,0001*
	Sorbato-Nitrógeno		0,2169558	44,3125	0,2733	0,015*
	Control	25	0,7530782	48,8011	0,9763	<,0001*
	Sorbato		0,8079456	46,4062	0,9647	<,0001*
	Nitrógeno		0,7918197	47,4556	0,9414	<,0001*
	Sorbato-Nitrógeno		0,775938	48,1113	0,8917	<,0001*
Betacianinas acetiladas	Control	4	-0,140629	54,8599	0,7905	<,0001*
	Sorbato		-0,157687	55,4111	0,8737	<,0001*
	Nitrógeno		-0,159031	54,1773	0,8742	<,0001*
	Sorbato-Nitrógeno		-0,216956	55,6875	0,2733	0,015*
	Control	25	-0,753078	51,1989	0,9763	<,0001*
	Sorbato		-0,807946	53,5938	0,9647	<,0001*
	Nitrógeno		-0,791819	52,5444	0,9414	<,0001*
	Sorbato-Nitrógeno		-0,775938	51,8887	0,8917	<,0001*

*Efecto significativo ($p < 0,05$)

5.2.4 pH

El cuadro 16 muestra el ANDEVA obtenido para el parámetro de pH, donde se encontró que únicamente hubo efecto significativo del tiempo ($p < 0,05$).

Cuadro 16. Efecto del método de estabilización, temperatura y tiempo sobre el pH durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya

Efectos	Grados libertad	Valor F	Prob>F
Método de estabilización	3	1,6823	0,1862
Temperatura	1	0,286	0,5958
Método de estabilización*temperatura	3	0,0452	0,9871
Tiempo	1	10,5678	0,0023*
Método de estabilización*tiempo	3	0,0292	0,9932
Temperatura*tiempo	1	1,7129	0,1981
Método de estabilización*temperatura*tiempo	3	0,0858	0,9674

*Efecto significativo ($p < 0,05$)

Al haber únicamente diferencia en el tiempo, se presenta en la Figura 13 el comportamiento promedio del pH en el tiempo de almacenamiento.

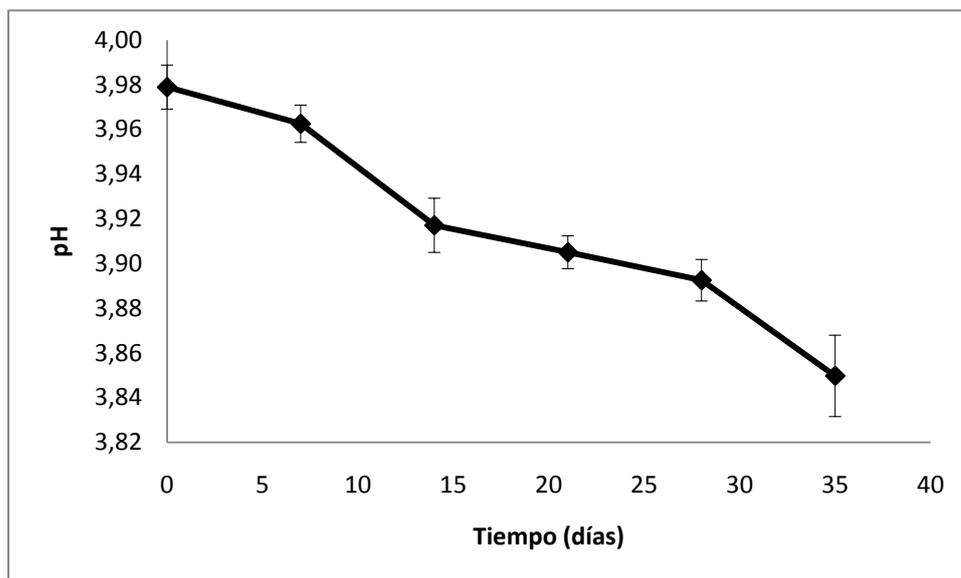


Figura 13. pH de todos los tratamientos a lo largo del estudio de almacenamiento.

En el Cuadro 17 se muestran las regresiones lineales de los distintos tratamientos a través del tiempo. Se observa que únicamente existe un comportamiento lineal a través del tiempo ($p < 0,05$) para los tratamientos de control, sorbato y sorbato nitrógeno almacenados a temperatura de refrigeración y que no existe linealidad de este parámetro para estos tratamientos almacenados a temperatura ambiente. Las pendientes fueron muy pequeñas para todos los tratamientos, pero en general tienden a disminuir; sin embargo, los R^2 son muy bajos, lo que indica poco ajuste a la ecuación lineal.

Cuadro 17. Regresión lineal del pH durante el almacenamiento de la pulpa de pitaya a temperatura de 4°C y 25°C

	Método de estabilización	Temperatura	Pendiente	Intercepto	R ²	Valor P
pH	Control	4	-0,002041	3,9743	0,2372	0,0251*
	Sorbato		-0,00148	3,9573	0,2214	0,0313*
	Nitrógeno		-0,002432	3,9463	0,1149	0,1329
	Sorbato-Nitrógeno		-0,002364	3,9763	0,3730	0,0033*
	Control	25	-0,001071	3,9654	0,1013	0,1596
	Sorbato		-0,001054	3,9517	0,1130	0,1362
	Nitrógeno		-0,000748	3,9210	0,0128	0,6254
	Sorbato-Nitrógeno		-0,000646	3,9464	0,0488	0,3359

*Efecto significativo ($p < 0,05$)

5.3 Microbiología de los tratamientos de la pulpa de pitaya

En el Cuadro 18 se muestran los resultados de los análisis microbiológicos (hongos y levaduras) para todos los tratamientos estudiados durante los 42 días de almacenamiento. La mayoría de los resultados muestran conteos inferiores a los 10^4 UFC/g, con la excepción del tratamiento con nitrógeno a 4°C al día 7 y día 42, donde se obtuvo un recuento incontable, y del tratamiento con nitrógeno sorbato a 25°C el día 14 donde se obtuvo un recuento de $7,0 \times 10^5$ UFC/g. No se logró observar un efecto específico del tiempo de almacenamiento para los distintos tratamientos.

Cuadro 18. Análisis microbiológicos de hongos y levaduras para los distintos tratamientos de la pulpa de pitaya durante el almacenamiento

Muestra	Temp (°C)	Lote	Recuento de Hongos y Levaduras (UFC/g)					
			Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Día 35	Día 42
Control	4	1	<3	<3	<3	1,5*10 ³	<3	1,0*10 ²
		2	1,2*10 ⁴	<3	<3	<3	1,0*10 ¹	1,0*10 ²
	25	1	<3	<3	5,0*10 ²	<3	<3	<3
		2	<3	<3	<3	1,2*10 ³	<3	1,0*10 ²
Sorbato	4	1	<3	<3	1,0*10 ¹	<3	<3	6,0*10 ²
		2	<3	<3	3,0*10 ¹	<3	<3	4,0*10 ³
	25	1	1,6*10 ⁴	<3	<3	<3	<3	<3
		2	7,0*10 ³	<3	5,0*10 ¹	<3	<3	<3
Nitrógeno	4	1	Inc ^a	<3	<3	1,8*10 ²	<3	Inc ^a
		2	<3	<3	7,2*10 ²	<3	<3	<3
	25	1	<3	<3	2,0*10 ²	2,5*10 ³	<3	<3
		2	<3	3,0*10 ¹	1,3*10 ³	<3	Inc ^a	2,8*10 ⁴
Nitrógeno-sorbato	4	1	<3	<3	<3	1,2*10 ⁴	5,0*10 ¹	<3
		2	<3	<3	7,0*10 ²	<3	<3	4,0*10 ²
	25	1	1,9*10 ⁴	5,0*10 ¹	<3	<3	<3	<3
		2	<3	7,0*10 ⁵	<3	<3	<3	<3

^a Incontable

VI. Discusión

6.1 Comparación de los rendimientos y propiedades físico-químicas de los genotipos Rosa y Orejona

Se evaluaron los rendimientos de extracción de pulpa de frutos de pitaya con cáscara y sin ella. La cáscara comprende entre un 26%-35% del peso de la fruta (Esquivel *et al.*, 2007b), por lo que resulta importante su consideración. Además, la pitaya contiene una gran cantidad de semillas, por lo que el rendimiento que se obtenga de la separación de la pulpa y las semillas depende del tipo de equipo con el que se realice. Para la extracción de la pulpa en este estudio, se utilizó un método similar al descrito por Esquivel *et al.* (2007b).

En el Cuadro 3 se presentan los rendimientos para Rosa y Orejona con cáscara y sin ella. En ambos casos, Rosa obtuvo valores significativamente mayores que Orejona. Se obtuvo 42% de rendimiento de la fruta sin cáscara para Rosa y un 26% para Orejona (Cuadro 3). Estos valores son similares a los que presentan Esquivel *et al.* (2007b) para estos dos genotipos sin cáscara, los cuales varían entre 29% y 36%. Para los propósitos de la investigación se requería reconocer el genotipo con mayor rendimiento para un mejor aprovechamiento de los frutos.

Se compararon los distintos parámetros de color (L^* , a^* , b^* , C^* y h°) para ambos genotipos, pero no se encontraron diferencias significativas de color entre los genotipos estudiados (Cuadro 3).

Según Stintzing y Carle (2006), el pH de los diferentes genotipos de *Hylocereus* comprende un rango de valores entre 4,3 y 4,7. Como se observa en el Cuadro 3, se obtuvieron valores similares en el presente estudio. Stintzing *et al.* (2003) reportaron rangos entre 9 y 11 °Brix para las frutas *Hylocereus*; en este caso, se obtuvieron valores un poco más elevados para ambos genotipos (Cuadro 3). Ello puede deberse al grado de madurez de la fruta (Duru y Turker, 2005) con la que se trabajó, ya que el

contenido de sólidos solubles varía dependiendo de la etapa en que se encuentre la fruta y de las condiciones climáticas.

En el Cuadro 3 se muestra que los valores de acidez titulable para los genotipos Rosa y Orejona no son significativamente diferentes entre sí. Los valores obtenidos se encuentran dentro del ámbito descrito por Stintzing *et al.* (2003) para *Hylocereus polyrhizus*.

Los valores de pectina en Rosa son significativamente mayores a los de Orejona (Cuadro 3). Para ambos genotipos, el contenido de pectina fue un poco mayor a los señalados por Esquivel *et al.* (2007b), lo cual puede deberse a una diferencia en el contenido mucilaginoso de las frutas utilizadas en respuesta a condiciones ambientales imperantes durante el desarrollo del fruto.

Basándose en los resultados anteriores, se escogió utilizar el genotipo Rosa para el estudio de almacenamiento. Como se mencionó anteriormente, los rendimientos fueron mucho más elevados que los encontrados en el genotipo Orejona y, por consiguiente, sería económicamente más factible producir las pulpas comercializables con este genotipo. Además, el genotipo Rosa presenta un pH menor, el cual lo hace menos susceptible al deterioro microbiano.

6.2 Efecto del método de estabilización, de la temperatura y del tiempo de almacenamiento sobre las variables estudiadas

6.2.1. Color

Los cambios en el color de la pulpa de pitaya para los distintos tratamientos se determinaron monitoreando los parámetros L^* , b^* , a^* , C^* y h° . La interacción que se obtuvo para las variables L^* , b^* , C^* , h° entre temperatura de almacenamiento* tiempo (Cuadro 4).

Según Herbach *et al.* (2006b), un incremento en los valores de luminosidad (L^*) indica una disminución en las concentraciones de betacianinas, ya que el pigmento no es tan intenso y permite un mayor paso de la luz a través de su matriz. Como se observa en

la Figura 5, los tratamientos almacenados a 25°C tendieron a presentar valores ligeramente mayores de L^* a través de todo el estudio, pero estos cambios son muy leves y difíciles de observar en la gráfica. En el Cuadro 6 se muestran las variaciones de la luminosidad entre el inicio y el final del estudio, donde se observa una disminución en las concentraciones de betacianinas, como lo mencionaron Herbach *et al.* (2006b). No obstante, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para los cambios de L^* , por lo que las variaciones para todos los tratamientos fue similar.

Para evaluar el efecto del tiempo sobre el parámetro de luminosidad, se realizó un análisis de regresión lineal, ya que esta permite conocer la relación lineal y dependencia que existe entre dos variables, el eje x y eje y. Además, la pendiente permite determinar si la variable dependiente (eje y- parámetro a evaluar) aumenta o disminuye significativamente con el tiempo (Filipini, 2008). Como se muestra en el Cuadro 9, a temperatura de refrigeración, las variables de sorbato y sorbato-nitrógeno presentan una tendencia lineal, al igual que los tratamientos control, con sorbato y nitrógeno almacenados a temperatura ambiente. Según Castellar *et al.* (2003), la luminosidad (L^*) se ve afectada por la temperatura de almacenamiento y al nivel de oxígeno presente. Los resultados obtenidos van acorde a lo mencionado en la literatura, ya que el tratamiento que presentó una pendiente mayor, y por lo tanto, un aumento mayor en la luminosidad a través del tiempo fue el tratamiento control almacenado a temperatura ambiente.

El componente a^* representa la diferencia entre el verde ($-a^*$) y el rojo ($+a^*$) y el componente b^* representa la diferencia entre azul ($-b^*$) y amarillo ($+b^*$); valores mayores de a^* tienden a ser más rojos y valores más altos en b^* tienden a ser más amarillos (Sahim y Gulüm Sumnu, 2006). Como se observa en la Figura 6, los tratamientos con nitrógeno tienen variaciones entre mediciones realizadas durante el almacenamiento; a los 7 y 14 días fueron los que presentaron los valores más bajos en a^* para ambas temperaturas. Según el Cuadro 4, el cambio en parámetro de a^* fue únicamente significativo para el método de estabilización utilizado. El cuadro 5 muestra que el tratamiento con sorbato presenta tonalidades más rojas (mayores valores de a^*) en comparación con los tratamientos de sorbato y sorbato-nitrógeno. El sorbato es un preservante y, según Herbach *et al.* (2006a), los preservantes mejoran

la estabilidad de la pulpa, manteniendo el color rojo por un tiempo mayor. El tratamiento con nitrógeno fue el que tuvo el menor aumento en la tonalidad roja, lo cual puede deberse a las reacciones de degradación ocurridas en la matriz de este tratamiento.

El Cuadro 9 muestra las regresiones lineales para el parámetro de tonalidad a^* en función del tiempo. A temperaturas de refrigeración, los tratamientos con sorbato y sorbato-nitrógeno presentaron una tendencia lineal, mientras que el control y nitrógeno a temperatura ambiente fueron los que tuvieron la tendencia a la linealidad. Además, los tratamientos antes mencionados fueron los que presentaron una pendiente mayor, es decir, que tuvieron un aumento más pronunciado en a^* a través del tiempo y por lo tanto, mantuvieron colores más rojos (mayor a^*) durante el almacenamiento. El aumento en a^* se incrementa con la temperatura (Saenz, *et al.*, 1993), lo cual se observa también en el Cuadro 9, donde las pendientes son mayores para los tratamientos almacenados a 25°C.

Como se muestra en la Figura 7 y en el Cuadro 6, los valores de b^* aumentan en mayor grado para los tratamientos almacenados a temperatura ambiente, por lo que la pulpa durante el almacenamiento tiende a tomar tonalidades más amarillas que aquellos almacenados en refrigeración. Este aumento en el valor de b^* puede deberse a la degradación de la betanina, ya que cuando esta se degrada produce ácido betalámico, el cual es un compuesto de color amarillo (Herbach *et al.*, 2006a). Además, Herbach *et al.* (2004) encontraron que la descomposición por deshidrogenación de la filocactina y la hilocerenina forman la neobetanina, el cual es un compuesto igualmente amarillo que puede producir variaciones en la tonalidad. Al dar tonalidades de b^* mayores, y mantenerse o aumentar a^* ligeramente, se producen colores más oscuros en la pulpa (colores café), lo cual es una muestra importante de la degradación de los pigmentos que dan el color rojo-púrpura de la fruta. Estos cambios en el color también se observaron visualmente. Las betalaínas tuvieron un comportamiento similar a las antocianinas, donde, durante el almacenamiento, se comienza a incrementar el oscurecimiento y la transformación en tonalidades cafés (Turker *et al.*, 2004).

Para observar la linealidad de b^* a través del tiempo, se muestran las regresiones en el cuadro 9. Para todos los tratamientos que se almacenaron a temperatura ambiente y para los tratamientos de control y nitrógeno a temperatura de refrigeración existe una tendencia lineal a través del tiempo de almacenamiento. Las pendientes fueron mayores para todos los tratamientos almacenados a temperatura ambiente sin importar el método de estabilización utilizado, lo cual indica que las pulpas para estos tratamientos se tornaron más amarillas. La degradación de los pigmentos responsables del color rojo se da en mayor grado a temperaturas altas (Castellar *et al.*, 2003), lo cual se corrobora con el aumento de las tonalidades amarillas (b^*) para todos los tratamientos almacenados a 25°C. Además, durante la degradación de los pigmentos, se forman productos de color amarillo (Herbach *et al.*, 2006) que pueden ser los causantes de los cambios en los valores de b^* .

Valores más altos en el componente C^* indican una mayor saturación del color (Shanda, 2007). En la Figura 8 se muestra la saturación obtenida para cada tratamiento. Los cambios observados en la saturación para todos los tratamientos a ambas temperaturas son pequeños. Según el Cuadro 7, existe un cambio mayor durante todo el almacenamiento para el tratamiento de sorbato a 4°C y para el tratamiento de nitrógeno a 25°C. Estos cambios indicarían un aumento mayor en la saturación, pero al observar los datos obtenidos en el Cuadro 9, el control a temperatura ambiente es el que presenta una pendiente mayor y por lo tanto es el que muestra un mayor aumento de C^* . Estos resultados no van acorde a lo esperado, ya que, según Herbach *et al.* (2006b), un incremento en la cantidad de compuestos de degradación de colores variados, producen una disminución de C^* . Estas diferencias son producto de los resultados obtenidos para los valores a^* y b^* , un aumento en ellos provoca un grado de saturación mayor. Un aumento en la saturación puede generar que el color se vea más puro, pero no necesariamente el color que se desea.

La degradación de las betalaínas se puede ver reflejada por medio del componente del ángulo de tonalidad h° ; un incremento en el ángulo h° , significa una degradación mayor del pigmento (Herbach *et al.*, 2004). Para h° , un ángulo de 0° ó 360° es de color rojo, 90° es amarillo, 180° es verde y 270° es azul (Sapers, 1994). En la Figura 9 se muestra que, para todos los tratamientos almacenados en refrigeración, el ángulo se mantuvo cerca de los 360°, es decir en las tonalidades rojas, mientras que para los

tratamientos almacenados a temperatura ambiente los ángulos fueron mayores, tendiendo más a las tonalidades anaranjadas. Este aumento en h° indica que la pulpa para los tratamientos almacenados a temperatura ambiente, adquirió un color más café y menos rojizo y, por lo tanto, sufrió una mayor degradación en los pigmentos (Herbach *et al.*, 2007).

Por medio de las regresiones lineales en el Cuadro 9, se encontró que existe una relación lineal para todos los tratamientos almacenados a ambas temperaturas con la excepción del sorbato en refrigeración. Los tratamientos a temperatura ambiente tuvieron pendientes mucho mayores que para las pulpas refrigeradas, lo cual muestra que existe un aumento más pronunciado para los productos que se almacenaron a 25°C. Estos aumentos para los tratamientos almacenados a temperatura ambiente indican cambio mayor en el ángulo de tonalidad, es decir que las pulpas para estos tratamientos se tornan más anaranjadas y menos rojizos; señal importante de la degradación de las betacianinas. A temperaturas de 25°C la degradación es mayor, ya que tiene una energía de activación menor, por lo tanto las reacciones se dan a una mayor velocidad (Belitz, 2009).

El ΔE^* se determinó con el fin de considerar el efecto global de todos los parámetros de color y así determinar los cambios generales observados en la pulpa para los distintos tratamientos. Gonnet (1998) postuló un cambio mínimo de $\Delta E^*=1$ para observar una diferencia en el umbral de percepción visual del cambio de color. El valor de ΔE^* indica que los cambios de color entre estos tratamientos determinados instrumentalmente con el colorímetro, también pueden ser percibidos visualmente. Se obtuvo un valor de ΔE^* menor a 1 para los tratamientos de nitrógeno y control a 4°C (Cuadro 8). A pesar de ello, los ΔE^* se acercan mucho a 1, lo que indica que todos los tratamientos evaluados tuvieron variaciones del color que posiblemente pueden ser percibidos a simple vista. El tratamiento con nitrógeno a temperatura ambiente fue el que mostró una variación mayor, lo cual se debe principalmente al aumento en la tonalidad amarilla producto de la degradación de los pigmentos.

6.2.2 Concentración de betacianinas

Según el cuadro 10, la concentración de betacianinas presenta dos interacciones dobles, una entre el método de estabilización*tiempo y otra entre la temperatura de almacenamiento*tiempo. La interacción entre temperatura de almacenamiento*tiempo muestra que la variación en la concentración a través del tiempo es dependiente de la temperatura a la que se almacenen las muestras, mientras que la interacción método de estabilización*tiempo muestra que la variación de la concentración de betacianinas a través del tiempo también es dependiente del método de estabilización que se utilice.

La concentración se midió a 538 nm, ya que es la longitud de onda de máxima absorción de las betacianinas (Stintzing *et al.*, 2003). La disminución en la concentración se debe a que las betacianinas y sus isómeros sufren de varias reacciones químicas como la hidrólisis o la deshidrogenación durante su degradación (Azeredo, 2008). La Figura 10 muestra que para todos los tratamientos existe una disminución en la concentración. Algunos de los productos de degradación de color amarillo (neobetanina, ácido betalámico, etc) que se forman no absorben a la longitud de onda de 538 nm (Herbach *et al.*, 2006a), por lo que se puede deducir que existe una degradación de las betacianinas.

Una disminución en la concentración de las betacianinas está asociada a una variación en el color de la pulpa, ya que estas son los pigmentos responsables del color rojo-púrpura (Azeredo, 2008). Según Herbach *et al.* (2006b), se producen incrementos en los valores de luminosidad (L^*) cuando se disminuye la concentración de las betacianinas. Estos resultados concuerdan con los discutidos en el apartado previo de color.

Se observa en la Figura 10 y el Cuadro 11 una disminución mucho más pronunciada en aquellos tratamientos almacenados a temperatura ambiente que en aquellos almacenados en refrigeración. García-Barrera *et al.* (1998) estudiaron la vida media de las betacianinas y determinaron que esta es mayor a temperaturas de almacenamiento más bajas. Los resultados obtenidos por ellos concuerdan con los determinados en este estudio.

Los tratamientos con nitrógeno provocaron una disminución importante de la concentración sin importar la temperatura a la cual estuvieran almacenados (Cuadro 11). Esto contradice lo encontrado por Attoe y von Elbe (1982), quienes señalan que una atmósfera con nitrógeno puede incrementar la estabilidad de la betanina, la cual es la principal betacianina. Una posible causa de la diferencia puede deberse a que las pulpas contenían oxígeno residual que no se eliminó con la atmósfera de nitrógeno creada, porque tal vez el método de aplicación del nitrógeno no fue el mejor. El nitrógeno como método de estabilización no permitió mantener una concentración estable de betacianinas durante un almacenamiento sin importar la temperatura, por lo que no es recomendable en las condiciones evaluadas.

Según el Cuadro 12, la concentración de betacianinas varió con un comportamiento lineal para todos los tratamientos almacenados a temperatura ambiente y para el tratamiento control y con nitrógeno almacenados a 4°C. Se obtuvo una pendiente negativa más pronunciada para los tratamientos de control y sorbato-nitrógeno a 25°C, lo cual indica una mayor disminución de la concentración para éstos tratamientos. Esta disminución de la concentración de betacianinas es producto de las reacciones de degradación, los cuales son mayores a temperaturas más elevadas (Herbach *et al.*, 2004).

6.2.3 Perfil de las betacianinas

El Cuadro 13 muestra que el porcentaje de betacianinas acetiladas y en consecuencia también de las no acetiladas, presenta una interacción triple entre método de estabilización*temperatura de almacenamiento*tiempo. Esta interacción muestra que la variación en el porcentaje de betacianinas acetiladas y no acetiladas es dependiente tanto de la temperatura a la cual se almacena la pulpa, como del método de estabilización que se utilice a través del tiempo de almacenamiento.

Wybraniec *et al.* (2001) y Stintzing *et al.* (2002a) reportaron que la betanina, la filocactina, la hilocerenina y sus respectivos isómeros son los principales componentes betalaínicos presentes en los frutos *Hylocereus* sp. La filocactina es una betacianina

acetilada con un grupo malonilo, mientras que la hilocerenina está acetilada con un grupo 3-hidroxi-3metil glutarilo (Esquivel *et al.*, 2007c). En la figura 14 se muestran los grupos de acetilación para la filocactina y la hilocerenina.

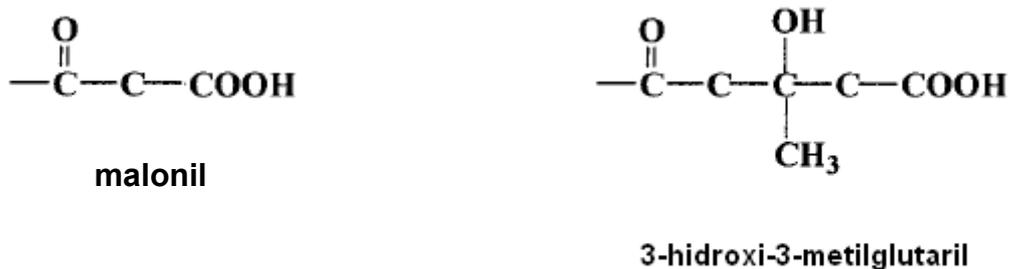


Figura 14. Grupos de acetilación de la filocactina y la hilocerenina

En las Figuras 11 y 12, se observa que el porcentaje de betacianinas no acetiladas presentes en la pulpa se mantiene más estable o aumenta en comparación con las acetiladas. Estudios anteriores encontraron que las betacianinas no acetiladas son inestables a temperaturas elevadas (Herbach *et al.*, 2004) y que la acetilación aumenta la estabilidad de las betacianinas y reduce la racemización (Cai *et al.*, 2001b). Investigaciones más recientes (Herbach *et al.*, 2006b) demostraron lo contrario. En estas investigaciones se evaluó la estabilidad de la betanina (no acetilada) e hilocerenina y filocactina (acetiladas) de la pitaya por medio del HPLC y se encontró que la betanina fue la estructura más estable. Además, se demostró que la supuesta estabilidad que se había encontrado en estudios anteriores de las betacianinas acetiladas, como la filocactina y la hilocerenina, se debió a la formación de productos de degradación de color rojo.

En el Cuadro 14 se observa que entre el inicio y el final del almacenamiento, el porcentaje de betacianinas no acetiladas aumenta, mientras que existe una disminución en las acetiladas. Una de las formas de degradación de las betacianinas acetiladas es la hidrólisis de la fracción acetílica (Herbach *et al.*, 2006a); la eliminación

de esta fracción da como resultado la betanina, lo cual puede ser la causa del aumento en el porcentaje de concentración de la betacianinas no acetiladas.

Como se muestra en el Cuadro 15, el porcentaje de betacianinas acetiladas y no acetiladas para todos los tratamientos a ambas temperaturas presentan un comportamiento lineal. Las betacianinas no acetiladas tienen una pendiente positiva, lo que muestra que la betanina aumenta con el tiempo, mientras que existe una degradación de hilocerenina y filocactina. Esto fue descrito por Herbach *et al.* (2006b), quienes encontraron que la filocactina e hilocerenina tienen una vida media un 20% menor que la de la betanina en soluciones puras. Además, en el mismo cuadro se observa que las pendientes a temperatura ambiente fueron mucho mayores que para los tratamientos en refrigeración, por lo que existe un mayor aumento de las betacianinas no acetiladas en los tratamientos almacenados a temperatura ambiente; lo cual ocurre debido a la degradación de las betacianinas no acetiladas como se mencionó en el párrafo anterior.

6.2.4 pH

El pH de la pulpa para todos los tratamientos tuvo un comportamiento similar, únicamente se observó un efecto del tiempo de almacenamiento (Figura 13).

Durante la descomposición, las betacianinas pueden formar productos de degradación que provocan la disminución en el pH (Herbach *et al.*, 2004), lo cual puede ser la causa de lo observado en la Figura 15.

El Cuadro 17 muestra que únicamente para el tratamiento de control, sorbato y sorbato-nitrógeno a temperatura de refrigeración existe relación lineal entre el pH y el tiempo. Para los ocho tratamientos se tiene una pendiente negativa, pero estas son muy pequeñas debido al aumento observado al final del almacenamiento.

6.3 Microbiología de los tratamientos de la pulpa de pitaya

La alteración de las frutas es causada más frecuentemente por levaduras y mohos que por bacterias (Brackett, 2001) debido a que la mayor parte de los hongos prefieren medios ligeramente ácidos, con valores de pH de 4 a 6 (Prescott *et al.*, 2002). Las frutas cítricas tienen un pH entre 2,75 y 4,35 (Cherian *et al.*, 2008). Se realizaron análisis microbiológicos de mohos y levaduras en los ocho tratamientos durante el almacenamiento de los 42 días y los resultados se muestran en el Cuadro 18. Microbiológicamente, la pulpa de pitaya a pesar de que mostró algunas contaminaciones aisladas, tuvo una buena estabilidad durante todo el almacenamiento, ya que la mayoría de los análisis tuvieron una carga microbiana menor a 10^4 UFC/g. Se ha encontrado que los cítricos, inmediatamente después del procesamiento, contienen una flora de mohos y levaduras entre 10^3 y 10^4 UFC/g o mL (Vargas-Vargas *et al.*, 2005), por lo que los resultados se encuentran en los rangos normales establecidos para cítricos. En este trabajo se supone el comportamiento microbiológico de la pitaya semejante al de un cítrico, ya que se está trabajando con pulpa a bajo pH (3) debido a la adición de ácido ascórbico como estabilizador. Variaciones en el pH pueden dañar los microorganismos alterando su membrana plasmática o inhibiendo la actividad de las enzimas y las proteínas, lo cual no les permite crecer (Prescott *et al.*, 2002). Además de que la pulpa tiene un pH bajo, la adición del ácido ascórbico permite reducirlo todavía más, dándole una mayor estabilidad microbiológica. No se pudo observar un efecto claro del tiempo de almacenamiento, ni de la adición de sorbato y de la inyección de nitrógeno sobre las variables evaluadas, por lo que se deben realizar más análisis para poder explicar los resultados obtenidos.

VII. Conclusiones y Recomendaciones

7.1 Conclusiones

- Se detectaron diferencias significativas en el rendimiento de la fruta con cáscara, rendimiento de la fruta sin cáscara, pH, °Brix y pectina entre los genotipos Rosa y Orejona.
- El genotipo Rosa obtuvo un rendimiento mucho mayor que el de Orejona, por lo que se utilizó para el estudio del almacenamiento.
- Los valores de L^* , b^* y h° a través del tiempo son dependientes de la temperatura a la cual se almacena la pulpa.
- No se encontraron diferencias significativas entre las variaciones de L^* (ΔL^*) para los tratamientos evaluados.
- Los tratamientos con sorbato tienen valores de a^* mayores y son más estables durante el almacenamiento en comparación con los tratamientos con nitrógeno y nitrógeno-sorbato.
- Los cambios totales en b^* (Δb^*) son mayores para los tratamientos almacenados a temperatura ambiente.
- El tratamiento control a temperatura ambiente fue el que tuvo mayor aumento en la saturación (C^*) a través del tiempo de almacenamiento (mayor pendiente).
- Los tratamientos a temperatura ambiente en comparación con los almacenados en refrigeración, tuvieron un mayor aumento en el ángulo de tonalidad (h°).
- Se obtuvo una disminución menor de la concentración de las betacianinas para los tratamientos almacenados en refrigeración.

- Durante el almacenamiento, la concentración de betacianinas no acetiladas aumenta, mientras que el porcentaje de las betacianinas acetiladas disminuyen, siendo mayor a temperatura ambiente.
- Los cambios de pH para todos los tratamientos son dependientes del tiempo de almacenamiento
- El almacenamiento en refrigeración permite tener una mayor estabilidad de los pigmentos sin importar el método de estabilización utilizado.
- Los diferentes tratamientos tuvieron una buena estabilidad microbiológica durante el almacenamiento por su forma de procesamiento.

7.2 Recomendaciones

- Optimizar el proceso de extracción de la pulpa por medios enzimáticos para obtener mayores rendimientos de pulpa.
- Realizar estudios de almacenamiento más largos para determinar el tiempo de estabilidad tanto física como microbiológica de la pulpa.
- Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de sorbato de potasio sobre la pulpa.
- Evaluar la estabilidad de los pigmentos en distintas matrices alimenticias y cosmetológicas.

VIII. Bibliografía

- APHA (INTERSOCIETY/AGENCY COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL METHODS FOR FOODS). 2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association. USA.
- ATTOE, E.L., VON ELBE, J.H. 1981. Photochemical degradation of betanine and selected anthocyanins. *Journal of Food Science* 46:1934-1937.
- ATTOE, E.L., VON ELBE, J.H. 1982. Degradation kinetics of betanine in solutions as influenced by oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 30:708–712.
- AZEREDO, H. 2008. Betalains: properties, sources, applications, and stability - a review. *International Journal of Food Science and Technology*, doi:10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x.
- BELITZ, H.D., GROSCH, W., SHIEBERLE, P. 2009. *Food Chemistry*. 4 ed. Springer. Alemania.
- BRACKETT, R. 2001. Frutas, hortalizas y granos. En: Doyle, M. P., Beuchat, L.R., Montville, T. J. Editorial Acribia, España.
- BUTERA, D., TESORIERE, L., DI GAUDIO, F., BONGIORNO, A., ALLEGRA, M., PINTAUDI, A.M., KOHEN, R., LIVREA, M.A. 2002. Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6895-6901.
- CAI, Y., CORKE, H. 1999. *Amaranthus* betacyanin pigments applied in model food systems. *Journal of Food Science* 64: 869-873

- CAI, Y., SUN, M., WU, H. X., HUANG, R. H., CORKE, H. 1998. Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse *Amaranthus* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 2063–2070.
- CAI, Y., SUN, M., SCHLIEMANN, W., CORKE, H. 2001a. Chemical stability and colorant properties of betaxanthin pigments from *Celosia argentea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:4429–35.
- CAI, Y., SUN, M., CORKE, H. 2001b. Identification and distribution of simple and acylated betacyanins in the *Amaranthaceae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 1971-1978
- CAI, Y., SUN, M., CORKE, H. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the *Amaranthaceae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 2288-2294.
- CAI, Y., SUN, M., CORKE, H. 2005. Characterization and application of betalain pigments from plants of the *Amaranthaceae*. *Trends in Food Science and Technology* 16: 370-376.
- CAI, Y., XING, J., SUN, M., CORKE, H. 2006. Rapid identification of betacyanins from *Amaranthus tricolor*, *Gomphrena globosa*, and *Hylocereus polyrhizus* by matrix-assisted laser desorption/ionization quadrupole ion trap time-of-flight mass spectrometry (MALDI-QIT-TOFMS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 6520-6526.
- CASTELLANOS-SANITAGO, E., YAHIA, E. M. 2008. Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 5758-5764.
- CASTELLAR, R., OBÓN, J. M., ALACID, M., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A. 2003. Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 2772-2776.

- CASTELLAR, R., OBÓN, J. M., ALACID, M., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A. 2006. The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin food colourant from *Opuntia stricta* fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 122-128.
- CHERIAN, C., LANIER, D., SCHROEDER, B., THELEN, A. 2008. Four citrus fruits tested for sugar, protein concentration and pH. Michigan State University. INTERNET <https://www.msu.edu/course/lbs/145/luckie/inquiriesF2003/ABCD.html> Consultado el 30 de setiembre del 2009.
- CODEX ALIMENTARIUS. 1995. Norma general del Codex para los aditivos alimentarios. CODEX-STAN 192-1995.
- CRANE, J., BALERDI, C. 2006. The pitaya (*Hylocereus undatus* and other spp.) in Florida. University of Florida. INTERNET http://miami-dade.ifas.ufl.edu/pdfs/tropical_fruit/THE%20PITAYA%20in%20Florida.pdf. Consultado el 30 enero del 2009
- CZAPSKI, J. 1985. The effect of heating conditions on losses and regeneration of betacyanins. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 180:21–25.
- DELGADO-VARGAS, F., PAREDES-LÓPEZ, O. 2002. *Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses*. CRC Press, USA.
- DELGADO-VARGAS; F., JIMENEZ, A.R., PAREDES-LÓPEZ, O. 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains - characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40: 173-289.
- DÍAZ-SÁNCHEZ, F., SANTOS-LÓPEZ, E. M., FILARDO-KERSTUPP, S., VILLAGÓMEZ-IBARRA, R., SCHEINVAR, L. 2006. Colorant extraction from red prickly pear (*Opuntia lasiacantha*) for food application. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 5: 1330-1337.

- DOWNHAM, A., COLLINS, P. 2000. Colouring our foods in the last and next millenium. International Journal of Food Science and Technology 35: 5-22.
- DURU, B., TURKER N. 2005. Changes in physical properties and chemical composition of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) during maturation. Journal of the Professional Association for Cactus Development 7: 22-33.
- ESQUIVEL, P. 2004. Los frutos de las cactáceas y su potencial como materia prima. Agronomía Mesoamericana 15: 215-219.
- ESQUIVEL, P. 2007. Characterisation of morphological and chemical traits of Costa Rican fruits from purple pitaya (*Hylocereus sp.*) genotypes. Tesis de doctorado. Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie. Universidad Hohenheim, Stuttgart.
- ESQUIVEL, P., STINTZING, F.C., CARLE, R. 2007a. Fruit characteristics during growth and ripening of different *Hylocereus sp.* genotypes. European Journal of Horticultural Sciences 72: 231- 238.
- ESQUIVEL, P., STINTZING, F.C., CARLE, R. 2007b. Comparison of morphological and chemical fruit traits from different pitaya genotypes (*Hylocereus sp.*) grown in Costa Rica. Journal of Applied Botany and Food Quality 81:7-14.
- ESQUIVEL, P., STINTZING, F.C., CARLE, R. 2007c. Pigment pattern and expression of color in fruits from different *Hylocereus sp.* genotypes. Innovative Food Science and Emerging Technologies 8: 451-457.
- FILIPINI, S. 2008. Análisis de regresión y correlación. Fisicanet. INTERNET http://www.fisicanet.com.ar/matematica/estadisticas/ap07_regresion_y_correlacion.php Consultada el 15 junio del 2009.

- GARCIA-BARRERA, F. A., REYNOSO, C. R., GONZALEZ DE MEJÍA, E. 1998. Estabilidad de las betalaínas extraídas del garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Food Science and Technology International 4: 115-120.
- GENTILE, C., TESORIERE, L., ALLEGRA, M., LIVREA, M.A., D'ALESSIO, P. 2004. Antioxidant betalains from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression. Annals of the New York Academy of Sciences 1028: 481-486.
- GONNET, J.F. 1998. Colour effects of copigmentation of anthocyanins revisited -1. A colourimetric definition using CIELAB scale. Food Chemistry 63: 409-441.
- HAN, D., KIM, S. J., KIM, S. H., KIM, D. M. 1998. Repeated regeneration of degraded red beet juice pigments in the presence of antioxidants. Journal of Food Science 63: 69-72.
- HARIVAINDARAN, K.V., REBECCA, O.P.S., CHANDRAN, S. 2008. Study of optimal temperature, pH and stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant. Pakistan Journal of Biological Sciences 11: 2259-2263.
- HERBACH, K. M., STINTZING, F. C., CARLE, R. 2004. Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton & Rose) monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. European Food Research and Technology 219: 377-385.
- HERBACH, K. M., STINTZING, F. C., CARLE, R. 2005. Identification of heat-induced degradation products from purified betanin, phyllocactin and hylocerenin by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry 19: 2603-2616.

- HERBACH, K., STINTZING, F.C., CARLE, R. 2006a. Betalain stability and degradation- structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science* 71: 41-50.
- HERBACH, K., STINTZING, F.C., CARLE, R. 2006b. Stability and color changes of thermally treated betanine, phyllocactin and hylocerenin solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 390-398
- HERBACH, K., MAIER, C., STINTZING, F.C., CARLE, R. 2007. Effects of processing and storage on juice color and betacyanin stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) juice. *European Food Research and Technology* 224: 649- 658.
- HUANG, A. S., VON ELBE, J. H. 1985. Kinetics of the degradation and regeneration of betanine. *Journal of Food Science* 50:1115–1120.
- HUANG, A. S., VON ELBE, J. H. 1986. Stability comparison of two betacyanine pigments — Amaranthine and betanine. *Journal of Food Science* 51: 670–674.
- HUANG, A. S., VON ELBE, J.H. 1987. Effect of pH on the degradation and regeneration of betanine. *Journal of Food Science* 52: 1689–1693.
- IBDAH, M., KRINS, A., SEIDLITZ, H. K., HELLER, W., STRACK, D., VOGT, T. 2002. Spectral dependence of flavonol and betacyanin accumulation in *Mesembryanthemum crystallinum* under enhanced ultraviolet radiation. *Plant Cell and Environment* 25: 1145-1154.
- IFU (INTERNATIONAL FEDERATION OF FRUIT PRODUCERS), 1995a: Titratable acidity. IFU Method 3, Zug, Suiza.
- IFU (INTERNATIONAL FEDERATION OF FRUIT PRODUCERS), 1995b: Pectin. IFU Method 26, Zug, Suiza.
- JACKMAN, R.L., SMITH, J.L. 1996. Anthocyanins and betalains. En: Hendry, G.A.F., Houghton, J.D. *Natural Food Colorants*. 2 ed. Chapman and Hall. Londres.

- KANNER, J., HAREL, S., GRANIT, R. 2001. Betalains- a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 5178-5185.
- KIMLER, L., MEARS, J., MABRY, T.J., ROSLER, H. 1970. On the question of the mutual exclusiveness of betalains and anthocyanins. *Taxonomy* 19: 875-878.
- KEARSLEY, M.W., KATSABOXAKIS, K. Z. 1980. Stability and use of natural colours in foods. *Journal of Food Technology* 15:501–14.
- KOBAYASHI, N., SCHMIDT, J., NIMTZ, M., WRAY, V. SCHLIEMANN, W. 2000. Betalains from Christmas cactus. *Phytochemistry* 54: 419-426.
- KUGLER, F., STINTZING, F. C., CARLE, R. 2004. Identification of betalainas from petioles of differently colored swiss chard (*Beta vulgaris* L. ssp. Cicla [L.] Alef. cv. Bright Lights) by high- performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 2975-2981.
- KUJALA, T., VIENOLA, M., KLIKA, K., LOPONEN, J. M., PIHLAJA, K. 2002. Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. *European Food Research and Technology* 214: 505-510.
- LE BELLEC, F., VAILLANT, F., IMBERT, E. 2006. Pitaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. *Fruits* 61: 237-250.
- LUCAS, C.D., HALLAGAN, J.B., TAYLOR, S.L. 2001. The role of natural colour additives in food allergy. *Advances in Food and Nutrition Research* 43: 195-216.
- MANDUJANO, R. 2006. Estudio preliminar de los pigmentos presentes en la cáscara de la pitaya (*Stenocereus steratus*) de la región Mixteca. Tesis en Ingeniería de Alimentos. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Oaxaca.

- MIZRAHI, Y., NERD, A. 1999. Climbing and columnar cacti: new arid land fruit crops. En: Janick, J. (Eds.). Perspectives on new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria. Pp. 358-366.
- MIZRAHI, Y., NERD, A., NOBEL, P. S. 1997. Cacti as crop. Horticultural Reviews 18: 291-320.
- MORENO, D.A., GARCIA-VIGUERA, C., GIL, J.I., GIL-IZQUIERDO, A. 2007. Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. Phytochemistry Review 7: 261-280.
- NAZARENO, A., GONZÁLEZ, E. 2008. Antioxidant properties of cactus fruits. Cactusnet 11: 18-28.
- NERD, A., MIZRAHI, Y. 1997. Reproductive biology of cactus fruit crops. Horticultural Reviews 18: 322-346.
- NERD, A., TEL-ZUR, N., MIZRAHI, Y. 2002. Fruits of vine and columnar cacti. En: Nobel, P.S (1ed), Cacti: biology and uses. University of California Press, California. Pp. 185-198.
- PASCH, J.H., VON ELBE, J.H. 1975. Betanine degradation as influenced by water activity. Journal of Food Science 40: 1145-1146.
- PASCH, J.H., VON ELBE, J. H. 1979. Betanine stability in buffered solutions containing organic acids, metal cations, antioxidants, or sequestrants. Journal of Food Science 44:72-74.
- PEDREÑO, M.A., ESCRIBANO, J. 2001: Correlation between antiradical activity and stability of betanine from *Beta vulgaris* L. roots under different pH, temperature and light conditions. Journal of the Science of Food and Agriculture 81: 627-631.

- PRESCOTT, L., HARLEY, J., KLEIN, D. 2002. Microbiología. 5ta ed. Mc Graw Hill Interamericana de España, España.
- REYNOSO, R., GARCIA, F.A., MORALES, D., GONZÁLEZ, E. 1997. Stability of betalain pigments from a cactaceae fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 2884-2889.
- ROY, K., GULLAPALLI, S., ROY, U., CHAKRABORTY, R. 2004. The use of a natural colorant based on betalain in the manufacture of sweet products in India. International Journal of Food Science and Technology 39: 1087-1091.
- SAENZ, E., SEPÚLVEDA, E., ARAYA, E., CALVO, C. 1993. Color changes in concentrated prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) during storage at different temperatures. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 26: 417-421.
- SAGUY, I. 1979. Thermostability of red beet pigments (betanin and vulgaxanthin-I): influence of pH and temperature. Journal of Food Science 44: 1554-1555.
- SAGUY, I., KOPELMAN, I.J., MIZRAHI, S. 1978. Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid. Journal of Agricultural and Food Chemistry 26:360-362.
- SAHIM, S., GÜLÜM SUMNU, S. 2006. Physical Properties of Foods. Springer, USA.
- SAPERS, G. M. 1994. Color characteristics and stability of nonbleeding cocktail cherries dyed with carotenoid pigments. Journal of Food Science 59: 135-138.
- SAVOLAINEN, K., KUUSI, T. 1978. The stability properties of golden beet and red beet pigments: influence of pH, temperature, and some stabilizers. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 166: 19-22.
- SCHLIEMANN, W., STRACK, D. 1998. Intramolecular stabilization of acylated betacyanins. Phytochemistry 49:585-588.

- SCHLIEMANN, W., JOY IV, R., KOMAMINE, Q., METZGER, J., NIMTZ, M., WRAY, V., STRACK, D. 1996. Betacyanins from plants and cell cultures of *Phytolacca americana*. *Phytochemistry* 42: 1039-1046.
- SCHWARTZ S.J., VON ELBE, J.H. 1983. Identification of betanin degradation products. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 176: 448–53.
- SCHWARTZ, S.J., VON ELBE, J.H., PARIZA, M.W., GOLDWORTHY, T., PITOT, H.C. 1983. Inability of red beet betalain pigments to initiate or promote hepatocarcinogenesis. *Food Chemistry and Toxicology* 21: 531-535.
- SHANDA, J. 2007. *Colorimetry: Understanding the CIE System*. John Wiley & Sons Inc., USA
- SHELKE, K. 2004. Coloring foods especially for kids. *Food Processing.com*. INTERNET <http://www.foodprocessing.com/articles/2004/210.html> Consultada el 24 agosto del 2007.
- STAFFORD, A. 1994. Anthocyanins and betalains: evolution of the mutually exclusive pathways. *Plant Science* 101: 91-98.
- STINTZING, F.C., CARLE, R. 2007. Betalains. En: Socaciu, C. *Food Colorants: Chemical and Functional Properties*. CRC Press, USA.
- STINTZING, F. C., CARLE, R. 2006. Cactus fruits- more than colour. *Fruit Processing* 16: 166-171.
- STINTZING, F.C., CARLE, R. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology* 15: 19-38.

- STINTZING, F.C., SCHIEBER, A., CARLE, R. 2000. Cactus pear- a promising component to functional food. *Obst, Gemüse-und Kartoffelverarbeitung* 85: 12-19.
- STINTZING, F. C., SCHIEBER, A., CARLE, R. 2002a. Betacyanins in fruits from red purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton y Rose. *Food Chemistry* 77: 101-106.
- STINTZING, F. C., SCHIEBER, A., CARLE, R. 2002b. Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2302–2307.
- STINTZING., F.C., SCHIEBER, A., CARLE, R. 2003. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research and Technology* 216: 303-311.
- STINTZING, F.C., HERBACH, K.M., MoßHAMMER M.R., CARLE, R., YI, W., SELLAPPAN, S., AKOH, C.C., BUNCH, R., FELKER, P. 2005. Color, betalain pattern and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 442-451.
- STRACK., D., VOGT, T., SCHLIEMANN, W. 2003. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry* 62: 247- 269.
- TESORIERE, L., FAZZARI, M., ANGILERI, F., GENTILE, C., LIVREA, M.A. 2008. In vitro digestion of betalainic foods. Stability and bioaccessability of betaxanthins and betacyanins and antioxidative potential food digesta. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 10487-10492.
- TRIM, K. 2006. Coloring naturally. Food Processing.com. INTERNET <http://www.foodprocessing.com/articles/2006/180.html>. Consultada el 24 agosto del 2007

- TURKER, N., AKSAY, S., EKIZ, I. 2004. Effect of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (*Daucus carota* var. L.) beverage: shalgam. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 3807-3813.
- VAILLANT, F., PÉREZ, A., DÁVILA, I., DORNIER, M., REYNES, M. 2005. Colourant and antioxidant properties of red-purple pitahaya (*Hylocereus* sp.) *Fruits* 60: 1-10.
- VARGAS-VARGAS, M. L., CENTURIÓN YAH, A., SAURI DUCH, E., TAMAYO CORTEZ, J. 2005. Industrialización de la pitahaya (*Hylocereus undatus*): una nueva forma de comercialización. *Revista Mexicana de Agronegocios* 9: 498-509.
- VICÉNS, J., HERRARTE, A., MEDINA, E. 2005. Análisis de la Varianza (ANOVA). INTERNET: <http://www.uam.es/departamentos/economicas/econapli/anova.pdf>
Consultada el 4 de julio del 2009.
- VON ELBE, J. H., ATTOE, E.L. 1985. Oxygen involvement in betanine degradation—Measurement of active oxygen species and oxidation reduction potentials. *Food Chemistry* 16:49–67.
- VON ELBE, J. H., GOLDMAN, I. L. 2000. The Betalains. En : Francis, L. *Natural Food Colorants: Science and Technology* (IFT Basic Symposium, Volume 14). CRC Press, USA.
- VON ELBE, J. H., MAING, I.Y., AMUNDSON, C.H. 1974a. Color stability of betanin. *Journal of Food Science* 39: 334-337.
- VON ELBE, J. H., KLEMENT, J. T., AMUNDSON, C. H., CASSENS, R. G., LINDAY, R. C. 1974b. Evaluation of betalain pigments as sausage colorants. *Journal of Food Science* 39: 128-132.

WU, L. HSU, H.W., CHEN, Y.Z., CHIU, C.C., LIN, Y.I., HO, J.A. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry* 95: 319-327.

WYBRANIEC, S., MIZRAHI, Y. 2002. Fruit flesh betacyanin pigments in *Hylocereus* cacti. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6086-6089.

WYBRANIEC, S., PLATZNER, I., GERESH, S., GOTTLIEB, H., HAIMBERG, M., MOGILNITZKI, M., MIZRAHI, Y. 2001. Betacyanins from vine cactus *Hylocereus polyrhizus*. *Phytochemistry* 58: 1209-1212.

Apéndice A. Comparación de los genotipos Rosa y Orejona

Cuadro A1. Masas medidas para determinar los rendimientos de pulpa de pitaya obtenidos en los genotipos de Rosa y Orejona

Genotipo	Réplica	Fruta (g)	Fruta sin cáscara (g)	Semillas (g)	Pulpa (g)	Rend con cáscara (%)	Rend sin cáscara (%)
Rosa	1	575,0	366,5	186,5	159,0	27,65	43,38
	2	462,5	311,0	159,9	135,0	29,19	43,41
	3	672,5	472,5	273,0	185,5	27,58	39,26
Orejona	1	303,0	198,0	134,0	52,5	17,33	26,52
	2	296,5	189,5	129,5	46,5	15,68	24,54
	3	236,0	137,5	89,5	38,5	16,31	28,00

Cuadro A2. Mediciones de color para los genotipos de Rosa y Orejona.

Genotipo	Réplica	Parámetro				
		L*	a*	b*	C*	h°
Rosa	1	8,47	38,12	2,58	38,21	3,87
	2	8,52	37,88	2,23	37,94	3,37
	3	8,24	37,77	2,68	37,87	4,06
Orejona	1	8,33	37,79	2,2	37,85	3,33
	2	8,13	37,85	2,12	37,91	3,2
	3	8,13	37,4	2,78	37,5	4,25

Cuadro A3. Mediciones de pH, °Brix y mL de NaOH consumidos para el cálculo de la acidez para los genotipos de Rosa y Orejona.

Genotipo	Réplica	pH	° Brix	mL NaOH consumidos
Rosa	1	4,34	11,5	2,9360
	2	4,19	12,5	2,6060
	3	4,22	12	2,9660
Orejona	1	4,79	15	2,3720
	2	4,82	14	2,3890
	4	4,79	15	2,8900

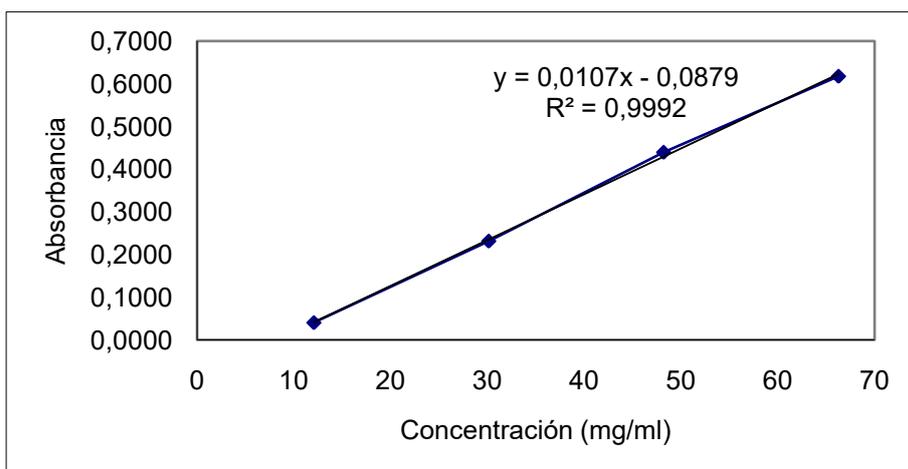


Figura A1. Curva de calibración determinada a 525 nm de los patrones de ácido galacturónico monohidratado para la determinación del contenido de pectina en la pulpa de pitaya

Cuadro A4. Absorbancias obtenidas a 525 nm del ácido galacturónico en la pulpa de pitaya de los genotipos Rosa y Orejona para la determinación del contenido de pectina

Genotipo	Réplica	Absorbancia
Rosa	1	0,270
	2	0,186
	3	0,227
Orejona	1	0,133
	2	0,157
	3	0,090

Apéndice B. T student para la comparación de genotipos

Cuadro 1B. T-student para la comparación del rendimiento con cáscara de los genotipos Rosa y Orejona

	Diferencia	t-Test	Grados de libertad	Prob > t
Estimado	-11,701	-16,482	4	<.0001
Erros estándar	0,710			
Inferior 95%	-13,672			
Superior 95%	-9,730			

Cuadro 2B. T-student para la comparación del rendimiento sin cáscara de los genotipos Rosa y Orejona

	Diferencia	t-Test	Grados de libertad	Prob > t
Estimado	-15,666	-9,189	4	0,0008
Erros estándar	1,705			
Inferior 95%	-20,399			
Superior 95%	-10,932			

Cuadro 3B. T-student para la comparación de L* de los genotipos Rosa y Orejona

	Diferencia	t-Test	Grados de libertad	Prob > t
Estimado	-0,21333	-1,957	4	0,1219
Erros estándar	0,10899			
Inferior 95%	-0,51592			
Superior 95%	0,08926			

Cuadro 4B. T-student para la comparación de a* de los genotipos Rosa y Orejona

	Diferencia	t-Test	Grados de libertad	Prob > t
Estimado	-0,24333	-1,392	4	0,2365
Erros estándar	0,17487			
Inferior 95%	-0,72884			
Superior 95%	0,24217			

Cuadro 5B. T-student para la comparación de b* de los genotipos Rosa y Orejona

	Diferencia	t-Test	Grados de libertad	Prob > t
Estimado	-0,13000	-0,523	4	0,6288
Erros estándar	0,24871			
Inferior 95%	-0,82052			
Superior 95%	0,56052			

Cuadro 6B. T-student para la comparación de C* de los genotipos Rosa y Orejona

	Diferencia	t-Test	Grados de libertad	Prob > t
Estimado	-0,25333	-1,539	4	0,1986
Erros estándar	0,16459			
Inferior 95%	-0,71030			
Superior 95%	0,20363			

Cuadro 7B. T-student para la comparación de h° de los genotipos Rosa y Orejona

	Diferencia	t-Test	Grados de libertad	Prob > t
Estimado	-0,1733	-0,445	4	0,6792
Erros estándar	0,3893			
Inferior 95%	-1,2542			
Superior 95%	0,9075			

Cuadro 8B. T-student para la comparación del pH de los genotipos Rosa y Orejona

	Diferencia	t-Test	Grados de libertad	Prob > t
Estimado	0,550000	11,726	4	0,0003
Erros estándar	0,046904			
Inferior 95%	0,419773			
Superior 95%	0,680227			

Cuadro 9B. T-student para la comparación de °Brix de los genotipos Rosa y Orejona

	Diferencia	t-Test	Grados de libertad	Prob > t
Estimado	2,66667	6,047	4	0,0038
Erros estándar	0,44096			
Inferior 95%	1,44237			
Superior 95%	3,89096			

Cuadro 10B. T-student para la comparación de la acidez de los genotipos Rosa y Orejona

	Diferencia	t-Test	Grados de libertad	Prob > t
Estimado	-0,3833	-1,376	4	0,2408
Erros estándar	0,2786			
Inferior 95%	-1,1568			
Superior 95%	0,3902			

Cuadro 11B. T-student para la comparación de la pectina de los genotipos rosa y Orejona

	Diferencia	t-Test	Grados de libertad	Prob > t
Estimado	-0,50333	-3,481	4	0,0253
Erros estándar	0,14461			
Inferior 95%	-0,90483			
Superior 95%	-0,10184			

Apéndice C. Análisis físico-químicos

Cuadro 1C. Análisis de color de los distintos tratamientos de la pulpa de pitaya durante el almacenamiento

Método de estabilización	Temp (°C)	Tiempo (días)	L*	a*	b*	C*	h°
Sorbato-nitrógeno	25	7	3,61	19,07	-0,63	19,08	358,08
Sorbato-nitrógeno	25	14	3,25	16,31	0,04	16,31	360,36
Sorbato-nitrógeno	25	21	4,01	19,62	0,37	19,63	361,13
Sorbato-nitrógeno	25	28	3,73	18,25	-0,32	18,26	359,02
Sorbato-nitrógeno	25	35	3,47	17,17	0,54	17,18	361,84
Sorbato-nitrógeno	25	42	3,60	18,23	1,41	18,29	364,48
Sorbato-nitrógeno	4	7	3,91	18,59	1,29	18,64	363,96
Sorbato-nitrógeno	4	14	3,49	18,37	-0,03	18,37	359,81
Sorbato-nitrógeno	4	21	2,99	14,51	-0,34	14,51	358,55
Sorbato-nitrógeno	4	28	3,58	17,43	-0,33	17,44	358,86
Sorbato-nitrógeno	4	35	3,29	15,81	-0,99	15,85	356,24
Sorbato-nitrógeno	4	42	3,14	16,75	0,09	16,75	360,29
Sorbato	25	7	4,14	21,01	0,46	21,03	361,41
Sorbato	25	14	3,94	20,24	-0,10	20,25	359,85
Sorbato	25	21	3,85	20,58	-0,21	20,59	359,42
Sorbato	25	28	3,94	20,30	-0,31	20,30	359,12
Sorbato	25	35	3,98	19,71	-0,44	19,72	359,04
Sorbato	25	42	4,05	19,52	-0,73	19,53	357,85
Sorbato	4	7	3,77	19,39	-0,01	19,41	359,71
Sorbato	4	14	4,12	21,23	1,47	21,28	363,96
Sorbato	4	21	4,40	22,45	0,82	22,47	362,08
Sorbato	4	28	3,54	18,56	-0,18	18,57	359,16
Sorbato	4	35	3,80	19,39	-0,07	19,39	360,10
Sorbato	4	42	4,26	20,69	-0,04	20,69	359,51
Nitrógeno	25	7	4,08	21,70	-0,91	21,73	357,66
Nitrógeno	25	14	4,35	23,08	-0,13	23,09	359,65
Nitrógeno	25	21	3,93	21,42	0,30	21,43	360,84
Nitrógeno	25	28	4,16	21,58	-0,07	21,59	359,78
Nitrógeno	25	35	3,59	18,54	-0,32	18,56	358,64
Nitrógeno	25	42	3,09	14,56	0,23	14,56	360,50
Nitrógeno	4	7	3,15	14,35	0,63	14,37	362,64
Nitrógeno	4	14	3,54	18,47	-0,37	18,49	359,08
Nitrógeno	4	21	3,81	19,14	0,98	19,17	362,89
Nitrógeno	4	28	3,57	17,88	1,60	17,95	365,12
Nitrógeno	4	35	4,64	21,93	1,93	22,02	364,95
Nitrógeno	4	42	3,82	19,99	-0,17	20,00	359,53
Control	25	7	2,85	14,05	0,19	14,06	359,99
Control	25	14	2,82	12,50	0,05	12,50	360,10
Control	25	21	3,59	18,68	-0,16	18,69	359,22
Control	25	28	3,45	18,43	0,39	18,44	361,32
Control	25	35	3,70	18,40	1,07	18,44	362,95
Control	25	42	3,85	19,41	0,56	19,42	361,54

Cuadro 1C (continuación). Análisis de color de los distintos tratamientos de la pulpa de pitaya durante el almacenamiento

Método de estabilización	Temp (°C)	Tiempo (días)	L*	a*	b*	C*	h°
Control	4	7	3,89	20,14	-0,01	20,15	359,86
Control	4	14	4,10	20,55	0,19	20,55	360,52
Control	4	21	3,83	18,17	0,21	18,18	360,52
Control	4	28	3,56	17,97	-0,38	17,98	358,55
Control	4	35	3,76	20,29	0,04	20,31	359,79
Control	4	42	4,37	22,35	1,22	22,38	363,10

Cuadro 2C. Análisis de concentración de betalaínas, % de betacianinas acetiladas, % de betacianinas no acetiladas y pH de los distintos tratamientos de la pulpa de pitaya durante el almacenamiento

Método de estabilización	Temp (°C)	Tiempo (días)	Concentración Betalaínas (mg/L)	Betacianinas no acetiladas (%)	Betacianinas acetiladas (%)	pH
Sorbato-nitrógeno	25	7	516,76	45,27	54,73	4,00
Sorbato-nitrógeno	25	14	500,89	52,51	47,49	3,94
Sorbato-nitrógeno	25	21	477,51	64,99	35,01	3,89
Sorbato-nitrógeno	25	28	438,09	65,62	34,38	3,91
Sorbato-nitrógeno	25	35	416,14	71,23	28,77	3,90
Sorbato-nitrógeno	25	42	402,55	74,01	25,99	3,91
Sorbato-nitrógeno	4	7	388,77	78,69	21,31	3,97
Sorbato-nitrógeno	4	14	499,26	44,37	55,63	4,00
Sorbato-nitrógeno	4	21	484,96	45,28	54,72	3,97
Sorbato-nitrógeno	4	28	438,98	47,65	52,35	3,93
Sorbato-nitrógeno	4	35	478,25	48,66	51,34	3,92
Sorbato-nitrógeno	4	42	481,54	48,53	51,47	3,89
Sorbato	25	7	467,42	57,47	42,53	3,84
Sorbato	25	14	468,65	50,12	49,88	3,95
Sorbato	25	21	476,13	43,90	56,10	3,99
Sorbato	25	28	466,77	54,18	45,83	3,95
Sorbato	25	35	467,42	60,29	39,71	3,91
Sorbato	25	42	465,03	65,25	34,75	3,91
Sorbato	4	7	441,59	70,22	29,78	3,90
Sorbato	4	14	405,36	73,95	26,06	3,87
Sorbato	4	21	409,02	77,93	22,07	3,98
Sorbato	4	28	483,34	43,75	56,25	3,97
Sorbato	4	35	488,99	45,75	54,25	3,97
Sorbato	4	42	475,93	48,63	51,38	3,93
Nitrógeno	25	7	476,29	48,06	51,94	3,92
Nitrógeno	25	14	482,34	49,42	50,58	3,89
Nitrógeno	25	21	481,74	49,83	50,17	3,86
Nitrógeno	25	28	464,28	50,67	49,33	3,96
Nitrógeno	25	35	489,82	45,61	54,39	3,95
Nitrógeno	25	42	468,78	50,64	49,36	3,94

Cuadro 2C (continuación). Análisis de concentración de betalaínas, % de betacianinas acetiladas, % de betacianinas no acetiladas y pH de los distintos tratamientos de la pulpa de pitaya durante el almacenamiento

Nitrógeno	4	7	449,30	61,34	38,66	3,88
Nitrógeno	4	14	428,88	66,96	33,04	3,89
Nitrógeno	4	21	400,66	71,31	28,69	3,88
Nitrógeno	4	28	387,75	74,87	25,13	3,83
Nitrógeno	4	35	417,92	52,78	47,22	3,97
Nitrógeno	4	42	480,61	46,47	53,53	3,95
Control	25	7	491,69	45,80	54,20	3,96
Control	25	14	486,23	48,18	51,82	3,90
Control	25	21	465,12	49,91	50,09	3,88
Control	25	28	463,93	50,01	49,99	3,86
Control	25	35	469,72	51,00	49,00	3,79
Control	25	42	366,99	77,86	22,14	3,92
Control	4	7	464,26	46,64	53,36	3,99
Control	4	14	491,81	54,20	45,80	3,97
Control	4	21	445,98	61,01	38,99	3,94
Control	4	28	432,29	66,71	33,29	3,91
Control	4	35	424,77	69,60	30,40	3,92
Control	4	42	373,44	75,10	24,90	3,87

Apéndice D. ANDEVA Δ Tratamientos

Cuadro D1. ANDEVA para la determinación de diferencias en la variación del tiempo 0 y tiempo 42 (Δ) de las variables respuesta evaluadas.

Parámetro	Efecto	Grados libertad	Valor F	Prob>F
ΔL^*	Tratamiento	7	0,8782	0,5445
Δb^*			5,5368	0,0022*
ΔC^*			0,693	0,6774
$\Delta Conc$			6,4749	0,001*
$\Delta \%NA$			1316,82	<,0001*
$\Delta \%A$			1317,82	<,0002*
ΔpH			2,5257	0,0592

*Efecto significativo ($p < 0,05$)